

LISTE DES ABREVIATIONS

- Ac** : Anticorps
- ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique
- ARN** : Acide Ribo Nucléique
- ARV** : Anti Rétro Viral
- BCG** : Bacille de Calmette et Guérin
- CD4** : Cluster de Différenciation 4
- CHNU** : Centre Hospitalier National Universitaire
- CHNEAR** : Centre Hospitalier National des Enfants Albert Royer
- CSL** : CircumSporozoïte –Like
- C. parvum*** : *Cryptosporidium parvum*
- C. muris*** : *Cryptosporidium muris*
- FITC** : Isothiocyanate de Fluorescéine
- Hb** : Hémoglobine
- ID50** : Dose Infectieuse 50%
- IST** : Infection Sexuellement Transmissible
- LABM** : Laboratoire d'Analyse de Biologie Médicale
- NaCl** : Chlorure de Sodium
- PED** : Pays En Développement
- PCR** : Polymerase Chain Reaction
- PV VIH** : Personne Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience Humaine
- RFLP** : Restriction Fragment Length polymorphisme
- SIDA** : Syndrome d'Immunodéficience Acquise
- TARV** : Traitement Anti Rétro Viral
- TME** : Transmission Mère Enfant
- UV** : Ultra-violet
- VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Morphologie de <i>Cryptosporidium parvum</i>	8
Figure 2 : Cycle de développement de <i>Cryptosporidium parvum</i>	11
Figure 3 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée	22
Figure 4 : Mise en évidence de <i>Cryptosporidium</i> par immunochromatographie	26
Figure 5 : Mise en évidence des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> dans les entérocytes	27
Figure 6 : Structure du VIH.....	30
Figure 7 : Répartition des enfants selon la saison	49
Figure 8 : Répartition des enfants selon le sexe	50
Figure 9 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon le mois	52
Figure 10 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon la saison	53
Figure 11 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon le sexe	54
Figure 12 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon la catégorie d'âge	55
Figure 13 : Répartition des adultes selon le sexe	57
Figure 14 : Répartition des adultes selon la catégorie d'âge	58
Figure 15 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon le mois.....	59
Figure 16 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon la saison.....	60
Figure 17 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon le sexe	61
Figure 18 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon la catégorie d'âge	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Espèces de <i>Cryptosporidium</i> sp. pouvant infecter l'Homme	7
Tableau II : Répartition des enfants selon le mois	48
Tableau III : Répartition des enfants par catégorie d'âge	50
Tableau IV : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon le mois	51
Tableau V : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon la saison ...	52
Tableau VI : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon le sexe.....	53
Tableau VII : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants selon la catégorie d'âge	54
Tableau VIII : Répartition des adultes selon le mois	56
Tableau IX : Répartition des adultes selon la catégorie d'âge.....	57
Tableau X : Prévalence des <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon le mois	59
Tableau XI : Prévalence des <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon la saison.	60
Tableau XII : Prévalence des <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon le sexe ..	61
Tableau XIII : Prévalence des <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes selon la catégorie d'âge	62

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	4
1. LA CRYPTOSPORIDIOSE.....	5
1.1. Définition.....	5
1.2. Historique	5
1.3. Epidémiologie	6
1.3.1. Agent pathogène.....	6
1.3.1.1. Taxonomie.....	6
1.3.1.2. Morphologie	7
1.3.1.3. Habitat	8
1.3.2. Mode de contamination.....	9
1.3.3. Réservoir de parasites.....	9
1.3.4. Cycle biologique.....	9
1.3.4.1. Cycle asexué.....	9
1.3.4.2. Cycle sexué ou gamétogonie.....	10
1.3.5. Facteurs favorisants.....	11
1.3.6. Répartition géographique	12
1.4. Pathogénie	12
1.5. Manifestations cliniques.....	14
1.5.1. Chez les enfants.....	15
1.5.2. Chez les sujets immunocompétents	15
1.5.3. Chez les sujets immunodéprimés	15
1.6. Diagnostic biologique	16
1.6.1. Circonstances du diagnostic biologique.....	16
1.6.2. Diagnostic parasitologique.....	16
1.6.2.1. Prélèvements	16
1.6.2.2. Recherche des oocystes de <i>Cryptosporidium sp.</i> dans les selles	16
1.6.3. Diagnostic immunologique	23

○.....	Recherche des copro-antigènes	23
1.6.4.	Diagnostic histologique.....	27
1.6.5.	Diagnostic moléculaire par PCR.....	27
1.7.	Traitement	28
1.8.	Prévention.....	28
2.	L'INFECTION A VIH/SIDA.....	29
2.1.	Définition.....	29
2.2.	L'agent pathogène	29
2.3.	Transmission	30
2.4.	Répartition géographique	31
2.5.	Manifestations cliniques.....	31
2.6.	Diagnostic biologique	32
2.7.	Traitement	36
2.8.	Prévention.....	38
2.8.1.	Les changements des comportements	38
2.8.2.	La promotion et l'encouragement à utiliser les préservatifs	38
2.8.3.	La promotion de la sécurité transfusionnelle	39
2.8.4.	La prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant	39
2.8.5.	Le renforcement du dépistage et du traitement précoce des IST	39
2.8.6.	La promotion du counselling / dépistage volontaire confidentiel et anonyme	39
2.8.7.	La prévention par la circoncision	40
2.8.8.	La prévention secondaire en cas d'exposition au VIH	40
2.8.9.	Vaccin contre le VIH.....	40
DEUXIEME PARTIE		41
1.	CADRE D'ETUDE	42
2.	POPULATION D'ETUDE ET METHODES.....	45
2.1.	Les patients.....	45
2.2.	Les méthodes.....	45

2.2.1.1. Examen parasitologique des selles.....	45
2.2.2 Méthode d'analyse des résultats.....	47
3. RESULTATS	48
3.1. RESULTATS OBTENUS CHEZ LES ENFANTS	48
3.1.1. Aspect quantitatif	48
3.1.2. Aspect qualitatif	51
3.1.2.1. Prévalence globale de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants.....	51
3.1.2.2. Variation de la prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les enfants	51
3.2. RESULTATS OBTENUS CHEZ LES ADULTES.....	55
3.2.1. Aspect quantitatif	55
3.2.2. Aspect qualitatif	58
3.2.2.1. Prévalence globale de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes infectés par le VIH.....	58
3.2.2.2. Variations de la prévalence de <i>Cryptosporidium</i> chez les adultes infectés par le VIH.....	59
4. DISCUSSION	64
4.1. Limites et contraintes de la méthodologie	64
4.2. Prévalence globale de <i>Cryptosporidium</i>	64
4.3. Variation de la prévalence de <i>Cryptosporidium</i>	66
CONCLUSION	67
RECOMMANDATIONS	72
REFERENCES	67

INTRODUCTION

La cryptosporidiose est une maladie cosmopolite, due à *Cryptosporidium sp.*, une coccidie parasite du tube digestif de l'homme.

Bien que son existence soit connue depuis le début du 20ème siècle, ce n'est qu'avec l'émergence du SIDA dans les années 1980 que la communauté scientifique s'est intéressée à *Cryptosporidium* chez l'homme.

Classiquement, cette coccidiose est bénigne chez l'homme immunocompétent, mais elle peut entraîner une diarrhée aqueuse chronique, profuse, pouvant à terme menacer le pronostic vital chez les sujets immunodéprimés notamment ceux atteints de VIH/SIDA.

Chez ces individus l'infection prend un caractère chronique avec une diarrhée pouvant durer plus de deux mois ce qui va entraîner une déshydratation sévère et une perte de poids à l'origine de l'hospitalisation des malades et parfois même de leur mort.

Il en est de même pour les enfants, chez qui cette coccidiose est aggravée par la malnutrition, et est la cause d'une mortalité importante dans les pays en voie de développement.

L'association de la maladie avec la malnutrition constitue un réel problème dans les pays en voie de développement. Au Gabon par exemple, 31.8% des enfants sous-alimentés sont infectés par *Cryptosporidium* contre seulement 16.8% des enfants correctement alimentés. Cependant le lien de cause à effet n'est pas encore clairement établi [11].

La recrudescence du nombre de sujets immunodéprimés en particulier ceux atteints de SIDA, s'est accompagnée parallèlement d'une augmentation de la prévalence d'infections opportunistes parmi lesquelles on peut citer la cryptosporidiose.

C'est une maladie cosmopolite présente aussi bien dans les pays en voie de développement que dans les pays développés, dans les zones rurales mais aussi urbaines.

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris cette étude prospective portant sur la recherche de *Cryptosporidium sp.* chez des enfants de 0 à 5 ans souffrant de diarrhée au niveau de l'Hôpital des enfants Albert Royer de Dakar entre juin et mi-décembre 2015 mais également chez des sujets vivants avec le VIH au niveau du service des maladies infectieuses et tropicales du CHNU de Fann entre avril 2014 et novembre 2015. L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence et la répartition de la cryptosporidiose en fonction des paramètres épidémiologiques.

Notre travail portera sur les rappels bibliographiques concernant l'épidémiologie, la pathogénie, les aspects cliniques, le diagnostic biologique, le traitement ainsi que les moyens de prévention de la cryptosporidiose. Dans la deuxième partie, nous allons décrire le cadre d'étude, rapporter les résultats obtenus afin de les discuter puis nous allons conclure en donnant des recommandations.

**PREMIERE PARTIE : RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. LA CRYPTOSPORIDIOSE

1.1. Définition

La cryptosporidiose est une parasitose intestinale due à des coccidies du genre *Cryptosporidium* qui infestent l'homme et une grande variété de jeunes animaux. C'est un parasite opportuniste qui se développe chez l'homme immunodéprimé notamment chez les sujets infectés par le VIH/SIDA [12].

1.2. Historique

Depuis la découverte de ce protozoaire en 1907 par Ernest E. Tyzzer dans l'intestin grêle de souris (*Mus musculus*), de multiples espèces de *Cryptosporidium* ont été mises en évidence et la dénomination de ces espèces a été l'objet de nombreuses modifications.

Lors des premières études, les cryptosporidies isolées dans l'estomac et l'intestin grêle de *Mus musculus* ont été respectivement dénommées *C. muris* et *C. parvum*. Par la suite, des cryptosporidies ont été mises en évidence chez de nombreuses espèces de Mammifères et ces observations ont conclu à une faible spécificité d'hôte de *Cryptosporidium spp.* [8]. En outre, les analyses génétiques des cryptosporidies isolées dans l'estomac et dans l'intestin grêle de ces mammifères concordaient avec cette dichotomie estomac/intestin.

Néanmoins, l'avènement des outils moléculaires et la publication d'études sur les modes de contamination entre hôtes ont bousculé cette classification binaire, favorisant l'hypothèse de multiples espèces de cryptosporidies ayant des modes de transmission distincts et pour certaines une spécificité d'hôte [21].

Ainsi, les cryptosporidies isolées dans l'abomasum du bétail considérées comme *C. muris* ont été rebaptisées *C. andersoni* à la faveur d'outils moléculaires [17], la différenciant définitivement de *C. muris*. *C. parvum* était considérée comme la seule espèce capable d'infecter l'intestin grêle de tous les Mammifères, y compris l'Homme, ce qui soulignait la transmission animal-homme. Or, des études ont montré l'existence d'une contamination entre humains, sans l'intermédiaire d'animaux infectés [2]. Les analyses moléculaires ont permis

alors d'identifier un « génotype humain » de *C. parvum* , dorénavant appelé *C. hominis* [20] (contamination intra-spécifique), et un « génotype bovin » de *C. parvum* , espèce à caractère zoonotique, souvent appelé *C. pestis* [1].

Enfin, des cryptosporidies mises en évidence dans l'intestin grêle des chats, porcs, cochons d'Inde, bovins et identifiées par génie génétique sont dénommés suivant l'espèce de l'hôte, soit respectivement *C. felis* , *C. suis* , *C. wrairi* et *C. bovis*.

1.3. Epidémiologie

1.3.1. Agent pathogène

1.3.1.1. Taxonomie [3]

Actuellement la taxonomie des cryptosporidies est la suivante :

Phylum : *Apicomplexa*

Classe : *Sporozoea*

Sous-classe : *Coccidia*

Ordre : *Eucoccidida*

Sous-ordre : *Eimeriina*

Famille : *Cryptosporididae*

Genre : *Cryptosporidium*

Il existe beaucoup d'espèces de *Cryptosporidium* pouvant parasiter l'homme et certains animaux comme l'indique le tableau ci-dessous.

Tableau I : Espèces de *Cryptosporidium* sp. pouvant infecter l'Homme [8]

Espèces	Hôte principal
<i>C. hominis</i>	Homme
<i>C. parvum</i>	Bovins, caprins, Homme
<i>C. muris</i>	Rongeurs
<i>C. suis</i>	Porc
<i>C. felis</i>	Chat
<i>C. canis</i>	Chien
<i>C. meleagridis</i>	Dinde

1.3.1.2. Morphologie

Au cours de leur développement, les cryptosporidies présentent différents aspects morphologiques :

- Les oocystes sont de forme sphérique à ovoïde. Leur diamètre varie entre 4 et 8 µm selon les espèces. Chaque oocyste contient quatre sporozoïtes nus sans sporocystes, et présente un corps résiduel granuleux central très réfringent. Leur paroi est composée de deux couches, interne et externe, bien distinctes. La couche externe, de densité électronique variable, est composée d'une matrice polysaccharidique. Cette matrice, où le glucose est le sucre prédominant, est immunogène et hautement résistante aux protéases. La couche interne est peu électrodense. Elle semble composée de glycoprotéines filamenteuses et pourrait contribuer à la robustesse et à l'élasticité de la paroi. À l'un de leurs pôles, une structure unique semblable à une fente s'étend sur 1/3 à 1/2 de leur circonférence. L'ouverture de cette suture permet la libération des sporozoïtes.
- Les sporozoïtes et les mérozoïtes sont élancés, virguliformes. Ils sont libres et mobiles avec présence d'un complexe apical. Les rhoptries, les

micronèmes, les granules denses, le noyau, les ribosomes, les microtubules ainsi que les anneaux apicaux sont visibles par microscopie électronique. Il faut toutefois noter l'absence de mitochondrie, de conoïde et de micropores. Lorsqu'ils se fixent à la cellule hôte, les microvillosités l'entourent et forment une vacuole parasitophore. Des changements au niveau de l'apex de la cellule hôte et dans le parasite mènent à la formation d'un organelle dit d'attachement ou nourricier.

- Les trophozoites possèdent un noyau unique et un organelle d'attachement/nourricier bien développé.
- Les microgamontes ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. Des divisions nucléaires successives dans les microgamontes forment de microgamètes. Chaque microgamète se forme par une protrusion nucléaire à la surface du gamonte. Ils ont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie.
- Les macrogamontes ont une forme sphérique à ovoïde. Ils présentent en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent [8,12].



Figure 1 : Morphologie de *Cryptosporidium parvum* [34]

1.3.1.3. Habitat

Le parasite habite dans les intestins d'humains et d'une grande variété d'animaux, le jeune bétail en particulier.

1.3.2. Mode de contamination

Cryptosporidium est transmis quand la personne ou l'animal ingère de la nourriture ou de l'eau contaminé avec ses oocystes (les particules infectieux du parasite). Le premier cas rapporté de cryptosporidiose chez l'homme était en 1976 et depuis ce temps elle est considérée comme l'une des causes les plus communes des maladies d'origine hydrique chez l'Homme. Les infections de *Cryptosporidium* peuvent être causées par exposition à l'eau potable ou aux eaux de baignade, comme des piscines. Les cultures légumières peuvent aussi être contaminées en appliquant directement le fumier contaminé aux champs sur lesquels les récoltes sont cultivées [26].

1.3.3. Réservoir de parasites

L'homme et les animaux infectés constituent des réservoirs de parasites.

1.3.4. Cycle biologique [30]

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont de parasites monoxènes, c'est-à-dire à un seul hôte. La forme de résistance et de dissémination est l'oocyste, excrété avec les fèces des sujets infectés. Pour que le cycle parasitaire soit initié, l'hôte doit ingérer des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes. Après l'ingestion, l'oocyste éclate et libère 4 sporozoïtes infectants sous l'action de la trypsine et des sels biliaires bien que ces sels ne seraient pas indispensables. L'excystement en absence de sels biliaires permettrait d'expliquer l'infection de sites extra-intestinaux comme le tractus respiratoire.

Les sporozoïtes se déplacent par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Les sporozoïtes présentent alors leur complexe apical à la membrane entérocytaire.

1.3.4.1. Cycle asexué

Le cycle de développement comporte deux mérogonies ou schizogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie. Le trophozoïte donne

naissance à un méronte de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I. Ces huit mérozoïtes de 1^{ère} génération vont infecter les cellules voisines et auront alors deux destins possibles: soit donner naissance à de nouveaux mérontes de type I (recyclage), soit initier une mérogonie de 2^{ème} génération ou type II (qui donnera des mérozoïtes de type II). Ces derniers, qui sont 4 par méronte II, initient la reproduction sexuée ou gamétogonie.

1.3.4.2. Cycle sexué ou gamétogonie

Les 4 mérozoïtes par méronte II se différencient soit en microgamonte mâle, soit en macrogamonte femelle. Les microgamontes deviennent multinucléés, chaque noyau étant ensuite incorporé dans un microgamète. Les macrogamontes demeurent uninucléés en devenant des macrogamètes. La fécondation a lieu suite à l'union des macrogamètes et des microgamètes. Celle-ci aboutit à la formation de zygotes qui deviennent des oocystes. Il existe deux types d'oocystes :

- les oocystes à paroi fine qui libèrent leurs sporozoïtes dans l'intestin et sont à l'origine d'une auto-infestation.
- Les oocystes à paroi épaisse qui sont émis sporulés dans la lumière intestinale, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur et sont directement infectants pour un autre hôte sensible.

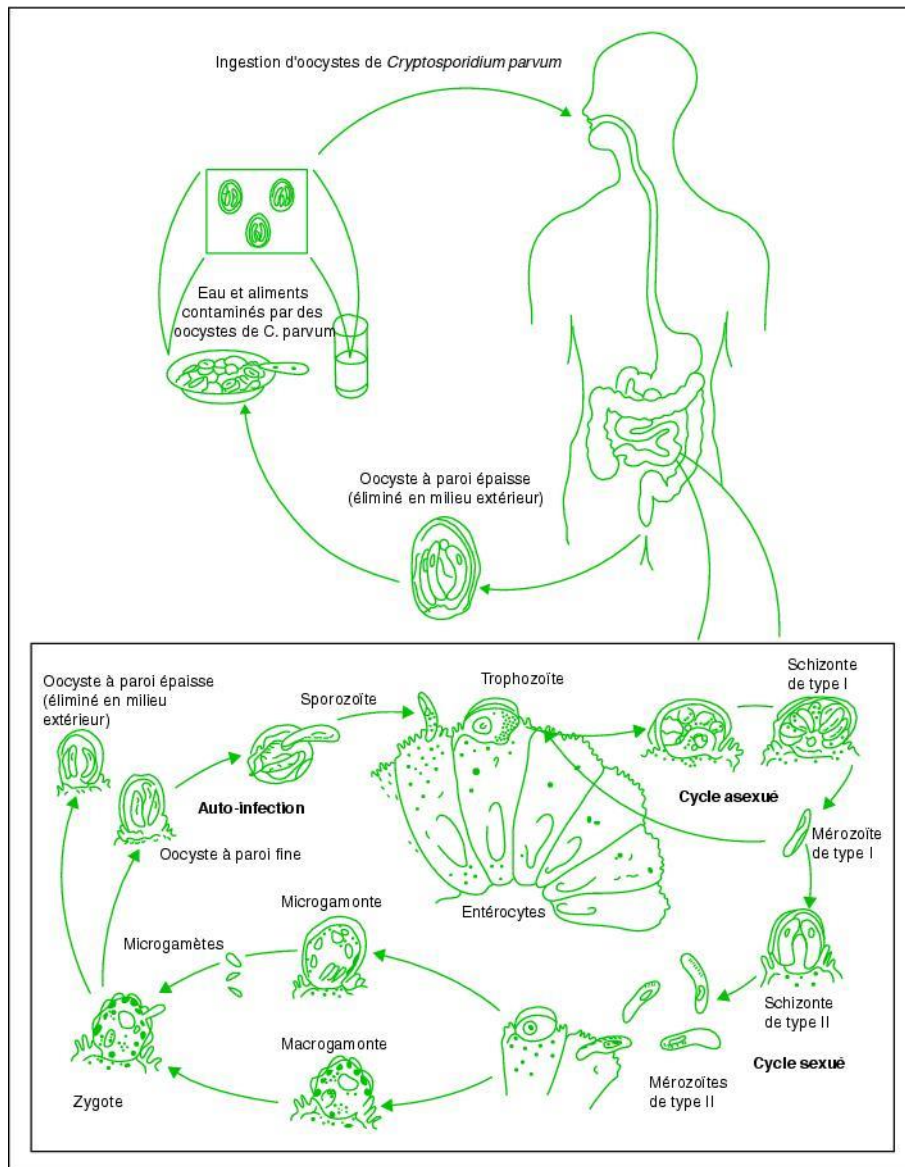


Figure 2 : Cycle de développement de *Cryptosporidium parvum* [16]

1.3.5. Facteurs favorisants [30]

- Fortement associés à un risque de cryptosporidiose:
 - ✓ Voyages (*C. hominis*)
 - ✓ Contact avec une personne ayant une diarrhée
 - ✓ Aider un enfant <5 ans pour aller aux toilettes (*C. hominis*)
 - ✓ Nombre de verres d'eau du robinet bus chaque jour
 - ✓ Contact avec des animaux de la ferme (*C. parvum*)

- Chez les patients infectés par le VIH:
 - ✓ Contact avec un enfant <5 ans (*C. hominis*)
 - ✓ Susceptibilité accrue en fonction du taux de CD4
- Risque chez les autres patients immunodéprimés Transplantés:
 - ✓ Cas rapportés chez les transplantés rénaux, hépatiques
 - ✓ Chez les greffés de moelle

1.3.6. Répartition géographique [8]

La cryptosporidiose est une parasitose cosmopolite. Elle est très fréquente en zone tropicale.

1.4. Pathogénie

Chez les hôtes humains ou animaux la sévérité de la cryptosporidiose est variable en fonction de leur susceptibilité (ex : espèce hôte, âge, statut immunitaire) et de la pathogénicité intrinsèque des isolats

Des observations sur les différences de pathogénicité entre des isolats ont été faites chez des volontaires sains, ainsi que chez des patients sidéens. Des études précédentes ont également démontré que certains isolats diffèrent dans leur capacité à infecter le veau et la souris. D'autres chercheurs ont observé des différences dans la composition en protéines de différents isolats.

Une étude a été réalisée chez un groupe de volontaires en bonne santé exposés à des isolats de *C. parvum* de provenance diverse. Dans cette étude, l'ID50 (dose infectieuse 50%) a différé selon les isolats. Les observations cliniques ont suggéré que des isolats appartenant au même génotype mais obtenus à partir d'emplacements géographiques différents, avaient une infectiosité et une pathogénicité différentes. En fait, un certain nombre de facteurs sont susceptibles de contribuer à la pathogénicité de *Cryptosporidium*.

Comme mentionné précédemment, *C. parvum* est un parasite relativement peu envahissant qui se localise dans la bordure microvillositaire des entérocytes et se développe dans une vacuole parasitophore. Cette position caractéristique dans la

cellule hôte est qualifiée d'intra-cellulaire mais extra-cytoplasmique. Pourtant, ce parasite peut produire des anomalies significatives dans les fonctions d'absorption et de sécrétion de l'intestin. Ces altérations épithéliales sont probablement le résultat soit d'atteintes directes de la cellule épithéliale de l'hôte, soit des perturbations indirectes causées après recrutement de cellules et de cytokines pro-inflammatoires, soit des deux effets associés. Le résultat final serait la diarrhée.

Jusqu'ici les facteurs spécifiques de virulence de *Cryptosporidium* n'étaient pas bien connus. Néanmoins, certaines molécules candidates ont été identifiées par des méthodes immunologiques et moléculaires, et certains mécanismes associés à la pathogénicité ont été décrits. Ils sont les suivants :

1. Adhérence: Pour établir l'infection, l'étape initiale critique est l'attachement du parasite aux cellules hôtes. Plusieurs molécules probablement associées à l'adhérence ont été caractérisées comme par exemple le CSL (circumsporozoïte - like), la gp900, le complexe gp15/40/60, TRAP-C1 et TRAP-C2 (thrombospondin related adhesion proteins).

2. Production de toxines: La diarrhée est le symptôme le plus caractéristique de la cryptosporidiose, mais le mécanisme spécifique par lequel *Cryptosporidium* induit la diarrhée n'a pas été identifié. Des études ont postulé que *Cryptosporidium* produirait une entérotoxine responsable de la diarrhée sécrétoire profuse. Plusieurs observations soutiennent cette idée. La diminution du flux d'anions en présence d'inhibiteurs de cyclo-oxygénase a mené à l'hypothèse d'une activité potentielle entérotoxigène de *Cryptosporidium*. Celle-ci impliquerait la sécrétion des prostaglandines par les cellules épithéliales intestinales infectées.

3. Lésions cellulaires : En infectant des cultures en monocouche d'entérocytes avec *Cryptosporidium*, des altérations cellulaires ont été documentées comme la rupture des jonctions inter-cellulaires, la perte de la fonction barrière et la libération de lactate déshydrogénase intracellulaire. Les mécanismes impliqués

dans la rupture des membranes pendant l'invasion par *Cryptosporidium* demeurent inconnus. Les phospholipases, les protéases, ou les hémolysines sont des molécules qui peuvent potentiellement altérer directement les tissus. Une protéine spécifique de *Cryptosporidium* pourrait être associée à l'invasion cellulaire et à la perte de fonction barrière. C'est l'hémolysine H4 codée par le gène hemA.

4. Apoptose : Plusieurs groupes de chercheurs ont suggéré que *Cryptosporidium* était cytopathogène vis-à-vis des cellules épithéliales directement infectées mais également des cellules non infectées. En utilisant des cellules épithéliales biliaires en culture, Chen et al ont démontré que cet effet cytopathogène est lié à l'apoptose des cellules infectées et des cellules non infectées au moment de l'entrée du parasite dans la cellule. Mc Cole et al ont montré in vitro que *Cryptosporidium* pouvait favoriser l'apoptose au moment de l'entrée dans la cellule épithéliale et une fois installé, il peut produire une inhibition de l'apoptose par un mécanisme associé à l'activation du facteur nucléaire κ B (NF κ B). Mele et al après l'étude de *C. parvum* en culture de cellules HCT-8 ont observé que le parasite peut moduler l'apoptose en favorisant la mort programmée de celles-ci au moment de l'infection, et en inhibant l'apoptose après l'infection, afin probablement de faciliter sa croissance dans des cellules infectées. Plus récemment il a été montré que l'infection par *C. parvum* conduit à une surexpression de gènes codant pour des inhibiteurs de protéines de l'apoptose (IAPs) comprenant c-IAP1, c-IAP2, XIAP et survivin [8,12,23,30].

1.5. Manifestations cliniques

L'infection par *Cryptosporidium* peut être asymptomatique dans certains cas. Dans les autres cas, la clinique et la sévérité de l'infection peuvent changer considérablement d'une personne à une autre, dépendant surtout du statut immunitaire de l'hôte.

1.5.1. Chez les enfants

L'infection se manifeste par une diarrhée (selles surtout liquides), des vomissements, une fièvre. On note parfois des douleurs abdominales, une déshydratation (modérée à sévère) [30].

1.5.2. Chez les sujets immunocompétents

Le symptôme le plus remarquable chez les personnes immunocompétentes est la diarrhée, habituellement abondante et aqueuse. Du mucus est parfois présent dans les selles mais le sang et les leucocytes sont rares. Les crampes abdominales, l'anorexie, les nausées, les vomissements, la perte de poids, la fièvre et la fatigue peuvent occasionnellement accompagner la diarrhée. Chez les personnes immunocompétentes, la durée moyenne de la maladie est de 12 jours. Celle-ci est auto- résolutive, sans aucun traitement spécifique [8,30].

1.5.3. Chez les sujets immunodéprimés

Chez les patients immunodéprimés pour différentes raisons comme une malnutrition, une infection par le VIH, un cancer, etc., la durée et la sévérité de la cryptosporidiose dépend du niveau de l'immunosuppression. La cryptosporidiose, en tant que maladie opportuniste, se produit habituellement chez les patients présentant moins de 100 lymphocytes CD4+/mm³. Chez ces patients immunodéprimés, les infections peuvent devenir chroniques tant que l'immunodépression est maintenue, et représentent un risque vital. La cryptosporidiose peut être létale à cause des évacuations fréquentes, aqueuses et volumineuses conduisant à une déshydratation très importante. Dans certains cas, une dissémination de l'infection vers d'autres organes a lieu, par exemple, vers le foie, la vésicule biliaire, le pancréas et même vers l'arbre respiratoire. Au niveau biliaire, le parasite a été mis en évidence dans la bile et serait incriminé dans la pathogénie des cholécystites aiguës. Les symptômes sont des nausées, des vomissements et un ictère avec élévation du taux de la phosphatase alcaline et de la bilirubine [4].

1.6. Diagnostic biologique

1.6.1. Circonstances du diagnostic biologique

Une diarrhée liquide, moyenne à profuse et s'auto-limitant (jusqu'à 10 selles par jour, et volume des selles : jusqu'à 17 litres par jour), des crampes abdominales, des nausées, des malaises, une fièvre modérée ($< 39^{\circ}\text{C}$), des maux de tête, de l'anorexie et une perte de poids mais aussi le statut sérologique (VIH+) de la personne constituent des éléments d'orientation pour le diagnostic de la cryptosporidiose [6].

1.6.2. Diagnostic parasitologique

1.6.2.1. Prélèvements

- Selles fraîchement émises ; l'élimination des oocystes étant intermittente, il est recommandé d'effectuer la recherche sur au moins trois échantillons à deux-trois jours d'intervalle.
- Biopsies duodénales ou intestinales.
- Liquides de lavage broncho-alvéolaire, prélèvements biliaires

1.6.2.2. Recherche des oocystes de *Cryptosporidium sp.* dans les selles

a) Examen direct

Sur une lame porte-objet propre, on dépose une goutte de sérum physiologique. A l'aide d'une baguette en verre ou en bois on prélève une petite quantité de selles qu'on mélange à la goutte de sérum physiologique et on recouvre la lame d'une lamelle. Si les selles sont liquides, on prélève une goutte de selles qu'on dépose sur une lame porte-objet et on recouvre d'une lamelle.

La préparation est ensuite examinée au microscope optique à l'objectif 10 puis 40.

b) Examen après concentration [6,30]

- Techniques de flottation

Le principe de flottation utilise un milieu liquide qui est plus dense que les oocystes à concentrer. Ainsi, quand ils sont mélangés au liquide, les oocystes remontent à la surface, peuvent être récoltés à partir de la surface et détectés selon une méthode appropriée. Pour un liquide de flottation utilisable en diagnostic, lorsque la morphologie et la morphométrie sont les facteurs limitants, le milieu de suspension ne doit pas seulement être plus lourd que l'objet flottant mais doit ne pas produire de rétraction qui rendrait l'objet méconnaissable. Les méthodes de flottation par le saccharose, le sulfate de zinc et le sel en saturation sont toutes fiables pour la concentration des oocystes de cryptosporidies. Ce qui suit est la description des méthodes utilisées pour préparer des solutions de flottation et pour concentrer les oocystes.

• Flottation au saccharose

La solution de sucre (densité spécifique de 1,18) est préparée dans un récipient en verre en additionnant 256 g de saccharose à 300 ml d'eau désionisée. La solution est chauffée modérément ($< 60^{\circ}\text{C}$) et agitée continuellement par un agitateur magnétique sur une plaque jusqu'à ce que le sucre soit dissous complètement. La solution de saccharose est soit placée dans de la glace soit au réfrigérateur jusqu'à obtenir une température de 4°C . La solution refroidie de saccharose est transférée dans une éprouvette de 500 ml et sa densité spécifique est ajustée à 1,18 en ajoutant la quantité suffisante d'eau désionisée (4°C). La solution est transférée dans un récipient en verre à bouchon vissé, étiqueté, daté, identifié et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

• Flottation au sulfate de zinc

La solution au sulfate de zinc (densité spécifique de 1,18) est préparée en ajoutant, dans un récipient en verre, 100 g de sulfate de zinc à 300 ml d'eau désionisée. La solution est modérément chauffée ($< 60^{\circ}\text{C}$) et agitée continuellement par un agitateur magnétique sur une plaque jusqu'à ce que le sel

soit dissous complètement. La solution de sulfate de zinc est transférée dans une éprouvette de 500 ml et sa densité spécifique est ajustée à 1,18 en ajoutant la quantité suffisante d'eau désionisée (4°C). La solution est transférée dans un récipient en verre à bouchon vissé, étiqueté, daté, identifié et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

- Flottation au chlorure de sodium

La solution au chlorure de sodium (densité spécifique de 1,2) est préparée en ajoutant 200 g de chlorure de sodium à 200 ml d'eau désionisée. La solution est modérément chauffée (< 60°C) et agitée continuellement par un agitateur magnétique sur une plaque jusqu'à ce que le sel soit dissous complètement. De petites quantités de sel sont ajoutées (approximativement 10 g) toutes les 10 min jusqu'à ce que la solution soit saturée. La solution est ensuite décantée dans un récipient en verre placé soit dans la glace soit dans un réfrigérateur jusqu'à ce que la température soit ajustée à 4°C. La solution refroidie saturée est ensuite transférée dans une éprouvette de 500 ml et sa densité spécifique est ajustée à 1,2 en ajoutant la quantité suffisante d'eau désionisée (4°C). La solution est transférée dans un récipient en verre à bouchon vissé, étiqueté, daté, identifié et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation. La saumure est une solution aqueuse concentrée en NaCl qui a une densité spécifique entre 1,12 et 1,2 selon le degré de pureté du sel utilisé. Fiable pour la concentration des oocystes de cryptosporidies, quelques kystes de protozoaires peuvent être fortement « ratatinés » ou vidés dans le liquide de flottation. Le temps optimal pour examiner les échantillons obtenus à partir d'une flottation en saumure est entre 5 et 20 min après leur récolte en flottation.

- Techniques diphasiques

Principe

Par une solution chimique, certains résidus fécaux sont dissous et d'autres acquièrent une affinité pour l'éther. Le Principe de ces techniques est donc de

mélanger les selles avec une solution déterminée puis d'agiter le tout avec de l'éther avant de centrifuger pour recueillir les œufs et les kystes.

Principales techniques diphasiques

➤ Méthode de RITCHIE

- Avantages

Elle peut être utilisée sur les selles formolées donc sur des selles collectées pour enquêtes épidémiologiques. Elle concentre bien les œufs d'ascaris et de schistosome.

- Inconvénient

Le culot souvent volumineux est de lecture difficile.

- Technique

Les selles sont diluées dans environ 10 fois leur volume d'une solution de formol à 10% de façon à obtenir une suspension homogène.

* Tamiser sur une passoire métallique ;

* Ne jamais utiliser à cet usage une compresse de gaze susceptible de retenir un grand nombre d'éléments parasitaires ;

* Laisser sédimenter 30 secondes à 2 mn. Ce temps ne doit pas être prolongé sous peine de perdre les éléments parasitaires les plus lourds ;

*Décanner dans un tube à centrifuger conique ;

*Ajouter 1/3 du volume total d'éther: le niveau final doit s'arrêter à 1 ou 2 centimètres du bord du tube ;

*Boucher avec le pouce et agiter de façon à obtenir une émulsion homogène;

*Centrifuger 2 mn à 2000 tours ;

*On obtient 3 couches :

- une couche aqueuse
- une couche formolée de débris divers
- une couche éthérée colorée en jaune

*Vider le contenu du tube en décollant la couche solide à l'aide d'une pipette pasteur ;

- Si l'enrichissement est réussi, on doit obtenir un très petit culot qu'on ramasse à l'aide d'une pipette pasteur et qu'on examine entre lame et lamelle.

➤ Méthode de BAILENGER

La méthode proposée par Bailenger tient compte de l'importance du pH.

- Avantage

Elle est beaucoup plus fiable dans la recherche des kystes et des œufs se concentrant bien dans un pH aux environs de 5 (Giardia, amibes, trichocéphale, ankylostome)

- Inconvénient

Pour rechercher les œufs de schistosome une autre technique est nécessaire.

- Technique

On opère de la même façon en remplaçant le formol à 10% par la solution suivante :

- Acétate de Sodium :15g
- Acide acétique :3,60ml
- Eau distillée : 1000ml

Ajuster à pH =5 avec de l'ac. acétique. Ce pH a été reconnu par Bailenger comme étant le plus favorable à la concentration des éléments parasitaires.

c) Colorations [6,30]

- Coloration au lugol

Une solution de lugol est préparée à l'aide d'un mélange d'iode et d'iodure de potassium. Un étalement de fèces est réalisé en déposant une goutte de fèces liquide ou d'un mélange fèces-sérum physiologique que l'on recouvre d'une lamelle. Avant que l'étalement ne se dessèche, une goutte de lugol est déposée au bord de la lamelle. Le colorant migre alors sous la lamelle et colore les éléments. Lors d'une coloration d'une lamelle après centrifugation, la technique est identique, une petite quantité de lugol est placée au bord de la lamelle.

L'observation se fait dans la zone de progression du colorant, à l'aide d'un microscope optique et d'objectifs x 10 et x 40.

- Coloration de Heine
- ✓ Effectuer un mélange soigneux des selles avec un volume égal de fuscine phéniqué
- ✓ Etaler en frottis mince 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 brillant avec un point rouge central.

- Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henricksen

C'est la coloration de référence ;

- Faire un frottis à partir des selles à examiner ou à partir du culot de concentration (Ritchie ou Bailenger). Si le frottis est préparé directement à partir des selles, on peut faire une dilution avec une goutte d'une solution de chlorure de sodium à 0,9 g %, si cela est nécessaire.
- Laisser sécher à la température du laboratoire.
- Recouvrir les lames de méthanol ou d'alcool à 96°
- Laisser sécher à la température du laboratoire
- Colorer à froid pendant une heure dans un bac contenant une solution de fuchsine phéniquée
- Rincer rapidement à l'eau du robinet, dans un bac, en agitant doucement les lames.
- Différencier 20 secondes dans une solution d'acide sulfurique à 2% en agitant doucement

- Rincer rapidement à l'eau de robinet, dans un bac, en agitant doucement les lames
- Contre colorer dans une solution aqueuse de vert de malachite à 5% pendant 8 minutes.
- Rincer rapidement à l'eau du robinet, dans un bac, en agitant doucement les lames.
- Sécher à la température du laboratoire
- Lire au microscope avec l'objectif à immersion 100. Il est possible de rechercher les parasites à des grossissements plus faibles (objectifs 40 et 60 ou immersion 50), mais il faut confirmer le diagnostic à l'immersion 100.

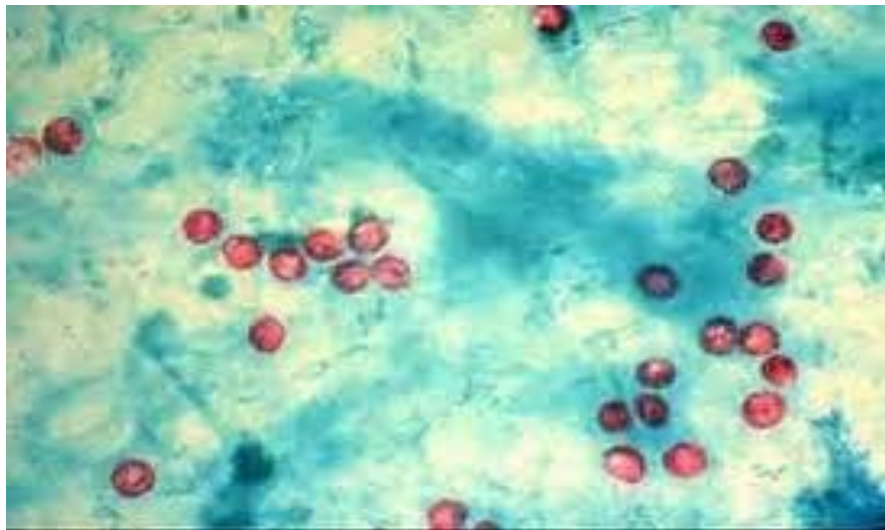


Figure 3 : Oocystes de *Cryptosporidium* par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée [35]

1.6.3. Diagnostic immunologique

○ Recherche des copro-antigènes [30]

- Technique d'immunofluorescence

En immunofluorescence directe, un anticorps(Ac) M conjugué au FITC spécifique de genre et des épitopes de surface des oocystes de cryptosporidies se lie aux oocystes présents dans l'échantillon. Une excitation ultra-violet (UV) utilisant un système de filtre FITC (longueur d'onde d'excitation de 490 nm, émission moyenne 530 nm) induit une fluorescence vert pomme brillante des oocystes. Les matériels fournis avec les trousse de diagnostic commercialisées varient, mais les témoins positifs et négatifs de *C. parvum*, l'Ac M conjugué FITC spécifique de *Cryptosporidium* (fourni à la dilution appropriée) et un milieu de montage au glycérol contenant un inhibiteur de la photo-décoloration sont normalement inclus dans la trousse. Des témoins positifs et négatifs sont normalement réalisés à chaque analyse.

Les étalements fécaux séchés à l'air ou les enrichissements sont fixés dans le méthanol absolu (ou l'acétone selon les recommandations du fabricant) puis séchés à l'air. Souvent les lames fournies dans les trousse de diagnostic sont munies de puits dans lesquels les échantillons et les réactifs sont distribués et retenus. Les instructions du fabricant doivent être suivies. C'est une fausse économie de diluer les réactifs et d'augmenter le volume testé. L'Ac M anti-*Cryptosporidium* à la dilution prédéterminée est appliqué sur l'échantillon séché et fixé, et les lames sont incubées horizontalement dans l'obscurité dans une chambre humide. L'excès d'anticorps est éliminé par rinçage et l'excès d'humidité essuyé. Le milieu de montage est appliqué et une lamelle couvre-objet appliquée sur l'échantillon, en s'assurant qu'aucune bulle d'air n'a été retenue. Si le milieu de montage n'est pas fourni, un mélange de 50 % de glycérol non fluorescent et 50 % de tampon phosphate PBS (v/v) est fiable. Les échantillons sont examinés à l'objectif x20, les oocystes reconnus à l'objectif x40 et estimés quantitativement. Les nombres sont estimés comme

précédemment. En l'absence de recommandations du fabricant, la méthode suivante donne des résultats satisfaisants.

Le fluorogène nucléaire 4'6-diamidino-2-phenyl indole (DAPI; [C₁₆H₁₅N₅.2HCl, FW 350.2]), peut être utilisé pour éclairer les noyaux des sporozoïtes à l'intérieur des oocystes fluorescents fournissant ainsi une information morphologique supplémentaire. DAPI est un intermédiaire non spécifique de l'ADN, aussi l'ADN d'autres éléments cellulaires comme des bactéries et des levures seront aussi colorés. DAPI à la concentration de 0,4 µg/ml est particulièrement utile quand les oocystes sont observés dans des prélèvements non fécaux (ex. l'eau ou denrées alimentaires). DAPI réagit avec le noyau des sporozoïtes à l'intérieur des oocystes viables et non viables et induit une fluorescence bleu ciel.

Un filtre bleu (excitation 490 nm, émission 510 nm) est utilisé pour visualiser l'AcM-FITC et une excitation UV (excitation 355 nm, émission 450 nm) est utilisée pour déterminer la présence de DAPI colorant le noyau du sporozoïte.

- Technique ELISA

Dans l'ELISA, la présence d'antigènes de cryptosporidies est recherchée dans les fèces (coproantigènes). Selon la trousse de diagnostic commercialisée, les coproantigènes de cryptosporidies sont détectés et révélés par un mélange d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. À l'exception d'une lecture automatique, les trousse de détection de coproantigènes n'offrent pas une sensibilité accrue par rapport aux méthodes décrites.

Les trousse commercialisées de détection d'antigènes ELISA sandwich renferment des lignes de puits de capture de coproantigènes de cryptosporides, des anticorps anti-cryptosporides conjugués à une enzyme (fréquemment la peroxydase de raifort), le substrat, le système de développement chromogène/substrat et la solution de blocage (qui inhibe les enzymes de catalyse ajoutés au mélange). Ils ont été développés pour détecter des antigènes de *C. parvum* dans des échantillons fécaux, mais ils sont capables de détecter

des épitopes courants pour des infections dues à des agents autres que *C. parvum*. Les témoins positif et négatif sont inclus dans les trousses. Les trousses commercialisées renferment normalement tous les réactifs nécessaires à la réalisation de l'analyse et les instructions du fabricant doivent être suivies. C'est une fausse économie de diluer les réactifs pour augmenter la capacité du test. Une méthode détaillée et le calcul du seuil et de définition du négatif, du positif des échantillons sont également présentés. Les réactifs sont normalement stockés à 4°C en dehors de leur utilisation. Tous les réactifs doivent être mis à la température de la pièce avant d'être utilisés. Du fait des variations des méthodes décrites dans les différentes trousses de diagnostic commercialisées, aucune méthode de détection des coproantigènes n'est décrite dans ce chapitre.

- Technique d'immunochromatographie

Divers tests rapides existent, Certains ne recherchent qu'un seul élément parasitaire *C. parvum* ou *G. intestinalis*. D'autres tests recherchent de façon combinée *Cryptosporidium* et *Giardia* ou *C. parvum* avec les virus rotavirus et coronavirus ainsi que la bactérie *Escherichia coli* K99. Il n'existe pas de test immunochromatographique permettant la détection des coccidies.

Ces tests utilisent des anticorps monoclonaux dirigés contre des protéines spécifiques de la membrane ou de la paroi des oocystes, des kystes et des trophozoïtes. Pour générer un signal visuel, dans certains tests, des microbilles de latex colorées sont liées aux anticorps monoclonaux [Papini et Cardini (2006)].

La plupart du temps ces tests sont sous forme de tigettes ou de plaquettes. Les tigettes sont à tremper dans l'échantillon de selles puis à mettre dans une solution tampon pour faire migrer les antigènes. Lors de tests sous forme de plaquettes [thermo scientific], il faut alors effectuer une dilution des selles dans une solution, puis mettre quelques gouttes du mélange dans les différents puits présents et ajouter une solution tampon [Depierreux et al. (2001)]. La lecture se fait facilement par l'apparition ou non d'un trait coloré dans une zone précise.

Les différents tests rapides d'immunochromatographie présentent des sensibilités et des spécificités supérieures à 94% [Garcia et Shimizu (1997)]. Par exemple pour le FASTest Crypto-Giardia Strip du laboratoire allemand Megacor, la Sensibilité est de 96,7% pour *C. parvum* et 97,2% pour *G. duodenalis* et la spécificité de 99,9% pour les deux parasites, [Megacor]. Pour le kit détectant les antigènes de *Cryptosporidium* du laboratoire Kitvia, les études montrent une sensibilité de 98% et une spécificité de 99% [KITVIA].

Cette technique est très rapide et ne nécessite pas un technicien spécialisé pour sa réalisation. Aucun matériel supplémentaire n'est nécessaire pour ces tests et la quantité de selles nécessaire est très faible [Gaafar (2011)].

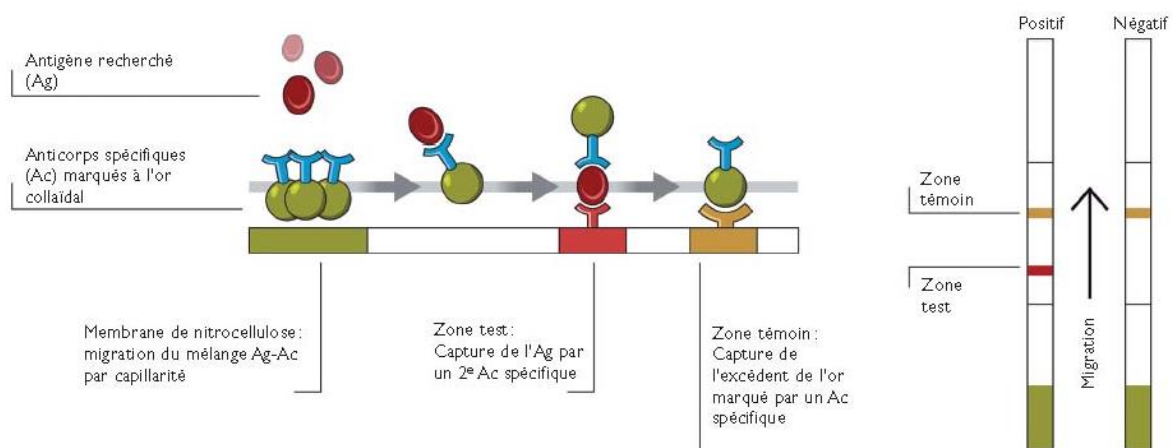


Figure 4 : Mise en évidence de *Cryptosporidium* par immunochromatographie [36]

1.6.4. Diagnostic histologique

Le diagnostic de la cryptosporidiose était initialement basé sur l'identification des stades endogènes par un examen histologique dont l'intérêt est de localiser les zones infectées et d'évaluer l'étendue des lésions. Les traits pathologiques observés sont identiques chez l'Homme et chez l'animal.

- Au niveau intestinal, la parasitose détermine une réaction inflammatoire de la muqueuse avec infiltration lymphoplasmocytaire, une hyperplasie des cryptes et une atrophie villositaire. Ces lésions sont similaires à celles qui accompagnent une réponse immunitaire à médiation cellulaire.
- Dans l'appareil respiratoire, les changements histopathologiques sont représentés par une métaplasie de la muqueuse des bronches et de la trachée, une déciliation et une infiltration par des lymphocytes, des cellules plasmatiques et des histiocytes [6,30].

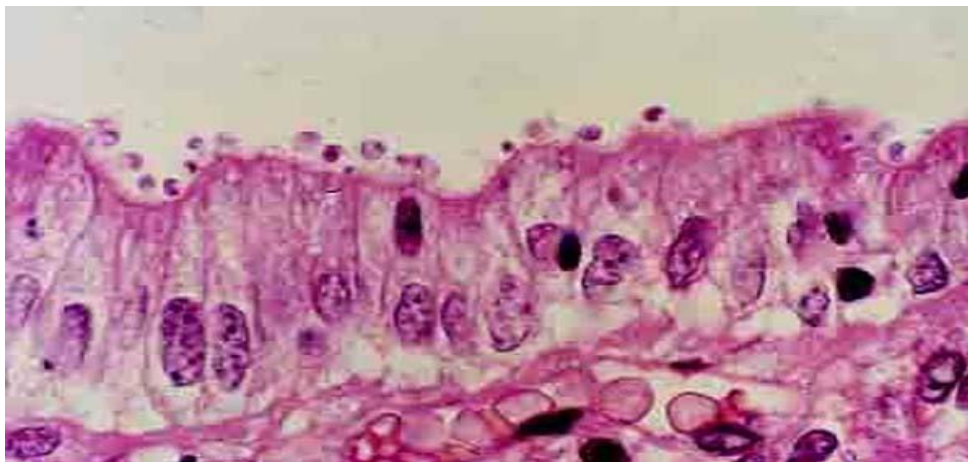


Figure 5 : Mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les entérocytes [34]

1.6.5. Diagnostic moléculaire par PCR

Elle permet de poser le diagnostic d'espèce.

Principe : La réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier in vitro une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une

quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplique d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

Résultat et interprétation : La technique de PCR permet de différencier les deux espèces les plus fréquemment isolées chez l'homme : *Cryptosporidium parvum* et *Cryptosporidium Hominis*. En effet, la discrimination de ces deux espèces permet des études épidémiologiques. Pour chaque prélèvement présentant des oocystes de *Cryptosporidium sp* en microscopie optique, une PCR nichée suivie d'une digestion enzymatique (PCR /RFLP) sera systématiquement réalisée pour le diagnostic d'espèce [30].

1.7. Traitement

Aucun traitement n'est totalement efficace que ce soit chez les patients immunocompétents ou immunodéprimés. Trois médicaments ont une activité partielle sur la cryptosporidiose digestive en réduisant la durée des symptômes mais sans permettre une éradication des parasites. Il s'agit de la nitazoxanide (Alinia®), la paramomycine, un antibiotique de la classe des rifamycines, la rifaximine (Xifaxan®, Normix®), semble plus efficace [8,12].

1.8. Prévention

Il n'existe aucune chimioprophylaxie. La prévention individuelle consiste à réduire le risque de contamination par des oocystes, en respectant des règles d'hygiène alimentaire et en évitant l'ingestion d'eau ou d'aliments pouvant être souillés par des matières fécales. Chez les patients fortement immunodéprimés, cette prévention conduit à recommander exclusivement la consommation d'eau embouteillée.

Un traitement antirétroviral est d'une importance capitale pour les sujets vivants avec le VIH car permettant une restauration du système immunitaire.

La prévention collective consiste à protéger les ressources naturelles d'eau de toute contamination fécale animale et s'assurer de la protection et de l'intégrité des réseaux de distribution d'eau potable. Il n'existe aucun vaccin animal ou humain pour la cryptosporidiose [30].

2. L'INFECTION A VIH/SIDA

2.1. Définition

Aujourd'hui, dans les pays développés, la contamination par le VIH provoque une infection qui évolue lentement pendant plusieurs années. Ce que l'on appelle le sida en constitue la forme la plus avancée et la plus grave, mais résulte d'un processus à long terme, au cours duquel il est possible d'intervenir. Lorsque des personnes ont été contaminées par le VIH, on dit qu'elles sont atteintes d'infection par le VIH [37].

2.2. L'agent pathogène

L'agent pathogène du sida est un virus désigné sous le nom de virus de l'Immunodéficience Humaine HIV ou VIH. Il en existe deux : HIV₁ et HIV₂.

Le virus est constitué d'une enveloppe externe protéique et d'une partie interne nucléide. C'est un virus fragile qui ne résiste ni à la chaleur, ni aux antiseptiques courants (eau de javel, alcool,...) ; il est détruit par les milieux acides et ne vit pas longtemps à l'air libre [31].

Structure du VIH-1

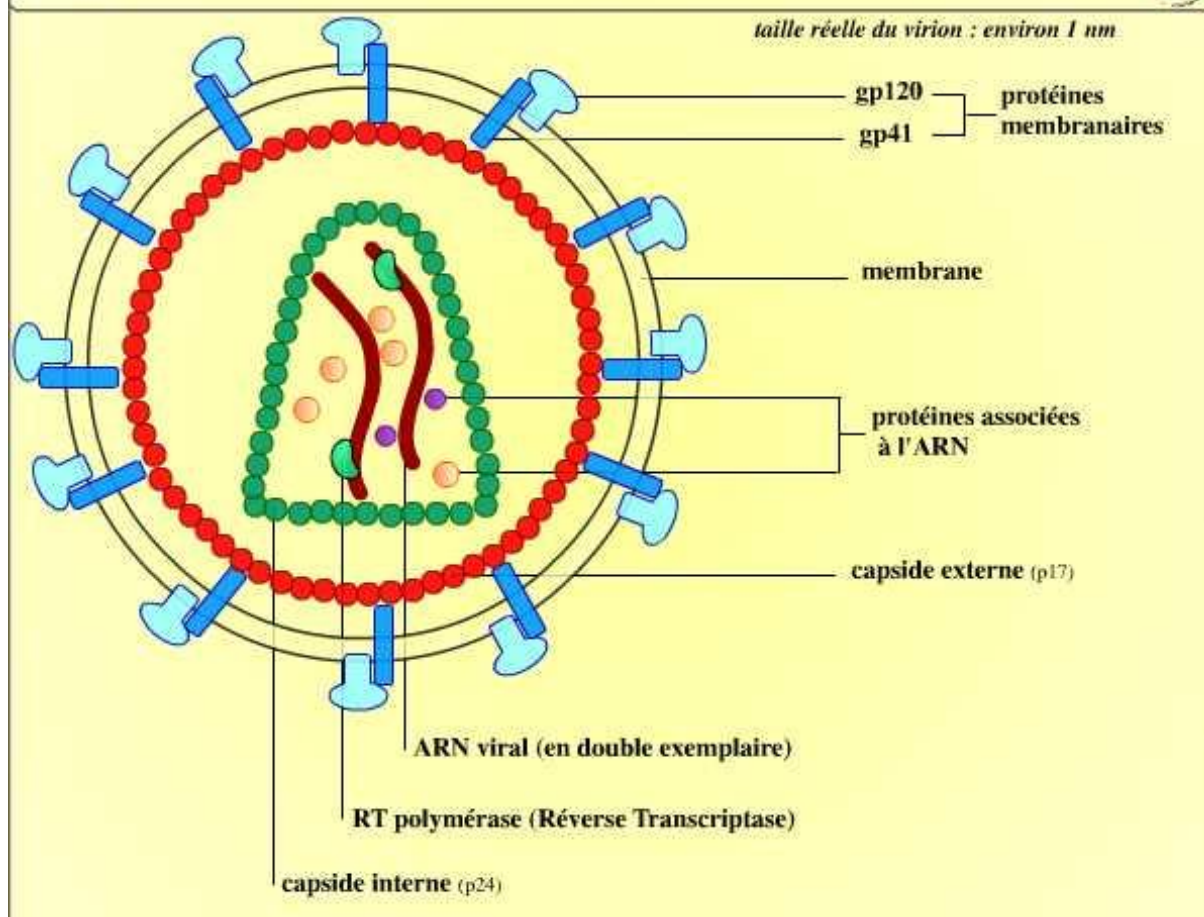


Figure 6 : Structure du VIH [39]

2.3. Transmission

Le virus HIV est présent dans le sang, le sperme et les sécrétions vaginales. Il se transmet donc à partir du sang ou du sperme et des sécrétions vaginales des personnes infectées.

La transmission se fait :

- par voie sexuelle au cours de rapports sexuels non protégés par des préservatifs;
- par des produits sanguins (transfusions, facteurs sanguins) ;
- par l'utilisation du matériel souillé (seringues, aiguilles, matériel de tatouage, scarification, excision, circoncision...
- par une mère infectée à son enfant, avant pendant ou peu après l'accouchement ;

- par le don d'organes, d'autres tissus et sperme infectés [4].

2.4. Répartition géographique

Plus de 40 millions de personnes dans le monde sont VIH positives et développeront un SIDA dans les dix prochaines années. 90% vivent dans des pays pauvres en ressources dans certaines régions d'Afrique et d'Asie.

2.5. Manifestations cliniques (Classification de l'OMS révision 2007) [33]

L'OMS classe les manifestations cliniques de l'infection à VIH en 4 stades :

Stade clinique 1

- Patient asymptomatique
- Adénopathies persistantes généralisées

Stade clinique 2

- Perte de poids < 10% du poids corporel
- Zona (au cours des 5 dernières années)
- Manifestations cutanéomuqueuses mineures (dermite séborrhéique, prurigo, ulcérations buccales, chéilite angulaire, atteinte fongique des ongles)
- Infections récidivantes des voies aériennes supérieures

Stade clinique 3

- Perte de poids supérieure à 10% du poids corporel
- Diarrhée chronique inexpliquée > 1 mois
- Fièvre prolongée inexpliquée > 1 mois
- Candidose buccale persistante (muguet)
- Leucoplasie chevelue buccale
- Tuberculose pulmonaire au cours de l'année précédente
- Infection bactérienne sévère (pneumopathie, pyomyosite, ostéoarthrite, méningite...)
- Stomatite ulcérée nécrosante aiguë

- Anémie persistante (hb < 8g/dL) / Neutropénie chronique < 500/mm³ / Thrombopénie chronique < 50000/mm³

Stade clinique 4

- Syndrome cachectisant dû au VIH (>10% du poids corporel, associée à une diarrhée chronique inexpliquée ou une asthénie chronique ou une fièvre prolongée inexpliquée)
- Pneumocystose
- Pneumonie bactérienne récurrente sévère
- Toxoplasmose cérébrale
- Cryptosporidiose avec diarrhée > 1 mois
- Cryptococcose extrapulmonaire
- Cytomégalovirose
- Herpes virose cutanéomuqueuse > 1 mois ou viscérale
- Leucoencéphalite multifocale progressive
- Mycose endémique généralisée (histoplasmosse, coccidioidomycose)
- Candidose œsophagienne, trachéale, bronchique ou pulmonaire
- Mycobactériose atypique disséminée
- Septicémie à salmonella non typhi récurrente
- Tuberculose extrapulmonaire
- Lymphome malin
- Sarcome de Kaposi
- Encéphalopathie à VIH
- Leishmaniose américaine réactivée (méningo-encéphalite ou myocardite)
- Néphropathie symptomatique associée au VIH

2.6. Diagnostic biologique [4,37]

Le diagnostic du VIH est un élément important des soins du VIH/SIDA. Le diagnostic du VIH doit être basé sur un test VIH positif. Les “3 C” utilisés depuis 1985 restent la pierre angulaire des tests du VIH au niveau individuel. La

déclaration politique de l'ONUSIDA/OMS sur les tests du VIH stipule que les tests doivent :

- être confidentiels ;
 - être accompagnés de conseils ;
 - n'être effectués qu'avec le consentement éclairé du patient
- ✓ Diagnostic chez l'adulte

La méthode diagnostique standard du VIH est le dépistage des anticorps anti-VIH (test sérologique). On procède habituellement à un test Elisa et si le test Elisa est positif, il est confirmé par un test Western blot. De nombreux pays à faibles revenus ne peuvent néanmoins pas se permettre de confirmer un test Elisa positif par un deuxième test. L'OMS a dès lors élaboré des stratégies basées sur la combinaison de tests de dépistage ne nécessitant pas de test Western blot (WB) de confirmation qui est coûteux. Plusieurs tests sérologiques rapides, y compris pour la confirmation, peuvent être réalisés sur place. Respass et al. ont procédé à une revue des différents algorithmes, stratégies, avantages et inconvénients du test Elisa et des tests rapides, ainsi que des caractéristiques et du statut des tests VIH rapides actuellement disponibles.

Actuellement, la procédure de diagnostic du VIH comprend d'abord un dépistage à l'aide d'un test simple/rapide dont le résultat s'il est positif est confirmé par un deuxième test rapide. Si les résultats restent incertains, un troisième test rapide est effectué.

La stratégie de test utilisée dépendra des objectifs du test, de la prévalence du VIH et de l'âge du patient.

- ✓ Diagnostic chez l'enfant

Etant donné la persistance des anticorps maternels jusqu'à l'âge de 18 mois, il est impossible d'utiliser le test sérologique chez les enfants < 18 mois. Les anticorps de la mère diminuent progressivement et deviennent généralement négligeables à partir de 7 à 10 mois, mais ils peuvent parfois persister jusqu'à 18 mois : que l'enfant soit ou non infecté, le test des anticorps peut donc être

positif jusqu'à 18 mois. La méthode diagnostique à utiliser chez l'enfant dépend aussi de son âge.

L'absence de tests diagnostiques appropriés pour le dépistage précoce de l'infection à VIH chez les nourrissons nés de mères séropositives est un des freins à l'élargissement de l'accès des nourrissons séropositifs à un traitement antirétroviral (TARV). Un panel d'experts s'est penché sur l'adaptation des recommandations en matière de traitement antirétroviral chez les nourrissons et les enfants dans les environnements à ressources limitées. La question du diagnostic précoce chez les nourrissons ainsi que du diagnostic de présomption d'infection sévère à VIH en l'absence de possibilité de diagnostic définitif a été revue ainsi que les recommandations de classification clinique et immunologique chez les nourrissons et les enfants infectés par VIH. Dans leur draft, ils présentent des organigrammes de diagnostic du VIH chez les enfants qui tiennent également compte de l'allaitement.

- Enfants < 18 mois

Dans ce groupe de patients, le diagnostic définitif d'infection à VIH ne peut reposer que sur un test virologique. Les tests virologiques diagnostiques susceptibles d'être utilisés chez les nourrissons comprennent des tests destinés à détecter l'ADN VIH plasmatique, l'ARN VIH plasmatique, l'antigène p24 dénaturé par la chaleur et les cultures virales. La PCR reste la méthode préférée, mais c'est une méthode exigeante sur le plan technique. La PCR en temps réel est meilleur marché et plus facile à standardiser. Le test de détection du p24Ag dénaturé par la chaleur (test de Schüpbach) est un test fiable, mais moins sensible que les tests ADN/ARN VIH. Chez les jeunes enfants, le sang complet est difficile à prélever. L'utilisation de DBS (dry blood spots) permet d'éluder le problème et de prélever le sang nécessaire par une simple piqûre au talon. L'utilisation des DBS dans le cadre des tests ADN et ARN VIH a prouvé sa fiabilité.

Il est recommandé de réaliser le premier test virologique à 6-8 semaines, au moment de la première visite postnatale (à ce moment, les enfants infectés intrapartum ou peripartum seront positifs à la PCR). Deux tests positifs effectués sur le même échantillon confirment le diagnostic. Idéalement, un deuxième échantillon devrait être testé, mais en santé publique, chez les enfants symptomatiques exposés au VIH, un seul résultat positif suffit pour confirmer le diagnostic et instaurer le traitement antirétroviral. Le test de l'antigène p24 dénaturé par la chaleur peut être utilisé pour diagnostiquer l'infection à VIH chez les nourrissons de 4-6 semaines, mais étant donné qu'il est moins sensible que les tests PCR de l'ADN ou de l'ARN, il ne peut pas être utilisé pour l'exclure.

A l'âge de 18 mois, un test des anticorps anti-VIH doit être réalisé pour confirmer le diagnostic. Un test virologique négatif doit être confirmé après 18 mois par un test sérologique négatif.

- Diagnostic du VIH chez les nourrissons allaités

Aussi longtemps qu'un nourrisson ou un enfant est allaité par une mère infectée par le VIH, il risque d'être contaminé par le biais de l'allaitement. L'OMS recommande d'effectuer le test virologique de dépistage du VIH au moins 6 semaines après l'arrêt complet de l'allaitement. Si l'enfant est déjà âgé 9-18 mois, il faut d'abord effectuer un test de dépistage des anticorps anti-VIH. Lorsque ce test est négatif, le test virologique n'est pas nécessaire.

- Diagnostic du VIH chez les nourrissons ayant reçu un traitement antirétroviral prophylactique dans le cadre de la PTME

Les tests de dépistage de l'ADN du VIH sont fiables chez ces enfants exposés aux ARV. On ne dispose par contre d'aucune donnée sur la fiabilité des tests de dépistage de l'ARN du VIH ni sur celle des tests de dépistage de l'antigène p24 dans ce groupe. En cas de test ARN du VIH négatif ou de test antigène p24 négatif il est donc recommandé de répéter le test 4 semaines après l'arrêt du traitement prophylactique.

- Diagnostic chez les nourrissons dont la mère est sous TARV

Chez les nourrissons qui ne sont pas allaités, le risque de contamination est faible. Lorsque le nourrisson est asymptomatique, deux tests virologiques sont recommandés.

- Enfants > 18 mois

A cet âge, les stratégies de test proposées sont les mêmes que celles recommandées pour les adultes. Un enfant est considéré VIH + en cas de résultat positif à deux tests simples/rapides.

2.7. Traitement [7,25]

Il faut débiter les ARV précocement, non seulement dans l'espoir d'améliorer le pronostic individuel du patient, mais aussi avec la certitude de réduire le risque de contamination, le traitement interrompant le risque de transmission. C'est pourquoi, la découverte de séropositivité à ≤ 500 CD4 est le seuil désormais recommandé pour la mise sous traitement antirétroviral L'OMS avait lancé en 2003 l'initiative «3 000 000 d'ici 2005 [3 by 5) », dont l'objectif était de mettre trois millions de patients sous ARV d'ici la fin 2005 dans les pays à revenu faible ou intermédiaire. Le nombre de personnes bénéficiant des ARV a été multiplié par 10 en six ans pour atteindre près de 3 millions de personnes à la fin 2007. Une nouvelle approche visant à simplifier la manière dont le traitement du VIH est actuellement fourni et à élargir et à intensifier l'accès aux médicaments vitaux a été lancée par l'ONU/SIDA en 2009 : c'est le traitement 2.0. Il consiste en la mise au point d'une « pilule intelligente » associant 3 molécules dans le même comprimé et en une optimisation de la couverture du traitement : dépistage volontaire universel une fois par an chez tous les adultes et administration systématique en cas de séropositivité, ce qui permettrait de réduire en 10 ans de 95% l'incidence annuelle de l'infection par le VIH. Il y a eu ces dernières années une amélioration rapide de l'accès au TARV, le nombre de personnes sous TARV étant en 2013 de 13 millions, mais 19 millions de PVVIH

ne savent pas qu'elles ont le virus et ne sont donc pas traitées, alors que les stratégies actuelles de Test and Treat et de Traitement as prevention ont pour objectif la fin de l'épidémie. Les associations d'ARV ne sont que virostatiques et leur maintien permanent est nécessaire pour contrôler la réplication virale. La restauration immunitaire est toujours incomplète et ceci d'autant que le traitement ARV a débuté tardivement. Il faut optimiser l'observance aux ARV. C'est l'élément clé du succès des programmes en cours, dans lesquels on recommande un suivi biologique allégé. La trithérapie associant 2 INTI + 1INNTI est la plus prescrite en zone tropical : deux protocoles prescrits à Dakar associent AZT (zidovudine) + 3TC (lamivudine) et NVP (nivaripine) ou AZT + 3TC et EFV (efavirenz). Le VIH-2 est naturellement résistant aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI). De même, le VIH-1 O est naturellement résistant aux INNTI. Alors qu'à l'exception des CD4, les examens de laboratoire pour surveiller les effets des ARV étaient jugés non indispensables, il est maintenant recommandé d'utiliser le test de mesure de la charge virale pour le suivi du succès du TARV chez les personnes recevant ce traitement et pour le diagnostic d'un échec thérapeutique. La co-morbidité avec la tuberculose complique de façon notable la prise en charge thérapeutique. Outre le problème du Syndrome de Reconstitution Immunitaire, l'utilisation concomitante du traitement antituberculeux et d'ARV entraîne une majoration de la toxicité des différentes molécules. Il existe de nombreuses interférences médicamenteuses entre les antiviraux et la rifampicine, ce qui contre-indique l'utilisation des antiprotéases. L'association zidovudine/cotrimoxazole, qui ne peut être interrompue compte tenu du faible taux habituel des CD4, est à haut risque de survenue d'une neutropénie sévère. A moyen terme chez l'adulte sous ARV le spectre des maladies opportunistes ressemble à celui observé sans traitement ARV à chiffre de CD4 identique. On retrouve dans le même ordre la tuberculose, les maladies bactériennes et les autres infections opportunistes, d'incidence décroissante au fur et à mesure que les CD4 remontent. Les progrès

importants accomplis ces dernières années concernent les pays les plus touchés et les plus pauvres. Cette évolution est liée en grande partie à une forte diminution du prix des thérapies

2.8. Prévention [37]

La prévention reste au cœur de toutes les interventions contre le VIH. Les changements des comportements empêchent de nouvelles infections à VIH, notamment parmi les jeunes.

2.8.1. Les changements des comportements

La diminution des nouvelles infections à VIH à travers le monde résulte des changements des comportements des jeunes, des professionnels du sexe et de leurs clients, des hommes qui ont des rapports sexuels avec des hommes. Dans de nombreux pays où l'épidémie s'est généralisée, une combinaison des changements de comportements, dont la diminution du nombre de partenaires sexuels, l'utilisation plus fréquente du préservatif et l'âge plus tardif du premier rapport sexuel, a réduit le nombre de nouvelles infections. Ainsi, l'incidence du VIH dans les zones urbaines du Zimbabwe est passée de très élevée, près de 6% en 1991, à moins de 1% en 2010.

Le taux de prévalence du VIH a chuté parmi les jeunes (de 15 à 24 ans) dans au moins 21 pays sur 24 affichant un taux de prévalence \geq à 1%.

2.8.2. La promotion et l'encouragement à utiliser les préservatifs

Parmi les changements des comportements, l'utilisation du préservatif occupe une place importante. En dehors de la fidélité et de l'abstinence, le préservatif est le moyen indispensable dans la prévention des Infections Sexuellement Transmissibles (IST), dont l'infection à VIH/Sida. Malgré les obstacles, les habitudes sexuelles sont en train d'évoluer en Afrique : la proportion de jeunes, qui affirment avoir utilisé un préservatif lors de leur dernier rapport sexuel à risque, a nettement augmenté. La disponibilité des préservatifs a augmenté

considérablement entre 2008 et 2010 : 10 millions de préservatifs supplémentaires ont été distribués. Cependant, l'utilisation du préservatif peut être l'objet de rejet, comme au Ghana en 2013 : préservatifs fabriqués en Chine, trop petits, trop légers, trop fins,... avec survenue de grossesses non désirées.

2.8.3. La promotion de la sécurité transfusionnelle

La disponibilité en sang et en produits sanguins destinés aux transfusions ainsi que la garantie de leur innocuité est toujours préoccupante/. La prévention de la transmission transfusionnelle passe par une sélection clinique attentive et un dépistage biologique des donneurs de sang et par une limitation des indications thérapeutiques transfusionnelles. Le matériel d'injection doit être à usage unique.

2.8.4. La prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant

La transmission périnatale est un des modes importants de transmission du VIH/Sida dans les PED. Des programmes ont été lancés dans plusieurs pays d'Afrique subsaharienne où on recommande l'allaitement maternel total pendant 6 mois et le traitement par les ARV des mères et des enfants pendant l'allaitement. La « quasi élimination » de la TME est désormais possible.

2.8.5. Le renforcement du dépistage et du traitement précoce des IST

Les IST créent des micro lésions des parties génitales favorisant ainsi une porte d'entrée du VIH. Il est démontré clairement l'existence d'une corrélation entre les IST et l'accroissement du risque du VIH. Le dépistage, tout comme le traitement précoce des IST, relève de la prévention primaire.

2.8.6. La promotion du counselling / dépistage volontaire confidentiel et anonyme

Le diagnostic précoce de l'infection à VIH permet de mettre en œuvre un conseil et une thérapie appropriés.

Par ailleurs, la promotion du conseil/dépistage aide au renforcement des comportements à faible risque chez les personnes dépistées et participe ainsi à la réduction de nouvelles contaminations.

2.8.7. La prévention par la circoncision

Une des plus grandes avancées en matière de prévention est la découverte du rôle protecteur de la circoncision. L'objectif est de l'appliquer à 80% d'hommes de 15 à 49 ans. La circoncision masculine diminue d'environ 50 à 60% le risque de transmission sexuelle des femmes aux hommes. Mais, la circoncision ne préserve pas les femmes d'un homme contaminé, fut-il circoncis. Ceci ne concerne que les rapports vaginaux et non oraux ou anaux. Le recours au préservatif reste indispensable.

2.8.8. La prévention secondaire en cas d'exposition au VIH

Elle a pour objectif essentiel de réduire le risque d'infection par la mise en route d'un traitement le plus précoce possible afin de bloquer l'infection de l'organisme par le VIH et d'éviter la contamination. Il s'adresse aux professionnels de santé exposés, aux personnes ayant subi des violences sexuelles ce qui est fréquent dans les camps de réfugiés.

2.8.9. Vaccin contre le VIH

Il n'y a toujours pas de vaccin contre le sida à l'horizon 2014 et aucun délai raisonnable ne peut aujourd'hui être avancé en la matière. Le vaccin de Merck et Co., a été stoppé en phase II, alors que c'était l'un des plus prometteurs du moment. Cependant, de nombreux projets de vaccins thérapeutiques et préventifs sont à l'étude. Les vaccins anti pneumococcique et contre l'hépatite B doivent être prescrits chez les personnes infectées par le VIH, en particulier chez le VIH voyageur, compte tenu de la fréquence de ces infections chez l'immunodéprimé. Le BCG, le vaccin polio oral et le vaccin contre la fièvre jaune sont contre-indiqués si le taux des CD4 est inférieur à 200/mm³

DEUXIEME PARTIE

1. CADRE D'ETUDE

1.1. Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHNU Fann

Cette étude a été menée dans les locaux du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHNU de Fann en collaboration avec le laboratoire du CHNEAR. Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie se trouve environ à 150 m de l'entrée principale au sein d'un bâtiment nommé CDIM (Centre de Diagnostic et d'Imagerie Médicale) qui regroupe également les laboratoires de Biochimie-Hématologie, de Bactériologie-Virologie et le Centre Interafricain de Télémédecine et le service d'Imagerie Médicale (Radiologie, Tomodensitométrie, IRM). Ce laboratoire est placé sous l'autorité du Pr Yémou Dieng avec l'assistance du Pr Thérèse Dieng.

Le personnel du laboratoire de Parasitologie-Mycologie est composé:

- D'un Chef de service Maître de conférences agrégé Médecin biologiste
- D'un Maître de conférences agrégé Pharmacienne biologiste
- D'un Maître de conférences agrégé Médecin biologiste
- De deux assistants universitaires Médecins biologistes
- D'un pharmacien
- D'internes des hôpitaux
- D'une surveillante de service
- De techniciens supérieurs de laboratoire
- De stagiaires
- D'une secrétaire médicale
- D'un technicien de surface.

Ce service comprend outre les bureaux et vestiaires du personnel, des salles d'analyses médicales:

- Une salle pour la coprologie parasitaire
- Une salle pour la parasitologie sanguine
- Une salle pour la mycologie

- Une salle pour la sérologie

1.2. LABM de HEAR de Fann

Le laboratoire d'analyse de biologie médicale (LABM) de l'HEAR de Fann se situe au pavillon J du dit hôpital, qui est sur l'avenue Cheikh Anta Diop de Dakar.

C'est un grand bâtiment comportant plusieurs salles dont :

- ✓ Une salle de réception
- ✓ Une salle de prélèvement
- ✓ Une grande salle polyvalente qui regroupe les paillasses de **Biochimie**, de **Parasitologie** et d'**Hématologie**
- ✓ Une salle de bactériologie
- ✓ Les bureaux
- ✓ Une laverie qui sert également de salle de stérilisation
- ✓ Les toilettes.

Le personnel du LABM de HEAR est composé :

- D'un Médecin biologiste, Professeur titulaire en Bactériologie-Virologie, chef de service.
- D'une Pharmacienne biologiste, Professeur titulaire en Biochimie.
- D'un Médecin biologiste, Professeur titulaire en Parasitologie-Mycologie
- De deux Pharmaciens biologistes
- D'un Médecin biologiste, Maître de conférences agrégé.
- D'un Major.
- D'étudiants en DES
- D'internes
- De techniciens supérieurs
- D'une secrétaire
- D'infirmières
- De techniciens de surface.

1.3. Le SMIT de l'hôpital Fann

Il est localisé à l'intérieur du CHNU de Fann. Il est composé de plusieurs unités :

- Une unité de soin intensif
- Une unité de convalescence appelée Roux
- Une unité d'hospitalisation appelé Pasteur
- Une unité appelée Lemièrre
- Un Nouveau pavillon qui porte le nom de Salif Badiane
- Une unité de consultation externe
- Un laboratoire de recherche sur le VIH/SIDA
- Une unité de vaccination

Le personnel médical est composé de :

- Trois Professeurs titulaires
- Un maître-assistant
- Cinq assistants chef de clinique
- Six internes
- Médecins inscrits au DES

Le personnel paramédical est composé:

- Un surveillant général
- D'infirmier d'état
- De sages-femmes
- D'aides infirmiers
- D'assistants sociaux
- D'agents sanitaires
- De filles de salles
- De brancardiers
- De secrétaires

2. POPULATION D'ETUDE ET METHODES

2.1. Les patients

Ils sont constitués d'enfants âgés de 0 à 5 ans présentant une diarrhée, hospitalisés ou non à HEAR mais aussi de personnes infectées par le VIH suivies au niveau du service des maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital Fann. Cette étude a été menée au niveau du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHNU de Fann. Au total 227 prélèvements ont été recueillis dont 143 selles pour les enfants et 84 pour les adultes.

2.2. Les méthodes

2.2.1. Les méthodes biologiques

Il s'agit d'une étude prospective basée sur l'examen des prélèvements venant de HEAR et des maladies infectieuses. Les selles recueillies au niveau du laboratoire de HEAR sont des selles diarrhéiques destinées à la recherche des rotavirus. Chez les enfants, la collecte des prélèvements s'est effectuée de juin 2015 au 15 décembre 2015 et chez les adultes infectés par le VIH c'est du mois d'avril 2014 au mois de novembre 2015.

2.2.1.1. Examen parasitologique des selles

Il consiste à faire :

a. Un examen macroscopique

On note l'aspect des selles (couleur), la consistance (moulée, diarrhéique, pâteuse), la présence de glaire et/ou de sang et la présence ou pas de parasites adultes.

b. Examen microscopique

Il consiste à faire un examen des selles après coloration par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée. Cependant les selles doivent être au préalable concentrées par la technique de Ritchie.

➤ Technique de concentration de Ritchie modifiée

- Dans le verre à pied, diluer une noisette de selle (2 à 5 g) dans du formol à 10% ;
- Mélanger à l'aide d'un bâtonnet applicateur jusqu'à obtention d'une suspension légèrement trouble ;
- Filtrer la suspension à travers une couche de gaz dans un tube à centrifuger ;
- Ajouter de l'éther dans la proportion de 1/3 pour 2/3 de liquide ;
- Boucher puis agiter à la main par retournements successifs
- Centrifuger pendant 5 minutes à 1500 tours/minute
- Eliminer les trois couches supérieures pour retournement brusque pour garder le culot qui sera utilisé pour la confection de la lame.

➤ Etalement et fixation

- Déposer une goutte du culot sur la lame
- Etaler le culot
- Laisser sécher à l'air libre
- Fixer la lame avec du méthanol
- Laisser sécher à l'air libre

➤ Coloration par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée

Elle permet de mettre en évidence les oocystes de cryptosporidies dans un frottis de selles fixé au méthanol.

- Mettre les lames dans une solution de fuchsine phéniquée pendant une heure ;
- Rincer rapidement à l'eau de robinet ;
- Différencier avec une solution d'acide sulfurique à 2% pendant cinq minutes ;
- Rincer à l'eau de robinet ;
- Contre-colorer avec une solution aqueuse de vert de malachite à 5% pendant cinq minutes ;

- Rincer à l'eau de robinet ;
- Sécher à la température ambiante ;

La lecture se fera avec l'objectif à l'immersion (x100).

Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent rose ou rouge sur le fond vert de la préparation (**Figure 3**).

Composition solution fuchsine phéniquée

Solution A

Fushine : 15 g

Ethanol à 95°C : 1000 ml

Solution B

Solution A : 10 ml

Eau phéniquée à 5 % : 90 ml

NB : Réactif à renouveler fréquemment.

2.2.2 Méthode d'analyse des résultats

Les données ont d'abord été saisies sur Excel puis analysées à l'aide d'un logiciel qui s'appelle STATA. Les deux caractères qualitatifs étaient décrits en termes d'effectif et de pourcentage de données renseignées. La comparaison des proportions était effectuée en utilisant le test du chi carré de Pearson (**p**). Le seuil significatif pour les tests statistiques est fixé à 5%. Une valeur de **p** inférieure à 0,05 est considérée comme significative.

3. RESULTATS

Notre étude a été menée sur un effectif composé de 227 patients présentant une diarrhée. Parmi eux 143 soit 63% sont des enfants âgés de moins de six ans et 84 soit 37% sont des adultes infectés par le VIH.

3.1. RESULTATS OBTENUS CHEZ LES ENFANTS

3.1.1. Aspect quantitatif

a. Répartition des enfants examinés selon le mois

Notre étude a porté sur 143 enfants présentant une diarrhée. L'étude s'est déroulée du mois de juin 2015 au mois de décembre 2015.

Le tableau II indique la répartition du nombre d'enfants examiné selon le mois.

Tableau II : Répartition des enfants selon le mois

Mois	Nombre	Pourcentage
Juin	7	4.90
Juillet	30	20.98
Aout	17	11.89
Septembre	24	16.78
Octobre	20	13.89
Novembre	21	14.69
Décembre	24	16.78
Total	143	100.00

Le nombre de selles examiné a été plus important durant le mois juillet avec 30 prélèvements recueillis soit une fréquence de 20,98%. Cependant la plus faible quantité de selles collectée a été enregistrée au mois de juin avec 7 prélèvements soit 4,90% des selles.

b. Répartition des enfants selon la saison

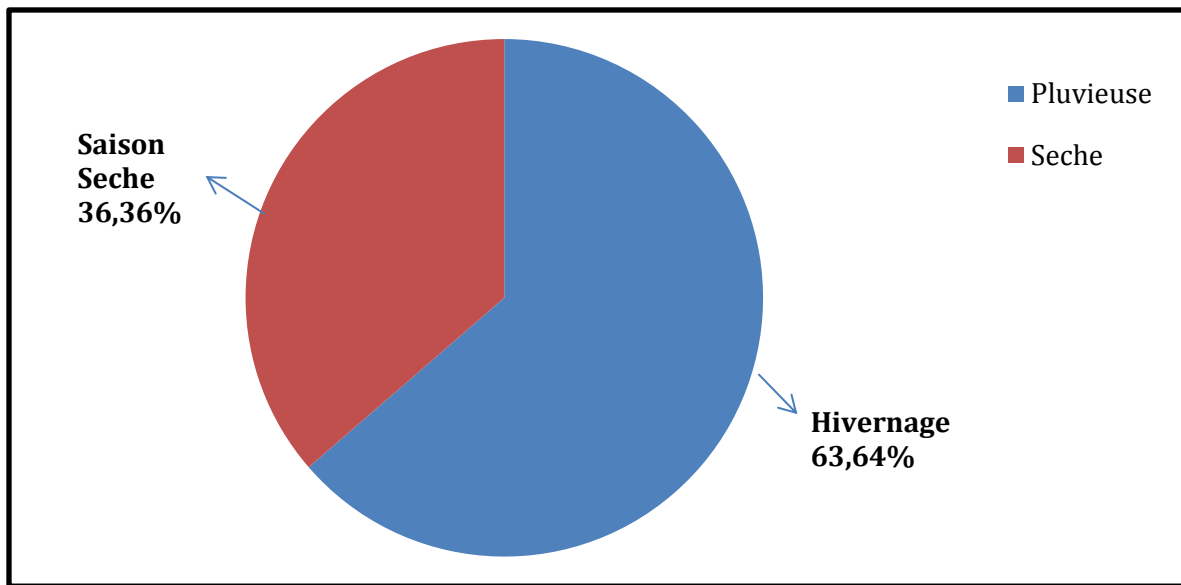


Figure 7 : Répartition des enfants selon la saison

Au Sénégal on retrouve deux saisons : la saison sèche et la saison pluvieuse.

La saison sèche est la saison la plus longue de l'année; elle compte 8 mois (novembre à juin) tandis que celle pluvieuse ne dure que 4 mois (juillet à octobre).

Sur les 143 examens de selles, 91 ont été effectués pendant l'hivernage soit 63,64%. Le nombre de cas enregistré durant la saison sèche est de 52 soit 36,36%.

c. Répartition des enfants selon le sexe

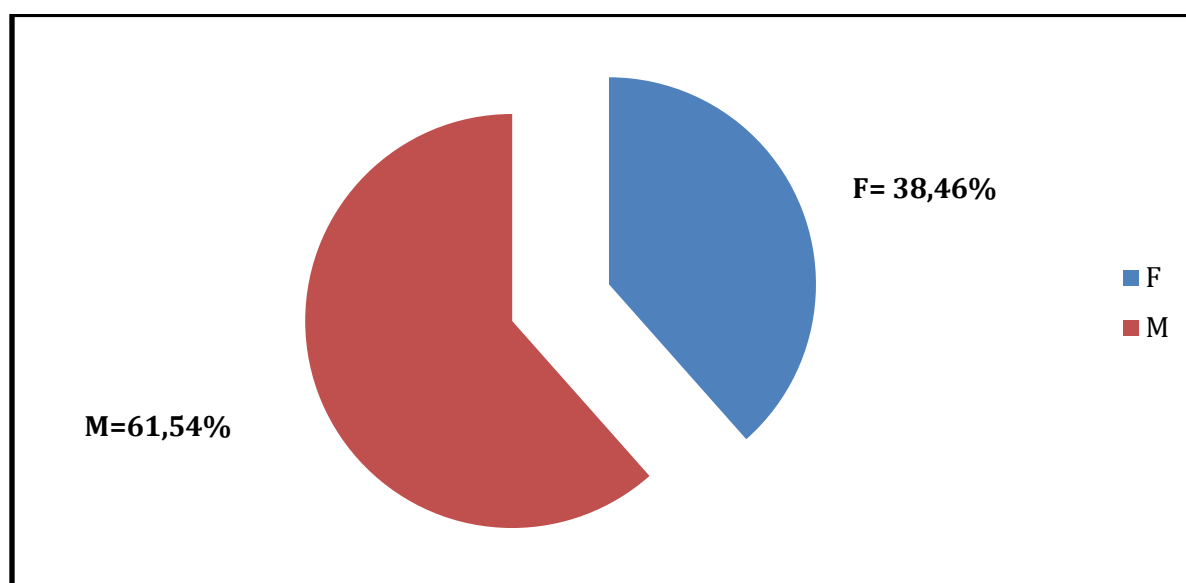


Figure 8 : Répartition des enfants selon le sexe

La répartition selon le sexe montre que sur 143 cas de diarrhée les 88 sont des garçons soit 61,54% avec un sex-ratio de 1,6 et le reste est constitué par des filles soit 38,46%.

d. Répartition des enfants par catégorie d'âge

Tableau III : Répartition des enfants par catégorie d'âge

Catégorie d'âge	Nombre	Pourcentage
Moins de 1 an	42	29.37
1 an	39	27.27
2 ans	31	21.68
3 ans	11	7.69
4 ans	13	9.09
5 ans	7	4.90
Total	143	100.00

Chez les enfants le nombre le plus important de cas de diarrhée a été enregistré chez les moins de 1an avec 42 cas soit 29,37% et le plus faible nombre chez les enfants de 5ans avec 7 cas soit 4,90%.

3.1.2. Aspect qualitatif

3.1.2.1. Prévalence globale de *Cryptosporidium* chez les enfants

Chez les enfants, sur 143 cas observés 21 étaient positifs soit un taux de prévalence globale de 14,68%.

3.1.2.2. Variation de la prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants

a. Taux de prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le mois

Tableau IV : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le mois

Résultats	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Total
Négatifs	6	26	16	21	17	16	20	122
	85,70%	86,67%	94,11%	87,50%	85%	76,20%	83,34%	
Positifs	1	4	1	3	3	5	4	21
	14,30%	13,33%	5,89%	12,5%	15%	23,80%	16,66%	
Total	7	30	17	24	20	21	24	143

$$X^2=2,6598 \quad ; \quad p=0,85$$

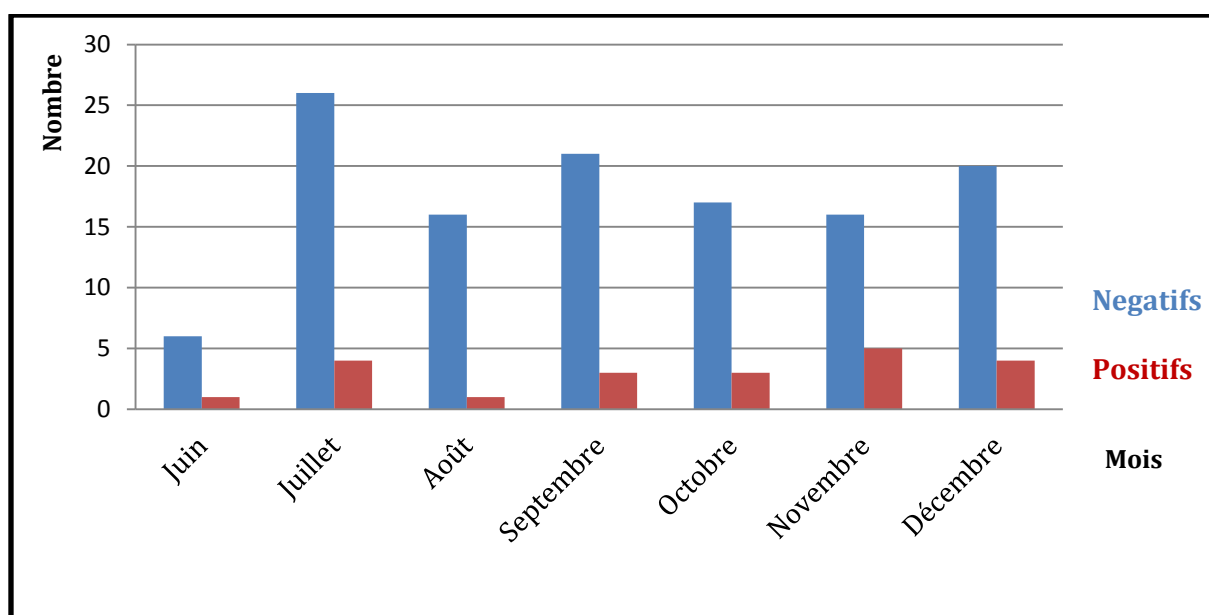


Figure 9 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le mois

La plus faible prévalence a été observée durant le mois d'août avec 1 cas positif (5,90%) alors que la plus forte prévalence est de 5 cas soit 23,81% observée pendant le mois de novembre.

Toutefois il n'y a pas de différence statistiquement significative quant à la prévalence de *Cryptosporidium* selon les mois. ; $p=0,85$

b. Taux de prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la saison

Tableau V : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la saison

Résultats	Saison pluvieuse	Saison sèche	Total
Négatifs	80	42	122
	87.91%	80.77%	85.31%
Positifs	11	10	21
	12.09%	19.23%	14.69%
Total	91	52	143
$X^2=1,3476$; $p=0,246$			

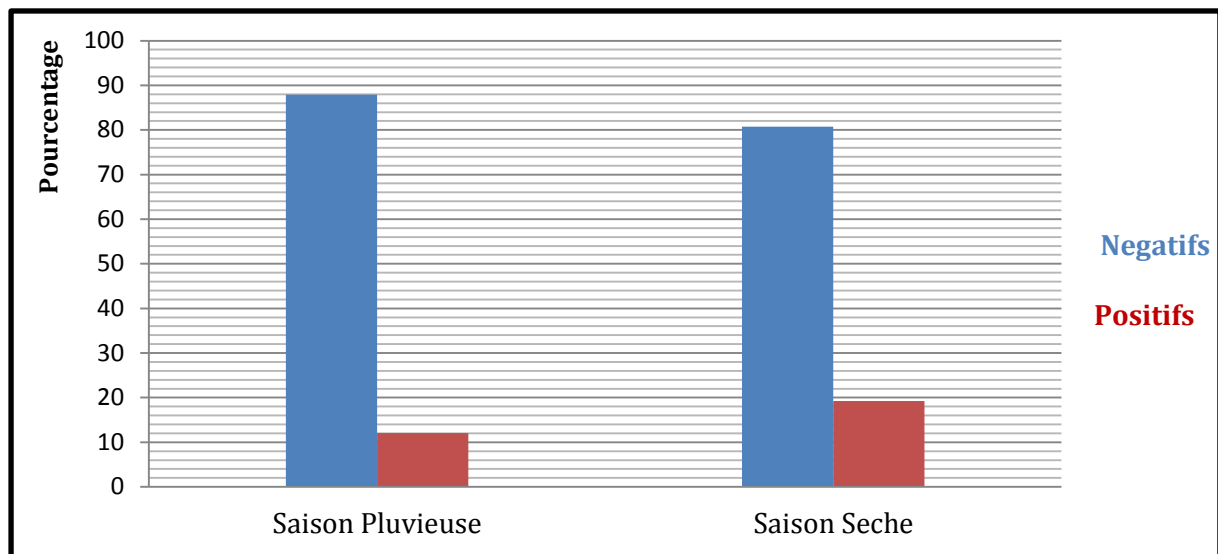


Figure 10 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la saison

Le taux de prévalence de *Cryptosporidium* selon la saison est pratiquement le même pour les deux saisons ; 11 cas positifs (12,09%) pour l'hivernage contre 10 (10,23%) cas positifs pendant la saison sèche.

c. Taux de prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le sexe

Tableau VI : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le sexe

Résultats	F	M	Total
Négatifs	51 92.73%	71 80.68%	122 85.31%
Positifs	4 7.27%	17 19.32%	21 14.69%
Total	55	88	143

$$X^2=3,9197 \quad ; \quad p=0,048$$

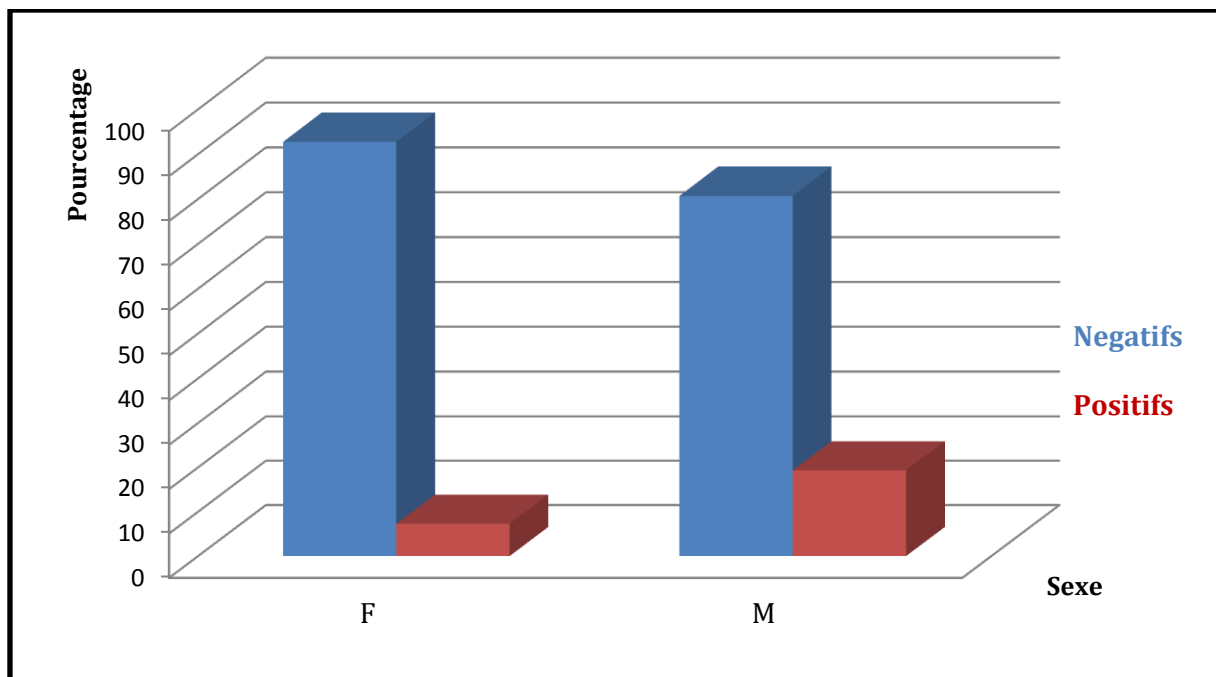


Figure 11 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon le sexe

Le nombre de cas de *Cryptosporidium* chez les garçons est largement supérieur à celui des filles soit un taux de 19,32% pour les garçons contre 7,27% pour les filles avec un $p=0,048$.

d. Taux de prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la catégorie d'âge

Tableau VII : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la catégorie d'âge

Résultats	Moins de 1 an	1 an	2 ans	3 ans	4 ans	5 ans	Total
Négatifs	35 83.33%	32 82.05%	27 87.10%	11 100%	12 92.31%	5 71.43%	122 85.31%
Positifs	7 16.67%	7 17.95%	4 12.90%	0 0.00%	1 7.69%	2 28.57%	21 14.69%
Total	42	39	31	11	13	7	143

$X^2=4,0199$; $p=0,547$

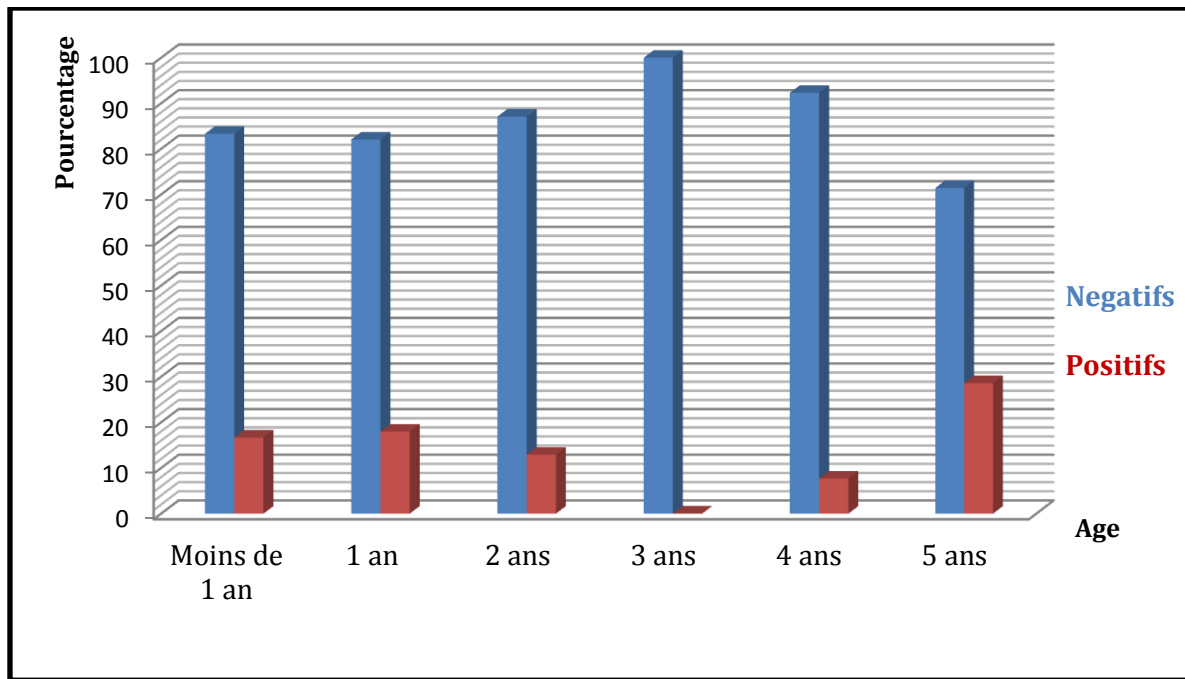


Figure 12 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants selon la catégorie d'âge

Le nombre de cas observé chez les enfants âgés de 0 à 1 an est plus important comparé à celui des autres tranches d'âge.

3.2. RESULTATS OBTENUS CHEZ LES ADULTES

3.2.1. Aspect quantitatif

Notre étude a porté sur 84 patients infectés par le VIH présentant une diarrhée. L'étude s'est déroulée sur une période de 20 mois allant du mois d'avril 2014 au mois de novembre 2015.

a. Répartition des adultes selon le mois

Tableau VIII : Répartition des adultes selon le mois

Mois	Nombre	Pourcentage
Février	2	2.38
Mars	13	15.48
Avril	7	8.33
Mai	10	11.90
Juin	6	7.14
Juillet	15	17.86
Aout	7	8.33
Septembre	10	11.90
Octobre	12	14.29
Novembre	2	2.38
Total	84	100.00

On note un maximum d'examen des selles au mois de juillet avec 15 cas soit une fréquence de 17,86% et la plus faible demande a été enregistré pendant les mois de février et novembre avec 2 demandes sur 84.

b. Répartition des adultes selon la saison

Parmi les 84 échantillons 44 ont été collecté pendant l'hivernage et 40 durant la saison sèche.

c. Répartition des adultes selon le sexe

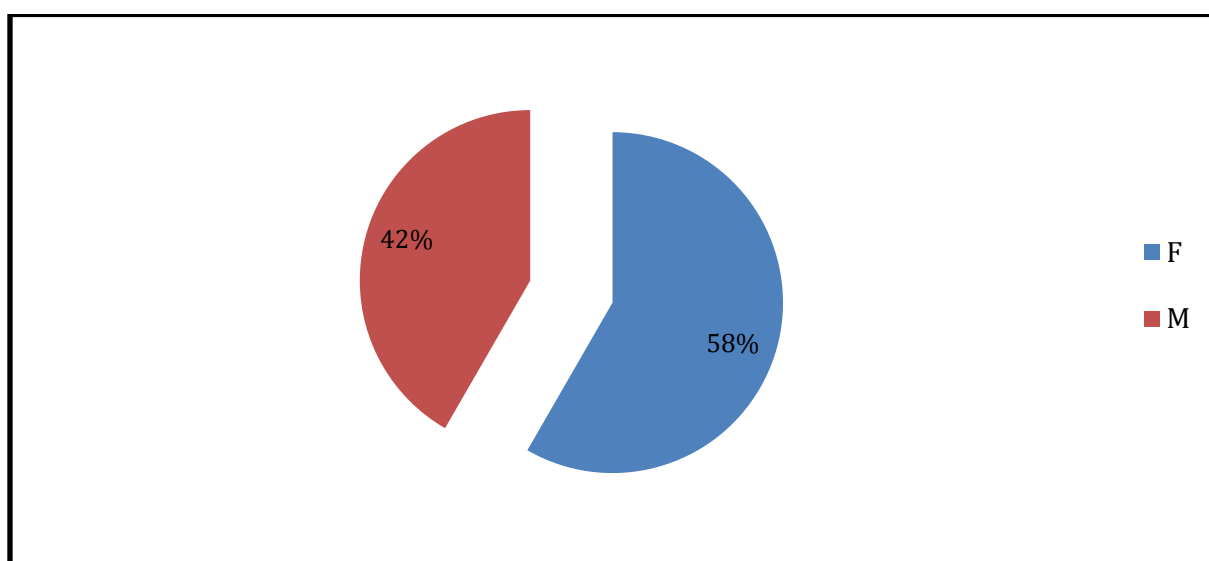


Figure 13 : Répartition des adultes selon le sexe

La répartition selon le sexe montre une prédominance des femmes avec 49 cas (58,33%) contre 35 cas (41,67%) avec un sex-ratio de 0,71.

d. Répartition des adultes selon la catégorie d'âge

Tableau IX : Répartition des adultes selon la catégorie d'âge

Catégorie d'âge	Nombre	Pourcentage
Moins de 20 ans	4	4.76
20-30 ans	10	11.90
31-40 ans	20	23.81
41-50 ans	22	26.19
51-60 ans	11	13.10
Plus de 60 ans	11	13.10
Non déterminés	6	7.14
Total	84	100.00

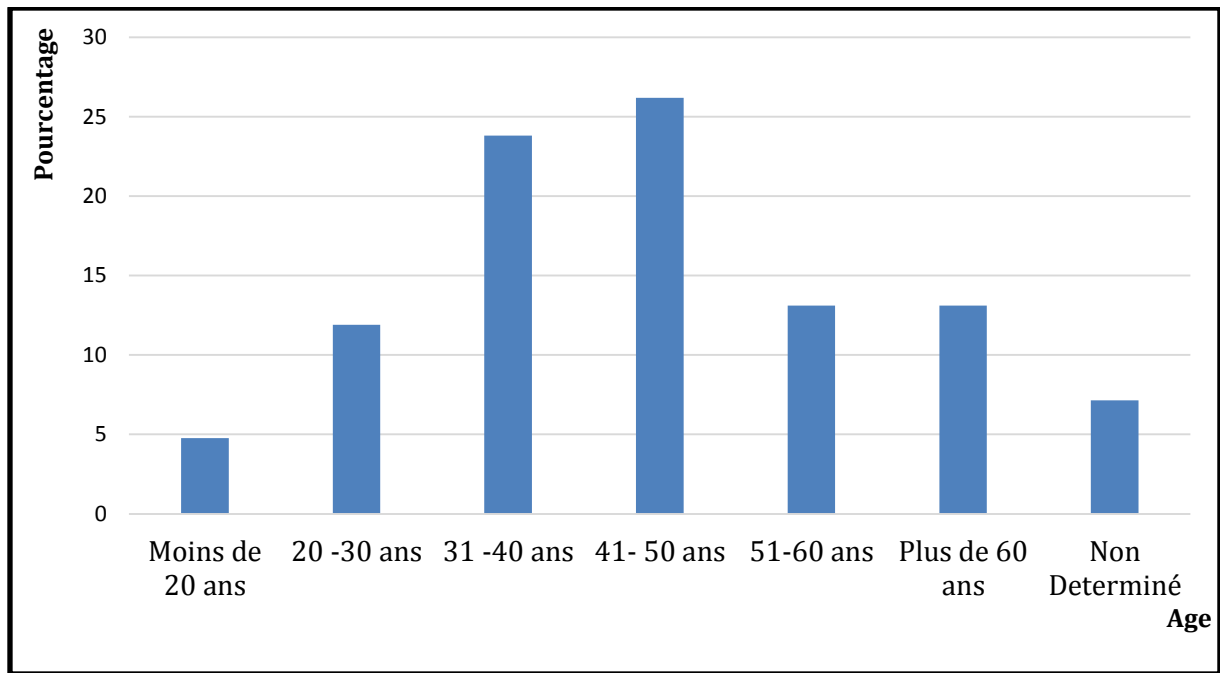


Figure 14 : Répartition des adultes selon la catégorie d'âge

La plus grand nombre de selles diarrhéiques provenait de patients dont l'âge varie entre 31 et 50 ans représentant 42 patients soit 54,54% des adultes. Les moins de 20 ans constituent la plus faible part avec seulement 4 cas soit 5,19%. Les patients dont l'âge n'est pas connu représentent 7.14% des cas.

3.2.2. Aspect qualitatif

3.2.2.1. Prévalence globale de *Cryptosporidium* chez les adultes infectés par le VIH

Chez les adultes, sur 84 cas observés 6 cas ont été positifs soit un taux de 7,14% contre 14,68% chez les enfants.

3.2.2.2. Variations de la prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes infectés par le VIH

a) Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le mois

Tableau X : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le mois

Résul.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Sept	Oct	Nov	Total
Négatif	2	10	6	10	6	14	7	9	12	2	78
	2%	76.92%	85.71%	100%	100%	93.33%	100%	90%	100%	100%	
Positifs	0	3	1	00	0	1	0	1	0	0	6
	0.0%	23.08%	14.28%	0.00%	0.00%	6.67%	0.00%	10%	0.00%	0.00%	
Total	2	13	7	10	6	15	7	10	12	2	84

$$X^2=8,6430 ; \quad p=0,471$$

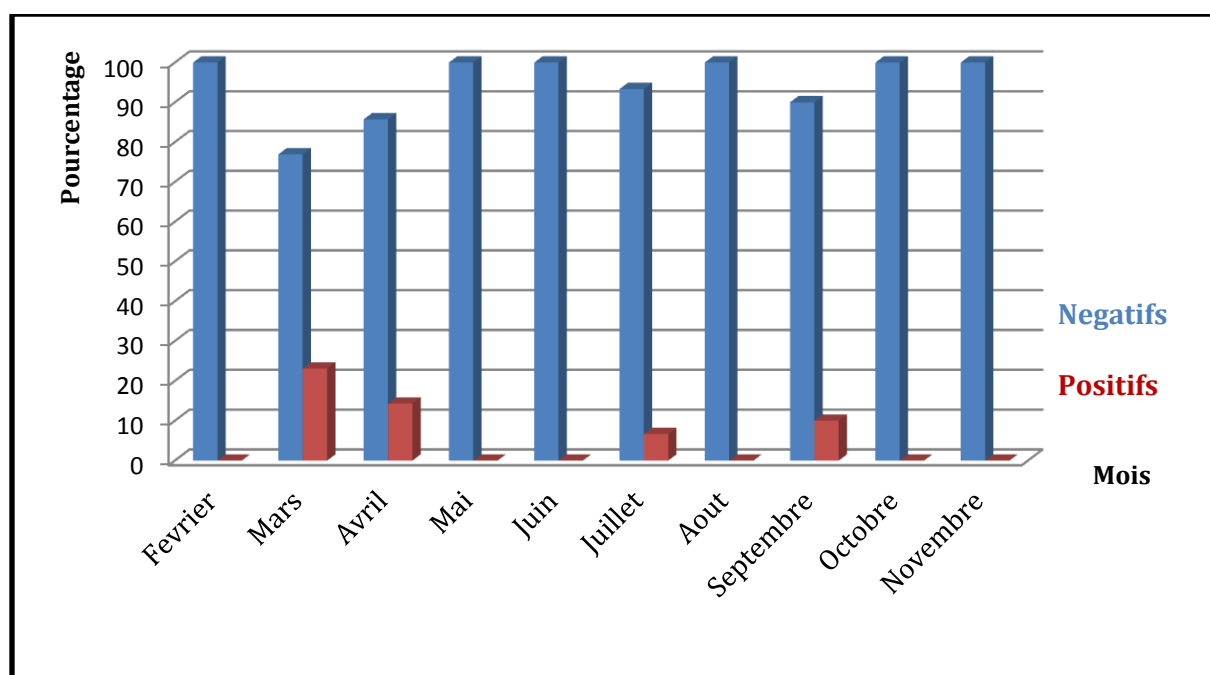


Figure 15 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le mois

Le plus grand nombre de cas a été enregistré pendant le mois de mars avec une prévalence de 3 cas soit un taux de 23,08% et les plus faibles demandes pendant

les mois d'août, février, juin, mai, novembre et octobre avec zéro cas observés sur les 84 reçus.

b. Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la saison

Tableau XI : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la saison

Résultats	Saison pluvieuse	Saison sèche	Total
Négatifs	42	36	78
	95.45%	90%	92.86%
Positifs	2	4	6
	4.55%	10%	7.14%
Total	44	40	84

$$X^2=0,9399 ; \quad p=0,332$$

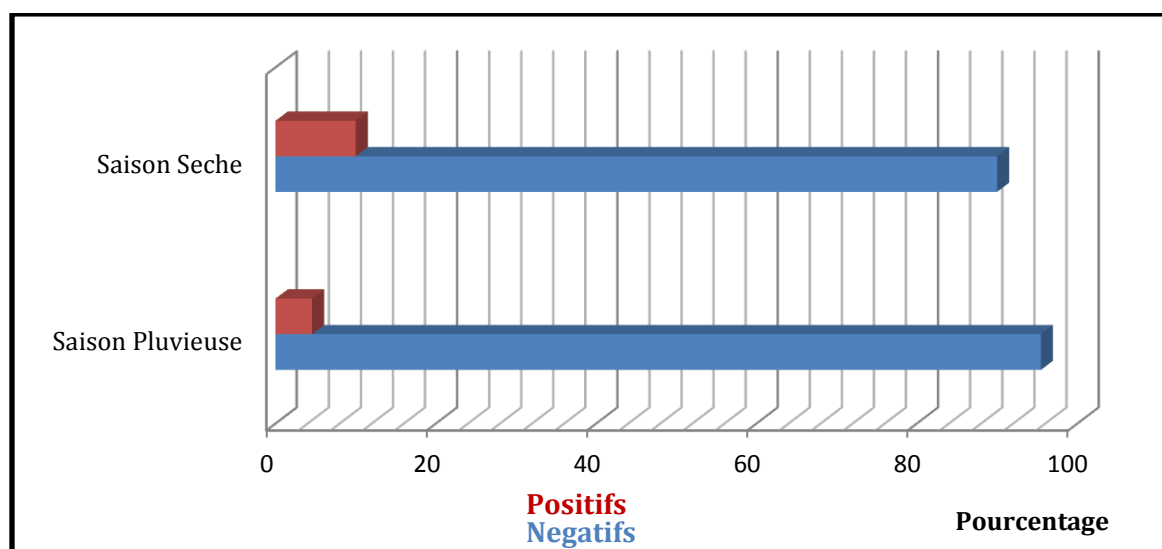


Figure 16 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la saison

Sur les 84 échantillons examinés, y'a 4 cas positifs pendant la saison sèche et 2 cas positifs pendant l'hivernage. Le nombre de cas positifs ne variant pas de façon significatif avec $p=0,332$.

c. Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le sexe

Tableau XII : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le sexe

Résultats	F	M	Total
Négatifs	45	33	78
	91.84%	94.29%	92.86%
Positifs	4	2	6
	8.16%	5.71%	7.14%
Total	49	35	84

$$X^2=0,1846 \quad ; \quad p=0,667$$

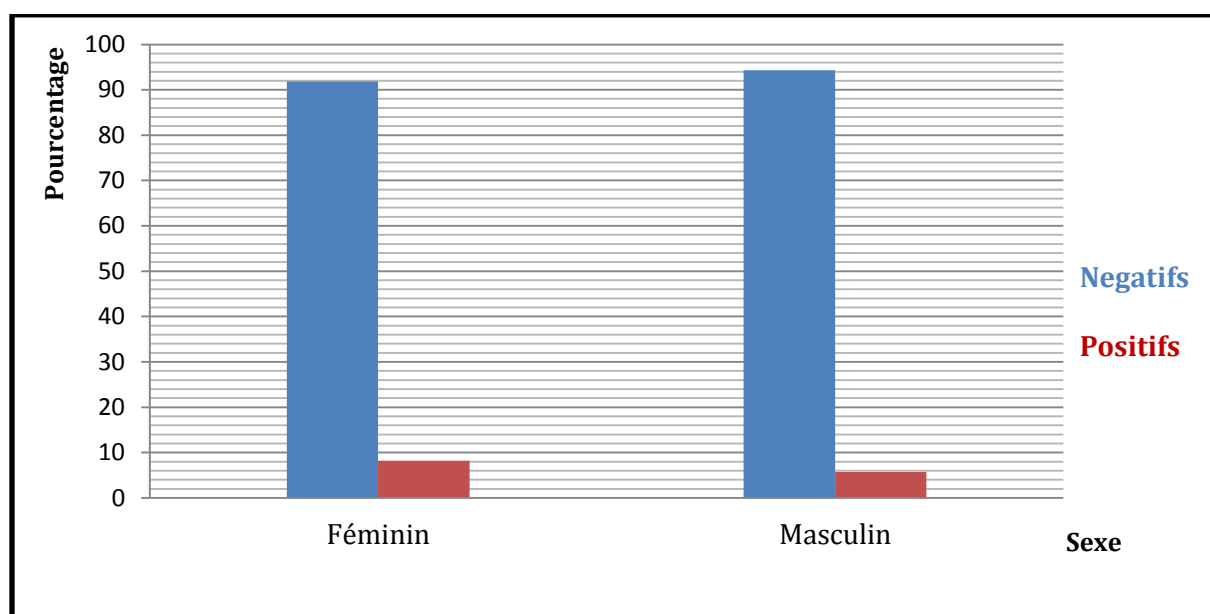


Figure 17 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon le sexe

Le nombre de cas positifs observé chez les femmes est plus important comparé aux hommes avec un taux de 8,16% pour les femmes contre 5,71% pour les hommes mais la différence n'est pas significative sur le plan statistique.

d. Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la catégorie d'âge

Tableau XIII : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la catégorie d'âge

Résultats Crypto	Moins de 20ans	20-30	31-40	41-50	51-60	Plus de 60 ans	Total
Négatifs	3 80%	10 100%	20 100%	20 90.91%	10 90.91%	9 81,81%	72 92.40%
Positifs	1 20%	0 0.00%	0 0.00%	2 9.09%	1 9.09%	2 18,18%	6 7.59%
Total	4	10	20	22	11	11	78

$X^2=5,6394$; $p=0,343$

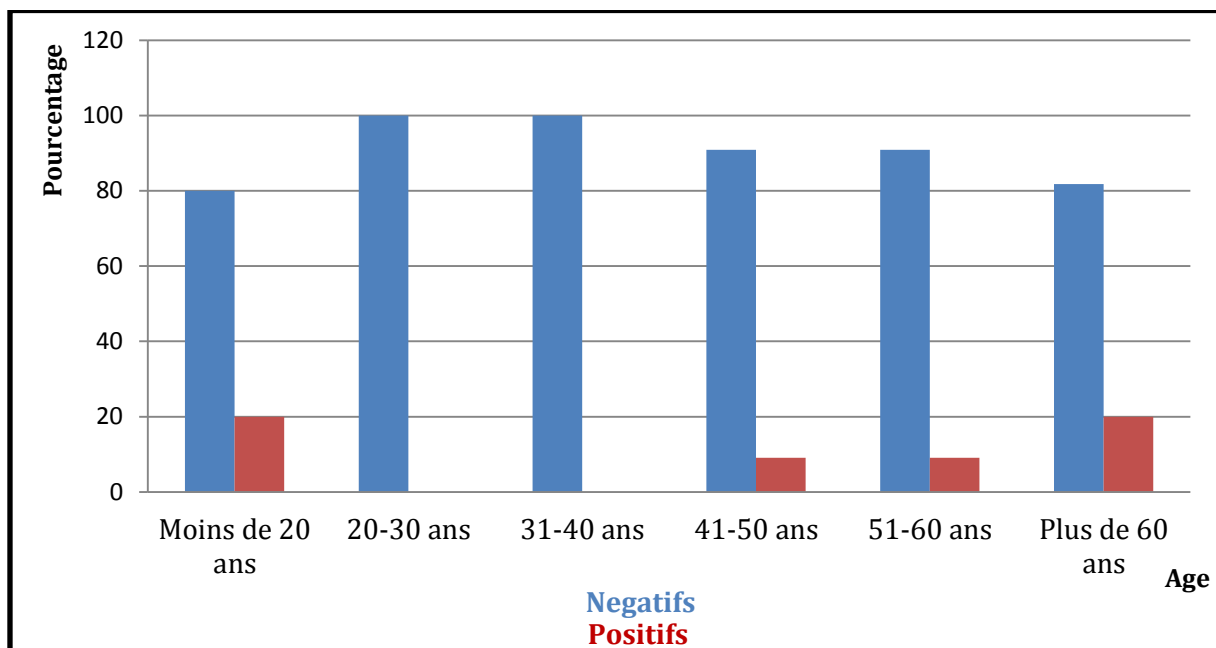


Figure 18 : Prévalence de *Cryptosporidium* chez les adultes selon la catégorie d'âge

Sur les 6 cas positifs enregistrés les 5 sont des personnes âgées de plus de 40 ans, 1 cas positif a été observé chez les moins de 20 ans. Entre 20 et 40 ans aucun cas positif n'a été enregistré.

4. DISCUSSION

4.1. Limites et contraintes de la méthodologie

Il s'agit d'une étude prospective menée au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHNU de Fann portant sur 227 patients présentant une diarrhée. Parmi ces derniers 143 sont des enfants âgés entre 0 et 5 ans et les 84 sont des adultes infectés de VIH.

Ce travail a été effectué au cours de la période de juin 2015 à mi-décembre 2015 pour les enfants et pour les séropositifs c'est entre avril 2014 et novembre 2015.

Il faut noter que l'absence de certains renseignements notamment l'âge de certains patients infectés de VIH, leur type sérologique mais aussi leur catégorie socioprofessionnelle a constitué une limite pour l'interprétation des données.

En plus la quantité insuffisante de selles collectée chez certains enfants a rendu impossible l'exploitation de ces prélèvements entraînant ainsi une diminution du nombre de prélèvements examiné.

4.2. Prévalence globale de *Cryptosporidium*

La prévalence de *Cryptosporidium* chez les enfants entre juin et mi-décembre 2015 est estimée à 14.68% soit 21 cas positifs sur 143 patients examinés.

Comparativement au Sénégal, à l'HEAR de Dakar et dans le district sanitaire de Vélingara en 2011 une étude prospective a été menée par Faye B. et coll., sur des enfants âgés de 0 à 15 ans sans préjugé du statut sérologique. Sur 375 selles examinées avec la technique de ziehl Neelsen modifiée, 17 ont révélé la présence de *Cryptosporidium sp.* soit une prévalence globale de 4.53%. La prévalence en milieu rural était de 2% tandis que la prévalence hospitalière était de 7.4%.

Donc nos résultats montrent une prévalence hospitalière deux fois plus élevée que celle enregistrée en 2011 à Dakar [9,24].

A Abidjan (Côte d'Ivoire) KONE M., rapporte un taux de prévalence de 10.4% de la cryptosporidiose chez des enfants âgés de 5 mois à 8 ans. Parmi les 250

enfants examinés, 26 hébergeaient des cryptosporidies dont 20 présentaient des selles liquides.

Au Niger, pays de l'Afrique de l'Ouest une étude prospective descriptive a été menée à l'hôpital national de Niamey du 21 février au 22 mai 2004. Elle a porté sur 220 enfants âgés de moins de 5 ans dont les 51.8% présentaient une diarrhée. Des oocystes de *Cryptosporidium sp.* ont été retrouvé chez 12 enfants soit 5.5% de la population étudiée et il faut noter que 7 des 12 enfants avaient la diarrhée. Cette étude en milieu pédiatrique évalue à 5.5% la prévalence globale de la cryptosporidiose et à 6.1% chez les enfants présentant une diarrhée.

Chez les personnes infectées par le VIH la fréquence de la cryptosporidiose entre février et novembre 2014 est de 7.14% soit 6 cas positifs sur 84 prélèvements [13].

A Abidjan (Côte d'Ivoire), une étude coprologique a été réalisée entre mars 1990 et mars 1991 chez 217 sujets adultes séropositifs pour évaluer la fréquence de *Cryptosporidium sp.* Ainsi 8.7% des sujets sont porteurs d'oocystes de *Cryptosporidium* [5].

Au Bénin, au cours de la période du 02 février au 19 mai 2000, 65 personnes infectées de VIH âgées entre 18 et 68 ans ont fait l'objet d'une étude portant sur la recherche de *Cryptosporidium*. Les résultats montrent 7 cas positifs (6 hommes et 1 femme), soit une prévalence de 10,8%. La manifestation clinique observée chez tous ces 7 patients est la diarrhée (100%) [18].

En France entre janvier 2006 et décembre 2009, 407 cas de cryptosporidiose ont été notifiés et 364 échantillons biologiques ont été recueillis et analysés. Les enfants de moins de 4 ans représentent 18% des cas et les patients infectés par le VIH ou immunodéprimés non VIH représentent 38% et 28% des cas respectivement [9]. On observe une variation saisonnière des cas, avec un nombre de cas plus élevé à la fin de l'été et en automne. [10]

4.3. Variation de la prévalence de *Cryptosporidium*

a. Selon le mois

Nous n'avons pas observé des différences significatives dans l'incidence du *Cryptosporidium* en fonction du mois. Le pic de prévalence chez les enfants était au mois de novembre (saison sèche) avec 5 cas tandis que chez les sujets immunodéprimés le plus grand nombre de cas a été enregistré durant le mois de mars (saison sèche) avec 3 cas positifs.

On constate que le pic pour les deux groupes se situe pendant la saison sèche mais dans l'ensemble on voit que la prévalence de *Cryptosporidium* est plus élevée pendant la saison pluvieuse.

Ces résultats obtenus nous permettent d'être en phase avec de nombreux auteurs qui ont établi des corrélations entre le climat et la prévalence des coccidioses. Ils situent le pic de fréquence en saison chaude et humide ou les conditions sont réunies pour le maintien du pouvoir infectieux des oocystes et leur dissémination [10].

b. Selon la saison

Nos résultats ne révèlent pas l'impact de la saison sur la prévalence de la cryptosporidiose. Mais ce constat n'écarterait nullement le lien entre la transmission de cette coccidiose et l'hivernage qui est 4 fois plus courte à Dakar. Toutefois nous avons enregistré plus de cas pendant la saison pluvieuse pour les enfants alors que chez les sujets immunodéprimés c'est l'inverse. Cependant les prévalences publiées concernant les pays humides décrivent une influence de la pluviométrie avec une augmentation du nombre de cas pendant la saison des pluies [1].

d. Selon l'âge des patients

D'après notre étude, la variation de la cryptosporidiose en fonction de l'âge des patients n'était pas statistiquement significative. Cependant chez les enfants on constate que c'est ceux dont l'âge est inférieur à 2 ans qui sont les plus touchés

par cette parasitose avec 14 cas sur les 21 cas enregistrés soit une fréquence de 66.66%.

Au Gabon 288 prélèvements de selles ont été réalisés chez des enfants âgés de 0 à 2 ans sur une période de 27 mois. Les résultats de cette étude montrent une prévalence globale de 24% [11].

Dans un bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé publié en 2013, *Cryptosporidium* est considéré comme étant un des parasites intestinaux les plus courants chez le jeune enfant 1 à 3 ans [32].

e. Selon le sexe des patients

On note une différence statistiquement significative quant à la prévalence de *Cryptosporidium* selon le sexe chez les enfants âgés de 0 à 5 ans.

Le sex-ratio obtenu est de 4.25 soit une prévalence de 80.95% ; cela nous montre que les garçons sont plus exposés à la cryptosporidiose que les filles.

Par contre chez les sujets infectés de VIH la prévalence en fonction du sexe n'est pas statistiquement significative même si le sex-ratio est de 0.5.

CONCLUSION

La cryptosporidiose connaît une recrudescence depuis l'avènement du SIDA. Cette coccidiose cosmopolite due à un parasite intracellulaire du genre *Cryptosporidium* qui infeste le tube digestif de l'homme et de plusieurs espèces de mammifères. Elle est responsable de diarrhée prolongée pouvant avoir un retentissement sur la croissance de l'enfant et menaçant le pronostic vital des sujets immunodéprimés

La grande résistance des oocystes dans l'environnement et aux désinfectants usuels, la gravité des signes cliniques chez les patients immunodéprimés mais aussi chez l'enfant et l'absence de traitement efficace font que la cryptosporidiose reste une préoccupation de santé publique au Sénégal.

C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude prospective avec comme objectif de déterminer la prévalence de *Cryptosporidium* chez des personnes vivants avec le VIH au niveau du service des maladies infectieuses et tropicales du CHNU de Fann et chez des enfants âgés de 0 à 5 ans de l'Hôpital des enfants Albert Royer de Fann.

Notre étude a été menée sur un effectif composé de 227 patients présentant une diarrhée. Parmi eux 143 soit 63% étaient des enfants âgés de moins de six ans et 84 soit 37% , des adultes infectés par le VIH.

Les techniques de coprologie utilisées pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* étaient la concentration de Ritchie simplifiée et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Pour les 2 populations objets de l'étude, le maximum de prélèvements de selles a été réalisé au mois de juillet avec 30 échantillons représentant 20,97% de l'effectif des enfants et 15 prélèvements chez les immunodéprimés soit 17,85%

La tranche d'âge la plus représentée chez les adultes infectés par le VIH était comprise entre 41 et 50 ans avec 22 prélèvements correspondant à 26,19% de cette population.

Chez les enfants, ceux âgés de moins de 1 an étaient les plus représentés avec 42 prélèvements soit 29,37% de l'échantillon.

Le sex-ratio M/F était de 1.6 chez les enfants et de 0,71 chez les adultes vivants avec le VIH.

Aussi bien chez les enfants que chez les adultes, le maximum d'examens de selles a été effectué pendant l'hivernage avec une proportion de 63,64% chez les enfants et de 52,38% chez les adultes.

Parmi les selles d'enfants examinés 21 présentaient des cryptosporidies dans les selles soit un taux de prévalence de la cryptosporidiose de 14,68% tandis que chez les adultes infectés par le VIH ce taux était de 7,14% avec 6 cas de cryptosporidiose.

Chez les enfants, la prévalence variait de 5,88% au mois de juin (1cas positif sur 17 enfants examines) à 23,80% (5 positifs sur 21) au mois de novembre.

Chez les adultes infectés par le VIH, le plus grand nombre de cas de cryptosporidiose a été enregistré pendant le mois de mars avec 3 cas soit un taux de prévalence de 23,08% et pendant les mois d'aout, février, juin, mai, novembre et octobre aucun cas n'a été observé.

Chez les enfants, 11 cas positifs (12,09%) ont été enregistrés pendant l'hivernage contre 10 cas positifs (19,23%) pendant la saison sèche.

Chez les sujets infectés par le VIH, 4 cas positifs ont été enregistrés pendant la saison sèche et 2 cas positifs pendant l'hivernage.

Chez les enfants, le taux de prévalence obtenu chez les garçons (19,32%) était largement supérieur à celui des filles (7,27%) et cette différence était statistiquement significative.

Chez les adultes infectés par le VIH, il n'y avait pas de différence significative des taux de prévalence observé selon le sexe des patients malgré un taux plus élevé chez les femmes (8,16%) que chez les hommes (5,71%).

Chez les enfants, le nombre de cas observé chez les enfants âgés de 0 à 1 an est plus important comparé à celui des autres tranches d'âge.

Chez les sujets séropositifs, parmi les 6 cas de cryptosporidiose enregistrés, 5 concernaient des personnes âgées de plus de 40 ans, 1 cas positif a été observé chez les moins de 20 ans. Entre 20 et 40 ans aucun cas positif n'a été enregistré.

RECOMMENDATIONS

L'ensemble de ces résultats nous amène à formuler quelques recommandations afin de pouvoir faire face à cette parasitose :

➤ Aux autorités sanitaires

- Renforcer les mesures de préventions de la transmission de l'infection à VIH ;
- Informer et éduquer le public du risque que présente la consommation des légumes, des fruits et du lait et ses dérivés crus;
- Ajouter les médicaments utilisés dans le traitement symptomatique de la cryptosporidiose dans la liste des médicaments actifs contre les infections opportunistes disponibles pour les patients VIH/SIDA.

➤ Aux prescripteurs

- Introduire dans le bilan du dépistage et du suivi des patients VIH/SIDA la recherche systématique de cryptosporidies.
- Demander la recherche des cryptosporidies chez tout enfant présentant une diarrhée persistante.

➤ Aux populations

- Lutter contre le péril fécal pour interrompre la chaîne de transmission orofécale ;
- Avoir une bonne hygiène corporelle avec lavage des mains avant les repas et après la défécation ;
- Eviter l'utilisation des engrais humains ;
- Eviter le contact avec les jeunes animaux (veaux, agneaux, chevreaux...)
- Avoir une alimentation saine et équilibrée ;

REFERENCES

1. ABRAHAMSEN M.S., TEMPLETON T.J., ENOMOTO S., et al.

Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*.
Science 2004; 304: 441–445

2. ANGUS K.W., HUTCHISON G., MUNRO H.M.

Infectivity of a strain of *Cryptosporidium* found in the guinea-pig (*Cavia porcellus*) for guinea-pigs, mice and lambs.

J. Comp. Pathol. 1985 ; 95 : 151–165

3. ANOFEL

Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales

Elsevier Masson, Issy les Moulineaux, 2007 ; 321p

4. ANGLARET X.

Affections opportunistes sévères de l'adulte infecté par le VIH en Afrique subsaharienne.

Méd. Trop., 2006, 66, 343-345

5. ASSOUMOU A., KONE M., PENALI L. K. et al.

Cryptosporidiose et VIH à Abidjan (Cote d'ivoire).

Bull. Soc. Pathol. Exot , 1993 ; 86 : 85-86

6. BAILENGER J.

Diagnostic de la cryptosporidiose. In : Coprologie parasitaire et fonctionnelle.

Publisher Bordeaux ,1982 ; 324p

7. DELLAMONICA P., PUGLIESE P., DURANT J.

Médicaments antirétroviraux: orientations stratégiques futures.

Med. Trop., 2007 ; 67 : 363-366

8. FAYER R.

The general biology of *Cryptosporidium*.

In: Cryptosporidium and cryptosporidiosis, 1 st Ed. CRC Press, 1997; 1-41;

9. FAYE B., DIENG T., TINE R. C. et al.

La cryptosporidiose de l'enfant au Sénégal : Etude de la prévalence et apport du diagnostic sérologique par ELISA

Bull. Soc. Pathol. Exot., 2013 ; 106 :258-263

10. FELLOUS J. L.

Avis de tempêtes : la nouvelle donne climatique

Odile Jacob, 15 janv. 2003-336 pages

11. GOHMSI J. A.

Recherche de *Cryptosporidium sp.* et d'*Isospora belli* au CHNU de Fann (Dakar-Sénégal) de 2011 à 2013 ;

Thèse Pharmacie, Dakar, 2014, n°86, 111p

12. GENTILLINI M., DUFLO B., DANIS M.

SIDA tropical.

In : Médecine tropicale. Ed Flammarion ; Paris ; 1989 ; 401-414

13. GAY-ANDRIEU F., ADEHOSSI E., ILLA H. et al.

Prévalence de la cryptosporidiose en milieu hospitalier pédiatrique à Niamey, Niger

Bull. Soc. Pathol. Exot., 2007 ; 100 :193-196

14. GIRARD P.M., DELLAMONICA P., PUGLIESE P. et al.

Vaccins contre le sida : état des lieux.

Méd. Trop., 2007 ; 67 : 340-346.

15. GIRARD P.M. DELLAMONICA P., PUGLIESE P. et al.

Médicaments anti rétroviraux : orientations stratégiques futures.

Med. Trop., 2007 ; 67 : 363-366

16. GOH S., REACHER M., CASEMOR D. et al.

Sporadic cryptosporidiosis decline after membrane filtration of public water supplies, England, 1996-2002.

Emerg Infect Dis 2005; 11: 251-9.

17. LINDSAY D.S., UPTON S.J., OWEN D.S. et al.

Cryptosporidium andersoni n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. J. Eukaryot.

Microbiol .2000 ; 47 : 91–95

18. LOKO F., YEDOMON H., ZOHOUN I. et al.

Prévalence de la cryptosporidiose chez les sujets séropositifs au VIH au Bénin ;

Journal des Sciences ; 2008 ; 8 : 17-20

19. LYNEN L.

Prise en charge clinique du VIH/SIDA : Recommandations pour les milieux limités en ressources

Médecins Sans Frontières ; 2006

20. MORGAN-RYAN U.M., FALL A., WARD L.A. et al.

Cryptosporidium hominis n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. J. Eukaryot.

Microbiol. 2002; 49: 433–440

21. MALLON M.E., MACLEOD A., WASTLING J.M. et al.

Multilocus genotyping of *Cryptosporidium parvum* Type 2: population genetics and sub-structuring.

Infect. Genet. Evol. 2003 ; 3 : 207–218

22. MOULINIER C.

Parasitologie et mycologie médicale. Elément de morphologie et de biologie

Edition Médicale Internationales, Lavoisier 2003 ; 796p

23. OKHUYSEN P., CHAPPELL C., CRABB J. et al.

Virulence of three distinct *C. parvum* isolates for healthy adults.

J. Infect. Dis., 1999 ; 180 : 1275-1281

24. SOW P.G., DIA A.T., DIALLO P.D. et al.

Etude comparative de deux protocoles de traitement antirétroviral des patients VIH-1 positifs de la cohorte suivie à l'Institut d'hygiène sociale de Dakar, Sénégal.

Méd. Trop., 2011, 71 : 202-203.

25. TRAN-MINH T., ASTEL L., CHIEZE E. et al.

Dix ans de prise en charge du VIH/SIDA dans les Centres de Traitement Ambulatoire (CTA) de l'OPALS et de la Croix Rouge Française.

Med. Trop., 2004; 64 : 109-114.

26. UPTON S.J.,CURRENT W.L.

The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) infecting mammals.

J. Parasitol. 1985 ; 71 : 625–629

WEBOGRAPHIE

27. <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC>

Résumé sur la cryptosporidiose, Octobre 2008

Consultation : 07/06/2016

28. <https://www.santepublique.gc.ca>

Fiche technique santé-sécurité sur la cryptosporidiose (Agence de la santé publique du Canada)

Consultation : 14/06/2016

29. <https://www.who.in/hiv/pub/arv/adult2010/fr>

OMS. Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent : recommandations pour une approche de santé publique (mise à jour 2010).

Consultation : 29/06/2016

30. <https://www.oie.int/fr/normes-internationales/manuel-terrestre>

Manuel terrestre de l'OIE : La cryptosporidiose, 2005

Consultation : 04/03/2016

31. <https://www.has-sante.fr>

Haute Autorité de Santé. Dépistage de l'infection par le VIH en France. Modalités de réalisation des tests de dépistage - octobre 2008.

Consultation : 12/03/2016

32. <https://www.who.int/bulletin/fr>

Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé ; 91:238 ; 2013

Consultation : 22/04/2016

33. [https ;//www.chu-clermontferrand.fr](https://www.chu-clermontferrand.fr)

CLASSIFICATION DES MANIFESTATIONS CLINIQUES ET ANOMALIES
BIOLOGIQUES : Classification OMS de l'infection à VIH (révision 2007)

Consultation : 09/04/2016

34. <https://www.google.com/imgres>

Morphologie de *Cryptosporidium parvum*

Consultation : 20/03/2016

35. <https://www.google.com/imgres>

Oocystes de *Cryptosporidium* par la technique de Zhiel-Nelseen modifié

Consultation : 20/03/2016

36. <https://www.google.com/imgres>

Techniques immunochromatographiques

Consultation : 20/03/2016

37. <https://www.medicinetropicale.free.fr>

Infection par le VIH/Sida et tropiques ; Actualités 2015

Consultation : 17/04/2016

38. <https://www.anofel.net>

Réseau « Crypto ANOFEL »

Consultation : 21/06/2016

39. <https://www.google.com>

Structure VIH schéma

Consultation : 03/08/2016

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes Condisciples.

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, le Président de l'assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et par
délégation

Le Doyen

RESUME

La cryptosporidiose est une parasitose due à une coccidie de petite taille, *Cryptosporidium spp.* qui se développe dans les cellules épithéliales de l'intestin de l'homme. L'objectif de ce travail consistait à déterminer le taux de prévalence et la répartition des cryptosporidies chez des enfants âgés de moins de six ans et chez des adultes infectés par le VIH en fonction des paramètres épidémiologiques.

Les techniques de coprologie utilisées pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* étaient celles de Ritchie simplifiée et la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Sur les 227 prélèvements examinés, les 143 proviennent de l'Hôpital des enfants Albert Royer de Fann et leur âge est compris entre 0 et 5 ans et les 84 autres représentent des sujets infectés de VIH hospitalisés au niveau du service des maladies infectieuses et tropicales du CHNU de Fann.

Le tableau clinique était dominé par une diarrhée chronique chez les sujets infectés de VIH tandis que chez les enfants c'était plutôt une diarrhée associée à une gastroentérite aigue le plus souvent.

L'analyse des données montre une prévalence de 14.68% chez les enfants âgés de 0 à 5 ans entre juin et mi-décembre 2015 et pour les sujets infectés par le VIH le taux de prévalence est de 7.14% entre avril 2014 et novembre 2015.

Ces résultats montrent que la cryptosporidiose est une coccidiose à prendre en compte chez les patients présentant une diarrhée et incitent à systématiser la recherche de *Cryptosporidium* dans les selles diarrhéiques notamment chez les enfants et les sujets immunodéprimés en particulier les personnes vivants avec le VIH/SIDA.

Mots clés : Cryptosporidiose, Enfants, Adultes, VIH, Diarrhée, Sénégal