MÉTHODE RAPIDE POUR LA MISE EN EVIDENCE DES OOCYSTES DE *CRYPTOSPORIDIUM* DANS LES SELLES

par **E. DUTOIT, J.M. DEWITTE, E. DEI CAS, D. CAMUS***

Mots-clés : Oocystes - *Cryptosporidium* - Cryptosporidiose - Coprologie - Glycérine.

RÉSUMÉ

Les auteurs proposent une méthode rapide, extemporanée, à la glycérine, qui facilite la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les selles.

INTRODUCTION

Cryptosporidium, coccidie découverte en 1907 par Tyzzer (16) au niveau de la muqueuse gastrique de la souris, a été décrit pour la première fois chez l'homme en 1976 par Nime et Meissel (11, 12). Ce parasite de l'embranchement des protozoaires et de la classe des *Apicomplexa*, détermine la cryptosporidiose, maladie dont le diagnostic s'établit surtout par la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les selles (3).

Les oocystes matures sont des éléments sphériques de 4 à 6 μm de diamètre, contenant un corps résiduel et 4 sporozoïtes.

Chez l'homme, la cryptosporidiose se rencontre essentiellement :
- chez des enfants en bas âge, au cours d'un syndrome diarrhéique avec ou sans altération de l'état général. Dans ce cas, la symptomatologie régresse spontanément en moins de 2 semaines (3, 6, 10),
- chez des sujets immunodéprimés (principalement des malades atteints du SIDA), présentant une diarrhée sévère et persistante d'une durée de quelques semaines à plusieurs mois (3, 5, 7, 13).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Découverte de façon fortuite, la technique que nous proposons s'utilise de la manière suivante : à partir de la selle, nous réalisons d'abord la méthode de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1, 15). Une goutte du culot est déposée sur une lame de microscope et mélangée à une goutte de glycérine pure, le tout recouvert d'une lamelle.

Au bout d'une minute, l'observation microscopique en lumière blanche, au grossissement 400, met en évidence des oocystes de *Crystosporidium* (photo 1). Ceux-ci apparaissent ronds et légèrement ovalaires, de 4 à 5 μm de diamètre, transparents

Photo 1.
Vue microscopique des oocystes de *Cryptosporidium*, selon la technique à la glycérine.

* Laboratoire de Parasitologie-Mycologie - Faculté de Médecine - 1, place Verdun - 59000 LILLE.

avec des reflets bleutés et souvent déprimés sur une face. En quelques minutes, les oocystes flottent et se rassemblent juste sous la lamelle, se détachant des autres éléments non parasitaires. La lecture doit être réalisée dans les quinze minutes car, au-delà, les éléments parasitaires ne sont plus visibles.

Il faut aussi tenir compte que, pendant la première minute, apparaissent des résidus fécaux de taille variable, optiquement vides, légèrement bleutés, qui disparaissent rapidement.

L'utilisation d'un filtre bleu sur la source lumineuse améliore la qualité de l'observation microscopique, par un meilleur contraste.

En raison de la fragilité des oocystes au cours de cette méthode, il peut être envisagé de garder une preuve de la diagnose par une coloration permanente (3) : la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen (8, 14), qui est la coloration de référence pour *Cryptosporidium*. D'autres colorations, plus sensibles et plus rapides, peuvent être également pratiquées : celles de Baxby et Blundell (4) à la safranine-bleu de méthylène ou au bleu de méthylène-fuchsine basique, modifiées par Lechat et collaborateurs (9).

RÉSULTATS

En 1987, nous avons diagnostiqué six cas de cryptosporidiose : trois chez des malades atteints de SIDA, trois chez des enfants non immunodéprimés en bas âge. Les examens de contrôle réguliers réalisés pour suivre l'évolution de la parasitose, surtout chez les malades atteints du SIDA, nous ont permis de retrouver *Cryptosporidium* à dix-huit reprises.

Nous n'avons pas relevé de résultat négatif lors de l'examen à la glycérine et positif par la technique de Ziehl-Neelsen-Henriksen.

DISCUSSION

Afin d'éviter tout risque de contamination (vis-à-vis des cryptosporidies et/ou du virus HIV), nous avons suggéré la réalisation de cette méthode sur un culot de Ritchie qui utilise le formol à 10 % (3) ; mais, il est évident qu'elle peut être aussi effectuée sur la selle fraîchement émise.

L'aspect de *Cryptosporidium* flottant sur la glycérine est assez proche de la description faite par Anderson en utilisant la méthode de flottation en solution saturée de saccharose (d = 1,27) (2, 14).

L'inconvénient majeur de notre technique est la nécessité de lire la lame rapidement, dans les quinze minutes suivant le montage. Toute conservation est donc exclue.

Par contre, les avantages sont nombreux ; en effet, la technique que nous proposons est :
- **rapide et peu coûteuse** : la méthode ne demande aucun temps d'incubation, aucun matériel particulier, aucune préparation de solutions ;
- **facile d'utilisation** : elle peut être réalisée avant ou mieux après enrichissement par une méthode de concentration ; ce même culot pouvant servir également à l'examen parasitologique des selles ;
- **spécifique** : les levures, principaux éléments à différencier des oocystes de *Cryptosporidium* (3), sont légèrement jaunâtres avec un contour bien marqué et ne peuvent être confondues. De même, les petits kystes de protozoaires n'ont pas les caractères morphologiques spécifiques des cryptosporidies ;
- **sensible et fiable** : elle permet le diagnostic dans les pauci-infestations, a fortiori quand elle est réalisée sur le culot de concentration de la selle. Tous les examens négatifs et positifs par cette méthode ont été vérifiés par la coloration de Ziehl-Neelsen-Henriksen confirmant ainsi la diagnose.

CONCLUSION

La méthode à la glycérine est une technique "temporaire", mais rapide et facile d'utilisation. Par sa spécificité et sa sensibilité, elle permet, en pratique courante, d'effectuer, avec certitude, le diagnostic de cryptosporidiose dans les selles.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN A.V.H. and RIDLEY D.S.
Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites.
J. Clin. Pathol., 1970, *23*, 545-546.

2. ANDERSON B.C.
Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves.
J.A.V.M.A., 1981, *178*, 982-984.

3. BAILENGER J.
Diagnostic pratique de la cryptosporidiose.
Feuil. Biol., 1986, *27*, 45-48.

4. BAXBY D. and BLUNDELL N.
Sensitive, rapid, simple methods for detecting *Cryptosporidium* in faeces.
The Lancet, 1983, *ii*, 1149.

5. BOUREE P.
Une nouvelle parasitose intestinale : la cryptosporidiose.
La Lettre de l'Infectiologue, 1987, *II*, 376-378.

6. BRASSEUR P., LEMETEIL D., MALLET E.
La cryptosporidiose chez l'enfant immunocompétent.
Presse Méd., 1987, *16*, 177.

7. CHABASSE D.
Le laboratoire et les principales parasitoses opportunistes rencontrées au cours du syndrome d'immuno-déficience acquise (SIDA).
Technique et Biologie, 1986, *1*, 28-33.

8. HENRIKSEN and POHLENZ J.F.L.
Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique.
Acta Vet. Scand., 1981, *22*, 594-596.

9. LECHAT H., BAJOLET O.L., POIRRIEZ J., THOANNES H., D'ALBIGNAC G., PIGER D., PINON J.M.
Techniques de coloration des oocystes de *Cryptosporidium*.
Feuil. Biol., 1987, *28*, 35-38.

10. MARTY P., LEDROIT E., LE FICHOUX Y., TORDJMAN C., DOUCET J., MARIANI R.
Cryptosporidiose non associée à un déficit immunitaire chez un jeune enfant.
Bull. Soc. Fr. Parasitol., 1984, *2*, 155-157.

11. MEISEL J.L., PERERA D.R., MELIGRO C., RUBIN C.E.
Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in a immuno suppressed patient.
Gastroenterology, 1976, *70*, 1156-1160.

12. NIME F.A., BUREK J.D., PAGE D.L., HOESCHER M.A., YARDLEY J.H.
Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidum*.
Gastroenterology, 1976, *70*, 592-598.

13. PITLICK S.D., FAINSTEIN V., GARZA D., GUARDA L., BOLIVAR R., RIOS A., HOPFER R.L., MANSELL P.A.
Human cryptosporidiosis : spectrum of disease.
Arch. Intern. Med., 1983, *143*, 2269-2275.

14. POLACK B., CHERMETTE R., SAVEY M., BUSSIERAS J.
Les cryptosporidies en France. Techniques usuelles d'identification et résultats préliminaires d'enquêtes épidémiologiques.
Le Point Vétérinaire, 1983, *15*, 41-46.

15. RITCHIE L.S.
An ether sedimentation technique for routine stool examinations.
Bull. U.S. Army Med. Dept., 1948, *8*, 326.

16. TYZZER E.E.
A sporozoan found in the peptic glands of common mouse.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1907, *5*, 12-13.