

COURS DE COLLEGE DE MALADIES INFECTIEUSES

MICROBIOLOGIE – PARASITOLOGIE



PROTOZOUSES INTESTINALES

5 Mars 2010. Hôtel Tej Marhaba - Sousse



MICROSPORIDIES

MICROSPORIDIOSES

Pr.Ag Fathallah Akila

Faculté de Médecine de Sousse

CHU F. Hached de Sousse

MICROSPORIDIES- MICROSPORIDIOSES

I INTRODUCTION ET GENERALITES :

II AGENTS PATHOGENES :

III CYCLE EVOLUTIF :

IV REPARTITION GEOGRAPHIQUE:

V CLINIQUE :

VI DIAGNOSTIC :

I INTRODUCTION ET GENERALITES :

* Les microsporidies sont des parasites connus dans le monde animal depuis longtemps (début du 19^{ème} siècle).

* Ils parasitent un grand nombre d'animaux:

les vertébrés
(ex poissons
mammifères)

les invertébrés
(ex insectes , crustacés)

des pertes économiques importantes dans les domaines de l'apiculture et l'aquaculture.

Introduction en Pathologie humaine

1990

l'infection par le VIH +++

parasites opportunistes ++++++

II AGENTS PATHOGENES 1 :

* Les microsporidies sont des protistes unicellulaires eucaryotes
leur petite taille explique la dénomination de « microsporidies »

☛ phylum Microspora (proches des champignons)

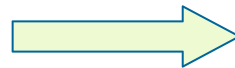
☛ ordre Microsporida

☛ classées dans 143 genres

☛ + de 1300 espèces différentes

* dépourvues de flagelles

* dépourvues de mitochondries.



une vie exclusivement
parasitaire



avec localisation intracellulaire obligatoire

pour utiliser les mitochondries de la cellule hôte.

II AGENTS PATHOGENES 2 :

- * Les microsporidies sont caractérisées par la production de spores extracellulaires.**
- * Ces spores sont résistantes et constituent la forme infectieuse ou le stade infectieux des microsporidies la forme de résistance (ces spores sont capables de survivre longtemps dans le milieu extérieur) et de transmission de ces parasites.**
- * Les spores sont de petite taille : entre 1 et 10 μm selon les espèces.**
- * Les spores des microsporidies pathogènes pour l'Homme mesurent entre 1 et 4 μm (= taille des bactéries).**

II AGENTS PATHOGENES 3:

7 genres sont considérés comme responsables d'infections chez l'Homme: 14 espèces isolées chez l'Homme (spores = 1 et 4 μm)

1- *Enterocytozoon* +++++ *Enterocytozoon bieneusi*

2- *Encephalitozoon* +++ *Encephalitozoon intestinalis*

3- *Vittaforma* *Vittaforma corneae*

4- *Brachiola*

5- *Pleistophora*

6- *Microsporidium*

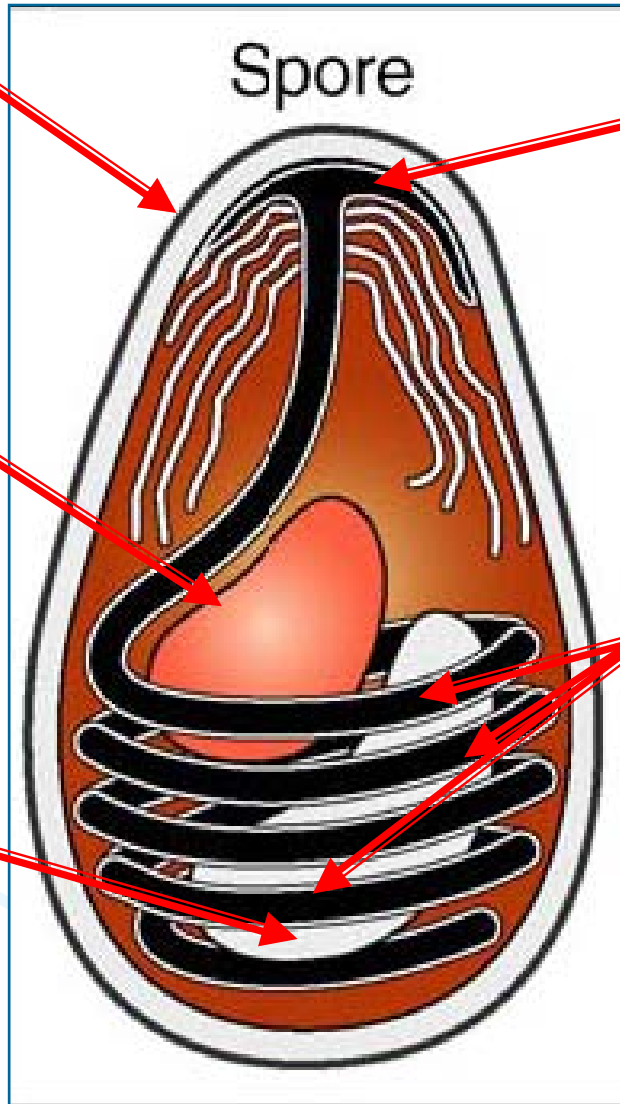
7- *Trachipleistophora*

II AGENTS PATHOGENES 4:

Paroi épaisse
et résistante

Noyau =
sporoplasme

Vacuole
postérieure



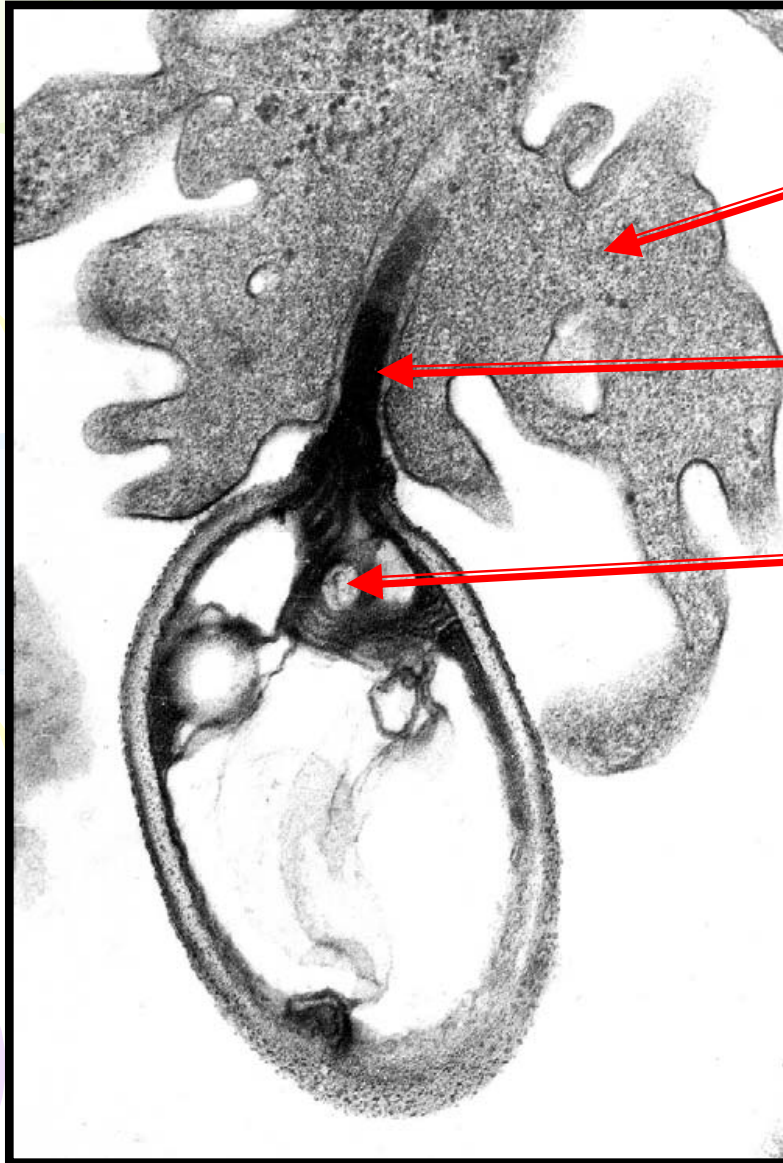
Disque
d'ancrage

Filament polaire=
tube polaire enroulé

Appareil d'expulsion

1 et 10 μm (chez l'Homme 1 et 4 μm)

Décharge de la spore dans la cellule hôte: (microscopie électronique)



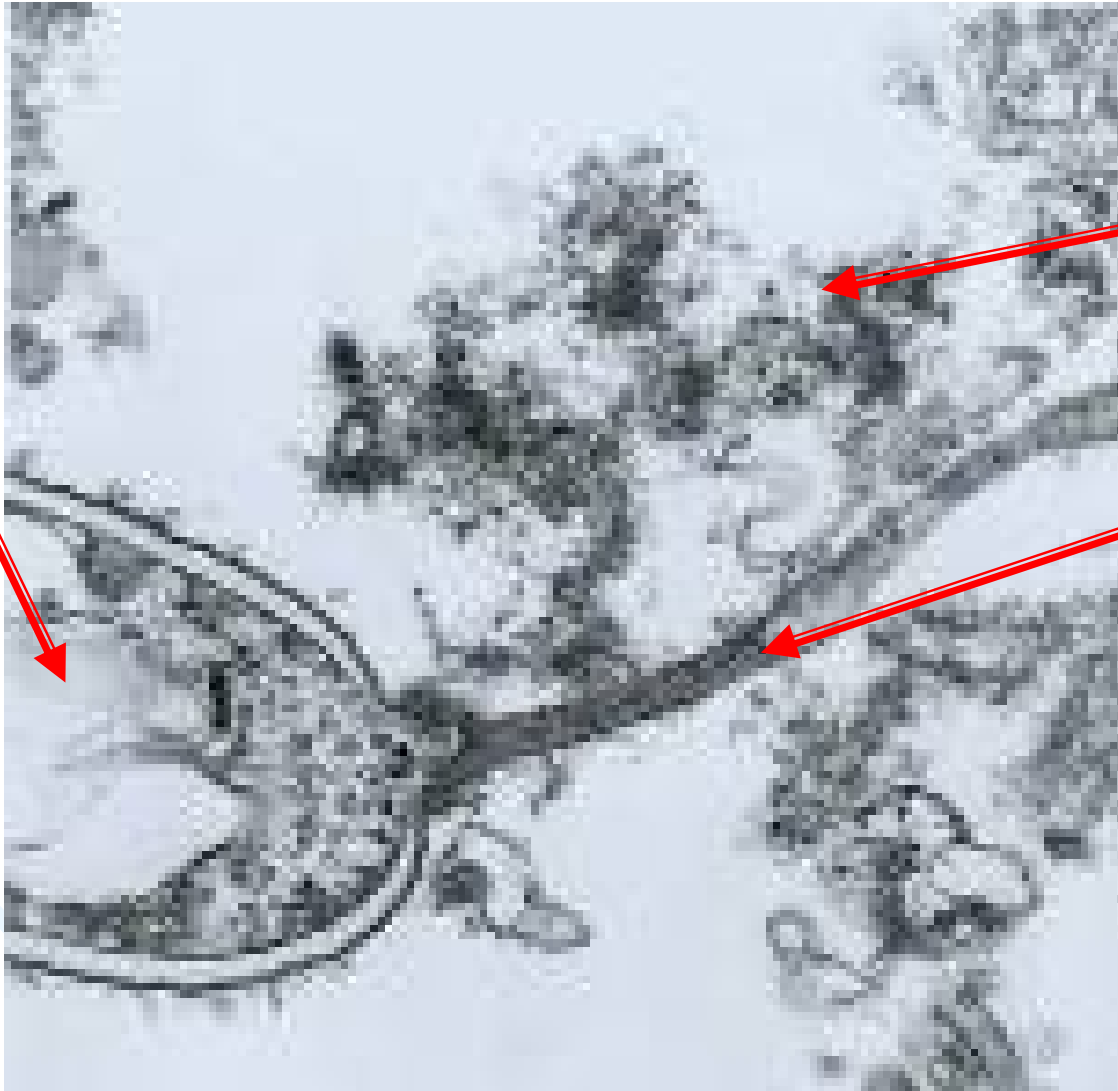
Cellule cible

**Filament polaire expulsé =
Tube polaire**

**Sporoplasme refoulé
vers la cellule hôte**

**de la pression
inta-sporale**

spore



Cellule hôte

Tube polaire

[Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement - UMR 6023 Le CNRS](http://www.infectiologie.org.tn)



MET *Encephalotozoon intestinalis*
Tube polaire enroulé. inséré dans une cellule
Dr. Massimo Scaglia - Université Pavie - Italie

III CYCLE EVOLUTIF :

Spores de microsporidies

le stade infectieux

formes de résistance

forme de transmission

Milieu extérieur



On les trouve dans l'air ou dans l'eau

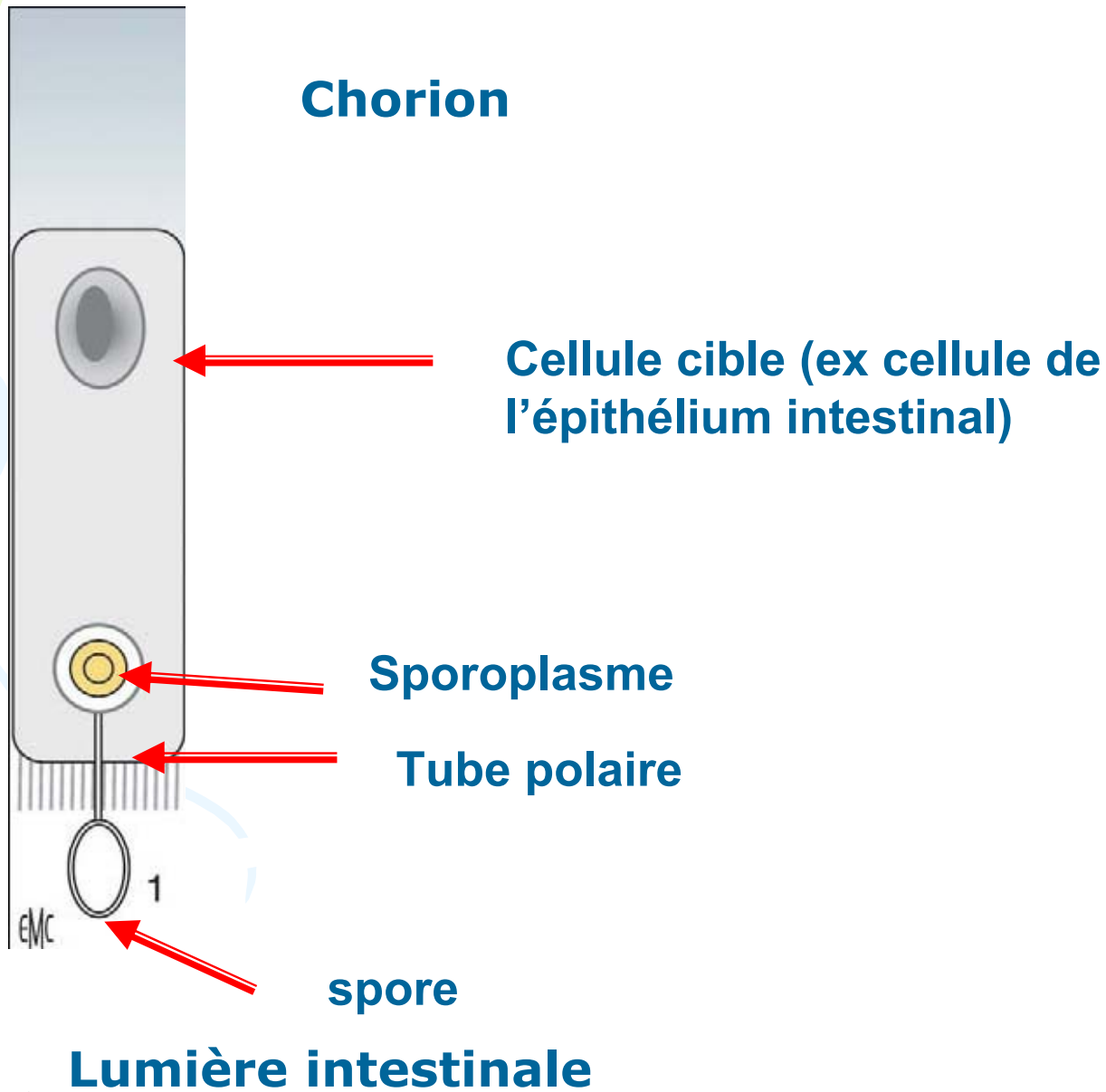
L'Homme se contamine par

Ingestion de spores

inhalation de spores

ou au contact avec un animal infecté

III CYCLE EVOLUTIF :



III CYCLE EVOLUTIF :

Sporoplasme transformé en méronte

Le cycle consiste en deux phases :

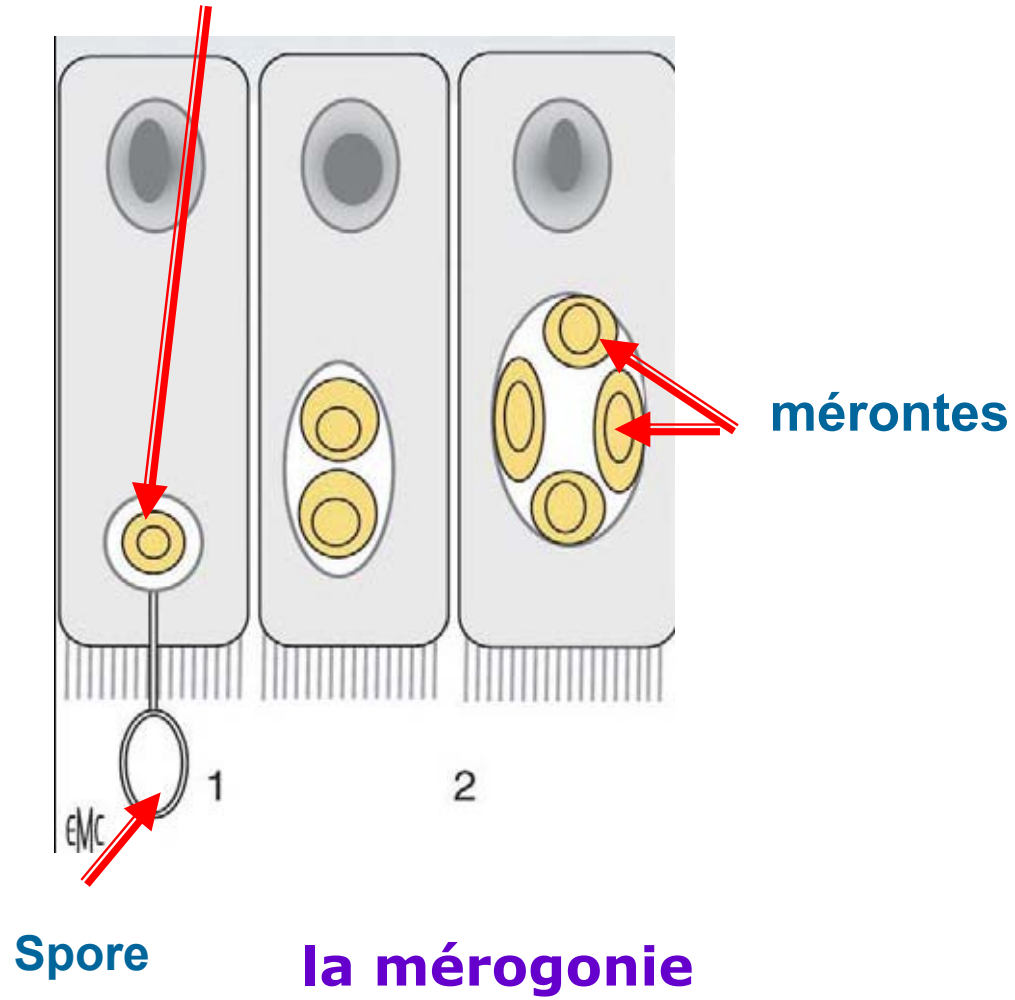
1- la mérogonie

2- la sporogonie

Ces 2 phases se succèdent dans une même cellule hôte.

la mérogonie= est une phase de multiplication intracellulaire par division binaire.

le sporoplasme introduit dans la cellule hôte se transforme en méronte et commence à se diviser en 2, puis 4 puis 8 etc..

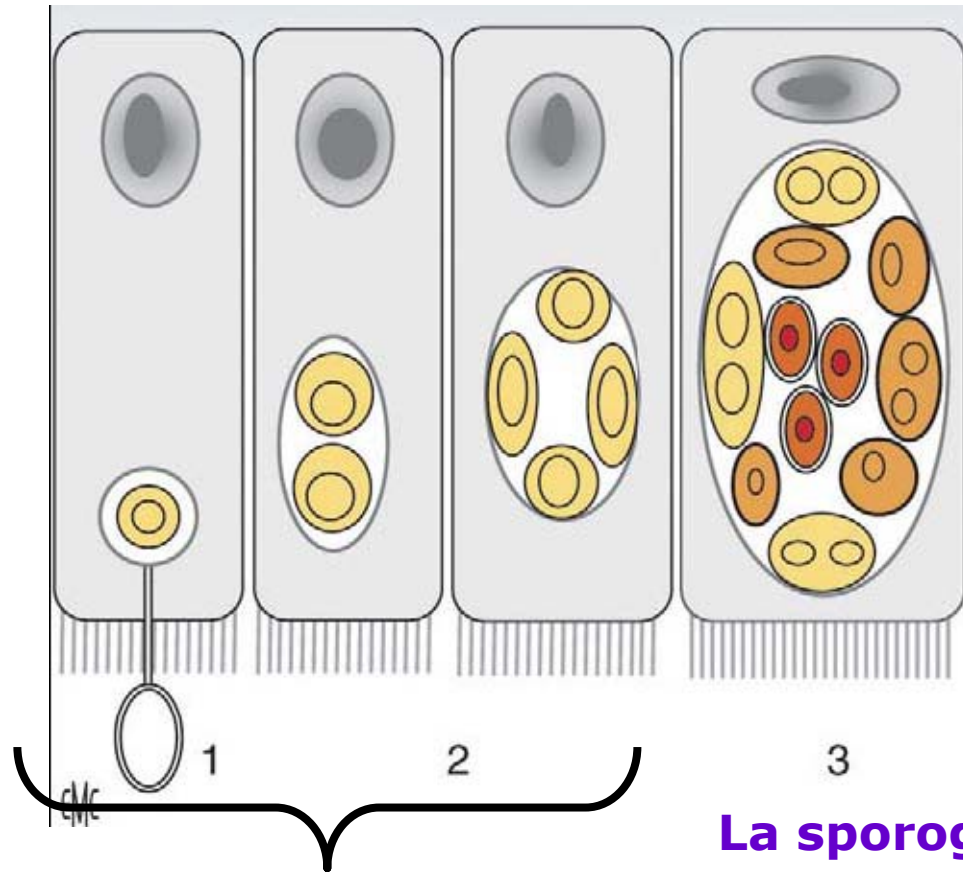


III CYCLE EVOLUTIF :

Après la phase de multiplication des mérontes ou mérogonie, on passe dans la même cellule hôte à la phase de la sporogonie.

La sporogonie: aboutit à la formation des spores.

Au cours de cette phase le **méronte** se transforme en **sporonte** = **spore immature** par la formation d'une paroi autour du méronte, puis par l'apparition du filament polaire.



Mérogonie

La sporogonie

III CYCLE EVOLUTIF :

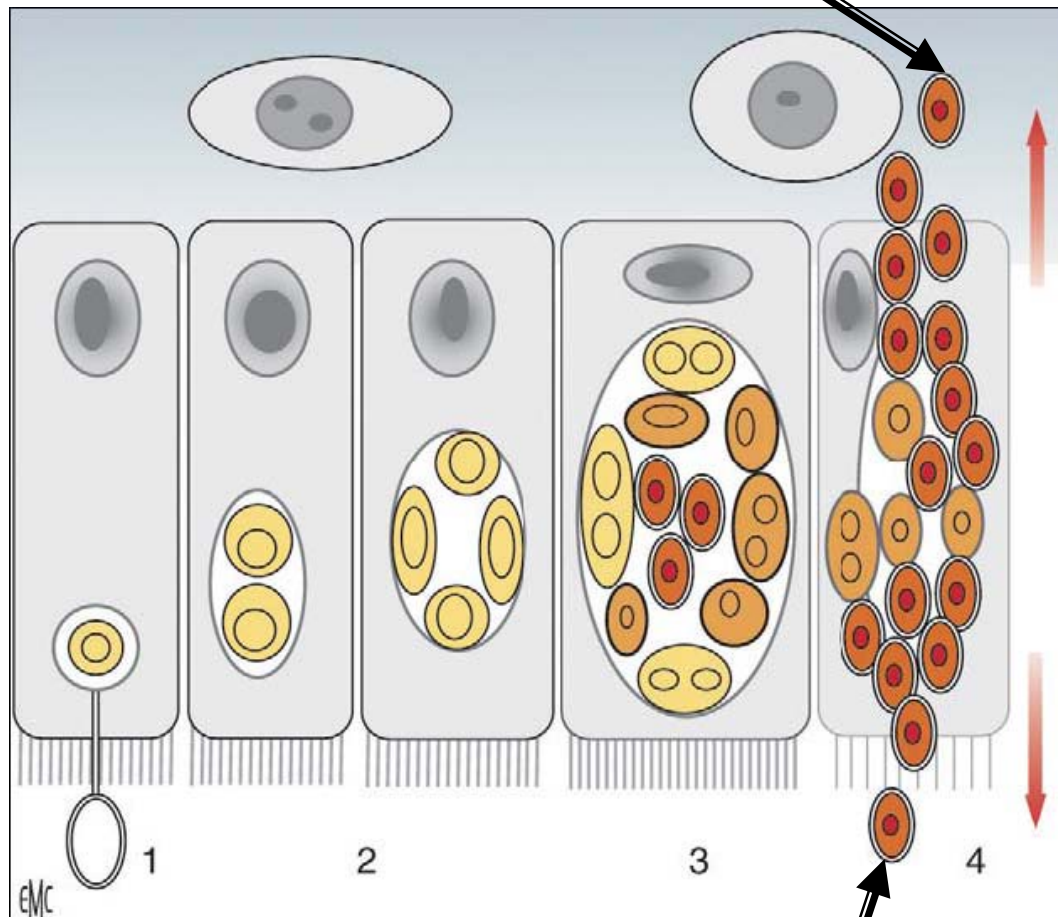
Les sporontes s'entourent d'une épaisse paroi et deviennent des **spores** résistantes et matures.

Après éclatement de la cellule les spores sont libérées:

* soit dans la lumière intestinale (ces dernières seront libérées dans le milieu extérieur et assurent la **transmission du parasite** vers d'autres hôte.

* soit libérées dans le chorion, ces spores vont assurer la **dissémination** du parasite vers d'autres organes de l'hôte expliquant la gravité des **microsporidioses**

sortie des spores vers le chorion



Sortie des spores vers Lumière intestinale

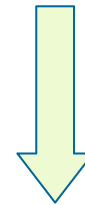
IV REPARTITION GEOGRAPHIQUE:

Les microsporidioses étaient très fréquentes dans les années 90 (parasitoses opportunistes et cosmopolites).

*** les pays développés : Amérique du Nord, Europe, Angleterre, Australie**

*** les pays sous développés ou en voie de développement**

Actuellement grâce à la trithérapie



Les microsporidioses sont devenues rares dans les pays développés, et persistent encore dans les zones tropicales et sub-tropicales

IV CLINIQUE :

- * Le premier cas de microsporidiose humaine est décrit au Brésil en 1927**
- * Le second au Japon en 1959.**
- * La première microsporidiose généralisée mortelle en 1973**
- * Jusqu'en 1989 moins de dix cas ont été publiés dans le monde, elles se manifestaient surtout par des atteintes de la cornée (kérato-conjonctivites) .**
- * Dans les années 90, elles sont devenues des maladies émergentes en pathologie humaine à cause de l'infection par le VIH, (parasites opportunistes).**

IV CLINIQUE :

*** Depuis les années 90 , la forme clinique la plus fréquente des microsporidioses= la forme intestinale du **sujet VIH+++****

*** Les microsporidioses peuvent toucher aussi:**

les sujets immunodéprimés mais non infectés par le VIH
(transplantés d'organes, patients sous immunosuppresseurs, leucémiques, etc...)

les sujets immunocompétents

Les espèces de microsporidies qui infectent l'Homme (14) sont à l'origine de pathologies parfois très différentes.

Il existe donc plusieurs microsporidioses selon l'espèce en cause et l'organe cible.

IV CLINIQUE :

1- Microsporidiose intestinale

1.1- Agents : 3 espèces responsables:

1- *Enterocytozoon bieneusi* → 90 %

2- *Encephalitozoon intestinalis* → 10 %

3- *Vittaforma* sp proche de *Vittaforma corneae*

dont les spores ont été récemment isolée des selles de 25 patients diarrhéiques au Portugal (2003)

1.2- Manifestations cliniques :

1.2.1- Chez l'immunodéprimé :

- * la diarrhée chronique +++++ selles aqueuses, non sanglantes (**3 à 12 selles/j**)
- * Douleurs abdominales
- * Amaigrissement (pas de fièvre)
- * Dans les formes graves déshydratation et cachexie
- * L'extension du parasite par contiguïté aux:

voies biliaires → cholécystite

sinus → sinusite chronique

poumons → de bronchites et pneumopathies

svt associée à l'infection de l'arbre urinaire.

1.2 Manifestations cliniques :

1.2.2- Chez le sujet immunocompétent :

*** Diarrhées spontanément résolutes avec parfois météorisme abdominal**

*** Des diarrhées spontanément résolutes peuvent se voir chez les voyageurs immunocompétents ayant séjourné en zone tropicale**

1.2.3- Le portage sain :

est possible aussi bien chez l'immunodéprimé que chez le sujet immunocompétent

1.3 Transmissions et réservoirs :

*** La contamination est orofécale, liée à l'ingestion d'eau ou d'aliments souillés par des spores**

*** Beaucoup d'animaux = réservoirs naturels des microsporidies intestinales:**

- animaux domestiques(chat , chien, porc , chèvre , bovins , lapins..).
- animaux sauvages (renard,...)
- oiseaux (poulet d'élevage pigeon..)

1.3- Prévalence :

La microsporidiose intestinale était l'infection prévalente des patients infectés par le VIH dans les **années 90**.

Elle atteignait **40%** aux Etats- Unis.

Le nombre de cas a chuté depuis que des traitements restaurent le statut immunitaire des patients infectés par le VIH .

Actuellement Les microsporidioses intestinales sont détectés chez les patients VIH en zone tropicale et sub- tropicale:

Tunisie: Tunis Rabta **4** cas Belhadj et all (sur 35 éhcantillons)

IPT **9** cas Nejla chabchoub et all (86 échantillon)

Sousse **4** cas (non publiés)

2 Autres microsporidioses :

*** Les microsporidioses à localisation extra-intestinales sont rares.**

*** Comme pour la microsporidiose intestinale , les microsporidioses extra-intestinales sont d'abord locales, se généralisent chez les sujets dont le système immunitaire ne contrôle plus la prolifération du parasite**

2- Autres microsporidioses :

2.1- Agents et manifestations cliniques :

2.1.1- Microsporidioses oculaires (kérato-conjonctivites) :

l'œil est l'organe cible préférentiel des infections microsporidiennes du sujet immunocompétent.

Presque toutes les espèces de microsporidies pathogènes pour l'Homme ont une affinité pour l'œil (kérato-conjonctivites).

Pas de signes cliniques spécifiques , mais l'aggravation des sujets traités par des immunosuppresseurs comme les corticoïdes est l'indicateur d'une microsporidiose.

2- Autres microsporidioses :

2.1.2- Atteintes musculaires (myosites):

Inflammation du tissu musculaire strié

signes cliniques non spécifiques:

- des douleurs et une diminution de la force musculaire**
- augmentation des enzymes musculaire.**

Diagnostic:

les spores sont retrouvés dans les biopsies musculaires.

Genre *Pleistophora*

Genre *Trachipleistophora*

2.1.3- Atteinte broncho-pulmonaire:

Toux, expectoration chronique dyspnée, bronchiolite, pneumopathie.

diagnostic: Spores dans le LBA et selles.

2.1.4- Atteinte de l'arbre génito-urinaire:

De la forme asymptomatique jusqu'à l'insuffisance rénale réversible

diagnostic: Spores dans les urines ,les selles et dans les biopsies rénales ou vésicales

2.1.5- Atteintes neurologiques (méningo-encéphalites):

Les atteintes neurologiques sont exceptionnelles: (coma, convulsions,...)

Encephalitozoon

Encephalitozoon intestinalis

autres espèces

1.3 Transmissions et réservoirs :

Zoonoses



**les mammifères et les oiseaux
éliminent des spores dans l'eau et l'air
= source de contamination de l'Homme**

DIAGNOSTIC :

Les spores de microsporidies sont de même taille que les bactéries fécales



Confusion avec les techniques de coloration habituelle.

Pour éviter toute confusion avec les bactéries, en cas de suspicion d'une microsporidiose, il faut des techniques particulières

le clinicien doit effectuer une demande précise auprès du laboratoire.

Le type de prélèvements étudiés dépend de la symptomatologie présentée par le patient , **mais un examen des selles doit être systématique.**

les spores sont recherchées dans différents prélèvements: les selles, la bile, l'urine, le liquide nasal, le liquide de LBA,

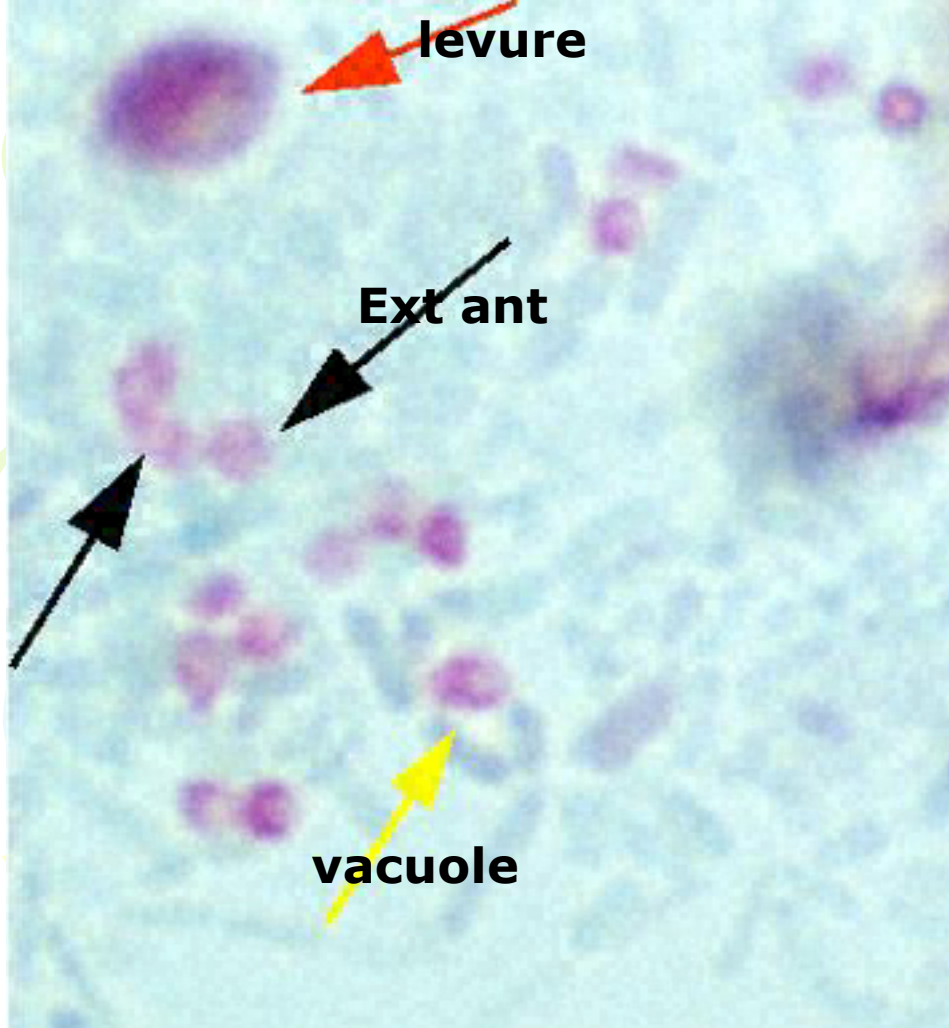
biopsies d'organe, (intestin, foie, pancréas, poumon, rein, cerveau)

1- Examen microscopique direct :

1.1 La coloration au trichrome de Weber:

Est la technique de référence qui utilise un colorant spécial ; le chromotrope 2R .

La coloration au trichrome montre les spores de microsporidies sous forme **ronde ou ovale** colorées en **rose fuchsia à rouge** avec une **vacuole excentrée incolore** constante et caractéristique.



Les spore mesurent entre
1 à 4 μm (selon les espèces).

Enterocytozoon bieneusi
(spores de petite taille **1,3 à 1,5 μm**)

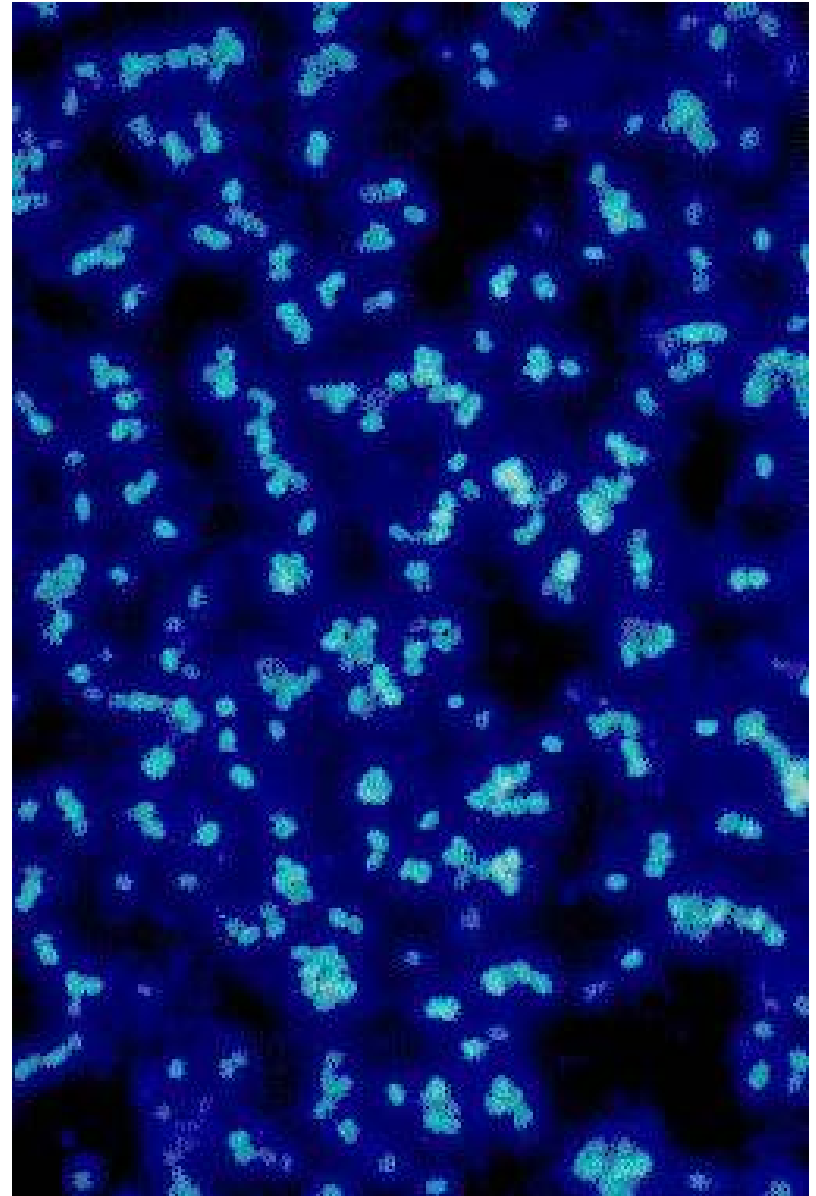
Encephalitozoon intestinalis
(spores de grande taille **2,3 à 2,5 μm**)

La coloration au trichrome de Weber:

1.2 Technique de fluorescence directe:

Techniques qui utilisent des colorants contenant des fluorochromes (le Calcofluor, l'Uvitex 2B, l'Uvibio) ces marqueurs fluorescents se fixent la paroi des spores et paraissent fluorescents. Sous microscope photonique.

Les microsporidies apparaissent sous une forme ovoïde, de fluorescence bleu pâle sur fond noir .



1- Examen microscopique direct :

1.1 La coloration au trichrome de Weber:

1.2 Technique de fluorescence directe:

Même avec ces techniques particulières, il y a toujours confusion entre microsporidies et bactéries (même taille).

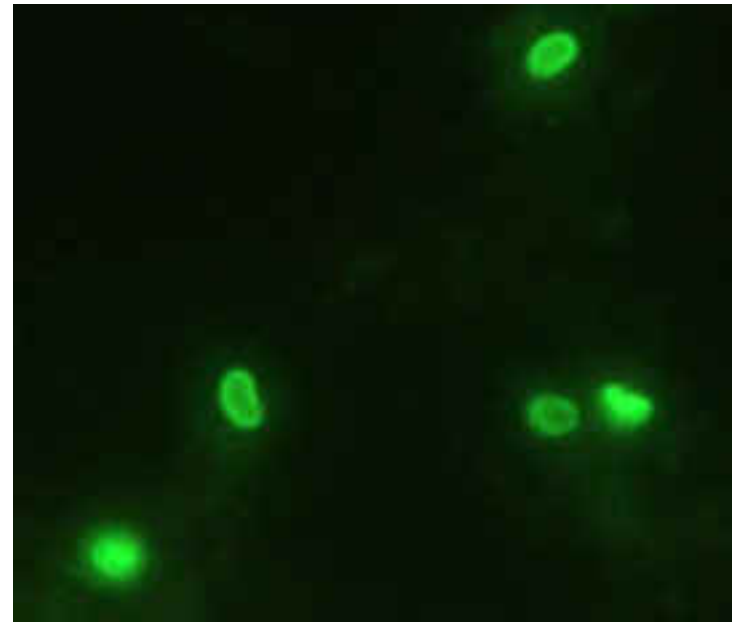
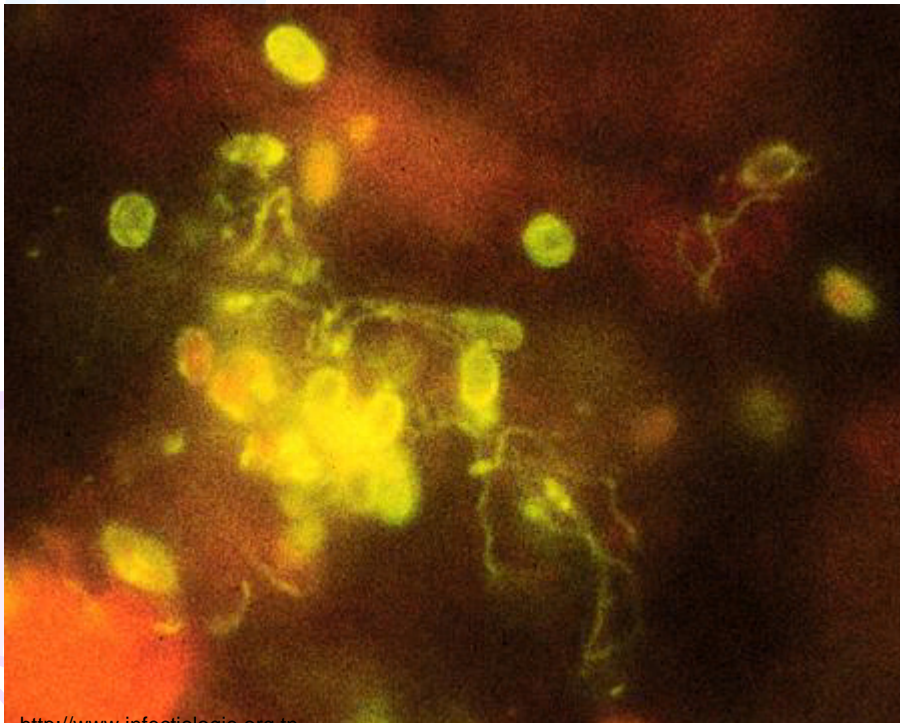
Seule la **microscopie électronique**, en étudiant les différents stades intracellulaires, permet l'identification précise d'espèce

1- Examen microscopique direct :

2- Test d'immunofluorescence indirect :

Récemment grâce à l'obtention **d'anticorps monoclonaux spécifiques** le test d'IFI est devenu possible pour établir le diagnostic des microsporidioses suspectées cliniquement.

Par la technique d'IFI nous sommes capables de faire un **diagnostic spécifique des espèces de microsporidies** sans avoir recours à la microscopie électronique



Dr Bordier Suisse



1- Examen microscopique direct :

2- Test d'immunofluorescence indirect :

3- Biologie Moléculaire :

La Polymerase Chain Reaction(PCR +++) .

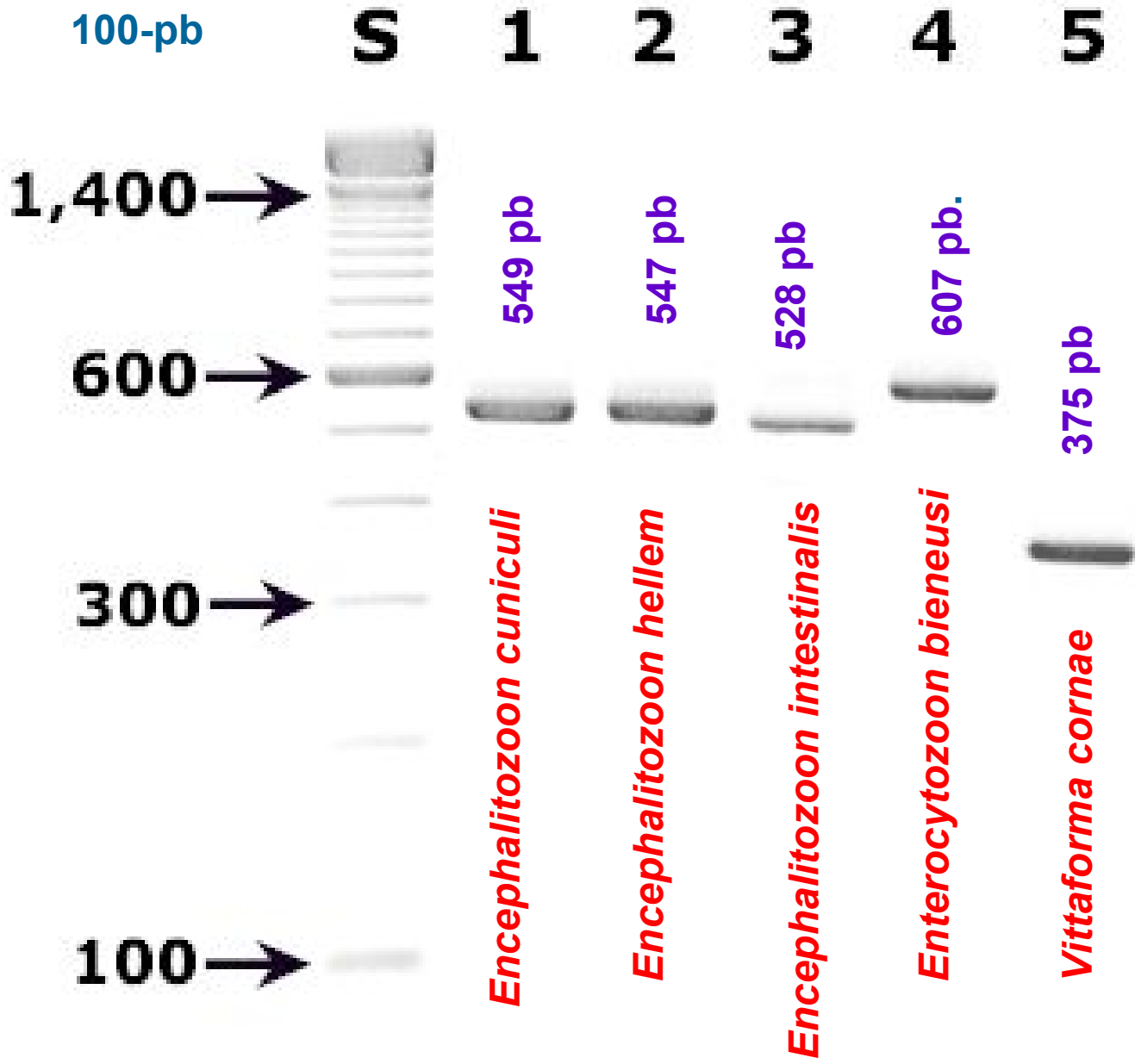
Actuellement cette technique n'est pas encore utilisée en routine mais réservée aux laboratoires de recherche.

La PCR par son amplification génique est une méthode hautement sensible , les cibles d'amplification sont les gènes codant pour la petite sous- unité de l'ARN ribosomique.

Des paires d'amorces selectionnent les séquences nucléotidiques.

Selon que ces amorces sont univercelles ou spécifiques , les séquences amplifiées sont caractéristiques du phylum ou d'une espèce

Marqueur de PM
100-pb



Sérologie :

La sérologie est encore peu praticable pour le diagnostic spécifique en raison de :

- * la réactivité croisée entre espèces
- * la présence d'anticorps chez les sujets asymptomatiques
- * l'altération de la réponse des anticorps chez les sujets immunodéprimés

EN CONCLUSION :

Les microsporidies sont des parasites connus dans le monde animal depuis longtemps, qui n'ont été retrouvés en pathologie humaine que depuis peu.

Enterocytozoon bieneusi (**spore de petite taille**) est responsable de diarrhées chroniques apyrétiques chez les patients infectés par le VIH, des patients immunocompétents peuvent être infectés après avoir fait un voyage en zone tropicale ou subtropicale (Caraïbes, Afrique, Asie, Moyen-Orient)
Sensible à (l'albendazole, Zentel)

Encephalitozoon intestinalis (**spore de grande taille**) est responsable de la même symptomatologie avec dissémination possible à l'appareil urinaire **Sensible à (la fumagiline)**



Je vous remercie