



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V - Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année 2022

N°:MS 1612022

Mémoire de fin de spécialité

Pour L'obtention du Diplôme National de Spécialité
en : **Analyses Biologiques Médicales**

Intitulé

**LA CRYPTOSPORIDIÖSE : ANALYSE DES CAS DE
L'HOPITAL IBN SINA DE RABAT SUR UNE PERIODE
DE 28 ANS (1994-2021)**

Présenté par :

Docteur **Fakhita LAZREQ**

Sous la direction
du Professeur
Sara AOUIFI

Année 2022

DEDICACES

*Je tiens à remercier notre chère **Professeur Sara AOUFI** Professeur de l'enseignement supérieur en parasitologie de nous avoir épauler tout au long de notre cursus de résidanat et pour laquelle on garde et on gardera une grande estime.*

A Mes Maîtres et enseignants de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat qui m'ont encadré tout au long de ma formation spécialisée en Analyses Biologiques Médicales.

Vous m'avez permis d'apprécier la richesse de cette spécialité dont je ferais bon usage.

Plan :

I.	Introduction.....	7
II.	Matériel et méthodes :.....	9
	A. Matériel :	9
	B. Méthodes :.....	9
	1. Examen direct :	9
	2. Techniques de Concentration :	10
	3. Coloration par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée :.....	10
III.	Résultats :	13
	1) Répartition des cas selon l'âge et le sexe :.....	15
	2) Répartition des cas selon le service et le terrain :	15
	3) Taux de CD4 et autres pathologies opportunistes associées :.....	16
	4) Symptomatologie clinique :	17
	5) Diagnostic :	18
	6) Traitement et évolution :.....	20
IV.	Discussion	22
	A. Agent pathogène :	22
	B. Prévalence de la cryptosporidiose :	26
	C. L'âge et le sexe :	27
	D. Signes cliniques :.....	27
	E. Diagnostic	29
	F. Infections opportunistes associées :	32
	G. Statut immunitaire :.....	34
	H. Traitement	36
	I. Evolution :	40
V.	Conclusion	43
	Références :	49

Liste de figures :

Figure 1 : Nombre de cas positifs selon les années	13
Figure 2 : Répartition des cas de cryptosporidiose selon le sexe	15
Figure 3 : Répartition des cas selon le service	16
Figure 4 : Signes cliniques les plus fréquents	17
Figure 5 : Oocystes de Cryptospridium observés au microscope optique à l'objectif 40 après coloration de Ziehl Nielsen modifiée	18
Figure 6 : Oocyste de Cryptospridium observés au microscope optique à l'objectif 40 après coloration de Ziehl Nielsen modifiée	19
Figure 7 : Oocyste d'Isospora Belli observé au microscope optique à l'état frais objectif :*40	19
Figure 8 : Répartition des patients selon leur évolution	20
Figure 9 : Position taxonomique	23
Figure 10 : Invasion du parasite	25
Figure 11 : Cycle biologique de Cryptosporidium parvum d'après Ward et Cevallos	26

Liste de tableaux :

Tableau 1 : Evolution des demandes de diagnostic de la Cryptosporidiose et des cas	14
Tableau 2 : Répartition des patients selon les infections opportunistes	17
Tableau 3 : Répartition des patients selon la symptomatologie clinique	18
Tableau 4 : Méthodes de détection de Cryptosporidium.....	31
Tableau 5 : Différentes données concernant les patients atteints de cryptosporidiose dans quelques séries étudiées.	41

Introduction

I. Introduction

La cryptosporidiose est une parasitose due à un protozoaire du genre *Cryptosporidium*, cause importante de diarrhées dans le monde. Les espèces les plus fréquemment détectées chez l'homme sont *Cryptosporidium hominis* et *Cryptosporidium parvum*.

La multiplication rapide du parasite dans les cellules intestinales provoque des lésions tissulaires qui réduisent la surface d'absorption de l'intestin et entraînent une malnutrition, déshydratation et diarrhée [1]. Cette dernière est spontanément résolutive chez les sujets immunocompétents, mais sévère et chronique chez les patients immunodéprimés, surtout ceux en stade SIDA.

En effet, ce sont des parasites très performants en raison de leur large gamme d'hôtes, de la production élevée d'oocystes chez les individus infectés, du mode de contamination indirect et de la faible dose infectieuse. De ce fait, la cryptosporidiose pose un problème de santé publique dans de nombreux pays en voie de développement, notamment au Maroc dans certains groupes de patients immunodéprimés.

Dans ce cadre, nous avons étudié le profil épidémiologique et biologique des cas de cryptosporidiose diagnostiqués au Laboratoire Central de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

Matériels et méthodes

II. Matériel et méthodes :

A. Matériel :

Il s'agit d'une étude rétrospective étalée sur une période de 28 ans (Janvier 1994- Décembre 2021). Nous avons inclus toutes les demandes reçues pour la recherche de *cryptosporidies* au laboratoire de parasitologie de l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Les données ont été recueillies à partir des registres du laboratoire et des dossiers médicaux des patients.

B. Méthodes :

La recherche de cryptosporidiose dans les selles concernait les patients présentant une diarrhée chronique. Nous avons étudié le sexe, l'âge, les signes cliniques, le traitement ainsi que l'évolution des patients. Néanmoins pour les patients VIH positifs il était important de préciser le Stade sida et le taux de CD4.

Chaque patient a bénéficié d'un examen parasitologique des selles comportant un examen microscopique direct à l'état frais, une technique de concentration suivie d'une coloration par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée.

La recherche d'oocystes de *cryptosporidium* par examen microscopique permet la détection sans faire le diagnostic d'espèce.

1. Examen direct :

Confection d'un frottis de selles entre lame et lamelle réalisé directement à partir du prélèvement, observé au microscope optique à l'objectif 10 puis 40. L'état frais ne permet pas l'identification des oocystes de *cryptosporidies* qui ressemblent aux levures, cependant il permet de rechercher d'autres parasitoses digestives associées notamment l'Isosporose.

2. Techniques de Concentration :

Le but est de concentrer le parasite dans un volume très réduit de selles avec un minimum de résidus afin d'augmenter les chances de mise en évidence du parasite.

Les selles étudiées ont été concentrées par la technique de Ritchie. C'est une méthode physico chimique ou diphasique, simple et couramment utilisée, basée sur la dissolution des résidus fécaux de façon à obtenir 2 phases non miscibles l'une aqueuse et l'autre lipophile selon leur coefficient de solubilité.

Technique de Ritchie :

- Diluer la selle dans une solution de formol au 1/10.
- Tamiser et verser la solution dans un tube conique.
- Ajouter l'éther sulfurique (1/3 d'éther et 2/3 de solution) suivie d'une agitation rigoureuse pendant quelques secondes.
- Centrifugation à 1500 tours pendant 3 minutes.
- Verser d'un coup sec.
- Aspirer le culot par pipette, le déposer sur une lame et laisser sécher.

3. Coloration par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée :

Elle représente la technique de référence qui permet d'observer les oocystes de toutes les coccidies. Particulièrement recommandée pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* sp., elle peut être réalisée sur un frottis de selles avec ou sans concentration

Technique de Ziehl-Neelsen modifiée :

- Frottis de selles obtenu après enrichissement Ritchie.
- Sécher à l'air.
- Fixation au méthanol absolu pendant (5 min).
- Sécher à l'air.
- Coloration à la fuschine de ziehl (60 à 90 min).
- Rincer à l'eau du robinet.
- Différenciation par une solution d'acide sulfurique à 5% (20 secondes).
- Rincer à l'eau du robinet.
- Coloration de fond par une solution de vert de malachite (15 min).
- Rincer à l'eau du robinet.
- Sécher à l'air.
- Lecture au microscope (objectif 10 puis 40 puis 100 a immersion).

➔ Les oocystes de *Cryptosporidium* ayant une forme arrondie à ovalaire de 4 à 5 micromètres apparaissent colorés en rouge ou en rose sur fond vert avec la présence d'un corps résiduel arrondi noir.

➔ L'espèce n'est pas identifiable par microscopie.

Résultats

III. Résultats :

Durant notre période d'étude qui est de 28 ans, la recherche de Cryptosporidies dans les selles a été demandée chez 146 patients. Le nombre des demandes est très variable d'une année à une autre allant d'aucune demande reçue à un pic de 12 demandes par an, avec une moyenne de 5 demandes par an. [Tableau 1]

Le diagnostic de cryptosporidiose a été retenu chez 16 patients soit une prévalence de 11%. Parmi ces patients positifs 2 cas présentaient une co-infection avec l'Isosporose. La moyenne annuelle est de 0,57 cas par an avec un pic de 3 cas en 2008. [Figure 1]

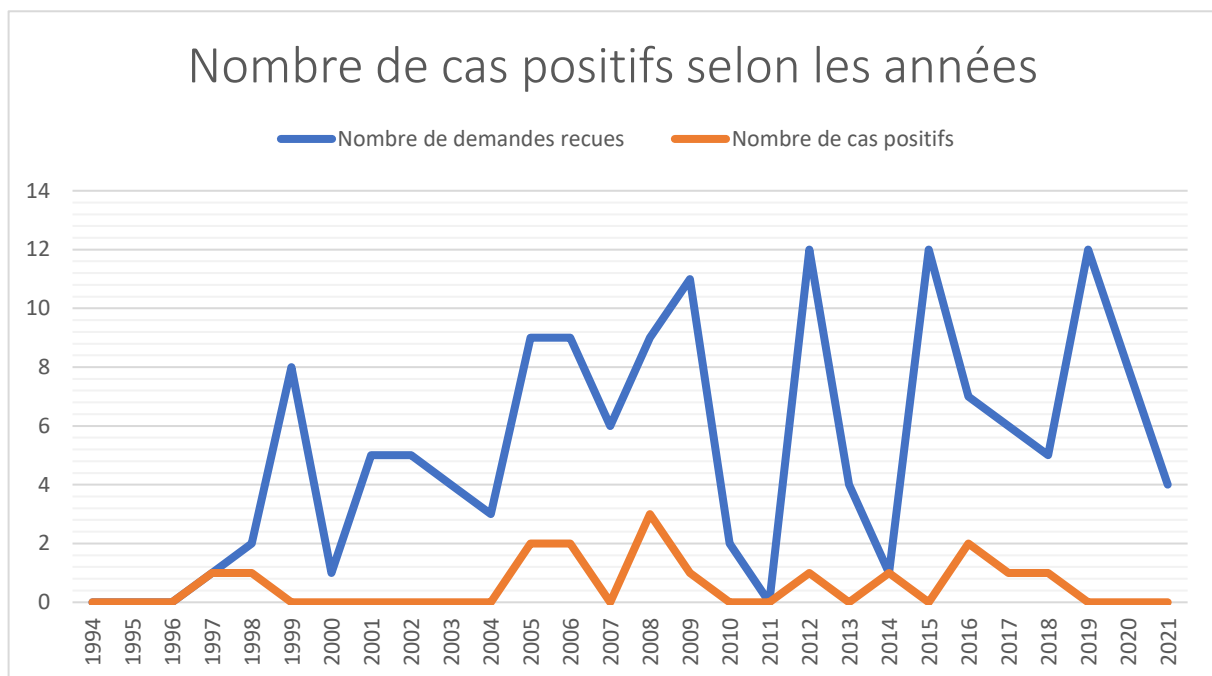


Figure 1 : Nombre de cas positifs selon les années

	Nombre de demandes	Nombre de cas positifs
<i>1994</i>	0	0
<i>1995</i>	0	0
<i>1996</i>	0	0
<i>1997</i>	1	1
<i>1998</i>	2	1
<i>1999</i>	8	0
<i>2000</i>	1	0
<i>2001</i>	5	0
<i>2002</i>	5	0
<i>2003</i>	4	0
<i>2004</i>	3	0
<i>2005</i>	9	2
<i>2006</i>	9	2
<i>2007</i>	6	0
<i>2008</i>	9	3
<i>2009</i>	11	1
<i>2010</i>	2	0
<i>2011</i>	0	0
<i>2012</i>	12	1
<i>2013</i>	4	0
<i>2014</i>	1	1
<i>2015</i>	12	0
<i>2016</i>	7	2
<i>2017</i>	6	1
<i>2018</i>	5	1
<i>2019</i>	12	0
<i>2020</i>	8	0
<i>2021</i>	4	0
TOTAL	146	16

Tableau 1 : Evolution des demandes de diagnostic de la Cryptosporidiose et des cas positifs de 1994 à 2021.

1) Répartition des cas selon l'âge et le sexe :

Tous les patients étaient des adultes, l'âge variait entre 26 ans et 72 ans, avec une moyenne de 43 ans.

Le sexe féminin était prédominant avec : 10 femmes et 6 hommes soit un Sexe ratio H/F de 0,6. (Figure2)

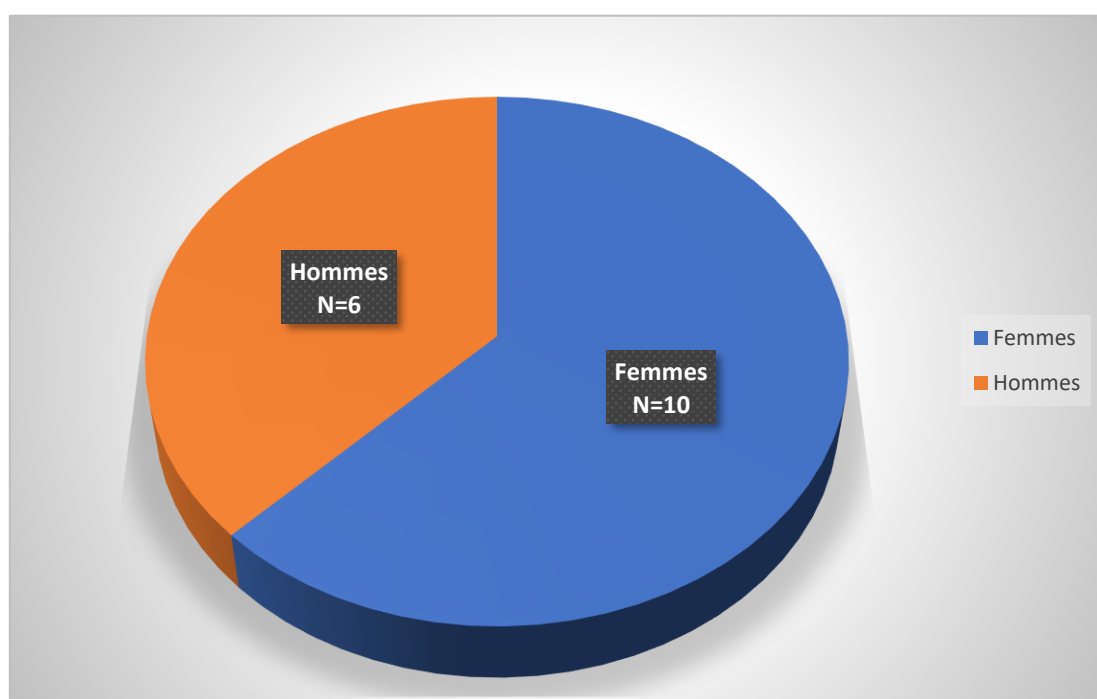


Figure 2: Répartition des cas de cryptosporidiose selon le sexe

2) Répartition des cas selon le service et le terrain :

La recherche de cryptosporidies dans les selles concernait soit des patients suivis en externes comme les dialysés chroniques soit des patients hospitalisés dans différents services du centre hospitalier. Sur les 146 demandes reçues, 98 prélèvements soit 67% appartenaient à des patients hospitalisés tandis que 48 prélèvements soit 33% provenaient de patients non hospitalisés. (Figure3)

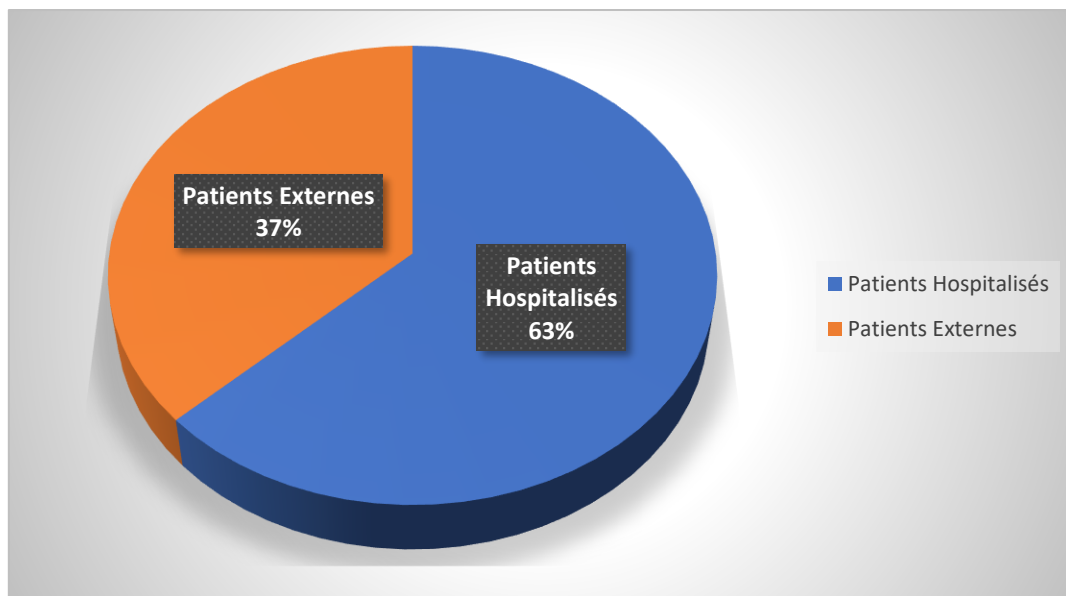


Figure 3: Répartition des cas selon le service

Lors du dépôt du prélèvement à la recherche d'oocystes de *Cryptosporidium* le statut immunitaire des patients était rarement précisé.

Cependant, tous les prélèvements positifs au *Cryptosporidium* appartenaient à des patients VIH positifs au stade SIDA hospitalisés en Médecine Interne et dont le diagnostic a été posé lors de l'hospitalisation.

3) Taux de CD4 et autres pathologies opportunistes associées :

A l'exception d'un patient déjà diagnostiqué au stade SIDA sidéen en 2006, le statut immunitaire des autres patients était méconnu avant leur hospitalisation.

En effet, la cryptosporidiose et l'isosporose ont permis de révéler le déficit immunitaire, suite auquel une sérologie VIH qui s'est révélée positive a été demandée chez 15 patients.

Le diagnostic d'infection à VIH chez les 15 patients a été complété par la recherche du taux de CD4 qui était compris entre 10 et 158 éléments/mm³ soit une moyenne de 73 éléments/mm³.

Par ailleurs, les infections opportunistes associées à la cryptosporidiose étaient :

- 4 cas de candidose buccale associée à une candidose œsophagienne qui se plaignait de dysphagies chez 1 patient.
- 2 cas de cryptococcose neuroméningée (NM) à l'origine d'un syndrome méningé.

- Un cas de toxoplasmose cérébrale responsable de céphalées intenses et de troubles de conscience.
- 3 cas de tuberculose pulmonaire.
- Un cas d'hépatite B.
- 2 cas de sérologie CMV positive.

Infections opportunistes	Candidose	Cryptococcose NM	Toxoplasmose cérébrale	Tuberculose pulmonaire	Infections virales
Nombre de patients	4	2	1	3	3

Tableau 2: Répartition des patients selon les infections opportunistes

4) Symptomatologie clinique :

La symptomatologie était dominée par des diarrhées chroniques depuis plus de 2 mois au moment du prélèvement, abondantes (> 5selles / jour) et liquidiennes sans la présence de glaire ni de sang chez 15 patients. Une diarrhée glairo-sanglante (GS) a été notée chez une patiente avec une co-infection à *Cryptosporidium* et *Isospora belli*. Des douleurs abdominales ont été rapportées par 4 patients.

Sur le plan général, tous les patients VIH positifs (N=16) présentaient une altération de l'état général (AEG) avec un amaigrissement (AMG) important compris entre 14 et 25 kg chez 10 patients ce qui a motivé leur hospitalisation en médecine interne. La fièvre était présente chez 5 patients. (Figure 4).

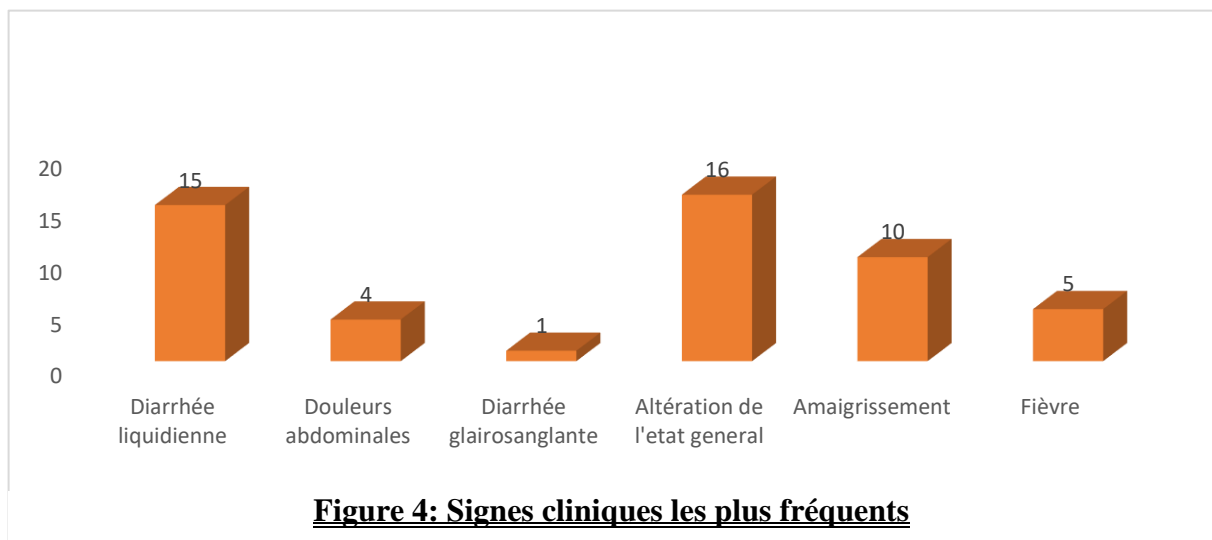


Figure 4: Signes cliniques les plus fréquents

<i>SIGNES CLINIQUES</i>	<i>DIARRHEE LIQUIDIENNES</i>	<i>DIARRHEE GS</i>	<i>DOULEURS ABDOMINALES</i>	<i>AEG</i>	<i>AMG</i>	<i>FIEVRE</i>
<i>NOMBRE DE PATIENTS</i>	15	1	4	16	10	5

Tableau 3: Répartition des patients selon la symptomatologie clinique

5) Diagnostic :

L'identification des oocystes de *Cryptosporidium* après enrichissement des selles et coloration de Ziehl-Neelsen modifiée a permis de poser le diagnostic de cryptosporidiose chez tous les patients.

Ces oocystes de forme arrondie à ovalaire apparaissent colorés en rouge ou en rose sur fond vert avec la présence d'un corps résiduel arrondi noir. (Figure 5 et 6)

Néanmoins, chez un patient VIH positif la réalisation d'une biopsie duodénale ayant révélé la présence de cryptosporidies au niveau de la bordure en brosse a précédé l'examen parasitologique des selles.

Par ailleurs, l'examen direct a permis d'isoler chez 2 patientes des oocystes d'*Isospora belli* en plus du cryptosporium, sous forme elliptique de plus de 20µm à l'état frais et colorés en rose au Ziehl-Neelsen.(Figure 7).



Figure 5 : Oocystes de *Cryptospridium* observés au microscope optique à l'objectif 40 après coloration de Ziehl Nielsen modifiée

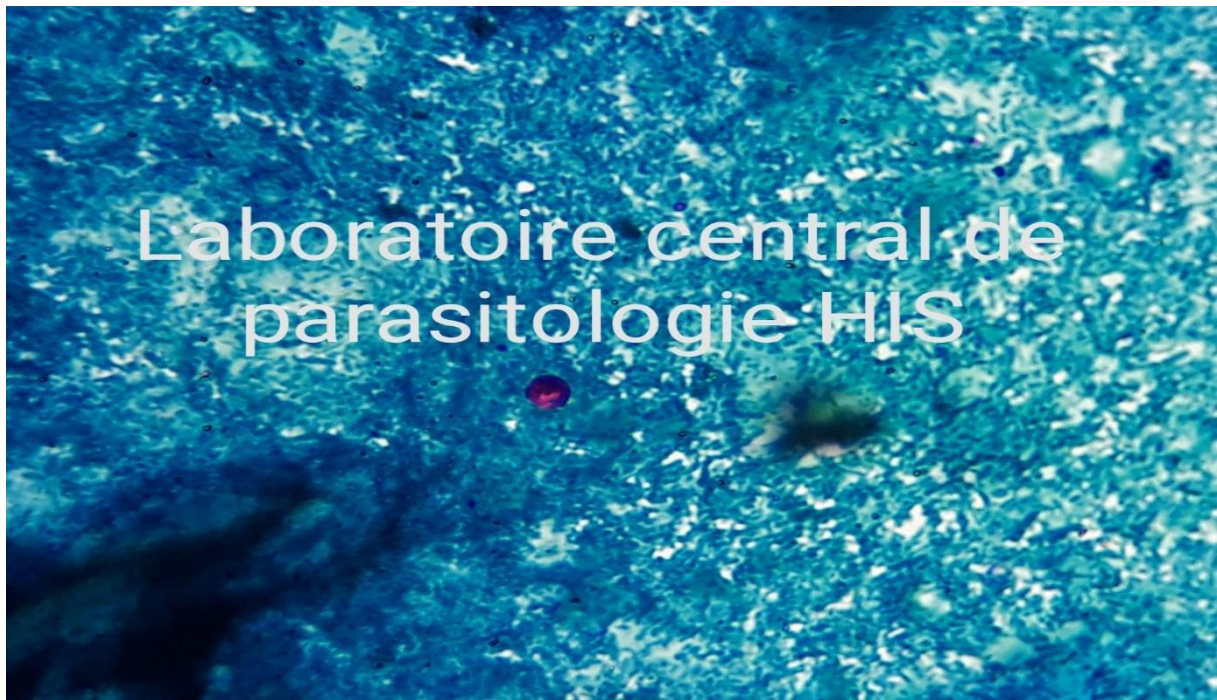


Figure 6 : Oocyste de Cryptosporidium observés au microscope optique à l'objectif 40 après coloration de Ziehl Nielsen modifiée



Figure 7 : Oocyste d'Isospora Belli observé au microscope optique à l'état frais objectif :

*40

6) Traitement et évolution :

Tous les patients ont bénéficié d'un traitement symptomatique reposant sur les sels de réhydratation orales et d'antidiarrhéiques. Cependant pour les cas de co-infection avec *Isospora belli*, les patients ont reçu en plus du traitement symptomatique du Sulfaméthoxazole-Triméthoprime ou de l'Albendazole à visée curative.

Afin de restaurer l'état immunitaire, tous les patients nouvellement diagnostiqués ont été mis sous trithérapie antirétrovirale.

L'évolution a été marquée par le décès 6 patients dont les 2 cas de co-infection cryptosporidiose et isosporose. Pour le reste des patients, 6 ont bien évolué sous traitement symptomatique avec l'absence d'information pour 4 patients.

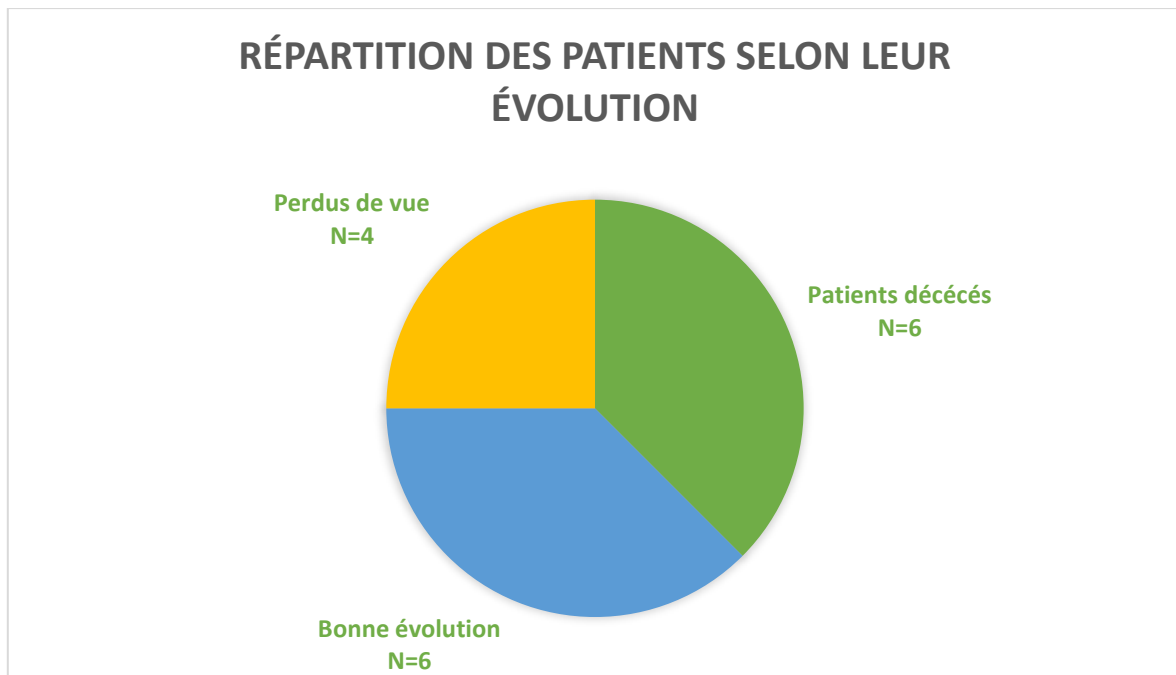


Figure 8 : Répartition des patients selon leur évolution

Discussion

IV. Discussion

A. Agent pathogène :

Cryptosporidium est un protozoaire intracellulaire qui infecte l'épithélium gastro-intestinal ainsi que le système respiratoire d'un large éventail d'animaux ainsi que les humains, et représente une cause importante de maladies diarrhéiques dans le monde [2,3].

Dans la période relativement courte depuis qu'il a été reconnu comme pathogène humain, il a fait l'objet d'intenses recherches vue son statut de pathogène opportuniste, en particulier chez les patients atteints du SIDA. En effet, ces vingt dernières années, l'application de la biologie moléculaire a eu un impact énorme dans la compréhension du *Cryptosporidium* en particulier dans les domaines de la taxonomie, de la pathogénèse, de l'épidémiologie et du traitement [4].

Les espèces de *Cryptosporidium* appartiennent taxonomiquement à l'embranchement Apicomplexa (Classe des Coccidea, Ordre des Eimeriida) (Figure 9). Ce phylum inclut dans son rang d'autres pathogènes humains importants tels que *Plasmodium*, *Toxoplasma*, *Isospora*, *Sarcocystis* et *Cyclospora* qui partagent avec le *Cryptosporidium* un cycle de vie complexe avec à la fois des stades asexués et sexués [5].

Il existe actuellement plus de 40 espèces reconnues de *Cryptosporidium*, signalées chez des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères. Néanmoins les deux espèces qui infectent le plus souvent l'homme sont *Cryptosporidium hominis*, principalement limité à l'homme (*C. hominis*) et *C. parvum* que l'on trouve chez de nombreux mammifères [5].

D'un point de vue morphologique, la forme du parasite excrétée dans les fèces de l'hôte, l'oocyste est sphérique voire elliptique avec une taille qui varie de 2 à 6 μm de diamètre et qui reste inférieure aux autres coccidies [6]. Il faut noter une différence de taille des oocystes entre les espèces de *Cryptosporidium* ce qui représente un critère majeur dans la taxonomie pour la nomenclature des espèces.

Règne	Protiste	Eucaryote unicellulaire
Phylum	Protozoaire	Protiste à affinité animale, hétérotrophe
Embranchement	Apicomplexa (Sporozoa)	Parasite obligatoire, intracellulaire, complexe apical à certains stades (organe de pénétration dans la cellule hôte)
Classe	Coccidea	Reproduction sexuée et asexuée, formation d'oocystes
Ordre	Eimeriida	Macro et micro-gamontes se développent indépendamment, zygote non mobile
Famille	Cryptosporidiidae	Oocystes à 4 sporozoïtes nus, cycle monoxène
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	Le seul genre important

Figure 9: : Position taxonomique [6,7]

Compte tenu du potentiel zoonotique de l'infection, la transmission indirecte joue un rôle important dans la contamination humaine qui se fait le plus souvent par voie oro-fécale, via la consommation d'eau ou d'aliments contaminés. Néanmoins le personnel hospitalier ainsi que toute activité sexuelle dans laquelle il pourrait y avoir un contact avec des selles représentent des facteurs de risque de transmission directe de la maladie [1].

Le cycle de vie de *Cryptosporidium* sp est monoxène et commence par l'ingestion de sa forme de résistance « oocyste » directement infestants et éliminés dans les selles de tout individu ou animal hôte. Ce cycle comprend plusieurs étapes : l'excystation, la multiplication asexuée (schizogonie ou mérogonie) et sexuée (gamétogonie), suivies d'une fécondation et enfin de la sporogonie (ou sporulation).

L'oocyste mature, est entièrement sporulé et possède une paroi épaisse riche en protéines (*Cryptosporidium* oocyst wall proteins (COWPs)). Ces protéines le rendent résistant à une exposition environnementale prolongée dans diverses sources d'eau, ainsi qu'à de nombreux agents désinfectants couramment utilisés, y compris l'eau de Javel diluée, qui peut être utilisée lors de l'isolement d'oocystes à partir d'échantillons de selles [5,7]. Sa résistance aux techniques de purification a fait de l'eau un agent de transmission indirecte de l'infection. Les récepteurs de surface des oocystes jouent également un rôle en veillant à ce que ce stade du parasite soit proche du tissu cible de l'hôte dans l'intestin grêle [5,8].

Une fois ingéré, l'excystation de l'oocyste se fait sous l'action des sels biliaires et des enzymes dérivées des sporozoïtes dans la partie supérieure de l'intestin grêle. Les sporozoïtes libérés, (au nombre de 4) sont sous forme de fuseau et mesurent environ 0,6 μm . Comme d'autres parasites du phylum apicomplexa, le complexe apical du sporozoïte joue un rôle essentiel dans la motilité de glissement utilisée par le parasite pour accéder à la cellule cible, la fixation à la cellule cible et l'établissement de la vacuole parasitophore, tandis que les enzymes sporozoïtes facilitent le passage à travers la couverture de mucus [5,9]. Des études moléculaires et protéomiques ont identifié plusieurs protéines de sporozoïtes avec des rôles potentiels dans la motilité, et dans l'adhésion et l'invasion des cellules hôtes [5,10]. La propulsion vers l'avant du sporozoïte alimentée par un moteur d'actine myosine parasitaire, entraîne sa fixation à la surface apicale d'un entérocyte [5,11]. Une fois la fixation effectuée, le sporozoïte attaché est englouti par la cellule hôte et les microvillosités adjacentes sont allongées pour former la vacuole parasitophore qui ne provient pas totalement de la cellule hôte mais a des contributions parasitaires importantes [5,9]. Une caractéristique inhabituelle de cette vacuole est qu'elle est située dans la membrane plasmique de la cellule hôte, mais à l'extérieur du cytoplasme de la cellule hôte séparé de celle-ci par un organite dit nourricier.

En effet, pour les autres coccidies la membrane parasitophore ayant une perméabilité sélective constitue un obstacle pour prendre les nutriments dans le cytoplasme, ce qui n'est pas le cas pour *Cryptosporidium* qui n'est entouré qu'en partie par cette membrane et c'est l'organe de nutrition qui lui permet de prélever les nutriments. Ce dernier a une double origine : il se développe à partir du parasite et de l'hôte et forme avec la vacuole parasitophore une jonction en Y. [6] (Figure 10).

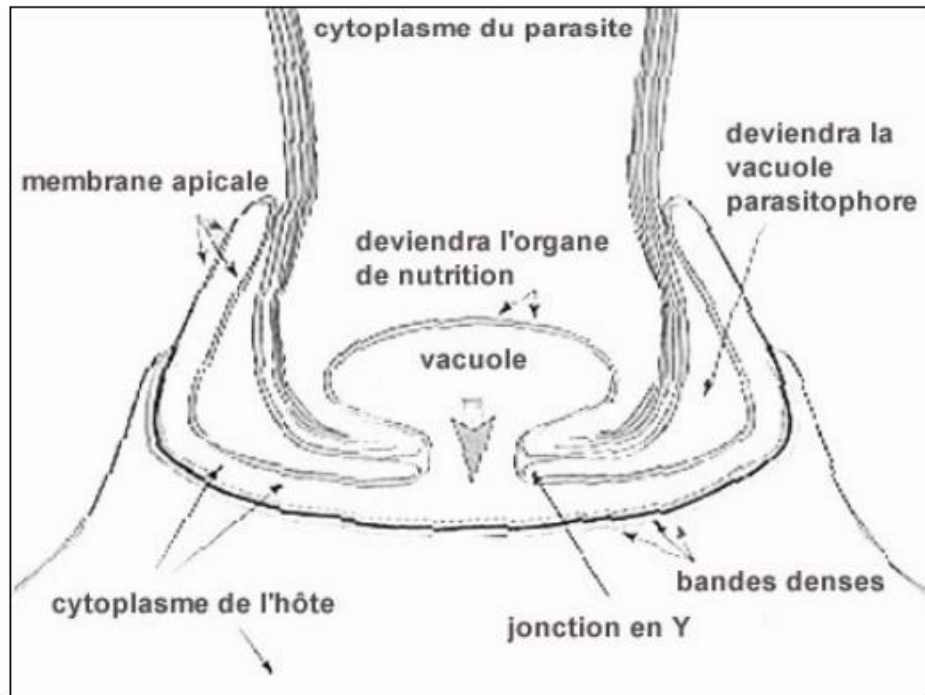


Figure 10: Invasion du parasite [6,7]

La vacuole parasitophore se différencie ensuite en trophozoïte qui subit une division mitotique et aboutit à un méronte de type I et à la production de 8 mérozoïtes.

Les mérozoïtes qui ressemblent à des sporozoïtes se fixent aux entérocytes voisins, ou ils peuvent reformer des mérontes de type I ou évoluer en mérontes de type II avec production de 4 mérozoïtes. Cette phase qui correspond à la 1ère génération de la reproduction asexuée est appelée Mérogonie. [5]

Comme avec les mérozoïtes issus du méronte Type I les mérozoïtes de type II s'échappent pour infecter les entérocytes voisins, produisant soit un macrogamonte (femelle), soit un microgamonte (mâle) : c'est la phase de Gamétogonie. Seize microgamètes cunéiformes et non flagellés sont libérés du microgamonte et chacun peut fertiliser un macrogamonte pour former un zygote diploïde, qui se différencie en oocyste. Ensuite la méiose entraîne la formation de 4 sporozoïtes : c'est la sporogonie. [5]

Ceci constitue le cycle sexuel, dont le produit final est un oocyste entièrement sporulé dont on distingue deux types selon l'épaisseur de leur paroi des oocystes à paroi épaisse directement éliminés avec les fèces qui ont un pouvoir infectieux une fois expulsés, et résistent aux conditions environnementales. Et des oocystes à paroi mince (-20 %) qui excyste dans l'hôte et

entraîne infection endogène ou une auto-infection, et donnent lieu à un nouveau cycle de développement chez le même hôte. [5]

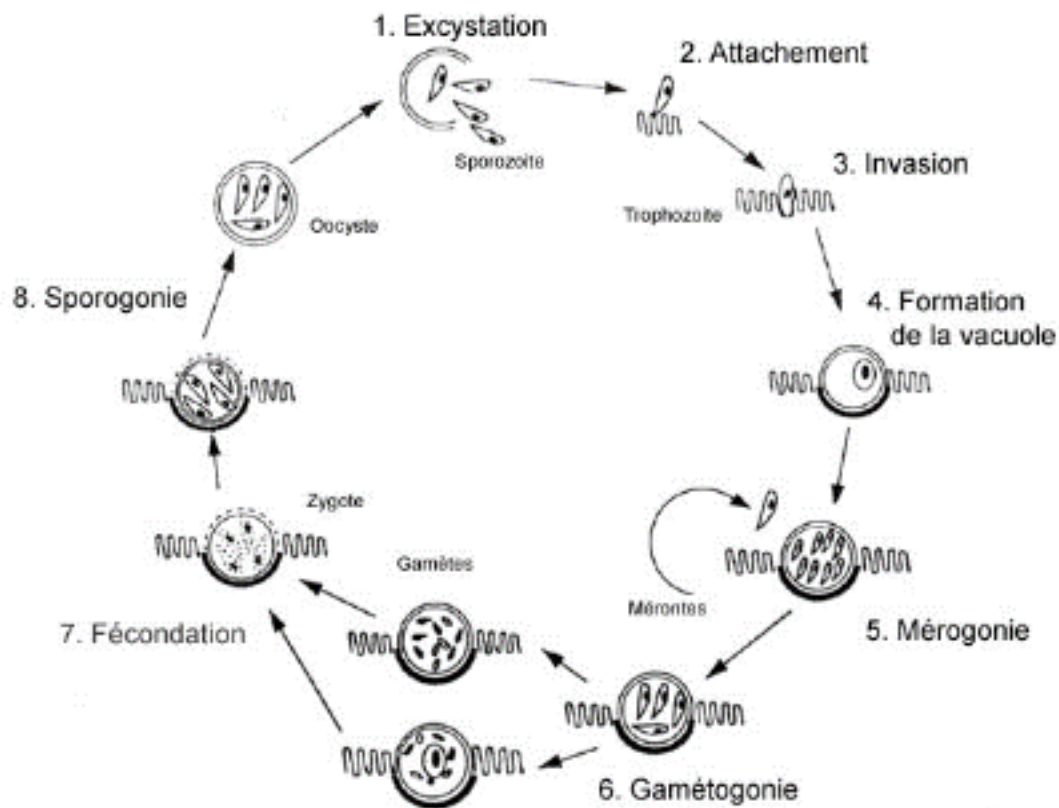


Figure 11: Cycle biologique de *Cryptosporidium parvum* d'après Ward et Cevallos [6,13]

B. Prévalence de la cryptosporidiose :

Les infections à *Cryptosporidium* sont plus élevées dans les milieux à faibles ressources mais ne sont pas rares dans les pays industrialisés, avec des épidémies signalées en Suède, aux États-Unis et le Royaume-Uni à la suite de la contamination des provisions en eaux publiques [12].

Dans la période de notre étude, la recherche de cryptosporidies a été réalisé sur 146 échantillons de selles dont 16 sont revenus positifs soit un taux de positivité de 11%.

Notre prévalence est proche des autres pays en développement comme le Cameroun le Mozambique ou encore l'Iran où le pourcentage était respectivement de 12,6%, 8,3% et 10,8% [13-15].

D'autres études montrent une prévalence plus élevée comme l'étude faite au chu IBN ROCHD de Casablanca en 2014 [16] avec un taux de 40%, ou encore la série Ethiopienne qui rapporte

un taux de 34,3% [2]. Cette différence peut être expliquée par l'absence de traitement anti rétroviral chez des patients où la cryptosporidiose était révélatrice de l'infection à VIH.

En ce qui concerne les pays développés, les taux sont généralement plus bas en dépit de l'utilisation de techniques de diagnostic plus sensibles, et cela peut être expliqué par le nombre d'échantillons plus élevé ainsi que le diagnostic précoce de l'infection à VIH avec une instauration thérapeutique rapide [17-19].

C. L'âge et le sexe :

L'âge moyen des malades dans notre série était de 43 ans +/- 14 ans comparable à celui de la plupart des études similaires [14-16]. Ainsi, cet âge d'adulte jeune correspond aussi à l'âge moyen de l'infection par le VIH.

Dans notre série on a recensé aucun cas de cryptosporidiose infantile. Cependant, selon une étude multicentrique en Afrique subsaharienne et en Asie du Sud elle est classée parmi les quatre principales causes de diarrhée modérée à sévère chez les nourrissons et demeure au dixième rang chez les moins de 5 ans [20].

Plusieurs études se sont intéressées à la cryptosporidiose infantile, dont une marocaine ayant retrouvée 22 cas de cryptosporidiose parmi 1149 enfants diarrhéiques entre 18 mois et 15 ans soit une prévalence de 2%. Parmi ces cas 6 étaient suivis pour VIH et 3 pour un déficit immunitaire primitif [21]. Une autre étude égyptienne a montré une prévalence de 10% parmi les enfants diarrhéiques de moins de 5 ans [22].

En ce qui concerne le sexe, une prédominance féminine par rapport au sexe opposé a été rapportée dans notre série ce qui souligne que les femmes sont plus vulnérables et plus exposées aux infections sexuellement transmissibles. D'un autre cote, ceci pourrait être expliqué par le fait que les hommes ne consultent qu'au stade avancé de la maladie. Plusieurs études africaines relèvent la forte représentation féminine [14,16,23]. Cependant dans une étude française 78 % étaient homosexuels, ce qui explique la nette prédominance de la cryptosporidiose chez l'homme. [24] (Tableau 4)

D. Signes cliniques :

Les manifestations cliniques et la gravité de la cryptosporidiose peuvent varier d'une personne à l'autre en fonction de son état immunitaire [25]. Chez les individus immunocompétents la cryptosporidiose constitue le plus souvent une maladie de l'intestin grêle, contrairement aux personnes immunodéficientes chez qui les atteintes extra-intestinales : gastriques, hépatobiliaires, pancréatiques et pulmonaires peuvent être fatales [5]. Le symptôme principal

le plus rapporté reste une diarrhée aiguë hydrique parfois associée à une fébricule, des nausées, des vomissements, une perte de poids, des douleurs abdominales ou encore une fièvre modérée. Parfois surviennent des symptômes non spécifiques tels que myalgie, faiblesse, malaise, céphalée et anorexie [26].

En ce qui concerne la durée des symptômes, la diarrhée est spontanément résolutive en quelques jours chez les individus immunocompétents, en opposition à la diarrhée prolongée pouvant évoluer vers la chronicité chez les sujets immunodéprimés puisque les mécanismes responsables de l'élimination de *Cryptosporidium* du tractus gastro-intestinal impliquent les lymphocytes T CD4 et l'interféron gamma. En effet, des selles fréquentes et abondantes peuvent entraîner une malabsorption et une déshydratation très importante du patient conduisant au décès des patients [5,26].

Les patients atteints du SIDA, les patients transplantés et les personnes atteintes d'immunodéficiences primaires sont sensibles aux infections des voies biliaires par *Cryptosporidium*. En effet, l'infection par le VIH supprime la réponse immunitaire innée en diminuant l'expression de TLR4 dans les cholangiocytes *in vitro* [27]. De plus son association à l'infection par le *Cryptosporidium* favorise l'apoptose des cholangiocytes, ce qui rend les voies biliaires plus sensibles à l'infection [5,28].

Des pancréatites aiguës et chroniques à *cryptosporidium* ont été décrites chez les humains immunocompétents et immunodéficients ainsi que chez des modèles animaux [29,30].

En ce qui concerne l'atteinte pulmonaire, connue chez les oiseaux [31], elle complique la cryptosporidiose intestinale chez les patients immunodéprimés chez qui elle peut entraîner une insuffisance respiratoire parfois mortelle [32].

Selon une étude ougandaise sur des jeunes enfants immunocompétents présentant une diarrhée, 35,4% des enfants qui avaient des échantillons de selles positifs pour *Cryptosporidium* avaient également des échantillons d'expectorations positifs. Cette étude suggère que l'incidence de la cryptosporidiose pulmonaire chez les enfants immunocompétents est plus élevée qu'on ne le pensait auparavant et les auteurs soulèvent la possibilité d'une voie respiratoire pour la transmission de la cryptosporidiose [33].

La cryptosporidiose gastro-intestinale peut réduire l'absorption des agents thérapeutiques. Dans une étude sur les taux sanguins d'antirétroviraux chez des patients atteints du SIDA, il a été constaté que la malabsorption causée par une infection par *Cryptosporidium* et/ou *Isospora* réduisait les taux de médicaments antiviraux à des niveaux sous-thérapeutiques [34].

Les manifestations cliniques peuvent aussi varier selon la nature des espèces infectantes de *Cryptosporidium*, en particulier entre *C. hominis* et *C. parvum*, le premier étant plus virulent

[35]. Il a été signalé que *C. hominis* est plus souvent associé à des douleurs oculaires et articulaires, des céphalées, et de la fatigue que *C. parvum* [36].

Toutefois, la diarrhée n'est pas constante et différentes présentations de la cryptosporidiose chez les sidéens ont été décrites telles que l'infection asymptomatique, l'infection transitoire chez les sujets moins immunodéprimés, l'infection fulminante (émission quotidienne de 2 Litres de selles) chez les patients avec des taux de CD4+ < 50/mm³ et l'infection chronique [26,37].

Dans notre série, aucun cas de cryptosporidiose asymptomatique n'a été observé. Néanmoins la diarrhée qui était liquidienne chez 15 patients fut constante ce qui concorde avec l'étude du CHU Ibn Rochd [16]. En ce qui concerne les signes généraux, la fièvre a été retrouvée chez 5 patients des cas ce qui se rapproche de la série de fayer et Al qui a noté une fièvre dans 36% des cas [38]. De plus, selon la série B voisin et Al la fièvre qui a été noté chez 28% des patients affecte le pronostic et la survie des malades. En effet l'évolution vers la rémission est plus fréquente chez les malades non fébriles. [24]

Cependant le signe fonctionnel le plus constant reste l'amaigrissement qui est retrouvé dans toutes les séries. Conséquence directe de la diarrhée, la déshydratation et la malabsorption intestinale entraînent une malnutrition avec une perte de poids très importante. Dans notre série 10 patients présentent une perte de poids comprise entre 14kg et 25kg avec une moyenne de 9,7kg ce qui concorde avec les données de la littérature [38,39].

Les douleurs abdominales ne constituent pas un signe constant de l'infection, mais elles accompagnent souvent la diarrhée.

E. Diagnostic

L'absence de signe cliniques spécifique de la cryptosporidiose intestinale, rend cliniquement le diagnostic différentiel avec d'autres infections digestives difficile avec nécessité d'un laboratoire de parasitologie.

En effet, comme la majorité des cas de cryptosporidiose impliquent le tractus gastro-intestinal, la méthode de diagnostic la plus couramment utilisée est la détection d'oocystes excrétés ou d'antigènes dans des échantillons de selles. Plus rarement, la mise en évidence des oocystes de cryptosporidium sur les biopsies intestinales pose le diagnostic [5].

Le *Cryptosporidium* n'est généralement pas recherché en parasitologie de routine sauf si le patient est immunodéprimé ou s'il y a une épidémie connue de diarrhée dont il est suspecté d'être responsable.

Les dosages peuvent être effectués avec ou sans fixation préalable, selon la méthode. Les fixateurs les plus couramment utilisés sont Formol neutre à 10 %, formol-éther ou acétate de sodium-acide acétique formol. Le bichromate de potassium peut être utilisé comme agent de conservation si la viabilité ou l'infectiosité des oocystes doit être évaluée. Les échantillons peuvent être concentrés pour enrichir les oocystes [40].

En général, les méthodes les moins coûteuses impliquent la coloration en champ clair d'échantillons fécaux, telles que la méthode Ziehl-Neelson modifiée par Kinyon et la méthode au phénol Auramine [40], mais le manque de sensibilité de ces méthodes nécessite un technicien de laboratoire qualifié pour une bonne lecture et interprétation des lames.

Les tests d'immunofluorescence directe et indirecte sont plus coûteux, mais les oocystes sont facilement identifiés. Les deux types de ces méthodes microscopiques sont affectés par la consistance des selles et les limites de détection sont meilleures avec des selles plus liquides.

Il existe une demande croissante de tests de diagnostic pour *Cryptosporidium parvum*, la priorité étant accordée à l'obtention de résultats de diagnostic de manière efficace et rapide [5]. Le MERIFLUOR DFA (direct fluorescent-antibody) a été utilisé dans plusieurs études par **rapport** auxquelles la sensibilité et la spécificité d'autres tests ont été comparées [41]. En plus des tests d'immunofluorescence directe et indirecte, un certain nombre de kits commerciaux de détection d'antigènes fécaux de *Cryptosporidium* sont actuellement disponibles pour être utilisés avec des échantillons de selles fraîches ou fixées en milieu clinique, tandis que les méthodes moléculaires sont plus largement utilisées pour le génotypage et les études épidémiologiques moléculaire [42].

Le diagnostic de cryptosporidiose chez nos patients a été posé après enrichissement des selles et coloration de Ziehl-Neelsen modifié. En plus du *Cryptosporium* l'examen direct a permis d'isoler chez 2 patientes des oocystes d'*Isospora belli*. Dans d'autres études similaires [13,16,23,24]. L'identification des oocystes de *Cryptosporium* a été faite par la même technique après concentration des selles tandis que la série du Mozambique a complété par l'identification des espèces par étude moléculaire. Le résultat de l'identification de cette même

étude était le suivant : 3 cas de *C. parvum*, 3 cas de *C. hominis* et 1 cas d'association *C. parvum* et *hominis*. [14]

Méthodes		Exemples	Description	Avantages	Désavantages
Microscopiques	Colorations	Ziehl-Neelsen,	Oocystes apparaissant en rouge sur un fond vert ou bleu et mesurant entre 5 et 6 µm de diamètre Oocystes pouvant présenter une vacuole apparaissant comme une zone plus claire	<ul style="list-style-type: none"> • Largement disponible • Rapide • Spécifique • Faible coût 	<ul style="list-style-type: none"> • Faible sensibilité • Nécessite d'effectuer la lecture au moins à l'objectif x40 • Nécessite des techniciens qualifiés pour l'observation
		Auramine-phénol	Parasites apparaissant jaune verdâtre brillant sur un fond foncé	<ul style="list-style-type: none"> • Rapide • Spécifique • Sensible • Permet la différenciation entre les oocystes pleins et vides 	<ul style="list-style-type: none"> • Coûteux • Nécessite un microscope à fluorescence • Requier l'utilisation de produits toxiques
		Heine	Oocystes apparaissant très réfringents, non colorés, avec un point sombre au centre, sur un fond rouge	<ul style="list-style-type: none"> • Sensible 	<ul style="list-style-type: none"> • Nécessite un microscope à contraste de phase • Réfringence ne durant qu'une quinzaine de minutes.
Immunologique	Identification du parasite	Immuno-fluorescence	Permet l'identification des oocystes par un anticorps monoclonal couplé à un fluorochrome Oocystes fluorescents en	<ul style="list-style-type: none"> • Bonne sensibilité • Bonne spécificité • Examen rapide à faible grossissement • Intéressant pour le diagnostic des pauci- 	<ul style="list-style-type: none"> • Coûteux • Nécessite un microscope à fluorescence • Relativement long

Tableau 4: Méthodes de détection de *Cryptosporidium* [6]

F. Infections opportunistes associées :

Le SIDA est un ensemble de manifestations infectieuses et/ou tumorales, secondaires à une immunodépression cellulaire profonde, elle-même en rapport avec l'atteinte des lymphocytes T auxiliaires par un rétrovirus (le virus de l'immunodéficience humaine ou VIH). La majorité des manifestations infectieuses opportunistes, dont l'apparition définit le stade SIDA, apparaissent lorsque les lymphocytes CD4 sont inférieurs à 200 éléments/mm³ [43].

La Cryptosporidiose intestinale chronique (plus d'un mois) fait partie des parasitoses digestives opportunistes, dont la prévalence est estimée à 4%, avec d'autres coccidioses (isosporose, cyclosporose) et les microsporidioses. Ce sont des infections classant le stade SIDA [16,35].

Selon le stade d'immunodépression, d'autres parasitoses digestives opportunistes peuvent être associées à la cryptosporidiose. En effet, si l'infection à cryptosporidium peut survenir à partir d'un taux de CD4 de 150 /mm³, l'infection à *Isospora belli* nécessite un taux de moins de 100/mm³ tandis que l'infection par *Enterocytozoon bienewisi* responsable de la microsporidiose ne survient que si le taux CD4 est inférieur à 50 /mm³ [44].

En dépit de leur possible transmission simultanée, les cas de co-infection cryptosporidiose et isosporose sont rarement décrits dans la littérature. En effet, plusieurs études rapportent le monoparasitisme de chacun des deux coccidies ainsi que la persistance et l'aggravation de la diarrhée en cas de leur association. Dans notre série, 2 cas de coinfection ont été rapportés ce qui concorde avec d'autres auteurs [14,23]. Cependant 2 autres études maghrébines ne rapportent qu'un seul cas ce qui rejoint le caractère occasionnel de cette association [16,45].

Même si aucun cas n'a été noté dans notre étude, l'association à la microsporidiose reste plus fréquente comme rapportée par L.Badaoui et al avec 13 cas ainsi que R.Abdelmalek et al qui rapporte un cas de co-infection microsporidiose-cryptosporidiose chez un nouveau-né infecté par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) [16,46].

L'immunodépression profonde favorise la survenue de plusieurs affections opportunistes extradiigestives responsables d'une importante mortalité [44]. Les plus retrouvées sont les candidoses dominées par les candidoses oropharyngées qui surviennent dès que les CD4 diminuent au-dessous de 300/mm³, et se présente sous deux formes principales, atrophique ou

pseudomembraneuse. La candidose œsophagienne, le plus souvent symptomatique, survient à un stade plus avancé de la maladie ($CD4 < 100/mm^3$) [47]. Une association de candidose digestive à la cryptosporidiose a été retrouvée chez 5 de nos patients ce qui concorde avec la série béninoise ayant recensé 4 cas [48].

La tuberculose est l'infection opportuniste pulmonaire la plus retrouvée chez les sujets jeunes de 30 à 39 ans infectés par le VIH, caractérisée par des formes graves associées à des localisations extra pulmonaires. Elle peut se réactiver au début de la dépression immunitaire dès que le taux de CD4 passe au-dessous de 400 cellules/mm³ ou au stade de Sida-maladie [49].

Par conséquent, sa survenue à un stade relativement précoce, précède les autres infections opportunistes (pneumocystose, cryptococcose, toxoplasmose) [3].

Dans notre série, 3 cas d'association cryptosporidiose et tuberculose ont été notés. Dans la série béninoise 6 associations ont été retrouvées [48].

A la différence de notre série qui n'a rapporté aucun cas de pneumocystose pulmonaire, 2 cas ont été notés dans une série tunisienne [45].

En ce qui concerne, les infections opportunistes cérébrales, toute altération de conscience, un syndrome méningé ou même une confusion ou un changement de comportement chez un patient VIH positif nécessitent une admission aux urgences avec réalisation d'une TDM cérébrale et d'une ponction lombaire. La ponction lombaire (PL) pour l'analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) est une pierre angulaire de diagnostic chez les patients atteints du VIH avec symptomatologie neurologique. Un examen mycologique du LCR pose le diagnostic de méningite à *Cryptococcus neoformans*, une levure encapsulée omniprésente dans l'environnement, et généralement contractée par inhalation de spores. Dans notre série, 2 cas de cryptococcose neuroméningée associée à la cryptosporidiose ont été signalés. Ce qui concorde avec une étude du CHU Ibn Rochd de Casablanca [50] ayant retrouvé 3 cas ainsi que la série tunisienne qui a noté cette association dans 1 seul cas [45].

En cas de lésion cérébrale focale à la TDM avec un taux de $CD4 < 200$ cellules/mm³, la cause la plus fréquente est la toxoplasmose cérébrale à *Toxoplasma gondii*. Protozoaire intracellulaire obligatoire, il provoque généralement une infection initiale asymptomatique chez les hôtes immunocompétents, mais la réactivation de l'immunodéficience conduit à la formation d'abcès de toxoplasme. Ces derniers apparaissent généralement sous la forme de multiples lésions

prenant le contraste en anneau, sur l'imagerie cérébrale souvent associées à un œdème cérébral et à un effet de masse. Dans notre série, la toxoplasmose cérébrale a été notée chez un seul patient, de même que dans l'étude béninoise [48].

Par ailleurs, lorsque le nombre de CD4 est < 50 cellules/mm³, il existe un risque de réactivation du cytomégalovirus (CMV) à l'origine d'atteintes diverses à type de rétinite à CMV, d'œsophagite ou de colite ou aussi d'encéphalite à CMV. De plus, chez les patients atteints de SIDA, les cholangites sclérosantes secondaires sont le plus souvent mais non constamment rapportés aux infections opportunistes à Cytomégalovirus ou *Cryptosporidium parvum* isolément ou en association [24].

En effet, un stade avancé d'immunodépression cellulaire spécifique permet la réactivation du Cytomégalovirus à partir des cellules mononucléées sanguines. C'est ainsi que dans 80% des cas, le nombre des lymphocytes T CD4 est voisin de 25/mm³, étant donné que c'est les patients en situation d'échec thérapeutique qui sont les plus exposés au CMV [51].

Les infections opportunistes virales en association avec la cryptosporidiose ont été observées chez trois de nos patients et sont représentées par 2 cas de CMV ce qui est aussi le cas de la série française [24] ainsi qu'un cas d'hépatite B.

G. Statut immunitaire :

Il existe d'importantes différences dans les manifestations cliniques entre les individus infectés, même les patients ayant un très faible nombre de CD4+ peuvent ne présenter qu'une diarrhée passagère [52].

En général, un nombre de lymphocytes T CD4+ < 200 /mm³ expose le patient à un risque d'infection prolongée, et un taux < 100 /mm³ peut entraîner une diarrhée encore plus grave engageant le pronostic vital [36,53]. En effet, l'infection à *Cryptosporidium* augmente les taux de mortalité chez les patients atteints du SIDA lorsque l'on compare des patients infectés et non infectés ayant le même faible taux de CD4+ [54].

Dans une étude britannique [55], les patients VIH/SIDA positifs pour *Cryptosporidium* ont été divisés en ceux présentant une infection transitoire (28,7 %), une infection chronique (59,7 %),

une infection fulminante avec un volume quotidien de selles supérieur à 2 litres (7,8 %) et les patients asymptomatiques (3,9 %). Les patients de la catégorie fulminante avaient tous un compte de CD4+ de 50/mm³ avec un temps de survie le plus court.

En l'absence de toute thérapie universellement efficace pour la cryptosporidiose, les patients atteints du VIH/sida ont montré une nette amélioration de leurs symptômes lorsqu'un traitement antirétroviral a été utilisé pour augmenter leur compte de CD4+ [56]. L'amélioration symptomatique chez les patients semble être davantage fonction de l'amélioration du nombre de lymphocytes T CD4 que d'une diminution de la charge virale.

La moyenne des CD4 chez nos patients était de 73 éléments/mm³, ce qui concorde avec celle de la série casablancaise (62 éléments/mm³) [16] mais reste inférieure au taux moyen des CD4 de des séries française (111 éléments/mm³) [24] et iranienne (215 éléments/mm³) [15].

En ce qui concerne les intervalles des lymphocytes CD4, dans notre série les taux ne dépassaient pas 200 éléments/mm³, tandis que chez 5 patients les CD4 étaient au-dessous de 50 /mm³. Ces taux restent bas par rapport à d'autres études où le taux de CD4 dépassait 200 éléments/mm³ dans 22% et 27% respectivement pour la série iranienne [15] et Ethiopienne [23].

En effet, le retard diagnostique dans notre pays à l'origine d'un dépistage à un stade avancé de la maladie pourrait expliquer cette baisse d'immunité. En effet, les patients de notre étude ont tous été diagnostiqués au stade C SIDA maladie (infection à VIH découverte au cours de l'hospitalisation) ce qui concorde avec la série casablancaise [16]. Cependant dans la série française presque la moitié des patients était en stade A et B du SIDA maladie [24]. Parfois, une résistance virale au traitement conduit à la persistance d'un taux bas de CD4.

Ces études suggèrent une forte association entre la cryptosporidiose et le nombre de lymphocytes T CD4+ et ainsi une prévalence plus élevée de la maladie chez les patients avec un nombre de lymphocytes T CD4+ < 200 cellules/μL. De ce fait, l'immunité cellulaire joue un rôle considérable dans le contrôle de la cryptosporidiose, en premier lieu les cellules CD4 puis les interférons et les interleukines [43].

Dans une expérience de Bonin et Dubermetz, l'administration in vivo d'interféron gamma à des rats immunodéprimés réduit l'intensité de l'infection par *Cryptosporidium* [57].

H. Traitement

Les signes et les symptômes de la cryptosporidiose disparaissent généralement en moins de 2 semaines chez l'individu immunocompétent et un traitement symptomatique est le plus souvent suffisant. Administré si besoin par voie intraveineuse, ce traitement repose sur la restauration de l'équilibre hydroélectrolytique et nutritionnel et aussi sur l'administration d'octréotide (par voie parentérale), un analogue de la somatostatine, utilisé pour réduire le volume et la fréquence des selles mais sans aucune action sur le parasite [58].

En revanche, devant l'existence de signes de gravité ou en cas d'immunodépression, une prescription médicamenteuse spécifique est de mise. Des essais cliniques ont montré le nombre réduit de molécules actuellement disponibles. [59]

En effet, à l'heure actuelle, il n'existe pas de thérapie totalement efficace pour éliminer *Cryptosporidium* autre qu'un système immunitaire sain et intact. Aux États-Unis, l'agent antiprotozoaire nitazoxanide a été approuvé par le US Federal Drug (FDA) pour une utilisation dans la cryptosporidiose, mais uniquement chez les enfants immunocompétents et les patients adultes [60]. En effet, chez les groupes à haut risque, y compris les enfants souffrant de malnutrition et les patients atteints du SIDA son efficacité est limitée. [61]

En Égypte une étude randomisée en double aveugle et contrôlée par placebo a montré qu'un traitement de 3 jours de nitazoxanide est efficace dans le traitement de la diarrhée et de l'entérite causées par *Cryptosporidium* chez les patients non immunodéprimés âgés de 12 ans et plus [62].

Dans la population de patients immunodéprimés, un large éventail d'agents thérapeutiques a été utilisé pour traiter la cryptosporidiose adulte [5,60]. Un certain succès a été rapporté lors de l'utilisation de certaines molécules comme la sinefungine, l'azithromycine, la paromomycine, la roxithromycine et le nitazoxanide. En dépit de la réduction de la fréquence et le volume des selles ainsi que l'excrétion de parasites lors de l'utilisation de ces molécules, le parasite n'a pas été complètement éradiqué et l'amélioration clinique n'a pas été la norme [5]. De plus il a été noté, qu'une combinaison de nitazoxanide et traitement antirétroviral hautement actif (HAART) incluant des inhibiteurs de protéases restaure les défenses immunitaires interfère aussi dans le développement du parasite [63].

De ce fait, les patients séropositifs qui semblent avoir éliminés leur infection à *Cryptosporidium* à la suite d'un traitement antirétroviral peuvent rechuter si leur compte de CD4+ diminue, ce qui suggère que le parasite n'a jamais été complètement éliminé. La reconstitution immunitaire semble essentielle pour une résolution complète de l'infection chez ces patients [56].

Ainsi, cette importante infection parasitaire nécessite une amélioration thérapeutique. Cependant, *Cryptosporidium* pose des défis uniques pour le développement de médicaments. Les parasites apparentés comme le *Plasmodium*, *Toxoplasma* et *Cyclospora* ont des organites dérivés d'endosymbiontes procaryotes (l'apicoplaste et la mitochondrie) [54,55]. Ces organites sont ciblés par un certain nombre de médicaments importants. Au contraire, *Cryptosporidium*, après en avoir acquis certains gènes, élimine ces organites. Deuxièmement, son emplacement chez l'hôte est unique. En effet, il est intracellulaire dans la cellule épithéliale intestinale de l'hôte, mais séparé du cytoplasme de la cellule hôte et peut également infecter les voies biliaires [61,64]. Ces localisations créent des défis pour la pharmacocinétique des médicaments. Enfin, des preuves récentes suggèrent que les pompes à efflux éliminent certains composés qui pourraient autrement être des médicaments efficaces [61,65].

De nouvelles cibles ont été découvertes afin de développer plus de traitements pour la cryptosporidiose (Tableau). On cite comme exemple les kinases dépendantes du calcium (CDPK) qui jouent un rôle important dans la motilité, l'invasion et la sortie du parasite. Ainsi, les CDPK parasitaires sont une cible potentielle importante pour le développement de médicaments anti-*Cryptosporidium*. A côté des kinases, d'autres cibles ont été découvertes (Tableau 3) : enzymes entrant dans la synthèse des acides nucléiques ou des protéines parasitaires, protéases ... [61].

Des composés ont été conçus pour inhiber ces nouvelles cibles. Certains de ces composés ont progressé grâce à de grandes études animales. Cependant, la toxicité de ces molécules a entravé leur progression en limitant les essais sur l'homme. Deux composés actifs dans les études précliniques, la miltéfosine et la clofazimine, n'ont pas été efficaces dans les expériences humaines [61].

En effet une étude a testé une grande variété de combinaisons et de dosages d'inhibiteurs de protéase et/ou d'analogues nucléosidiques, ainsi que de la paromomycine, de la spiramycine ou de l'azithromycine, qui ont été examinés chez 40 patients séropositifs atteints de cryptosporidiose chronique. Un traitement combiné prolongé a permis à la plupart des patients de guérir et seules deux rechutes ont été notées. Les médicaments antiviraux utilisés étaient l'azidothymidine, la zalcitabine, la stavudine, l'indinavir, le ritonavir, le saquinavir et la lamivudine. [56]

Dans notre série, en plus du traitement antirétroviral qui contribue au recouvrement des défenses immunitaires seul un traitement symptomatique a été prescrit.

Dans la série du CHU Ibn Rochd [16], 90% des patients ont reçu le HARRT (Highly Active Antiretroviral therapy) associé au traitement symptomatique et antiparasitaire spécifique ce qui a permis de maîtriser la diarrhée.

Par ailleurs, dans une étude française, l'efficacité du traitement symptomatique fut inconstante et transitoire tandis que la spiramycine était le traitement spécifique le plus prescrit (34 patients) mais sans amélioration dans 67,7% des cas. Néanmoins la paramomycine employée dans 17 cas, a réduit de façon durable le nombre quotidien de selles à 3 fois par jour pour 7 patients soit 41,2%, avec persistance de l'excrétion de oocystes dans les selles [24].

Ce n'est qu'au début de la diarrhée que les mesures symptomatiques font effet. Avec l'évolution de la maladie, l'aggravation est inévitable avec le manque de traitement spécifiques efficace de la cryptosporidiose. La découverte de nouvelles cibles thérapeutiques dans le parasite augmente les chances de développement d'une molécule d'une grande efficacité tout en éliminant l'excrétion des oocystes dans les selles.

En ce qui concerne les cas de co-infection cryptosporidiose et isosporose en plus du traitement symptomatique qui a été envisagé en association avec le traitement antirétroviral, nous avons administré un traitement curatif par cotrimoxazole (sulfaméthoxazole-triméthoprime) à raison de 2 comprimés 3 fois/jour pendant 10 jours.

<i>Pathway/Target type</i>	Target
<i>Kinases</i>	Calcium-dependent protein kinase 1 (CDPK1) Plasmodium lipid kinase (PI (4)K) Family of putative kinases
<i>Nucleic acid synthesis and processing</i>	Nucleoside diphosphate kinase (NDK) Inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) Thymidylate-synthetase Dihydrofolate Reductase (TS-DHFR) Cleavage and Polyadenylation Specificity Factor 3 (CPSF3)
<i>Protein synthesis</i>	tRNA synthetases
<i>Proteases</i>	Subtilisin-like serine protease 1 (CpSUB1) Cryptopain
<i>Lipid metabolism</i>	Long-chain fatty acyl-coenzyme A synthetase (LC-ACS) HMG-CoA reductase Phospholipid metabolism
<i>Glycolysis</i>	Glucose-6-phosphate isomerase
<i>Unknown pathway</i>	Phenotypic screening

Tableau 3 : Nouvelles cibles pour la chimiothérapie [61]

I. Evolution :

L'évolution de la cryptosporidiose dépend du taux de CD4 qui détermine pour chaque patient séropositif son statut immunitaire et aussi sa réponse au traitement. Dans notre étude, l'évolution a été défavorable chez 4 patients qui sont décédés et favorable dans 8 cas tandis que le reste des patients étaient perdus de vue. Nos résultats concordent avec la série casablancaise où 19% des patients sont décédés mais pas avec la série française dont le taux de décès (82% des patients) était élevé. Cependant, La cryptosporidiose fut responsable du décès que chez 22 patients soit 17,3 % avec d'autres infections opportunistes.

Une première revue systématique des séquelles à long terme de la cryptosporidiose a été menée à partir de 23 études qualitatives et quantitatives sur le *Cryptosporidium* [66]. Plusieurs mois voire des années après une infection à *Cryptosporidium* plusieurs symptômes ont été rapportés par les patients dont les plus rapportées étaient la diarrhée et les douleurs abdominales dans 25 % des cas suivis par les nausées et l'asthénie dans 24 % des cas puis en dernier les céphalées chez 21% des patients avec séquelles à long terme [66]. Les études notent aussi que généralement *Cryptosporidium hominis* était à l'origine de plus de séquelles tandis que l'amaigrissement avec la présence de sang dans les selles survenaient après une infection par *Cryptosporidium parvum* [66]. Ces constatations étaient confirmées par des études cas-témoins qui ont révélé que les individus étaient 6 fois plus susceptibles de déclarer une diarrhée chronique ainsi qu'une perte de poids jusqu'à 28 mois après une infection à *Cryptosporidium* par rapport aux témoins.

	<i>Notre Série</i>	<i>IBN ROCHD CASABLANCA [16]</i>	<i>Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière PARIS [24]</i>	<i>Ethiopie [23]</i>	<i>Mozambique [14]</i>
<i>Effectifs des Demandes exploitées</i>	146	70	168	268	108
<i>Cas positifs de Cryptosporidiose</i>	16	28	145	92	9
<i>Pourcentage</i>	11%	40%	86,3%	34,3	8,3
<i>Age moyen</i>	43	37	36,51	34	38
<i>Hommes</i>	6	12	135	39	3
<i>Femmes</i>	10	16	10	53	6
<i>Patients avec diarrhée</i>	16	28	121	78	9
<i>Patients avec fièvre</i>	5	7	371	NP	NP
<i>Patients avec amaigrissement</i>	10	28	120	43	NP
<i>Taux moyen de CD4</i>	73	62	111	NP	NP
<i>Nombre de co-infection e Cryptosporidiose + Isosporose</i>	2	1	NP	2	2
<i>Patient décédés_</i>	6	6	119	NP	NP

Tableau 5: Différentes données concernant les patients atteints de cryptosporidiose dans quelques séries étudiées.

Conclusion

V. Conclusion

En dépit de la faible prévalence de la Cryptosporidiose dans notre pays comparé à d'autres parasitoses intestinales, son importance ne doit guère être imputée vue le terrain fragile des patients infectés.

Ce travail a mis en revue les caractéristiques épidémiologiques et biologiques des cryptosporidioses et a souligné l'absence de traitements spécifiques pleinement efficace ainsi que la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pouvant augmenter les chances de découverte d'une nouvelle molécule à visée curative.

En effet, dans l'attente d'une molécule pleinement efficace les mesures de prévention et d'hygiène, particulièrement chez les patients à risque, restent le meilleur moyen de lutter contre cette parasitose. C'est ainsi qu'une sensibilisation accrue aux impacts à long terme pour les personnes et aussi les animaux est nécessaire ainsi que la collaboration entre différents secteurs pour s'attaquer à cette maladie mondiale. De ce fait, il est important de réduire la viabilité des oocystes de *Cryptosporidium* et ainsi la contamination de l'environnement par le traitement du bétail et les déchets fécaux humains quitte à développer un vaccin chez le réservoir de *C. parvum* (veaux) pour aider à prévenir la maladie et l'excrétion d'oocystes [3].

Résumés :

Résumé :

Titre : LA CRYPTOSPORIDIÖSE : ANALYSE DES CAS DE L'HOPITAL IBN SINA DE RABAT SUR UNE PERIODE DE 28 ANS (1994-2021)

Mots-clés : Parasitose, Cryptosporidium, Immunodépression, SIDA

Auteur : LAZREQ Fakhita

La cryptosporidiose est une parasitose intestinale à *Cryptosporidium*, responsable de diarrhée spontanément résolutive chez les individus immunocompétents, mais qui reste grave et chronique chez les sujets immunodéprimés, surtout au stade SIDA. L'infection se produit par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par le stade oocyste du parasite.

Le but de notre travail était de déterminer le profil épidémiologique et biologique des cas de cryptosporidiose recensées au Laboratoire Central de Parasitologie-Mycologie de l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée entre janvier 1994 et décembre 2021, ayant colligé l'ensemble des patients chez lesquels une recherche de *Cryptosporidium* a été demandée. Le diagnostic a reposé sur l'identification des oocystes de *Cryptosporidium* après enrichissement des selles et coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Sur 146 patients chez qui la cryptosporidiose a été recherchée, nous avons enregistré 16 cas positifs soit une prévalence de 11%. Parmi ces derniers 2 cas de co-infection avec l'isosporose ont été retrouvés. Il s'agissait de patients atteints de VIH au stade SIDA dont le diagnostic a été posé lors de l'hospitalisation en Médecine Interne. L'âge moyen était de 43 ans avec un sex ratio H/F de 0,6. La symptomatologie clinique était dominée par des diarrhées chroniques abondantes et liquidiennes accompagnées d'une altération de l'état général. Les infections opportunistes les plus retrouvées étaient la candidose et la tuberculose pulmonaire. Le taux de CD4 se situait entre 10 et 158 élément/mm³ avec une moyenne de 73 élément/mm³. L'évolution a été marquée par le décès des 6 patients dont les 2 cas de co-infection Cryptosporidiose-isosporose.

Ce travail a mis en revue les caractéristiques épidémiologiques et biologiques des cryptosporidioses et a souligné l'absence de traitements spécifiques pleinement efficace ainsi que la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques pouvant augmenter les chances de découverte d'une nouvelle molécule à visée curative.

Abstract :

Title: CRYPTOSPORIDIOSIS: ANALYSIS OF CASES FROM IBN SINA HOSPITAL IN RABAT OVER A PERIOD OF 28 YEARS (1994-2021)

Keywords: Parasitosis, Cryptosporidium, Immunodepression, AIDS

Author: LAZREQ Fakhita

Cryptosporidiosis is an intestinal parasitosis caused by *Cryptosporidium*, responsible for spontaneously resolving diarrhea in immunocompetent individuals, but which remains serious and chronic in immunocompromised subjects, especially at the AIDS stage. Infection occurs by ingestion of water or food contaminated with the oocyst stage of the parasite.

The aim of our work was to determine the epidemiological and biological profile of the cases of cryptosporidiosis identified at the Central Laboratory of Parasitology-Mycolology of the Ibn Sina hospital in Rabat.

This is a retrospective study carried out between January 1994 and December 2021, having collected all the patients in whom a test for cryptosporidium was requested. Diagnosis was based on identification of *Cryptosporidium* oocysts after stool enrichment and modified Ziehl-Neelsen staining.

Of 146 patients in whom cryptosporidiosis was sought, we recorded 16 positive cases, either a prevalence of 11%. Among the latter, 2 cases of co-infection with isosporosis were found. These were patients with HIV at the AIDS stage whose diagnosis was made during hospitalization in Internal Medicine. The average age was 43 years with a sex ratio M/F of 0.6. The clinical symptomatology was dominated by abundant and liquid chronic diarrhea accompanied by a deterioration of the general state. The most frequent opportunistic infections were candidiasis and pulmonary tuberculosis. The CD4 count was between 10 and 158 elements/mm³ with an average of 73 elements/mm³. The evolution was marked by the death of 6 patients including the 2 cases of Cryptosporidiosis-isosporosis co-infection.

This work reviewed the epidemiological and biological characteristics of cryptosporidiosis and highlighted the absence of fully effective specific treatments as well as the discovery of new therapeutic targets that could increase the chances of discovering a new molecule with curative intent.

ملخص:

العنوان: داء كريبتوسبريديوزيس: تحليل حالات مستشفى ابن سينا في الرباط على مدار 28 عامًا: 2021-1994

الكلمات الأساسية: طفيلي معوي، كريبتوسبورديديوسيس، فقدان المناعة

الكاتبة: الازرق فخيطة

داء كريبتوسبريديوزيس هو مرض طفيلي معوي تسببه طفيليات كريبتوسبريديوم، التي تسبب حالات الإسهال تلقائي التعافي لدى الأفراد ذوي المناعة الطبيعية، ولكنه يظل خطيرًا ومزمنًا لذا الأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة، خاصة في مرحلة الإيدز، تحدث العدوى عن طريق شرب الماء أو تناول الطعام الملوث ببويضات الطفيلي

كان الهدف من عملنا تحديد الملامح الوبائية والبيولوجية لحالات كريبتوسبريديوزيس التي تم كشفها في المختبر المركزي لعلم الطفيليات والفطريات بمستشفى ابن سينا بالرباط

تم إجراء هذه الدراسة بأثر رجعي بين يناير 1994 وديسمبر 2021، بعد أن جمع المرضى الذين طُلب منهم اختبار الكريبتوسبريديوم. اعتمد التشخيص على تحديد بيض كريبتوسبريديوم بعد تركيز البراز وتلوين زهيل نيلسين المعدل

من بين 146 مريضًا تم البحث عن داء كريبتوسبريديوزيس لديهم، سجلنا 16 حالة إيجابية، أي انتشار بنسبة 11%. من بين الحالات الأخيرة، تم العثور على حالتين من العدوى المشتركة مع ايزو سبورديديوزيس. كان هؤلاء مرضى بفيروس نقص المناعة البشرية في مرحلة الإيدز وتم تشخيصهم أثناء العلاج في المستشفى في الطب الباطني. كان متوسط العمر 43 عامًا، الأعراض السريرية تمثلت بالإسهال المزمن الوفير والسائل المصحوب بتدهور الحالة العامة. اما فيما يخص العدوى الانتهازية الأكثر شيوعا هي داء المبيضات والسل الرئوي. تراوح عدد اللمفاويات س.د4 بين 10 و 158 عنصرا في مم مكعب بمتوسط 73 عنصر في مم مكعب تميز التطور بوفاة 6 مرضى بما في ذلك حالتان من العدوى المشتركة مع ايزو سبورديديوزيس

استعرض هذا العمل الخصائص الوبائية والبيولوجية لداء كريبتوسبريديوزيس وسلط الضوء على عدم وجود علاجات محددة فعالة تماما بالإضافة إلى اكتشاف أهداف علاجية جديدة يمكن أن تزيد من فرص اكتشاف جزئي جديد بقصد علاجي

Références

Références :

- [1] Alleyne L, Fitzhenry R, Mergen KA, et al. Epidemiology of Cryptosporidiosis, New York City, New York, USA, 1995-2018. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(3):409-419. doi:10.3201/eid2603.190785.
- [2] «1Ahmadpour E, Safarpour H, Xiao L, Zarean M, Hatam-Nahavandi K, Barac A, Picot S, Rahimi MT, Rubino S, Mahami-Oskouei M, Spotin A, Nami S, Baghi HB. Cryptosporidiosis in HIV-positive patients and related risk factors: A systematic review and meta-analysis,» *Parasite.* 2020;27:27. doi: 10.1051/parasite/2020025. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32351207; PMCID: PMC7191976..
- [3] Innes EA, Chalmers RM, Wells B, Pawlowic MC. A One Health Approach to Tackle Cryptosporidiosis. *Trends Parasitol.* 2020 Mar;36(3):290-303. doi: 10.1016/j.pt.2019.12.016. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31983609; PMCID: PMC7106497..
- [4] Garry Meinke, Introduction: Cryptosporidium: From Molecules to Disease, Editor(s): RC Andrew Thompson, Anthony Armson, Una M. Ryan, Cryptosporidium, Elsevier, 2003, Pages XLI-XLV, ISBN 9780444513519,.
- [5] Leitch GJ, He Q. Cryptosporidiosis-an overview. *J Biomed Res.* 2012 Jan;25(1):1-16. doi: 10.1016/S1674-8301(11)60001-8. Epub 2012 Feb 21. PMID: 22685452; PMCID: PMC3368497..
- [6] Paoletti, A.. Données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à l'homme. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2002, 92 p..
- [7] empleton TJ, Lancto CA, Vigdorovich V, Liu C, London NR, Hadsall KZ, et al. The Cryptosporidium oocysts wall protein is a member of a multigene family and has a homolog in Toxoplasma. *Infect Immun* 2004;72:980-7..
- [8] CONTRERAS-PUENTES, Neyder et al . Intestinal coccidian: an overview epidemiologic worldwide and Colombia. *Infect.*, Bogotá , v. 24, n. 2, p. 112-125, June 2020 ..
- [9] Borowski H, Clode PL, Thompson RCA. Active invasion and/or encapsulation? A reappraisal of host-cell parasitism by Cryptosporidium. *Trends Parasitol* 2008; 24:509-16.
- [10] Sanderson SJ, Xia D, Prieto H, Yates J, Heiges M, Kissinger JC, et al. Determining the protein repertoire of Cryptosporidium parvum sporozoites. *Proteomics* 2008; 8:1398-414.
- [11] Arrowood MJ, Sterling CR, Healey MC. Immunofluorescent microscopical visualization of trails left by gliding Cryptosporidium parvum sporozoites. *J Parasitol.*
- [12] Carter BL, Chalmers RM, Davies AP. Health sequelae of human cryptosporidiosis in industrialised countries: a systematic review. *Parasit Vectors.* 2020 Sep 4;13(1):443. doi: 10.1186/s13071-020-04308-7. PMID: 32887663; PMCID: PMC7650228..
- [13] Vouking MZ, Enoka P, Tamo CV, Tadenfok CN. Prevalence of intestinal parasites among HIV patients at the Yaoundé Central Hospital, Cameroon. *Pan Afr Med J.* 2014;18:136. Published 2014 Jun 11. doi:10.11604/pamj.2014.18.136.3052.

- [14] Casmo V, Lebbad M, Maungate S, Lindh J. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* among adult patients with diarrhoea in Maputo, Mozambique. *Heliyon*. 2018 Sep 7;4(9):e00769. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00769..
- [15] Ghafari R, Rafiei A, Tavalla M, Moradi Choghakabodi P, Nashibi R, Rafiei R. Prevalence of *Cryptosporidium* species isolated from HIV/AIDS patients in southwest of Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2018 Feb;56:39-44..
- [16] «L. Badaoui, G. Dabo, H. Lamdini, M. Sodqi, L. Marih, A. Oulad Lahcen, R. Bensghir, A. Chakib, M. Soussi, K. Marhoum El Filali Parasitoses opportunistes digestives chez les adultes infectés par le VIH ;,» Aspects épidémiologiques.:Service des Maladies Infectieuses CHU Ibn Rochd, Casablanca Maroc. *Journal Marocain des Sciences Médicales* 2014, Tome XIX ; N°2..
- [17] «Denmark Stensvold CR, Nielsen SD, Badsberg J, Engberg J, Friis-møller N, Nielsen SS, et al. The prevalence and clinical significance of intestinal parasites in HIV-infected patients in Denmark in HIV-infected patients in Denmark. *Scand J Infect Dis ISSN*,» 2011;43:129–35..
- [18] Karaman U, Daldal N, Ozer A, Enginyurt O, Erturk O. Epidemiology of *Cyclospora* Species in Humans in Malatya Province in Turkey. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(7):e8661..
- [19] «Poland Bednarska M, Jankowska I, Pawelas A, Piwarczyńska K, Bajer A, Wolska Kuśnierz B, et al. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Blastocystis*, and other opportunistic infections in patients with primary and acquired immunodeficiency. *Parasitol Res.*,» 2018;117(9):2869–79..
- [20] « William Checkley, A Clinton White, Devan Jaganath, Michael J Arrowood, Rachel M Chalmers, Xian-Ming Chen, Ronald Fayer, Jeffrey K Griffiths, Richard L Guerrant, Lizbeth Hedstrom, Christopher D Huston, Karen L Kotloff, Gagandeep Kang, Jan R Mead, Mark M,» *William A Petri, Jeffrey W Priest, David S Roos, Boris Striepen, R C Andrew Thompson, Honorine D Ward, Wesley A Van Voorhis, Lihua Xiao, Guan Zhu, Eric R Houpt, A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics*, Vols. %1 sur %2 and vaccine targets for cryptosporidium, *The Lancet Infectious Diseases*, Volume 15, Issue 1, 2015, Pages 85-94, ISSN 1473-3099, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70772-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70772-8)..
- [21] S. Bellati, A. (Février, 2018). La cryptosporidiose infantile au CHU IBN ROCHD de Casablanca . Poster présenté dans le cadre du « congrès franco marocain de parasitologie et de mycologie », Rabat, Maroc.
- [22] «Naguib M. Massoud, Doaa E. Said, Ahmed R. El-Salamouny, Prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among symptomatic and asymptomatic immune-competent children less than five years of age in Alexandria, Egypt, *Alexandria Journal of Medicine*,» Vols. %1 sur %2 Volume 48, Issue 3, 2012, Pages 251-259, ISSN 2090-5068, <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2012.02.008>.
- [23] Girma, M., Teshome, W., Petros, B. et al. Cryptosporidiosis and Isosporiasis among HIV-positive individuals in south Ethiopia: a cross sectional study. *BMC Infect Dis* 14, 100 (2014). <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-100>.
- [24] «B. Voisin, A. Datry, J. Carriere, F. Goyet, O. Rogeaux, S. Biligui, F. Bricaire, M. Gentilini, M. Danis, Etude rétrospective de 145 cas de cryptosporidiose chez des patients infectés par le

VIH, Médecine et Maladies Infectieuses,,» Vols. %1 sur %2Volume 26, Issue 3,1996,Pages 316-321,ISSN 0399-077X,.

- [25] Certad G, Viscogliosi E, Chabé M, Cacciò SM. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends Parasitol* 2017 ; 33 : 561-76..
- [26] Sadia Benamrouz-Vanneste, Manasi Sawant, S Benamrouz, Magalie Chabé, Karine Guyot, et al.. La cryptosporidiose et son impact en santé publique. *Revue de biologie médicale, Orion*, 2020. (hal-02400544).
- [27] O'Hara SP, Small AJ, Gajdos GB, Badley AD, Chen XM, Larusso NF. HIV-1 Tat protein suppresses cholangiocyte toll-like receptor 4 expression and defense against *Cryptosporidium parvum*. *J Infect Dis* 2009;199:1185- 204.
- [28] Stephens J, Cosyns M, Jones M, Hayward A. Liver and bile duct pathology following *Cryptosporidium parvum* infection of immunodeficient mice. *Hepatology* 1999;30:27-35..
- [29] Teare JP, Daly CA, Rodgers C, Padley SP, Coker RJ, Main J, et al. Pancreas abnormalities and AIDS related sclerosing cholangitis. *Genitourin Med* 1997;73:271-3.
- [30] Baskerville A, Ramsay AD, Millward-Sadler GH, Cook RW, Cranage MP, Greenaway PJ. Chronic pancreatitis and biliary fibrosis associated with cryptosporidiosis in simian AIDS. *J Comp Pathol* 1991;105:415-21..
- [31] Sreter T, Varga I. Cryptosporidiosis in birds—A review. *Vet Parasitol* 2000;87:261-79.
- [32] Meynard JL, Meyohas MC, Binet D, Chouaid C, Frottiers J,. Pulmonary cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Infection* 1996;24:328-31.
- [33] Mor SM, Tumwine JK, Ndeezi G, Srinivasan MG, Kaddu-Mulindwa DH, Tzipori S, et al. Respiratory cryptosporidiosis in HIV-seronegative children in Uganda: potential for respiratory transmission. *Clin Infect Dis* 2010;50:1366-72..
- [34] Brantley RK, Williams KR, Silva TM, Siston M, Thielman NM, Ward H, et al. AIDS-associated diarrhea and wasting in Northeast Brazil is associated with subtherapeutic levels of antiretroviral medication and with both bovine and human subtypes, «of *Cryptosporidium parvum*. *Braz J Infect Dis* 2003;7:16-22.».
- [35] «A.Daryani, M.Sharif , M.Meigouni ,prevalance of intestinal parasites and profile of CD4+ counts in HIV+/AIDS people in north of Iran.*Pach J Biol Sci.* 2009; 1277-81., 18:».
- [36] «Assefa B, Erko B, Medhin G, Assefa Z, Shimelis T. Intestinal parasitic infections in relation to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count. *BMC Infect Dis* 2009;9:155».
- [37] Hunter PR, Nichols G. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2002 ; 15 : 145-54..
- [38] Fayer R., Morgan V., Upton S.J. Epidemiology of cryptosporidion: transmission, detection and identification; 2000. - *Int J Parasitol*, 30, 1305-1322.

- [39] Frederick OA, Christopher EO, Richard O, Theresa D, Eucaris TL, Lihua X. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. In HIV-infected persons in benin city , Edo state , Nigeria.FJHS.2010;(3):85-9..
- [40] Arrowood MJ. Diagnosis. In: Fayer R, Editor. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. 1997:43-64..
- [41] Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, Causer L, Wilkins PP. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol* 2003;41:623-6..
- [42] Jothikumar N, da Silva AJ, Moura I, Qvarnstrom Y, Hill VR. Detection and differentiation of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* by dual TaqMan assays. *J Med Microbiol* 2008;57:1099-105..
- [43] «FLANIGAN T., WHALEN C., TURNER J., SOAVE R., TOERNER J., HAVLIR D., KOTLER D. *Cryptosporidium* and CD4 counts. *Ann Intern Med*.1992; 285:22-3».
- [44] «J. Timsit, M. Janier, Infection par les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) – Syndrome d'immunodéficience acquise (sida), Dermatologie et Infections Sexuellement Transmissibles (Sixième Édition), Elsevier Masson, 2017, Pages 176-183, ISBN 978229474».
- [45] «F. MAKNI, F. CHEIKROUHOU1 et A. AYADI PARASIToses ET IMMUNODEPRESSION Laboratoire de Parasitologie Mycologie ; Faculté de Médecine de Sfax – TUNISIE. *Archs.Inst .Pasteur Tunis*, 2000.».
- [46] «R. Abdelmalek, S. Anane, N. Chabchoub, R. Essid, K. Aoun, T. Ben Chaabéne, A. Bouratbine, Co-infection par des microsporidies et des cryptosporidies chez un nouveau-né infecté par le VIH, *Archives de Pédiatrie*, Volume 18, Issue 5, 2011, Pages 562-564, IS».
- [47] «Olive Nicole, N.-M. ., Ebogo, M. ., Etoundi, T. ., Charles , B. ., & Jaqueline, Z. M. . (2021). Candidose Buccale chez les Personnes Vivant avec le VIH à l'Hôpital Central de Yaoundé : Prévalence et Formes Cliniques. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 22(12). R».
- [48] «F.LOKO, H. YEDOMON, I. ZOHOUN, M. AVOLONTO, C. SOGBOHOSSOU. *Journal des sciences* Vol. 8, N° 2 (2008) 17 – 20:».
- [49] I. EL KHACHINE, *COINFECTION TUBERCULOSE/VIH (A PROPOS DE 30 CAS)*., Rabat: Faculté de médecine et de pharmacie, 2019.
- [50] *I. Dollo, et al, Étude rétrospective de la cryptococcose neuroméningée chez les patients infectés par le VIH dans le service des maladies infectieuses du CHU de Casablanca, Maroc, Journal de Mycologie Médicale, Volume 26, Issue 4, 2016, Pages 331-336.*
- [51] «Véronique Veuillez, Laurent Aaron, Jean-Paul Viard. Infection à CMV au cours du sida. *Médecine thérapeutique*. 2001;7(8):598-604.».
- [52] «Blanshard C, Jackson AM, Shanson DC, Francis N, Gazzard BG. Cryptosporidiosis in HIV-seropositive patients. *Q J Med* 1992;85:813-23».

- [53] «Manabe YC, Clark DP, Moore RD, Lumadue JA, Dahlman HR, Belitsos PC, et al Cryptosporidiosis in patients with AIDS: correlates of disease and survival. *Clin Infect Dis* 1998;27:536-42.».
- [54] «Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen XM, et al. A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. *Lancet Infect Dis* 2015 Jan;15(1):85-94.».
- [55] «Abrahamsen MS, Templeton TJ, Enomoto S, Abrahante JE, Zhu G, Lancto CA, et al. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science* 2004 Apr 16;304(5669):441-5.».
- [56] «Maggi P, Larocca AM, Quarto M, Serio G, Brandonisio O, Angarano G, et al. Effect of antiretroviral therapy on cryptosporidiosis and microsporidiosis in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;» 19:213-7.
- [57] «A. BONNIN, J.F. DUBERMETZ, P.CAMERLYNCK, Characterization and immunolocalization of an oocyst wall antigen of *Cryptosporidium parvum* (Protozoa: Apicomplexa). *Parasitology* 1991;103: 171-177.».
- [58] «Moroni M, Esposito R, Cemuschi M, Franzetti F, Carosi GP, Fiori GP. Treatment of AIDS-related refractory diarrhoea with octreotide. *Digestion* 1993;54 Suppl 1:30-2.».
- [59] «E Divoux, S Szajner, G Le Moal, N Venisse, J Faucher-Grassin, A Dupuis . Mise au point sur le traitement de la cryptosporidiose : intérêt du nitazoxanide. *Journal de Pharmacie Clinique*. 2006;25(4):197-205. doi:10.1684/jpc.2006.0022».
- [60] «Rossignol JF. *Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. *Exp Parasitol* 2010;124:45-53».
- [61] «Beilin Wang , Alejandro Castellanos-Gonzalez & A Clinton White Jr (2020): Novel drug targets for treatment of cryptosporidiosis, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, DOI: 10.1080/14728222.2020.1785432».
- [62] «Jean-François Rossignol, Samir M. Kabil, Yehia El-Gohary, Azza M. Younis, Effect of Nitazoxanide in Diarrhea and Enteritis Caused by *Cryptosporidium* Species, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, Volume 4, Issue 3,2006,Pages 320-324».
- [63] «Zardi EM, Picardi A, Afeltra A. Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised hosts. *Chemotherapy*,» 2005;51:193-6.
- [64] «Griffiths JK, Balakrishnan R, Widmer G, Tzipori S. Paromomycin and geneticin inhibit intracellular *Cryptosporidium parvum* without trafficking through the host cell cytoplasm: implications for drug delivery. *Infect Immun* 1998;66(8):3874-83».
- [65] «Arnold SLM, Choi R, Hulverson MA, Whitman GR, McCloskey MC, Dorr CS, et al. PGlycoprotein-Mediated Efflux Reduces the In Vivo Efficacy of a Therapeutic Targeting the Gastrointestinal Parasite *Cryptosporidium*. *J Infect Dis* 2019 Aug;220(7):1188-98».

- [66] Carter BL, Chalmers RM, Davies AP. Health sequelae of human cryptosporidiosis in industrialised countries: a systematic review. *Parasit Vectors*. 2020 Sep 4;13(1):443. doi: 10.1186/s13071-020-04308-7. PMID: 32887663; PMCID: PMC7650228..
- [67] WARD, H., CEVALLOS, A.M. .- *Cryptosporidium* : molecular basis of host-parasite interaction.- *Advances in Parasitology*, 1998, 40, 151-85..
- [68] Taxo TZIPORI, S., GRIFFITHS, J.K. .- Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*.- *Advances in Parasitology*, 1998, 40, 5-36..