

## LES MICROSPORIDIOSSES INTESTINALES : EPIDEMIOLOGIE, PATHOGENIE ET DIAGNOSTIC

## THE INTESTINAL MICROSPORIDIOSIS: EPIDEMIOLOGY, PATHOGENESIS AND DIAGNOSIS

E. SIALA, N. CHABCHOUB, A. BOURATBINE et K. AOUN

Laboratoire de recherche «Parasitoses émergentes», Institut Pasteur de Tunis

**Correspondances :** Dr Emna SIALA  
Laboratoire de Parasitologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis.  
13, Place Pasteur, BP 74  
1002 Tunis-TUNISIE

Tél : 71 801 376- 98 383 568  
Fax : 71 791 833  
E-mail : [emna.siala@rns.tn](mailto:emna.siala@rns.tn)

### Résumé

Les microsporidies sont des parasites opportunistes dont l'émergence a fait suite à l'épidémie du SIDA. D'autres causes d'immunodéficience sont également des facteurs de risque. Les espèces les plus fréquentes chez l'homme sont *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis* qui sont essentiellement responsables d'une diarrhée chronique. Une dissémination de l'infection vers d'autres organes est possible mais rare. Le diagnostic biologique repose sur la coloration spécifique au Trichrome. L'utilisation des anticorps monoclonaux et de l'amplification génique permet l'identification d'espèce, indispensable pour instituer un traitement adéquat.

**Mots-clés :** microsporidies, parasites opportunistes, diarrhée chronique.

### Summary

The microsporidia are opportunistic parasites which emergence followed the epidemic of the AIDS. Other reasons of immunodeficiency are also factors of risk. The most frequent species are *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* that mainly cause chronic diarrhea. The dissemination of the infection to other organs is possible but still rare. The biologic diagnosis is based on the specific coloration with Trichrome. The use of monoclonal antibodies and genic amplification permits species identification which is necessary to institute the adequate treatment.

**Key-words :** microsporidia, opportunistic parasites, chronic diarrhea.

Les microsporidioses intestinales sont des parasitoses opportunistes dont l'émergence en pathologie humaine a principalement fait suite à l'épidémie du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) [1, 2, 3]. Elles sont dues à des protistes primitifs dépourvus de mitochondries et à développement intracellulaire obligatoire : les microsporidies [1]. Ces parasites appartiennent au phylum des *Microspora* qui comporte actuellement plus de 1300 espèces réparties entre 144 genres [4].

Les espèces incriminées en pathologie intestinale humaine sont de loin dominées par *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis* [1, 5, 6]. D'autres espèces comme *Encephalitozoon cuniculi* et *Encephalitozoon hellem* ont été aussi incriminées. *Enterocytozoon bieneusi* est l'espèce la plus fréquente. Elle est responsable de 70 à 90% des microsporidioses intestinales [7], ses spores sont petites et ovalaires mesurant 1,5µm/1µm et se développent au contact du cytoplasme de la cellule hôte [5, 8].

Les spores d'*Encephalitozoon intestinalis* s'en distinguent par leur plus grande taille 2,5µm/1,5µm et par leur développement dans une vacuole parasitophore septée [1, 8].

Les microsporidies sont des parasites ubiquitaires, dont le pouvoir pathogène a été initialement décrit chez des espèces animales. Chez l'homme, le premier cas de microsporidiose a été identifié par Torrès en 1927 chez un brésilien adulte atteint de méningo-encéphalite [8]. Depuis, cette parasitose a été rarement rapportée jusqu'en 1985, date de la publication du 1<sup>er</sup> cas de microsporidiose à *Encephalitozoon bienewisi* chez un patient atteint du SIDA [2]. Entre 1990 et 1995, les microsporidies étaient considérées comme la 1<sup>ère</sup> cause de diarrhée chez les patients atteints de SIDA avec un nombre de cas qui n'a cessé de croître jusqu'à l'instauration des thérapies antirétrovirales qui ont permis une diminution de l'incidence de ces pathologies dans les pays industrialisés [1, 9].

## REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Les microsporidies sont des parasitoses cosmopolites, fréquentes chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) en Europe, aux Etats Unis mais également en Afrique, en Amérique du sud et en Australie [10, 11]. Selon les études, 15 à 50% des diarrhées chroniques des sidéens sont dues aux microsporidies [5, 6]. A Bamako, la microsporidiose intestinale a été diagnostiquée chez 32% des patients infectés par le VIH [12]. Cette prévalence est de 11.1% au Zimbabwe [13]. Les microsporidies intestinales ont été également rapportées chez des sujets immunodéprimés non infectés par le VIH, principalement des malnutris et des patients sous immunosuppresseurs ou chimiothérapie [3, 14]. Il faut préciser, cependant, que ces parasitoses intestinales ne sont pas uniquement l'apanage des immunodéprimés puisqu'elles ont été décrites chez des enfants et des adultes immunocompétents diarrhéiques [11, 15]. Des cas de microsporidiose intestinale ont été également observés chez des voyageurs au retour d'un séjour en zone tropicale [16]. Le portage asymptomatique fécal a été aussi

rapporté chez les sujets immunocompétents [15, 17].

Des études sérologiques ont montré une forte séroprévalence du genre *Encephalitozoon* chez les sujets immunocompétents en France et aux Pays bas [17].

En Tunisie, les 1<sup>ers</sup> cas de microsporidies intestinales ont été rapportés en 1997 [18, 19]. La prévalence chez les sidéens est de 5,7%, soit inférieure à celles rapportées dans la littérature mondiale [20]. Les microsporidies intestinales ont été également rapportées chez des enfants atteints de déficits immunitaires primitifs et chez un enfant immunocompétent diarrhéique [18, 21].

## PATHOGENIE

Chez l'homme les microsporidies semblent peu pathogènes et leur morbidité est surtout la conséquence d'une désorganisation de l'immunité cellulaire [6]. Certaines études ont mis en évidence, en plus de l'immunité cellulaire, une stimulation par les microsporidies de l'immunité humorale qui semble participer à la protection et la lutte contre ces parasites [1, 6]. En effet, les microsporidies activent la production des anticorps qui, cependant, n'induisent pas une protection mais peuvent jouer le rôle d'opsonines facilitant l'intervention des macrophages et le système du complément [1]. Des données expérimentales confirment le rôle joué par le système immunitaire dans le contrôle des microsporidies [1]. En effet, peu symptomatiques chez les animaux immunocompétents, ces infections deviennent létales chez ceux immunodéficients [22].

Au cours du SIDA, la microsporidiose intestinale s'observe habituellement à un stade avancé d'immunodépression avec des taux de lymphocytes T CD4  $\leq 50/\text{mm}^3$  [6, 23]. D'autres causes d'immunodéficience (traitement par immunosuppresseurs, malnutrition) sont aussi des facteurs de risque accru [1, 14]. La pathogénicité des microsporidies est la conséquence de leur prolifération incontrôlée souvent corrélée à une forte diminution de l'immunité cellulaire [1, 6]. La gravité des microsporidies intestinales résulte de l'altération de l'épithélium parasité dont le renouvellement n'arrive plus à compenser la desquamation [1,6].

Les microsporidies entraînent alors une atrophie villositaire avec infiltrat lymphocytaire évoquant un syndrome de malabsorption [23].

## CLINIQUE

La manifestation clinique la plus fréquente des microsporidioses intestinale chez l'immunodéprimé est une diarrhée liquidienne non glaireuse et non sanglante [8, 23]. L'infection qui évolue de façon chronique pendant des mois, provoque l'émission de 3 à 12 selles par jour. Il s'y associe une malabsorption, une perte d'appétit et une chute progressive du poids aggravée dans les formes sévères par une déshydratation aboutissant progressivement à la cachexie [5]. Une dissémination de l'infection vers d'autres organes est également possible. En effet, *Encephalitozoon intestinalis* est à l'origine de néphrites et de sinusites, alors que, *Enterocytozoon bienewisi* a été trouvé dans l'arbre trachéo-bronchique et les cellules hépatiques [23, 24]. Les 2 espèces peuvent être la cause de cholangite et de cholécystite [6].

Chez l'immunocompétent, la symptomatologie est plus discrète limitée à des diarrhées spontanément rémissibles en quelques jours et l'infection n'est jamais disséminée [25]. Le portage asymptomatique est possible tant chez l'immunocompétent que chez l'immunodéprimé [15].

## DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

De nos jours, le diagnostic des microsporidioses intestinales repose sur la mise en évidence des spores de microsporidies dans les selles [25]. Vu la petite taille de ces spores, leur observation est difficile à l'état frais et nécessite le recours à des techniques de coloration spécifiques. La technique la plus utilisée est la coloration au trichrome modifiée par Weber considérée actuellement comme la méthode de référence [1, 4]. Les spores apparaissent roses avec une vacuole incolore excentrée (fig 1). La coloration de Weber est une technique spécifique et simple, cependant sa lecture est délicate du fait de la petite taille des spores (1-2.5µm).

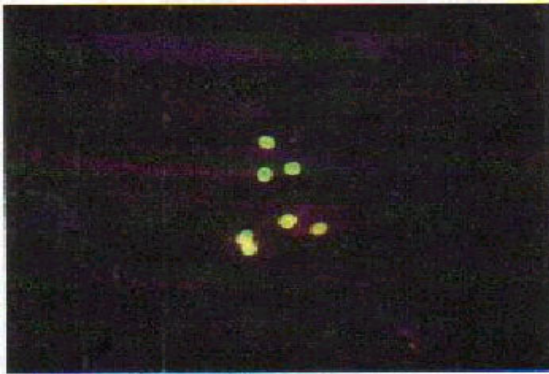


**Figure 1: Microsporidies intestinales colorées au trichrome (x 100)**

Le diagnostic des microsporidioses peut également se faire par une technique de fluorescence mise au point par Van Gool qui utilise un fluorochrome, l'Uvitex 2B, qui a une affinité sélective pour la chitine, constituant majeur de la paroi des spores [25]. Cette technique permet de repérer plus facilement les microsporidies grâce à leur fluorescence. Elle est donc créditée d'une meilleure sensibilité. Cependant, elle n'est pas assez spécifique pouvant donner de faux positifs principalement par fluorescence de bactéries voir de levures dont les parois sont riches en chitine [25]. Ceci impose la confirmation de toute positivité à l'Uvitex 2B par la coloration trichromique [25]. Il faut préciser qu'aussi bien l'Uvitex 2B que le trichrome ne permettent pas l'identification précise d'espèce [22,26], très utile pour instaurer la conduite thérapeutique appropriée [24, 28, 29].

Longtemps, basée sur la microscopie électronique [10, 28], l'identification d'espèce se fait actuellement grâce à l'amplification génique par PCR associée ou non à une RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) [7, 11, 12]. Malheureusement, cette technique n'est pas encore applicable en routine et reste limitée à certains laboratoires spécialisés [6, 12].

Récemment, la production d'anticorps monoclonaux spécifiques d'*Enterocytozoon bienewisi* et d'*Encephalitozoon intestinalis* a permis de faciliter le diagnostic d'espèce (fig 2). Ces techniques immunologiques sont en effet, moins coûteuses, plus rapides et plus courantes [6, 7, 27].



**Figure 2: Microsporidies colorées par immunofluorescence utilisant des anticorps monoclonaux (x 100)**

En dehors des techniques de coprologie parasitaire, le diagnostic de microsporidiose intestinale peut également se faire par l'examen anatomopathologique après biopsie [1, 25]. L'utilisation des techniques sérologiques, Immunofluorescence indirecte ou ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), utilisant des antigènes d'*Encephalitozoon* cultivés in vitro est limitée aux enquêtes séro-épidémiologiques à cause de l'interprétation délicate de la détection des anticorps [17, 26].

### TRAITEMENT

Aucune molécule n'est actuellement retenue comme totalement efficace contre les microsporidies [6]. L'albendazole est utilisé pour traiter les infections par *Encephalitozoon intestinalis* aux doses de 400mg/jour pendant 4 semaines pour les immunodéprimés et sur une période plus courte pour les immunocompétents [24, 28]. La substitution de certains résidus des séquences génomiques codant pour la  $\beta$  tubuline chez *Enterocytozoon bieneusi* expliquerait l'inefficacité de cette molécule sur cette espèce [29]. Des essais cliniques récents ont montré une sensibilité d'*Enterocytozoon bieneusi* à la Fumagilline [29]. Cependant, il faut préciser que la réponse au traitement est très variable d'un individu à un autre et que les récurrences sont fréquentes [6, 9]. C'est plutôt la restauration immunitaire qui semble donner les meilleurs résultats [9]. Par ailleurs, des mesures

spécifiques de prophylaxie ne peuvent toujours pas être conseillées vu le manque de données concernant l'épidémiologie des microsporidioses humaines et leurs principales modalités de transmission.

### CONCLUSION

Les microsporidioses intestinales constituent l'une des principales causes de diarrhées chroniques, particulièrement chez les sujets immunodéprimés. La prévalence de ces infections est probablement sous estimée en raison de leur méconnaissance et des difficultés de leur diagnostic biologique. Devant l'accroissement des facteurs d'immunodépression et la multiplication des voyages en zones tropicales considérées à risque, il paraît utile d'introduire le diagnostic des microsporidioses en routine dans la plupart des laboratoires. Récemment, les techniques d'amplification géniques et d'immunofluorescence sont venues simplifier et compléter le diagnostic biologique. Les recherches doivent continuer pour mieux cerner l'épidémiologie et les facteurs de virulence du parasite afin d'améliorer la prise en charge de cette parasitose.

**Remerciements:** Les auteurs remercient le P<sup>r</sup> Marc Thellier et M<sup>er</sup> Sylvestre Billigui pour leur collaboration ainsi que pour l'iconographie. Ce travail a bénéficié du soutien du projet CMCU 04/D0815 de la coopération Franco-Tunisienne.

### Références

1. Deicas E. Infections à microsporidies, *Isospora* et *Sarcocystis*. *Encycl Med Chir Maladies infectieuses* 1994; 8-503-A-10 : 6p.
2. Desportes I, Le Charpentier Y, Galian A et al. Occurrence of a new microsporidian : *Enterocytozoon bieneusi* in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J Protozool* 1985; 32 : 250-4.
3. Salat J, Braunfuchsova P. *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon intestinalis* causes of opportunistic infections. *Epidemiol Microbiol Immunol*. 2002; 51(1): 26-32.
4. LARSSON JIR. Identification of Microsporidia. *Acta Protozool* 1999; 38 : 161-197.
5. Didier ES. Microsporidiosis. *Clin Infect Dis* 1998; 27 : 1-8.
6. Sarfati C, Liguory O, Derouin F. Microsporidiosis. *Presse Med* 2001; 30 (3) : 143-7.
7. Liguory O, David F, Sarfati C, Derouin F, Modai J, Molina JMP. PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnosis and species identification of intestinal microsporidia specimens from HIV-infected Patients. *Med Mal Infect* 1997; 27 : 994-999.
8. Detry A. *Traité de parasitologie* 1996; Editions Pradel – Paris : 297-300.

9. Goguel J, Katlama C, Sarfati C et al. Remission of AIDS-associated intestinal microsporidiosis with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 1997; 11: 1658-9.
10. Franzen C, Müller A. Molecular techniques for detection, species differentiation and phylogenetic analysis of Microsporidia. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12 : 243-85.
11. Gainzerain JC, Canut A, Laozano M et al. Detection of *Enterocytozoon bieneusi* in two human immunodeficiency virus negative patients with chronic diarrhea by polymerase chain reaction in duodena biopsy specimens and review. *Clin Inf Dis* 1998; 27 : 394-398.
12. Maiga I, Doumbo O, Dembelle M et al. Microsporidiose intestinale humaine à Bamako (Mali) : présence d'*Enterocytozoon bieneusi* chez les patients séropositifs pour le VIH. *Cahiers Santé* 1997; 7 : 257-262.
13. Van Gool T, Luderhoff and Nathoo. High prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* infections among HIV-positive individuals with persistent diarrhea in Harare, Zimbabwe. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89 : 478-480.
14. Mohindra A R, Lee MW, Visvesvara G et al. Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient. *Transpl Infect Dis* 2002; 4 (2) : 102-7.
15. Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E et al. Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000; 30 (5) : 770-8.
16. Muller A, Bialek R, Kamper A, Fatkenheuer G, Salzberger B, Franzen C. Detection of microsporidia in travelers with diarrhea. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (4):1630-2.
17. Van Gool T, Vetter JCM, Weinmayr B et al. High seroprevalence of *Encephalitozoon* species in immunocompetent subjects. *J Infect Dis* 1997; 175 : 1020-4.
18. Aoun K, Bouratbine A, Detry A, Biligui S, et Ben Ismail R. Présence de microsporidies intestinales en Tunisie : à propos d'un cas. *Bull Soc Path Ex* 1997; 90 : 176.
19. Belhadj S, Kallel K, Ben Salem N, Tiouiri H, Zribi A, Chaker E. Microsporidiose intestinale et syndrome d'immunodéficience acquise : A propos des deux premières observations tunisiennes. *Bull Soc Fr Parasitol* 1997; 15 : 23-26.
20. Belhaj S, Kallel K, Boussen N, Ghobantini A, Bejaoui M, Ben Salem N et al. Place des cryptosporidies et des microsporidies dans les diarrhées des immunodéprimés. *La Tunisie Med* 1999; 12 : 638-640.
21. Aoun K, Barbouche R, Bouratbine A, Béjaoui M, Dellaji K et Ben Ismaïl R. Microsporidies intestinales chez des patients atteints de déficits immunitaires primitifs. *Parasite* 1997; 4 : 386-387.
22. Didier ES, Warner PW, Didier PJ et al. Experimental microsporidiosis in immunocompetent and immunodeficient mice and monkeys. *Folia Parasitologica* 1994; 41 : 1-11.
23. Kolter DP et Orenstein JM. Clinical syndromes associated with microsporidiosis. *Adv Parasitol* 1998; 40 : 231-349.
24. Dore GJ, Mariott DJ, Hing MC, Harkness JL, Field AS. Disseminated microsporidiosis due to septata intestinalis in nine patients infected with human immunodeficiency virus, response to therapy with albendazole. *Clin Infect Dis* 1995; 21 : 70-76.
25. Sparfel JM, Auguet JL, Miegerville M. Optimisation du diagnostic parasitologique des microsporidies intestinales humaines. *Bull Soc Path Ex* 1998; 91 : 138-141.
26. Alfa Cisse O, Ouattara A, Thellier M et al. Evaluation of an immunofluorescent-antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali). *J Clin Microbiol* 2002; 40 (5) : 1715-8.
27. Thellier M, Biligui S, Desportes Livage I, Accoceberry I and Detry A. Monoclonal Antibody Enabling the diagnosis of *Encephalitozoon intestinalis* in Fecal Specimens : Importance of the mode of selection of hybridomas. *J Eukaryot Microbiol* 2001; 71-72.
28. Molina JM, Chastang C, Goguel J et al. Albendazole for treatment and prophylaxis of microsporidiosis due to *Encephalitozoon intestinalis* in patients with AIDS: a randomized double-blind controlled trial. *J Infect Dis* 1998; 177: 1373-7.
29. Molina JM, Tourneur M, Sarfati C et al. Fumagillin treatment of intestinal microsporidiosis. *N Engl J Med* 2002; 346 (25) : 1963-9.