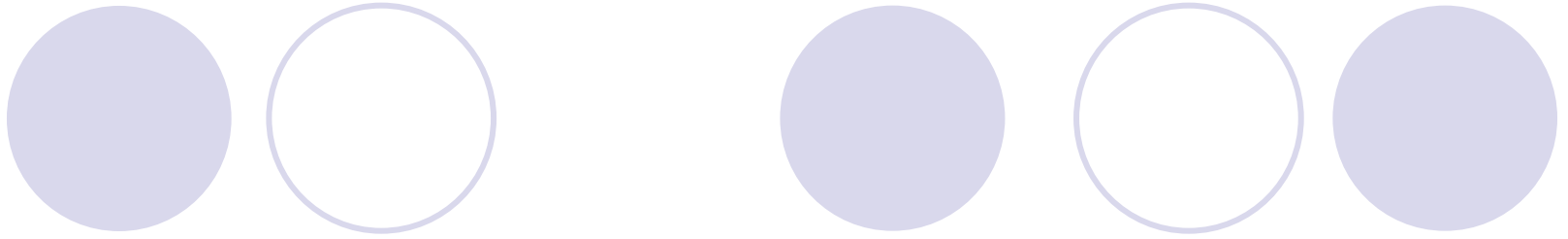


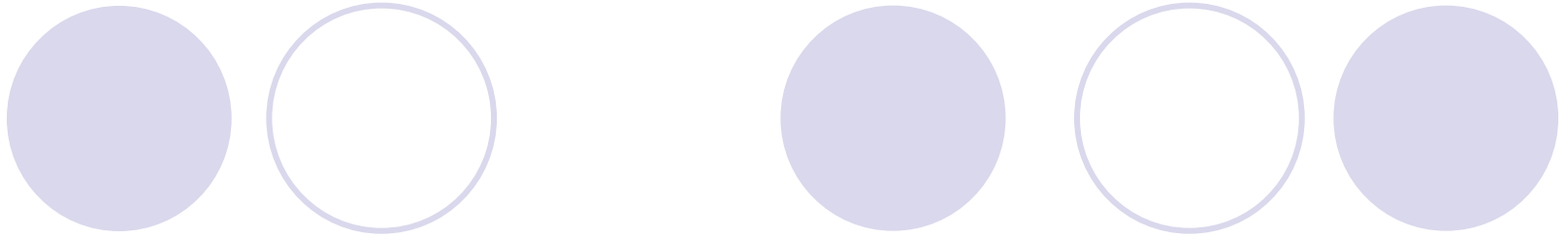


Les coccidioses digestives

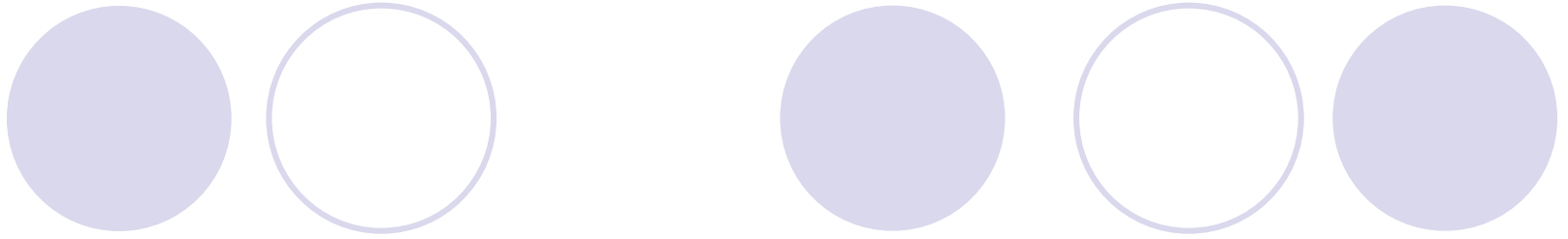
Kalthoum Kallel
Laboratoire de Parasitologie
Hôpital La Rabta



- Les coccidies sont des **parasites protozoaires** (appartenant au groupe des Apicomplexa), qui se caractérisent par une infestation digestive chez l'hôte définitif, aboutissant à la production d'oocystes libérés dans les fèces. Leur cycle comprend des **phases intracellulaires** (dans les cellules épithéliales principalement).
- Les coccidies parasitent principalement les mammifères (et quelques espèces affectent les oiseaux).
- Leur **répartition est mondiale.**



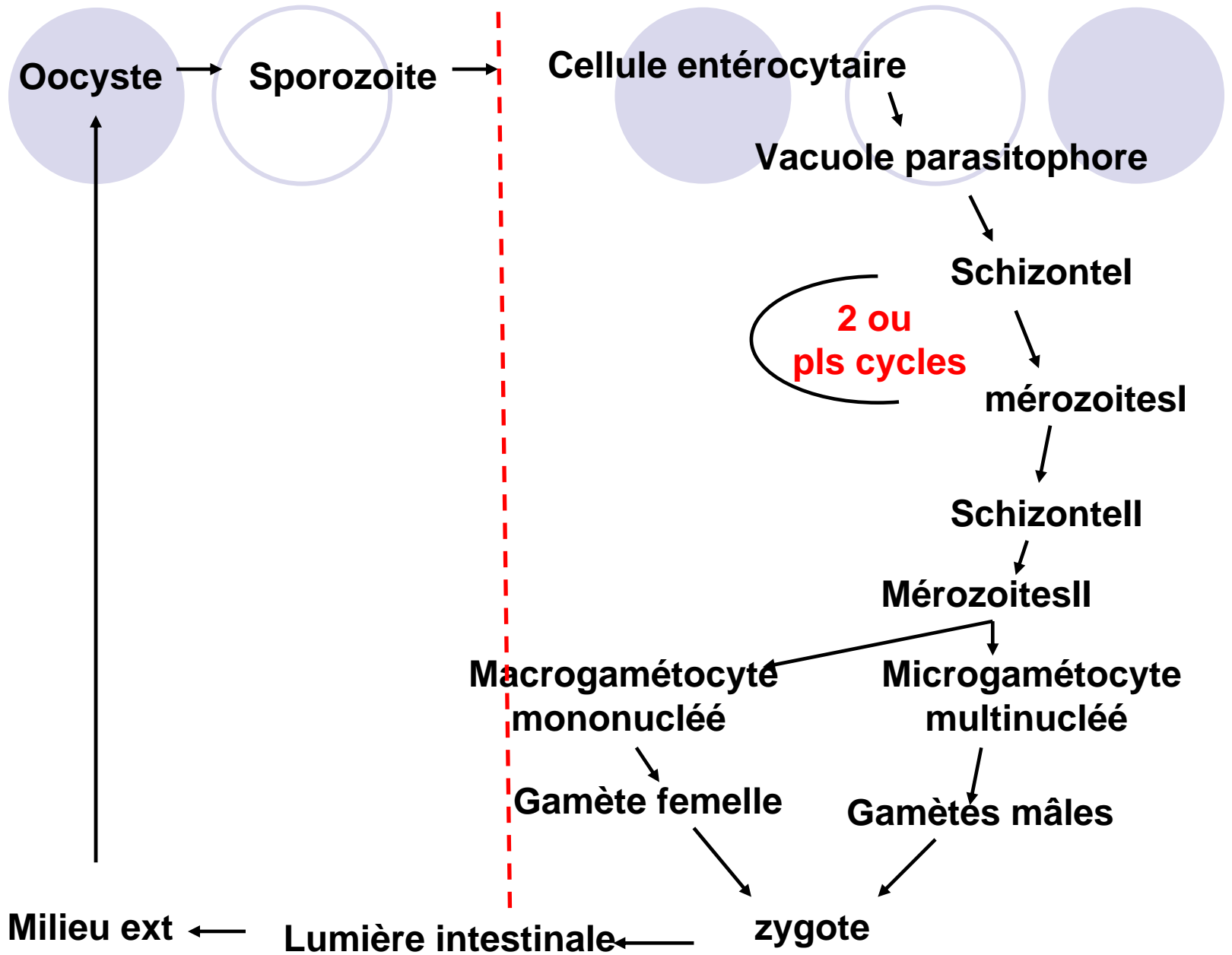
- **Phylum des Apicomplexa**
 - Complexe apical (microtubules, rhoptries, grains denses) dans les formes infestantes
 - **Classe des coccidies**
 - *Cryptosporidium spp*
 - *Cyclospora spp*
 - *Isospora belli*
 - *Sarcocystis hominis*
- } monoxènes
- } hétéroxènes

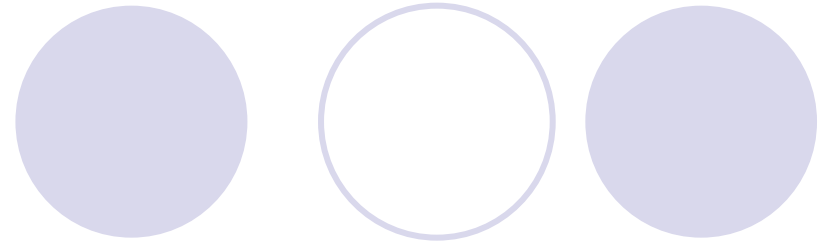
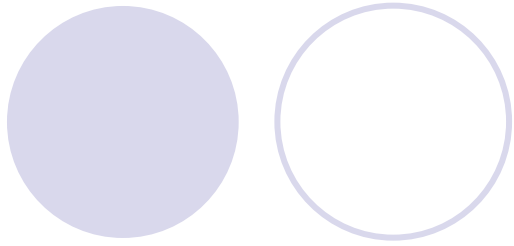


● **Coccidies monoxènes** :

- Le cycle évolutif se fait entièrement chez un seul hôte (intestin et ses annexes) : schizogonie et gamogonie
- Caractères distinctifs :
 - Morphologie de l'oocyste (stade diagnostique : genre+++ pas tjs de l'espèce)
 - Période prépatente (nombre de générations asexuées)
 - Durée de la période patente (d'excrétion des oocystes)

Sporogonie





La cryptosporidiose

Classification à l'intérieur du genre *Cryptosporidium*

- 1984 : 4 espèces parasites:
 - Des mammifères : *C. muris*
 - Des oiseaux : *C. meleagridis*
 - Des reptiles : *C. crotali*
 - Des poissons : *C. nasorum*
- 1985 : distinction *C. muris* / *C. parvum*
- A partir des années 1990 :
 - Diversité phénotypique et génotypique
 - Développement du **séquençage d'ADN** : éclatement de la classification
 - espèces génotypes
 - variabilité intra-spécifique

Espèce	Hôte principal
<i>C. parvum</i>	Bovins, ovins, homme
<i>C. hominis</i>	Homme, singe
<i>C. muris</i>	Rongeurs, camélidés
<i>C. andersoni</i>	Bovins, camélidés (gastrique)
<i>C. bovis</i>	Bovins (intestin)
<i>C. ryanae</i>	Bovins (intestin)
<i>C. felis</i>	Chat
<i>C. wrairi</i>	Cobaye
<i>C. canis</i>	Chien
<i>C. suis</i>	Porc
<i>C. fayeri et C macropodum</i>	Kangourous, marsupiaux
<i>C. meleagridis</i>	Oiseaux (dinde)
<i>C. baileyi</i>	Poulet, dinde, oiseaux
<i>C. galli</i>	Poulet , autres oiseaux
<i>C. serpentis</i>	Lézards, serpents
<i>C. varanii</i>	Lézards
<i>C. molnari</i>	poissons

**Espèces considérées
comme valides (2009)**

Principales espèces identifiées chez l'homme

Espèce / génotype
<i>C. hominis</i> (anciennement <i>C. parvum</i> génotype 1)
<i>C. parvum</i> (anciennement <i>C. parvum</i> génotype 2)
<i>C. meleagridis</i>
<i>C. felis</i>
<i>C. canis</i>

90%

Historique

1907 : Tyzzer : glandes fundiques de la souris (*C. muris*)

1955 : Slavin : agent de diarrhée chez le dindon

1970-1980 : agent de diarrhée néonatale chez le veau, le porcelet, l'agneau, le chevreau... *C. parvum*

1976: description des 2 premiers cas humains.

1980-1990 : grave affection digestive chez l'homme immunodéficient (SIDA en particulier)

1983 : 1^{ère} épidémie transmise par eau de boisson banlieue de San Antonio, Texas, USA

1993 : Milwaukee – grande épidémie d'origine hydrique chez l'homme (403 000 cas; individus immunocompétents)



1995 -2009 :

Parasite de distribution mondiale

USA - Grande Bretagne : beaucoup d'eaux de surface (lacs, rivières...) sont contaminées par des cryptosporidies :

- L'agriculture et à la faune sauvage
- Les eaux d'égouts de populations infectées
- Les **procédés de traitement des eaux usées**, filtration et désinfection, ne sont pas totalement efficaces pour éliminer complètement *Cryptosporidium*

Sérieux pathogène chez l'individu immunodéficient

Sous-diagnostiqué chez l'individu immunocompétent

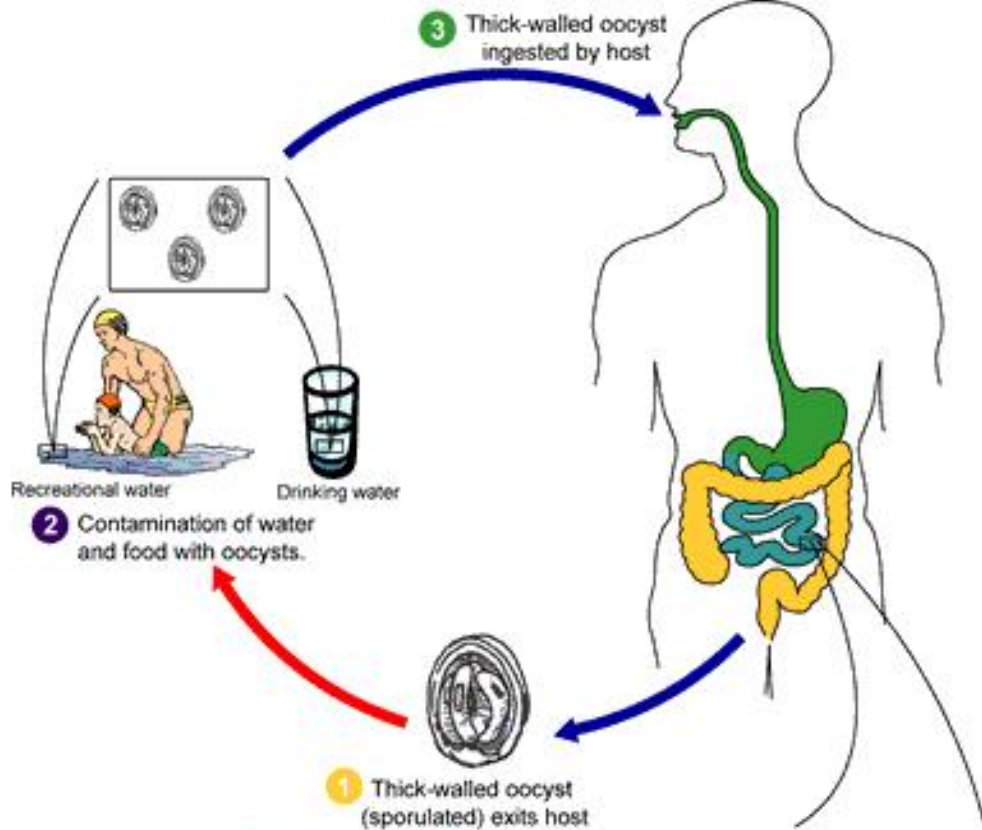
Plusieurs nouvelles espèces identifiées (études génomiques)

Cycle Cryptosporidium



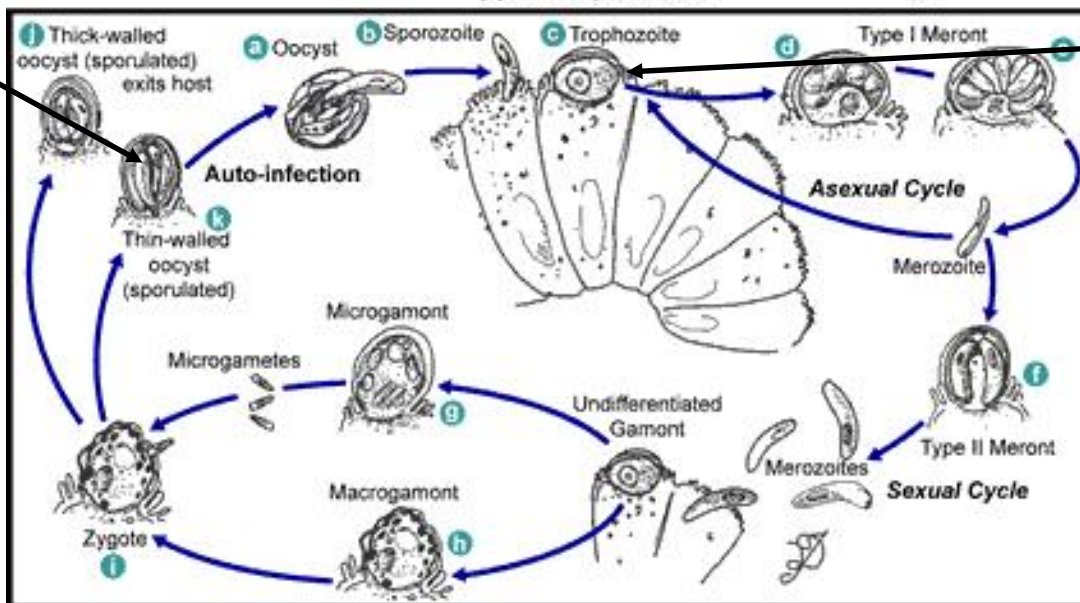
Principales caractéristiques du cycle :

- Absence de spécificité marquée
- Tropisme pour les cellules épithéliales : Intestin grêle et colon +++ ; Epithélium respiratoire +
- Sporulation in situ et contagiosité marquée (directement infestant)
- Caractère auto-infectieux (oocystes à paroi fragile)
- Localisation très superficielle entre cytoplasme et membrane plasmique mais néanmoins intracellulaire



Oocyste à Paroi mince

Sporulation in situ



Localisation superficielle

Immunité



- Atteinte des jeunes individus surtout (veaux, chevreaux, enfants...)
- Immunodéprimés ! (SIDA)
- Réponse sérologique importante, concentration dans le colostrum mais rôle controversé.
- Rôle essentiel par les lymphocytes CD4+
- Importance de la réponse de type Th1 (IFN gamma et IL-12) dans le contrôle de l'infection

Physiopathologie



Mécanisme de l'invasion de la cellule épithéliale

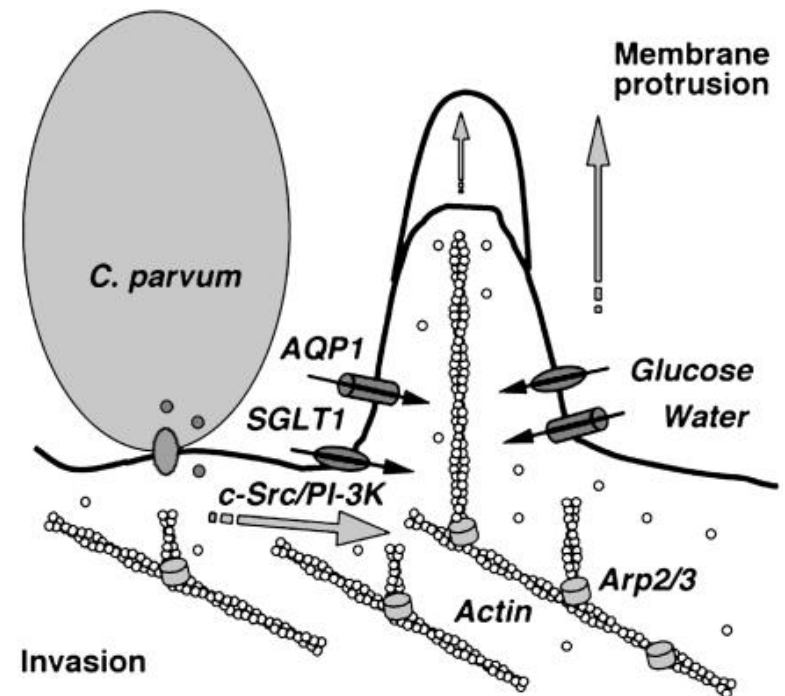
- Adhérence **GP15-GP40-GP900+++**
- Invasion Trends Parasitol 2008; 24:509-16
- Internalisation dans la vacuole parasitophore

Mécanisme de l'invasion cellulaire

L'invasion cellulaire se fait grâce à l'émission de protrusions qui encapsulent le parasite dans sa vacuole parasitophore :

- *C. parvum* provoque un **flux de glucose et eau** qui facilite la protrusion membranaire de la cellule hôte *PNAS* 2005, **102**: 6338-42
Augmentation du volume cellulaire accompagnant la protrusion membranaire liée à la polymérisation de l'actine.
- Autre voie de signalisation impliquant **la GTPase Cdc 42** pour entraîner un remodelage de l'actine cellulaire

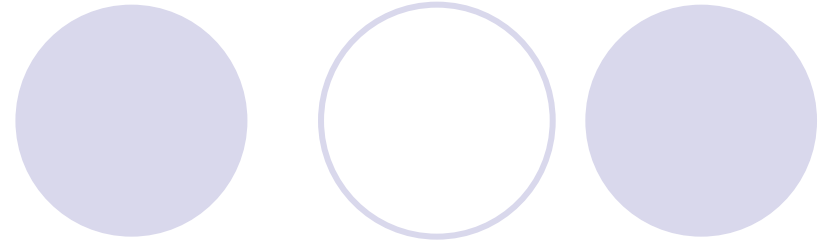
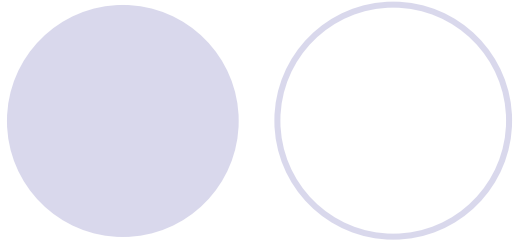
Infect Immun 2004, **72**: 3011-3021





Pathogénie et pathologie

- Atrophie et fusion des villosités
- Disparition des microvillosités au site de fixation
- Infiltration cellulaire
- Déséquilibre osmotique



Symptômes

DIARRHÉE (en moyenne après 7j) : abondantes
selles aqueuses

Crampes abdominales, nausées, vomissements

Céphalées

Anoréxie

Altération de l'état général



- **IC**

- Incubation 3 à 12 j
- Diarrhée hydrique profuse
- +/- douleurs abdominales, fièvre, céphalées, myalgies
- **Spontanément résolutif en < 15 jours**
- Co-infections possibles
- Diarrhée chronique et malnutrition



- **ID**

- Sévérité et chronicité
- Résistance aux anti-infectieux
- Extension :
 - Voies biliaires
 - Arbre aérien

Épidémiologie

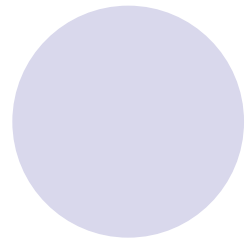
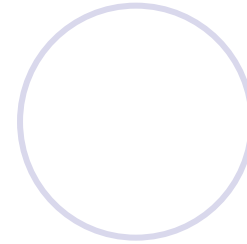
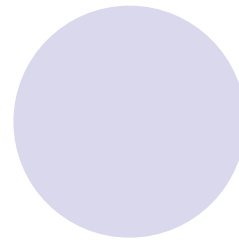
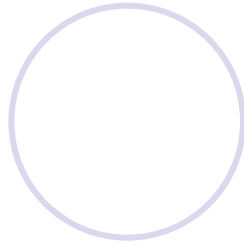
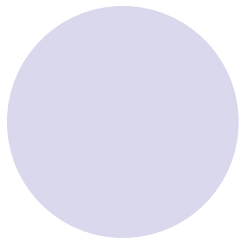


- Séroprévalence

- 25%-35% Europe et Amérique du nord
- > 64% en Amérique du sud (Ungar et al. , 1990).
- 50-95% Pays en développement

- Adulte immunocompétent

- pays industrialisés : 2% des diarrhées
- pays en développement: 6% des diarrhées
- France: 831 adultes asymptomatiques: 0.36% [0.15 à 1.5%]



● Enfants

○ Aux USA :

- 7,4% enfants diarrhéiques *J Infect Dis* 1999; 180 : 167-75

○ En France :

- 0.32% chez 932 enfants de crèches bien portants
- 4.2% chez 260 enfants de crèches avec diarrhée
- 5% chez 103 enfants de crèche avec diarrhée [21% en phase épidémique]

○ En Tunisie :

- Fathallah et col. [Archives de Pédiatrie](#) 2004 ; 11 : 207-211

12 ans (1991–2002) : recherche d’ocystes dans les selles de 34 020 enfants immunocompétents.

0,32 % ⊕ (108 selles) ; 93% < 5ans



● Patients ID

- Pays développés : 6-70% des patients ID avec diarrhée et 14% dans les pays en voie de développement (Chen et al. 2002).
- VIH+ en France :
 - Prévalence
 - avant 1996: 9 à 37 % selon les études
 - depuis 1996: environ 2 à 3 %
 - Incidence annuelle [CISIH]
 - 1993: 124/10 000 personnes années
 - 2000: 12/10 000 personnes années
- En Tunisie :
 - Hôpital la Rabta : 11%



Modalités de contamination

- **Consommation d'eau souillée**
- Bains en eaux contaminées
- Transmission zoonotique
 - Indirecte : eau ou environnement souillés.
 - Directe : éleveurs, vétérinaires
- Transmission alimentaire
- Transmission inter-humaine [crèches; hôpitaux; famille ..]

Transmission hydrique+++

Facteurs favorisants:

- L'excrétion massive d'oocystes par les individus (ou bétail) infectés qui assurent la contamination des ressources hydriques
- La **taille réduite des oocystes**
- Leur résistance au chlore et dans l'environnement
- Leur caractère sporulé
- La faible dose infectante pour l'homme, même immunocompétent (pas de consensus sur la dose infectante minimale estimée entre 10 et 100 oocystes)

- Épidémies importantes (qq cas-plusieurs centaines de milliers)
- 1983-1995 :
 - 12 épidémies en GB
 - 11 épidémies aux USA
 - 4 épidémies au Canada
- 2001 : 6000-7000 cas au Canada
- France :
 - Sète, septembre 1998
 - Dracy le Fort, septembre 2001
 - Divonne les bains, août 2003
 - Vesoul, septembre 2003

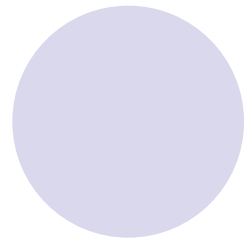
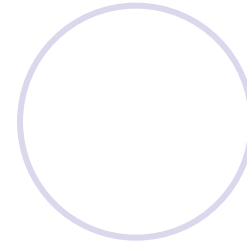
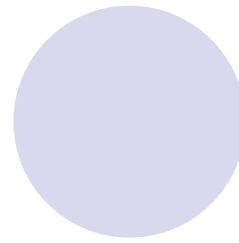
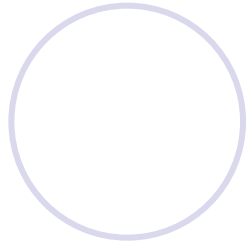
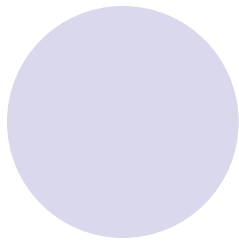


Défaillance de traitement de l'eau potable



Montandon P.-E. GWA. 1998, vol. 78, no1, pp. 18-27

- En 1984, la première épidémie à *Cryptosporidium* transmise par l'eau de boisson a eu lieu dans une banlieue de San Antonio, Texas, USA, après la contamination de l'eau d'un puits artésien par des eaux usées. Depuis, plusieurs épidémies de grande envergure ont été enregistrées aux USA et en Grande-Bretagne, dont celle de Milwaukee, état du Wisconsin, USA, en 1993 pendant laquelle 403 000 personnes ont été infectées. Les causes de ces épidémies sont la contamination des eaux brutes par le parasite *Cryptosporidium*, le mauvais entretien des installations de traitement et/ou des défauts dans la chaîne de traitement de l'eau brute. Ces épidémies ont montré que l'eau potable peut transmettre des maladies même lorsque les valeurs des paramètres microbiologiques de l'eau sont respectées. Plusieurs études ont encore montré que le parasite contamine fréquemment les eaux de surface, la concentration en ookystes (oeufs enkystés, agents de transmission de la cryptosporidiose) étant plus importante dans les eaux souillées par des matières fécales. On trouve également *Cryptosporidium* dans des eaux potables filtrées, bien que la teneur en ookystes soit bien inférieure à celle mesurée dans les eaux brutes et/ou dans l'eau potable lors d'épidémies. Enfin, la comparaison des concentrations en ookystes déterminées pendant les épidémies et, respectivement, en période normale permet d'estimer qu'un **risque d'épidémie devient réel lorsque la teneur en ookystes atteint ou dépasse les valeurs de 10 à 30 ookystes par 100 litres**. Dans un tel cas, il faut prendre des mesures afin d'éviter le déclenchement d'une épidémie.



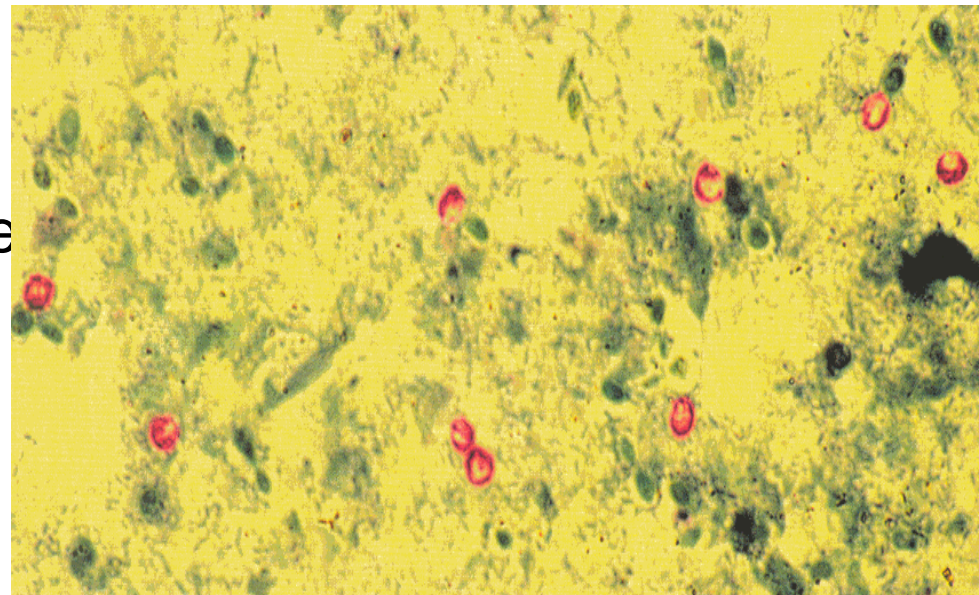
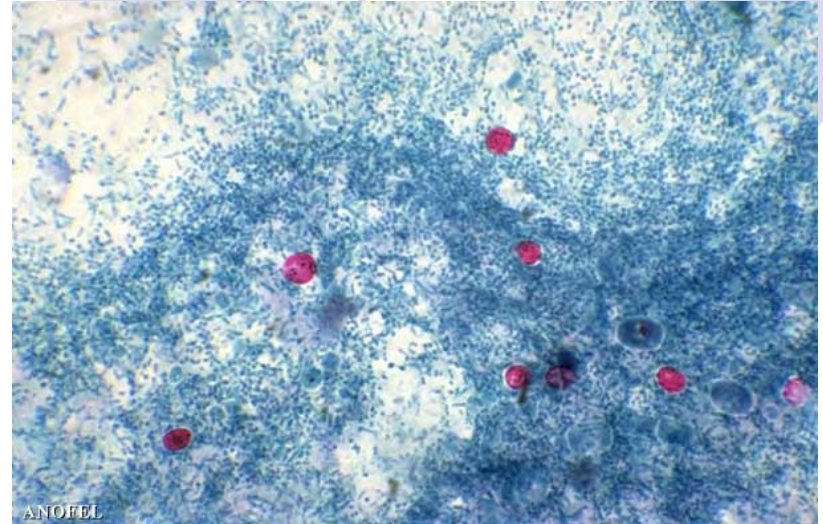
- *J Water Health*. 2010 Jun;8(2):399-404.

Detection of Giardia and Cryptosporidium cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas.

[Razzolini MT](#) & al.

US EPA-Method 1623, 2005, consisting of 12 from **drinking water** and 13 from **raw water**. Positive samples from raw water for Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts were 46.1 and 7.6%, respectively. In finished water, **positive samples** were 41.7% for Giardia cysts and **25.0% for Cryptosporidium oocysts**. Concentrations of Giardia cysts found in raw water samples ranged from "not detected" to 3.4 cysts/L, whereas concentrations of Cryptosporidium oocysts ranged from "not detected" to 0.1 oocysts/L. In finished water, Giardia concentrations ranged from "not detected" to 0.06 cysts/L, and Cryptosporidium, from "not detected" to 0.01 oocysts/L. Concentrations of Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts were not high in the samples analyzed. Nevertheless, the results of this study highlight the need to monitor these organisms in both raw and drinking water.

- Diagnostic biologique
 - Identification des oocystes dans les selles +++
 - Éventuellement LBA, bile
 - Taille et transparence des oocystes →
Colorations de Ziehl-Neelsen ou de phénol-auramine appliquées aux frottis de selles concentrées
Sens = 10^4 - 5×10^4 oocystes/g de selle



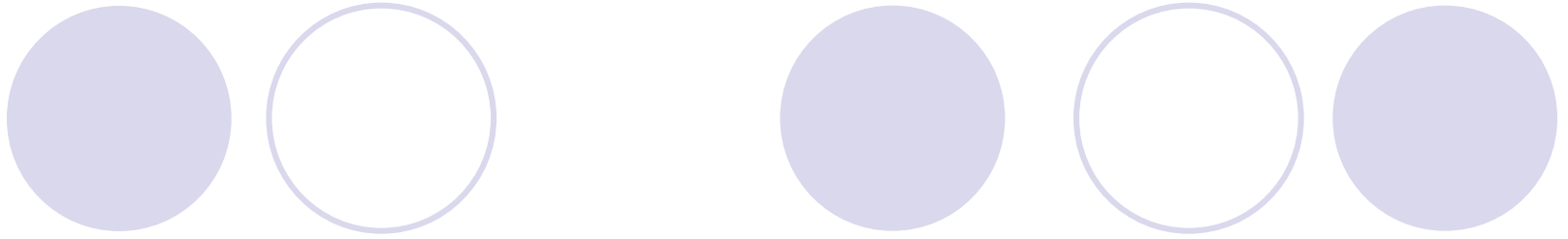


○ Détection d'antigènes parasitaires

- ELISA (capture des coproantigènes)

Sens = $3 \cdot 10^5$ - 10^6 oocystes/ml

- TDR (Giardia et Cryptosporidium) sur membrane de nitrocellulose



○ L'immunofluorescence directe

- Ac monoclonaux sont appliqués sur les frottis de selles.
- Lecture au microscope à fluorescence
- Une excitation UV induit une fluorescence vert pomme brillante des oocystes
- Le fluorogène nucléaire 4'6-diaminido-2-phenyl indole peut être utilisé pour éclairer les noyaux des sporozoïtes à l'intérieur des oocystes fluorescents



○ Biologie moléculaire

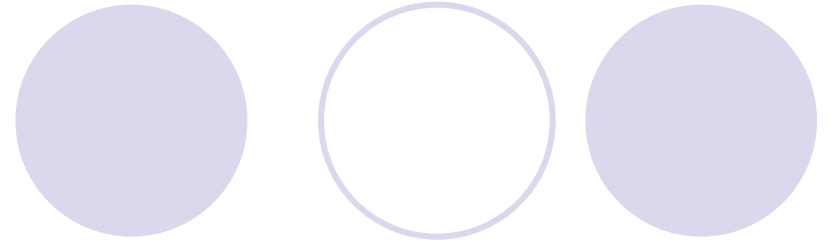
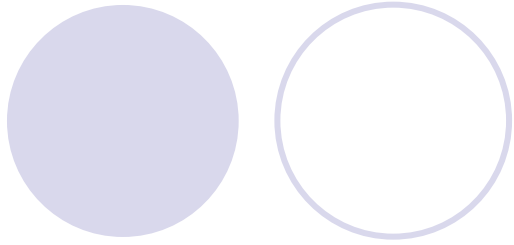
● PCR

- Cibles des PCR :
- région Hsp70 : spécifique de *C. parvum*
- région hypervariable du gène de l'ARN r 18 S: commune à toutes les espèces de *Cryptosporidium*
- Sensibilité PCR : 1000 Oocystes /g de selles

● RFLP

● Séquençage

- Espèces/génotypes ou sous-types de cryptosporidies
- Caractérisation des souches (épidémies-sources d'infections)
- Taxonomie



○ Diagnostic sérologique

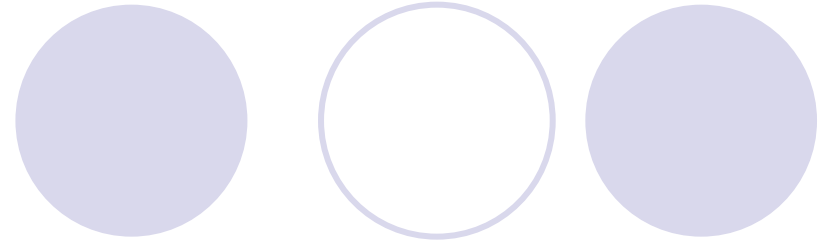
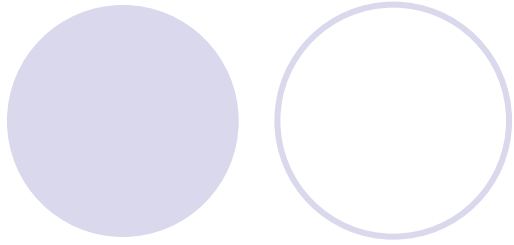
- IFI, ELISA
- Enquêtes épidémiologiques

Conclusion

- L'impact actuel de la cryptosporidiose est lié à la nécessité d'évaluer le risque environnemental, notamment hydrique et alimentaire (importantes épidémies).
- Les critères morphologiques sont insuffisants pour distinguer les espèces de *Cryptosporidium*. En revanche, les outils moléculaires permettent d'identifier le genre, la plupart des espèces et les variétés infraspécifiques :
 - Existence de l'espèce *C. hominis*, inféodé à l'homme et peu infectante pour l'animal
 - et de *C. parvum* propre au bétail, mais pouvant aussi infecter l'homme.
 - Existence d'autres génotypes et d'autres espèces pouvant parasiter l'homme...

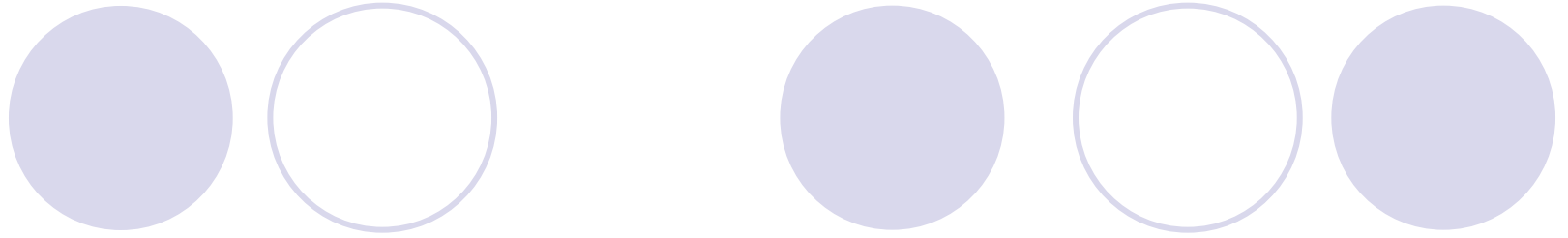
- **BEH 6 janvier 2009**

L'objectif de cette étude est de décrire la fréquence et les caractéristiques de la cryptosporidiose en France. Elle a été réalisée par le réseau Cryptosporidies Anofel qui, sur la base du volontariat, regroupe 36 laboratoires hospitaliers de parasitologie répartis sur tout le territoire national. De janvier 2006 à décembre 2007, 179 cas de cryptosporidiose ont été notifiés (96 en 2006 et 83 en 2007). Au cours des deux années, la même saisonnalité des cas a été observée, avec un pic en fin d'été/début d'automne. L'analyse des données montre que 60 % des cas sont survenus chez des patients immunodéprimés (principalement par le VIH, 48 %). L'analyse par classe d'âge montre un pic dans la classe 0-4 ans. Le génotypage de 137 isolats montre la **représentation majoritaire de *Cryptosporidium parvum* (53 %) et *C. hominis* (43 %)**, les autres espèces d'origine animale étant rares (10 *C. felis*, 3 *C. meleagridis*, 1 *C. canis*, 1 génotype « lapin » de *C. parvum* et 1 nouveau génotype de *C. parvum*). Cette étude est la première à fournir une information étendue à l'ensemble de la France sur la cryptosporidiose humaine.



La cyclosporose

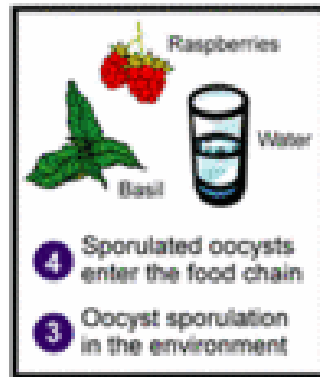
- Connaissance récente
 - Le genre *Cyclospora* comporte actuellement 17 espèces mais seule l'espèce *Cyclospora cayetanensis* a été retrouvée chez l'homme et est à l'origine d'une cyclosporose.)
- Spécificité d'hôte?



- 1^{ère} description de l'infection en 1977
- 1^{ère} épidémie en 1990 dans un hôpital à Chicago
- D'autres épidémies en 1996 et 1997 aux USA et Canada (**framboise importée du Guatemala et basilic**)



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



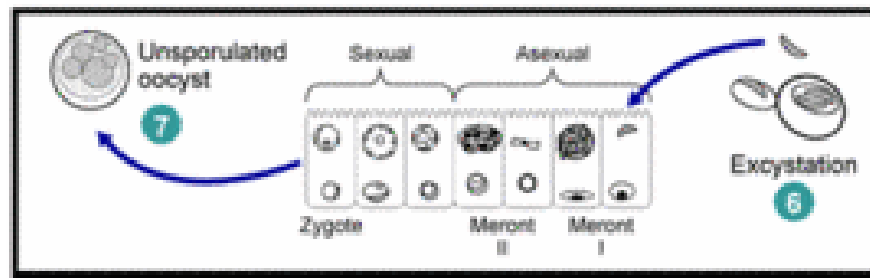
2 Environmental contamination

Sporulated oocyst
5 Ingestion of contaminated food/water

Unsporulated oocyst
1

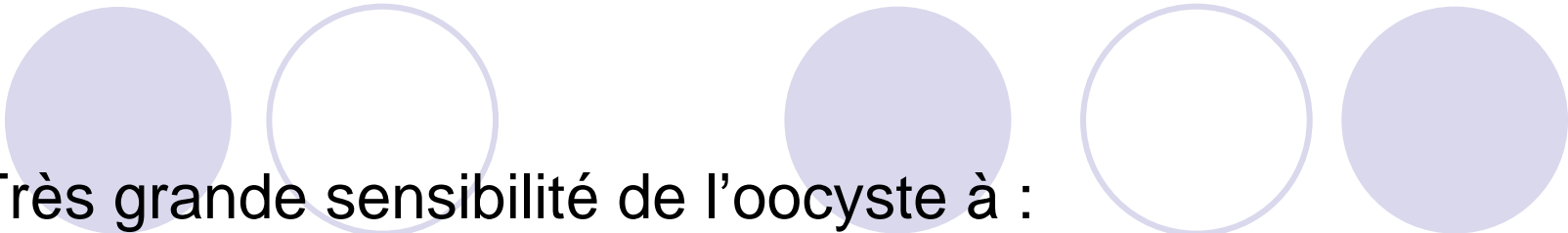
Excretion of unsporulated oocysts in the stool

▲ = Infective Stage
▲ = Diagnostic Stage



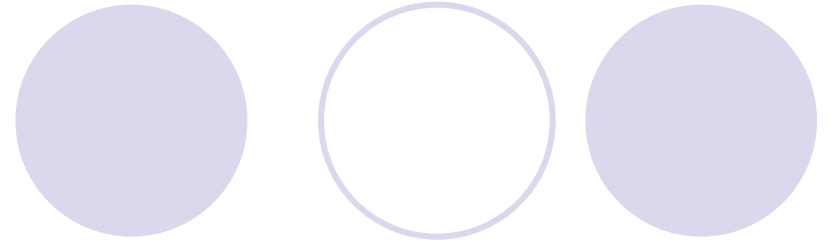
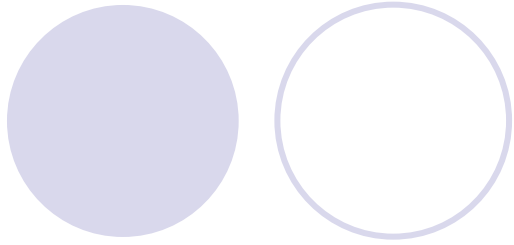
Maturation dans le milieu ext

Deux générations De schizogonie

- 
- Très grande sensibilité de l'oocyste à :
 - la dessiccation
 - le degré d'humidité voire le milieu hydrique semblent profondément impliqués dans sa survie
 - la température (elle doit être comprise entre 22°C et 32°C pour la sporulation)
 - Répartition géographique réduite au niveau des régions humides intertropicales
 - Exception d'une épidémie de cyclosporose survenue en Allemagne en 2000 pour laquelle la contamination a pu être rapportée à la consommation de salade cultivées dans le sud de la France et/ou le sud de l'Italie.
 - La présence de *Cyclospora cayetanensis* a été prouvée aussi bien au niveau des **réservoirs d'eau** au sein des habitations que dans certains **sites naturels** (lacs, rivières au Viet Nam).



- Sensibilité des oocystes aux désinfectants :
 - Résistant à l'eau chlorée
 - Seraient sensibles à la filtration de l'eau et exposition aux UV
 - Congélation ???
- Mode de contamination
 - Hydrique : robinet, rivières, lacs...
 - **Alimentaire** : produits provenant de zones d'endémie et consommés frais, crus et non épluchés.



- Symptomatologie
 - Idem que cryptosporidiose
 - Diarrhée des voyageurs

- Diagnostic

- Notion de séjour en zone d'endémicité

- EPS

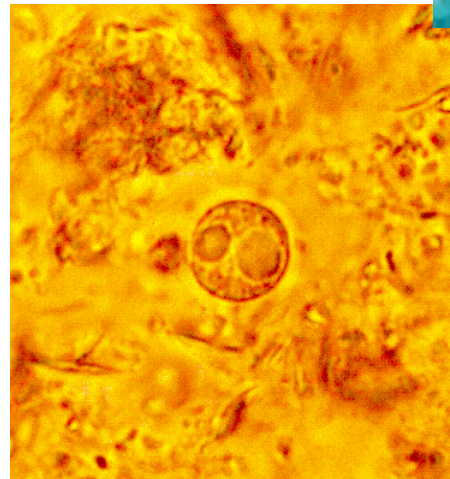
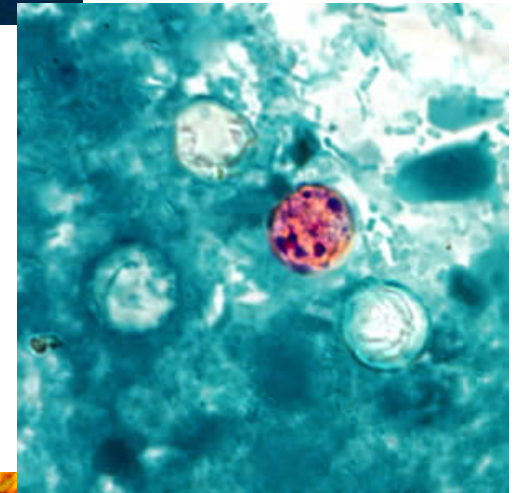
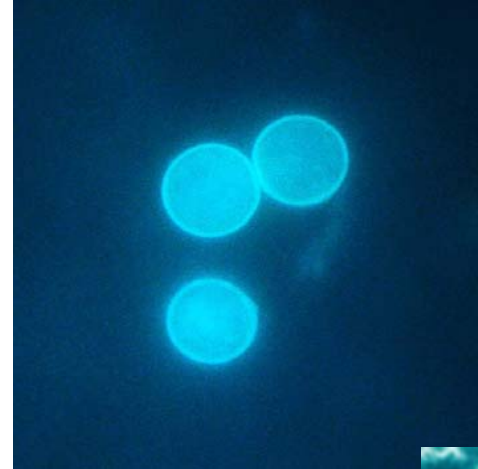
- la paroi des oocystes de *Cyclospora* possède une fluorescence naturelle intense

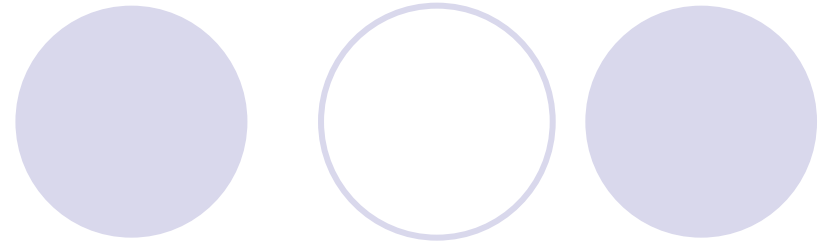
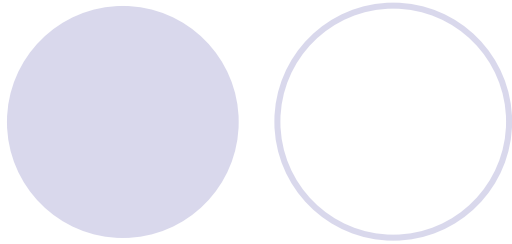
- Coloration de safranine modifiée > ZN

- Biologie moléculaire :
Rapide, fiable et sensible,

- Appliquée sur divers prélèvements de l'environnement (eau, fruits, légumes)

- Épidémies

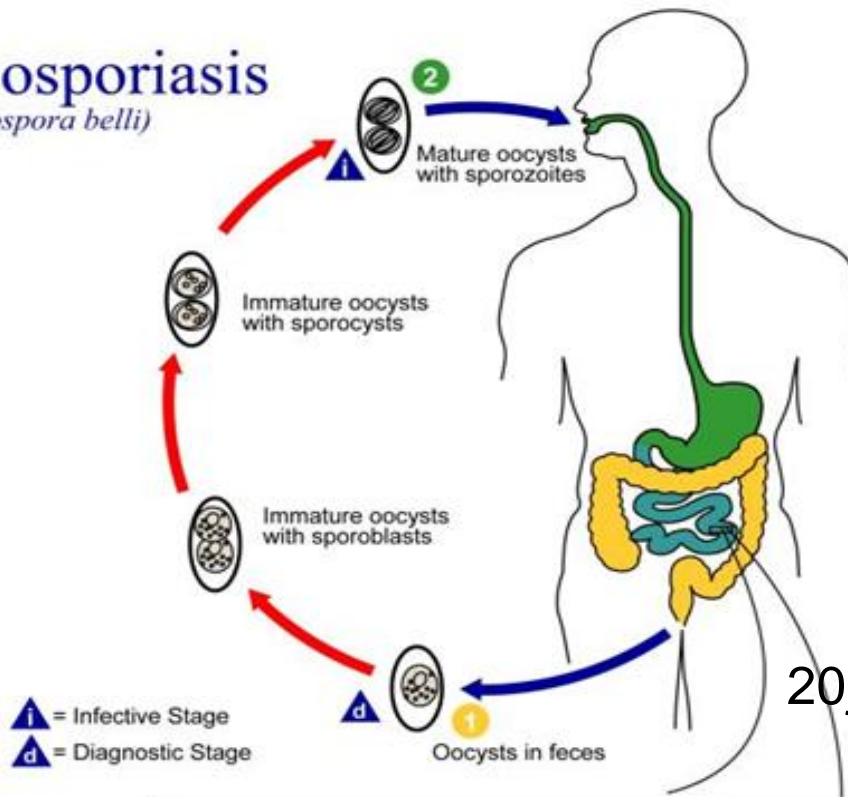




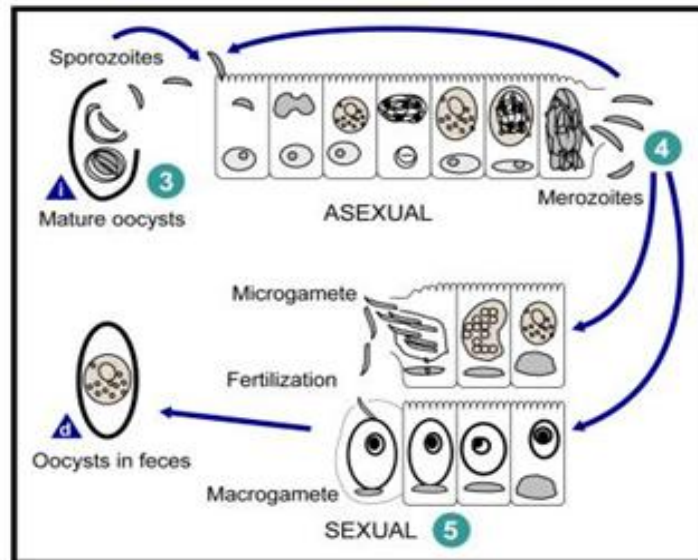
L'isoporose

- Nombreuses espèces-animaux très divers
- *Isospora belli* est l'espèce infectant l'homme.
- 1915 : 1^{ère} description dans les selles de soldats en région méditerranéenne

Isosporiasis (*Isospora belli*)



**Maturation dans
le milieu ext**



hypnozoïtes

1 seule génération
de schizogonie

Nbre ???



● Épidémiologie

- Cosmopolite

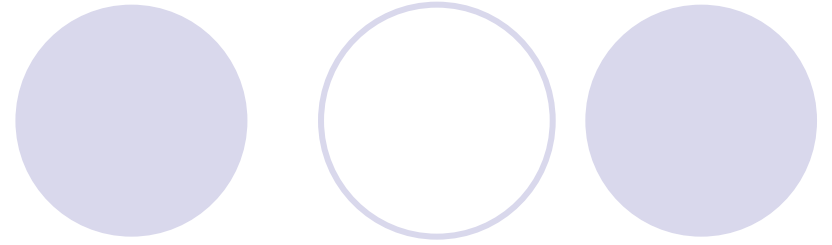
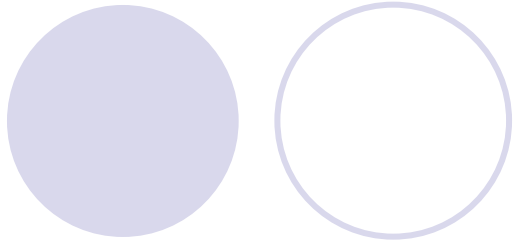
- Zones tropicales > zones tempérées

- ID (VIH+) > IC

(VIH+ Haïti 15%, Mexique 5'4%, Brésil 9,9%, Afrique subsaharienne 19%, sud-est asiatique n7,5%, Égypte, Turquie)

- Pas de réservoirs animaux identifiés

- Transmission féco-orale (eau, aliments , mains souillées de terre)



- **Symptomatologie**

- Idem que cryptosporidiose
- Peut être grave chez l'IC

- Diagnostic biologique

- Hyperéosinophilie
inconstante

- EPS

- **État frais**

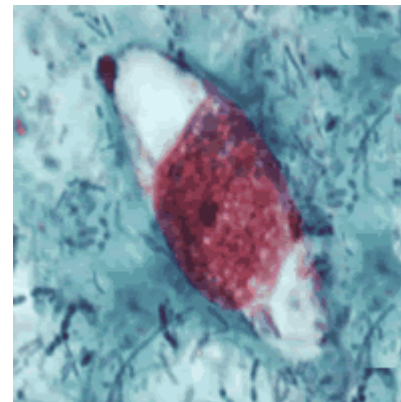
- **ZN**

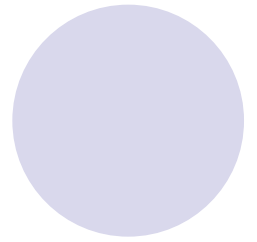
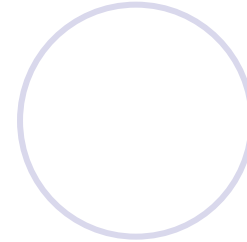
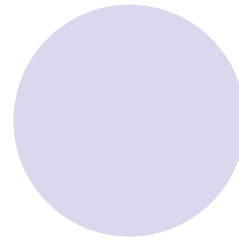
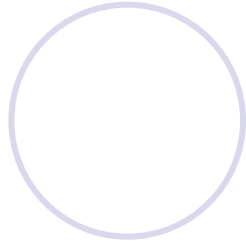
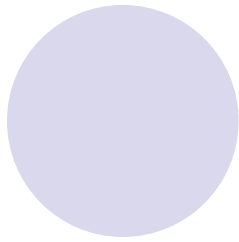
- Diagnostic
anatomopathologique

- Non spécifique

- Atrophie des villosités et
hyperplasie des cryptes

- Pfs nombreuses cellules
éosinophiles dans le
chorion

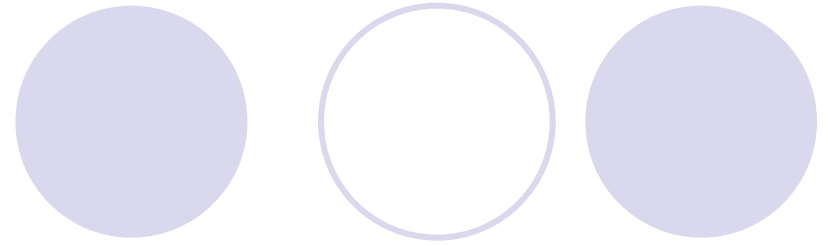
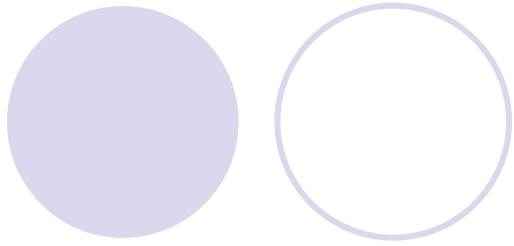




	<i>Cryptosporidium</i>	Cyclospora	Isospora
Sporocystes	Absents	2	2
Sporozoïtes	4(1×4)	4(2×2)	8(2×4)
Forme	Ovale-ronde	Sphérique	Allongée
Taille	4-5μ	8-10μ	>20μ
Etat frais	invisible	Tranparent en lentilles de verre	Ovale allongée

La sarcocystose

- **Coccidiose digestive hétéroxène**
- **Proie/Prédateur**
 - HI : herbivore (kystes intra-musculaires contenant des bradyzoïtes = sarcocystes)
 - HD : carnivore (gamogonie et sporogonie)
- Les espèces du genre *Sarcocystis* montrent une spécificité assez stricte pour un couple d'hôtes vertébrés déterminés
- Combinaison spécifique de deux hôtes est à l'origine du nom d'espèce
 - *S.suihominis* (porc-homme)
 - *S.bovihominis* (bœuf-homme)
 - *S.ovicanis* (mouton-chien)



- L'homme est :

- un **hôte définitif obligatoire** pour deux espèces *S.suihominis* et *S.bovihominis* : sarcocystose intestinale
- et un **hôte intermédiaire possible** pour un groupe encore indéterminé d'autres espèces : sarcocystose musculaire

Sarcocystes :

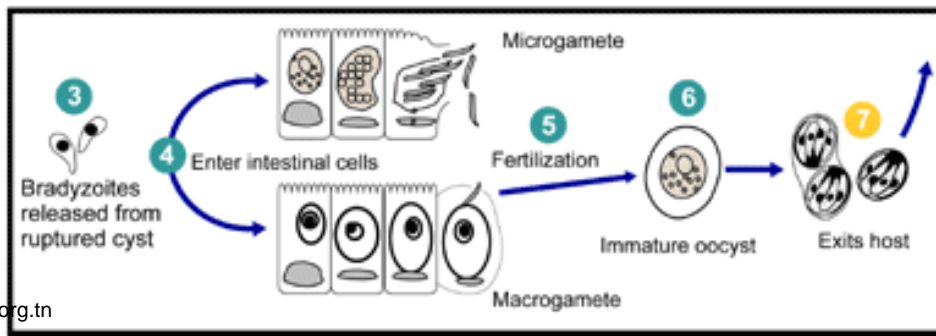
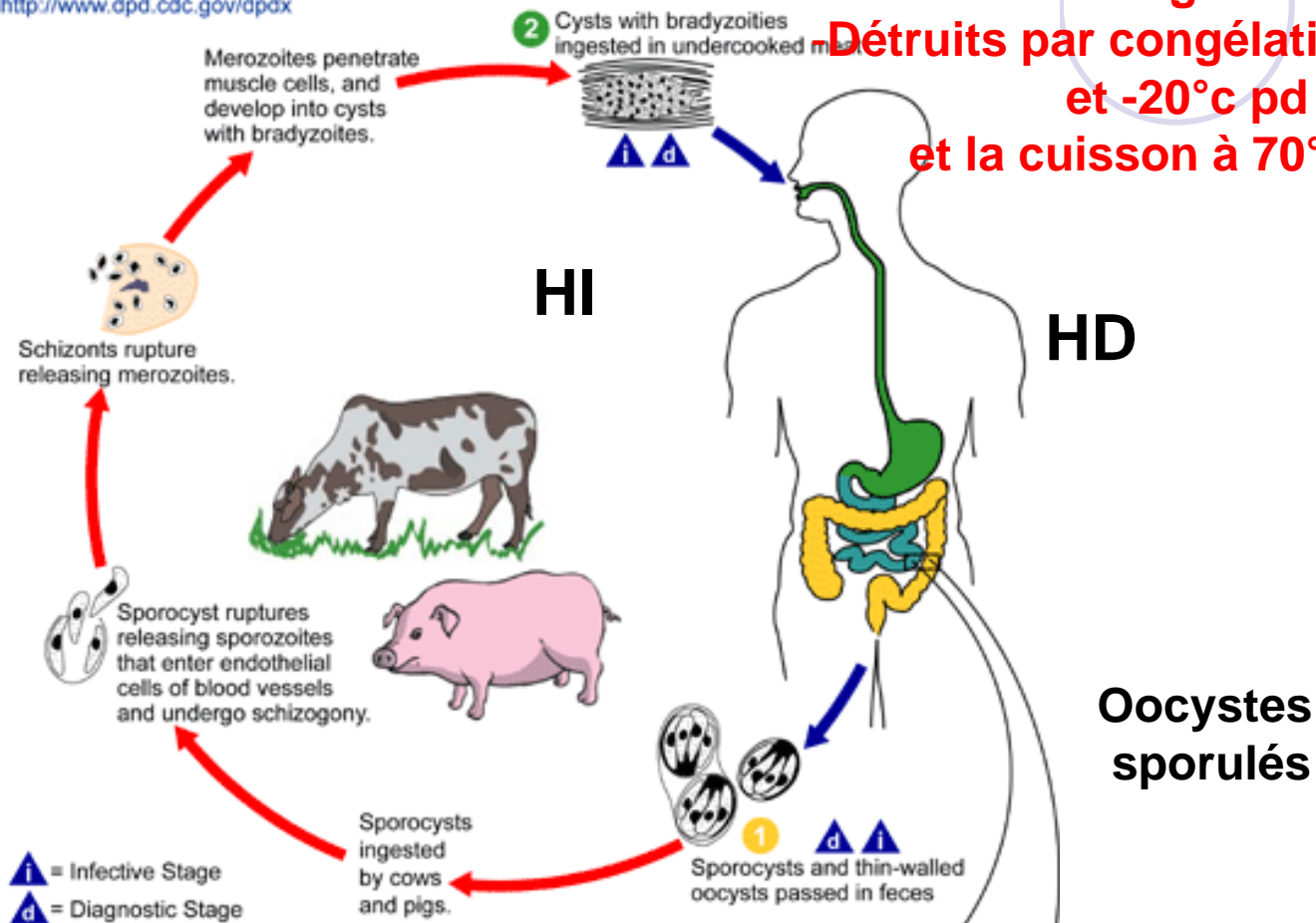
-R 15j à la mort de l'hôte

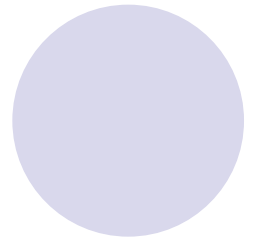
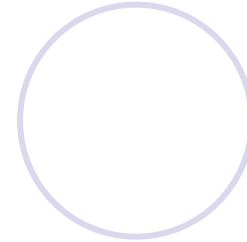
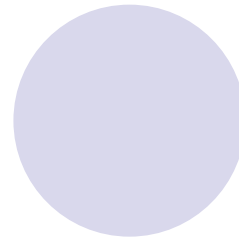
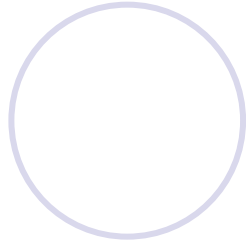
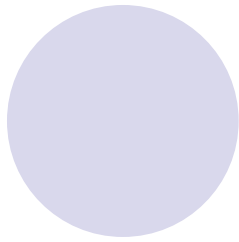
-R réfrigération -2°C

Détruits par congélation -5°C pd 48h

et -20°C pd 24h

et la cuisson à 70°C pd 25mn





● Sarcocystose intestinale

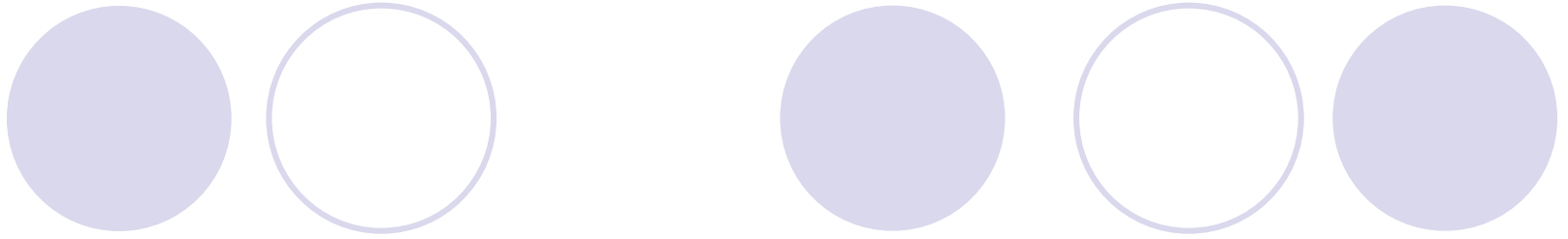
○ Fréquence ?

- 2 % en Allemagne
- 10-12% aux Pays Bas
- 4-32% en France

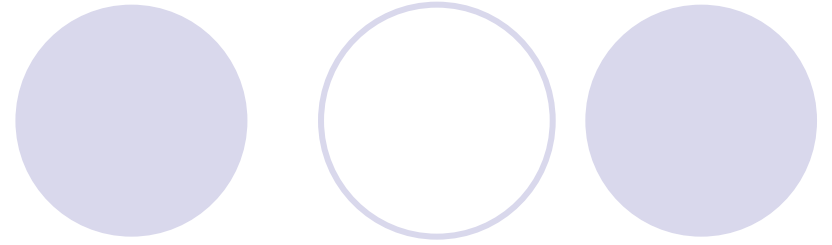
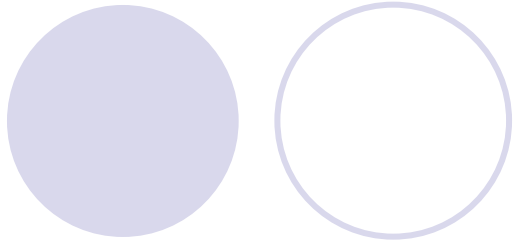
○ Infection des bovins : 42 % en région parisienne

○ Infection des porcs : 3 % à 30 % en Allemagne

○ *S.suihominis* serait plus pathogène que *S.bovihominis*



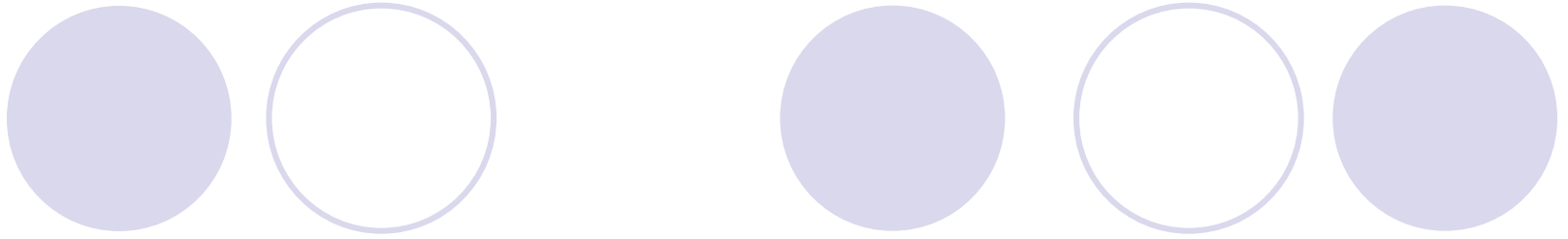
- L'homme se contamine en mangeant de la viande de bœuf ou de porc insuffisamment cuite (infection très fréquente des animaux)
- La sarcocystose intestinale est généralement asymptomatique
- Parfois
 - syndrome toxi-infectieux immédiat (toxine : **sarcocystine**)
 - suivi 15j plus tard d'une diarrhée abondante associée à des vomissements



- Diagnostic

- EPS : oocystes entiers
ou sporocystes voire
sporozoïtes (Kato+++)





● **Myosites éosinophiliques**

- Grande majorité des cas décrits dans le Sud-Est Asiatique : en Malaisie et en Thaïlande
- Cas rapportés
 - Cardiopathie sarcocystique mortelle, en Amérique du Sud, à Costa Rica
 - Muscles du larynx
 - L'appareil broncho-pulmonaire
 - La langue



Conclusion

- **Cryptosporidiose**
 - Enfants et VIH+
 - Épidémies hydriques
 - Génotypage
- **Cyclosporose**
 - Eau et surtout alimentation souillée
 - Diarrhée des voyageurs
- **Isosporose**
 - VIH+