

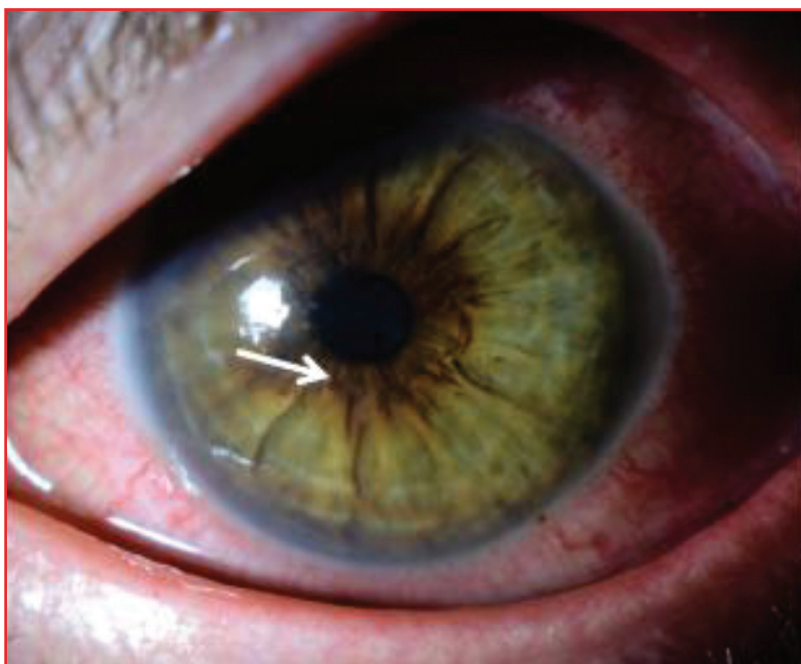


Quiz n°31

A.-S. DELEPLANCQUE¹, J. LEROY¹,
J.-M. DEWITTE¹, O. GAILLOT², P. LABALETTE³, B. SENDID¹

Monsieur P. âgé de 53 ans,

présente un œil gauche rouge et une légère baisse d'acuité visuelle en dépit de l'instillation de Chibroxine®, un collyre à base de norfloxacine. Des lésions cornéennes arrondies sont constatées par l'ophtalmologiste (photographie). Le patient ne porte pas de lentilles de contact.



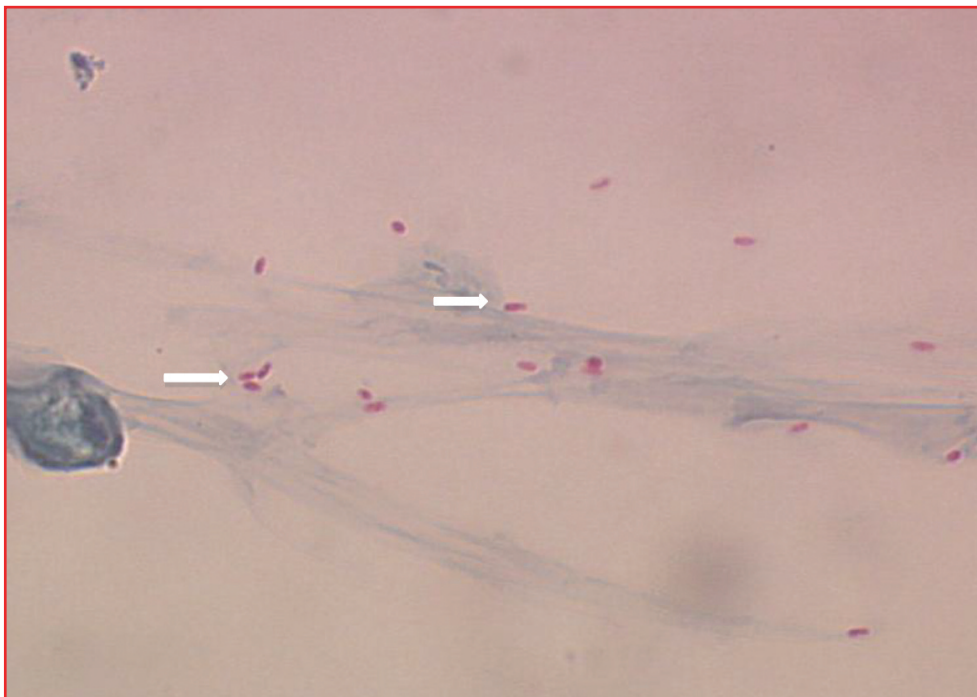
Monsieur P. est revenu, il y a 3 semaines, d'un voyage en Inde à la fin de la période de la mousson. Il a séjourné dans des hôtels dont les piscines, où il se baignait, ne présentaient pas des conditions optimales d'hygiène.

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHRU de Lille.

² Service de Bactériologie-Hygiène, Institut de Microbiologie, Centre de Pathologie-Biologie-Génétique, CHRU de Lille.

³ Service d'Ophtalmologie, CHRU de Lille.

Le produit de grattage cornéen, examiné au microscope après coloration par la méthode de Gram, ne révèle aucune bactérie ; sa culture tant sur des géloses au sang et chocolat PolyVitex que dans un bouillon cœur/cerveille demeure stérile après 10 jours d'incubation, à l'instar de celle visant à établir la présence de mycobactéries à croissance rapide et de Acanthamoeba sp. En revanche, l'examen microscopique du produit de grattage cornéen coloré par le trichrome modifié met en évidence les éléments exposés ci-dessous. L'infection oculaire a évolué favorablement après le grattage cornéen et le maintien du traitement local par la norfloxacine.



QUESTION :

Quel microorganisme suspectez-vous ?

Reponse : une microsporidie. La coloration de Weber (1), spécifique des microsporidies, repose sur l'utilisation du chromotrope 2R, un colorant qui pénètre à l'intérieur des spores. Elles apparaissent roses sur un fond bleu-vert (par suite de l'utilisation du Fast Green dans cette coloration), certaines avec un renforcement tinctorial équatorial (pouvant correspondre au filament ou tube polaire) et une vacuole postérieure excéntrée (2).

Commentaire

Autrefois classées parmi les protozoaires, les microsporidies sont des organismes eucaryotes aujourd'hui rangés dans le règne des Fungi. Cent soixante genres de microsporidies ont été individualisés (3), mais seulement huit ont été associés à des infections humaines : *Enterocytozoon*, *Encephalitozoon*, *Nosema*, *Pleistophora*, *Vittaforma*, *Trachipleistophora*, *Anncaliia* (anciennement *Brachiola*) et *Microsporidium*.

L'Homme se contamine à partir de spores, résistantes dans le milieu extérieur, par ingestion, inhalation ou inoculation directe (4). De 1 à 3 µm de diamètre, elles sont composées d'un filament polaire enroulé en spirale et accroché, d'une part à un disque d'ancrage apical et, d'autre part au sporoplasme (constitué du cytoplasme et du noyau). L'infection de la cellule cible se réalise par l'accrochage du filament polaire qui se détend comme un ressort lors de l'augmentation brutale de la pression intrasporale, et le sporoplasme (forme infectante) est directement inoculé dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure) (5).

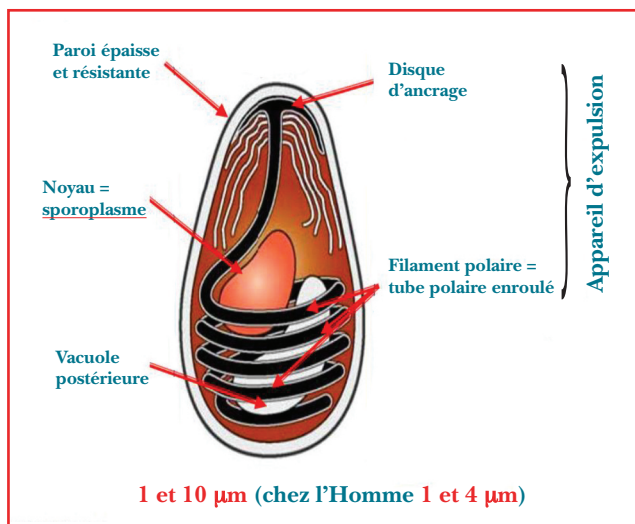


Fig. - Structure d'une spore de microsporidie.

Une première multiplication asexuée, la mérogonie, aboutit à la genèse de mérontes, puis lui succède une phase de sporogonie avec formation de spores qui seront éliminées avec les selles ou les urines (6). Les spores peuvent être mises en évidence par la coloration spécifique de Weber au trichrome modifié. Une alternative est l'emploi d'un fluorochrome (UVITEX 2B, Calcofluor White 2MR, Fungiquil A) qui se lie à la chitine pariétale (7).

Ces microorganismes ubiquitaires se développent dans le compartiment intracellulaire et sont des pathogènes opportunistes. Ils sont surtout isolés chez les sujets immunodéprimés (malades infectés par le virus de l'immunodéficience acquise (VIH), avant tout, mais aussi greffés traités par des immunosuppresseurs). Leur pouvoir pathogène chez les sujets immunocompétents reste méconnu (8). Ils sont le plus fréquemment responsables de diarrhée chronique, la dissémination de l'infection à partir du tractus digestif vers d'autres sites anatomiques étant possible, et les espèces de microsporidies incriminées dans les infections gastro-intestinales sont *Enterocytozoon bienewisi* (dans 90 % des cas chez les patients infectés par le VIH), *Encephalitozoon intestinalis* et *Encephalitozoon cuniculi* (9). En outre, les microsporidies peuvent causer une kératoconjonctivite/kératite dont les manifestations cliniques ne sont pas spécifiques (douleur et rougeur oculaires, photophobie, larmolement, vision floue), comme dans le cas présent, et *Encephalitozoon hellem*, *E. cuniculi*, *Vittaforma cornea*, *Nosema* sp, *Trachipleistophora anthropophthera*, *Anncaliia algerae* et *A. conneri*, *Microsporidium africanum* et *M. ceylonensis* sont à l'origine de ces infections oculaires (2). Les publications rapportant ces cas de microsporidiose font souvent état d'un diagnostic étiologique retardé de la kératoconjonctivite/ kératite, tant chez les sujets immunodéprimés qu'immunocompétents (10), et les patients sont traités par des corticoïdes et antibiotiques ou anti-viraux sans amélioration clinique, ce qui peut conduire à une kératoplastie (11).

Les microsporidies, qui ont émergé en pathologie humaine à l'occasion de l'épidémie de SIDA des années 80, sont aujourd'hui moins souvent isolées de sujets vivant dans les pays industrialisés en raison de la restauration de l'immunité par la trithérapie anti-VIH, alors que les microsporidioses persistent dans les zones tropicales et subtropicales. La prévalence de l'infection varie de 3 à 10 % selon les populations concernées et les moyens diagnostiques mis en œuvre (microscopie, PCR) (2, 7). Il semble admis que la saison des pluies en zone tropicale (Inde, Malaisie) augmente le risque de microsporidiose (4).

L'identification d'espèce de la microsporidie n'est établie fiablement qu'en séquençant le produit d'amplification du gène de la petite sous-unité ribosomale obtenu par PCR (3, 12). Dans le cas présent, *Vittaforma corneae* a été identifiée par cette approche moléculaire à partir du produit de grattage cornéen réalisé

chez Monsieur P. Nommée auparavant *Nosema corneum*, cette espèce a été retrouvée dans le stroma cornéen de rugbymen, la contamination suivant l'effraction oculaire étant apparemment d'origine tellurique (13). Une kératite causée par cette même microsporidie a été observée également chez des sujets non immunodéprimés à la suite d'un bain dans un spa (14) dont le système de recyclage de l'eau ne retenait pas les minuscules spores (3,3 x 1,4 µm).

Les traitements des microsporidies oculaires sont inconstants et de succès variables (15). L'albendazole est proposé pour le genre *Encephalitozoon* et la fumagilline (Flisint®) pour *Enterocytozoon* et *Vittaforma*

cornea (2, 4). Inhibiteur de la métalloprotéase méthionine aminopeptidase-2 (MetAP2), ce dernier agent bloque la réplication de la microsporidie. Les fluoroquinolones représentent une alternative thérapeutique (4).

En conclusion, la microsporidiose est certainement une infection sous-estimée actuellement car les microsporidies ne sont pas recherchées de manière systématique. Il faut y penser chez un voyageur développant une kératoconjonctivite d'étiologie indéterminée et mettre en œuvre des colorations spécifiques de ces agents infectieux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Weber R, Bryan RT, Owen RL, Wilcox CM, Gorelkin L, Visvesvara GS. Improved light-microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. The Enteric Opportunistic Infections Working Group. *N Engl J Med* 1992 ; **326** : 161-6.
- (2) Anane S, Attouchi H. Microsporidiosis: epidemiology, clinical data and therapy. *Gastroenterol Clin Biol* 2010 ; **34** : 450-64.
- (3) Bharathi MJ, Murugan N, Kumar GR, Ramakrishnan R, Anitha V, Ramesh S. *Vittaforma corneae* keratitis in southern India: role of a novel duplex PCR. *J Med Microbiol* 2013 ; **62** : 553-9. Erratum in *J Med Microbiol* 2014 ; **63** : 625.
- (4) Tham AC, Sanjay S. Clinical spectrum of microsporidial keratoconjunctivitis. *Clin Experiment Ophthalmol* 2012 ; **40** : 512-8.
- (5) Desportes-Livage I, Detry A. Infections à microsporidies, *Isozona* et *Sarcocystis*. *EMC, Mal Inf* 2005 ; 8-503-A-10.
- (6) Didier ES. Microsporidiosis: an emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Trop* 2005 ; **94** : 61-76.
- (7) Abu-Akkada SS, El Kerdany ED, Mady RF, Diab RG, Khedr GA, Ashmawy KI, et al. *Encephalitozoon cuniculi* infection among immunocompromised and immunocompetent humans in Egypt. *Iran J Parasitol* 2015 ; **10** : 56170.
- (8) Sak B, Kváč M, Kučénová Z, Květoňová D, Saková K. Latent microsporidial infection in immunocompetent individuals - a longitudinal study. *PLoS Negl Trop Dis* 2011 ; **5** : e11162.
- (9) Widmer G, Dilo J, Tumwine JK, Tzipori S, Akiyoshi DE. Frequent occurrence of mixed *Enterocytozoon bienewisi* infections in humans. *Appl Environ Microbiol* 2013 ; **79** : 5357-62.
- (10) Alkatan HM, Al-Zaaidi S, Athmanathan S. Microsporidial keratitis: literature review and report of 2 cases in a tertiary eye care center. *Saudi J Ophthalmol* 2012 ; **26** : 199-203.
- (11) Fan NW, Wu CC, Chen TL, Yu WK, Chen CP, Lee SM, et al. Microsporidial keratitis in patients with hot springs exposure. *J Clin Microbiol* 2011 ; **50** : 414-8.
- (12) Joseph J, Sharma S, Murthy SI, Krishna PV, Garg P, Nutheti R, et al. Microsporidial keratitis in india: 16S rRNA gene-based PCR assay for diagnosis and species identification of microsporidia in clinical samples. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006 ; **47** : 4468-73.
- (13) Tan J, Lee P, Lai Y, Hishamuddin P, Tay J, Tan AL, et al. Microsporidial keratoconjunctivitis after rugby tournament, Singapore. *Emerg Infect Dis* 2013 ; **19** : 1484-6.
- (14) Rauz S, Tuft S, Dart JK, Bonshek R, Luthert P, Curry A. Ultrastructural examination of two cases of stromal microsporidial keratitis. *J Med Microbiol* 2004 ; **53** : 775-81.
- (15) Fan NW, Lin PY, Chen TL, Chen CP, Lee SM. Treatment of microsporidial keratoconjunctivitis with repeated corneal swabbing. *Am J Ophthalmol* 2012 ; **154** : 927-33.