

## Les parasites intestinaux et l'éosinophilie fécale.

J.-C. Petithory & F. G. Ardoin

Qualité en parasitologie et biologie. Département de biologie médicale Émile-Brumpt. Centre hospitalier, 95500 Gonesse France.  
Tél. : 01 34 53 90 12, Fax : 01 34 53 90 46, E-mail : petithory.parasito@wanadoo.fr

Manuscrit n° 2795. "Parasitologie". Reçu le 21 mars 2005. Accepté le 5 juillet 2005.

### Summary: Bowel parasites and faecal eosinophilia.

The staining of polynuclear eosinophils (PE) in the stools, easily performed and adapted from the technique of WHEATLEY, presents important advantages over the May-Grünwald-Giemsa: less colouring of the bacteria, no dissolution of the lipids, less importance of the stools pH.

The stools samples must show mucus or have a soft, loose or liquid consistency: the polynuclear eosinophils are preserved in stools for 1 year and more, which allows if necessary to postpone for a few days the direct examination.

The PE are found among patients having a helminthiasis or an intestinal coccidiosis in half of the cases, whereas they are not found in other intestinal protozoosis. They are also found among patients having an intestinal allergy.

Faecal eosinophilia reveals an intestinal eosinophilia of the tissue and is influenced by several factors in particular: importance, duration, repetition of the infestation.

It allows the observation of many elements related to the mechanism of eosinophilia, not to be found in blood eosinophilia, in particular the release of the eosinophil granule, the formation of Charcot-Leyden crystals and the presence of lipid bodies similar to those of stearrhoea.

### Résumé:

La coloration des polynucléaires éosinophiles dans les selles par une méthode de réalisation facile adaptée à partir de la technique de WHEATLEY présente d'importants avantages sur le May-Grünwald-Giemsa : moindre coloration des bactéries, non-dissolution des lipides, moindre importance du pH des selles.

Les selles prélevées doivent être d'aspect glaireux, pâteux, coulant ou liquide. Les polynucléaires éosinophiles (PE) se conservent dans les selles 1 an et plus, ce qui permet, si besoin est, de différer de quelques jours l'examen direct.

Les PE sont retrouvés chez les malades ayant une helminthose ou une coccidiose intestinale dans la moitié des cas, alors qu'ils sont absents dans les autres protozooses intestinales. Ils sont également trouvés chez les malades ayant une allergie intestinale.

L'éosinophilie fécale est le reflet de l'éosinophilie intestinale tissulaire et elle est influencée par plusieurs facteurs, notamment : importance, durée, répétition de l'infestation.

Elle permet d'observer de nombreux éléments liés au mécanisme de l'éosinophilie, absents dans l'éosinophilie sanguine, notamment la libération des granulations éosinophiles, la formation des cristaux éosinophiles de Charcot-Leyden et la présence de corps lipidiques semblables à ceux de la stéatorrhée.

fecal eosinophilia  
helminth  
coccidiosis  
lipid body  
Charcot-Leyden crystal  
eosinophilia granule  
laboratory

éosinophilie fécale  
helminthe  
coccidie  
corps lipidique  
cristal de Charcot-Leyden  
granulation éosinophile  
laboratoire

## Introduction

La coloration des éléments figurés du sang, *Plasmodium* spp. compris, par la méthode de Giemsa (et ses variantes) a cent ans (6), et elle est toujours utilisée.

Le Giemsa (ou le May-Grünwald-Giemsa) n'est pourtant pas employé pour la coloration des protozoaires et autres éléments, comme les cellules sanguines, éventuellement présents dans les selles. Ce colorant est très efficace pour les nombreuses bactéries présentes dans les selles et leur coloration intense rend difficile la bonne visibilité des protozoaires, ainsi que celle des leucocytes sanguins, elle nécessite en outre un pH bien défini de 7,2-7,4.

Les méthodes de coloration des protozoaires intestinaux qui ont été utilisées sont nombreuses. Parmi celles-ci le trichrome de Gomori (7) adapté par WHEATLEY (16) est l'une

des méthodes les plus employées pour la coloration des formes végétatives d'amibes. Lors de nombreuses utilisations de cette méthode de coloration pour les amibes, nous avons observé que les polynucléaires éosinophiles (PE) se colorent d'une manière qui permet leur identification beaucoup mieux qu'avec le May-Grünwald-Giemsa.

Cela nous a permis de constater que les selles d'aspect non-moulé ou moulé avec glaires contiennent dans 15 % des cas des PE, alors que les selles moulées sans glaires n'en contiennent pas (13). Les parasitoses, helminthoses ainsi que quelques protozooses digestives, sont une des causes de l'éosinophilie fécale que nous allons étudier, avec l'allergie intestinale, les colites inflammatoires, les diarrhées aiguës ainsi que des données récentes sur les modalités d'action des PE dans l'intestin.

## Malades et Méthodes

### Malades

Les 54 malades avec parasitisme dont les selles ont été étudiées étaient hospitalisés au Centre hospitalier de Gonesse. Ils ont eu une recherche de parasitose intestinale dans les selles en raison de troubles digestifs divers ou de la présence d'une hyperéosinophilie sanguine. Cette recherche a été effectuée par un examen microscopique direct, avec coloration au lugol en cas de suspicion de kystes, ainsi que des méthodes de concentration de Bailenger, de M.I.F. et fréquemment une extraction par la méthode de Baermann quand il y avait hyperéosinophilie sanguine et séjour en pays d'endémie d'anguillulose.

### Témoins

Les 85 témoins dont les selles ont été étudiées faisaient partie du personnel hospitalier principalement : personnel du laboratoire, médecins, élèves infirmier(e)s, avec une prédominance féminine de 61 %, et âgés de 18 à 60 ans. La recherche de PE a été effectuée lors d'examen de selles systématiques faits pour ce personnel adulte de l'hôpital et n'a jamais été positive.

### Prélèvement

La présence des PE dans les selles se produit souvent lors de l'apparition de troubles digestifs aigus, en particulier en cas de diarrhée. Leur rapide diminution et disparition en deux ou trois jours après le retour à la normale des signes cliniques constitue une donnée importante pour le moment du prélèvement d'une manière générale. Les PE se conservent très bien sans aucun additif, au moins 15 jours, il nous est arrivé d'en conserver jusqu'à un an et plus à la température ambiante, cela probablement en raison de la présence de peroxydase dans les grandes granulations de ces leucocytes. Leur recherche peut donc, au point de vue biologique, être différée et être effectuée secondairement.

### Méthode

La technique permettant le diagnostic des PE dans les selles est déjà publiée (12) et elle est de réalisation très facile. Elle consiste à mélanger soigneusement sur une lame porte objet une goutte de 20 µl environ de colorant trichrome de Gomori (7) avec une toute petite parcelle de matière fécale ou de mucus de l'ordre de 1 à 2 mg. On recouvre alors l'ensemble avec une lamelle. La coloration des PE est immédiate et on les recherche pendant une dizaine de minutes au microscope, au grossissement 250 et surtout au grossissement 1 000 qui permet mieux leur reconnaissance.

Si un doute persiste pour l'identification des PE, on peut alors pratiquer un frottis directement avec la selle, quand elle n'est pas moulée. On fixe le frottis sec à l'alcool méthylique, mais cela dissout les corps lipidiques (*lipid bodies*) des PE (14). On couvre le frottis sec avec la solution de trichrome pendant une vingtaine de minutes, on lave à l'eau du robinet, et on fait sécher avant l'examen microscopique à l'immersion. Le trichrome colore les grandes granulations des PE en jaune-or, jaune-orangé, orangé-rouge, orangé-brun, ou parfois brun foncé. Les granulations recouvrent et dissimulent souvent le noyau. Le fond de la préparation et quelques éléments fécaux sont généralement colorés en bleu vert ou vert par le Fast green, alors qu'avec le May-Grünwald-Giemsa de très nombreux éléments, en particulier bactériens, sont très colorés et masquent les PE.

La consistance des selles est très variable, surtout quand elles proviennent de malades : moulée (M) avec parfois des glaires

à la surface (MG), pâteuse (P), coulante (C) ou liquide (L), ce qui correspond à une grande variation de dilution aqueuse des éléments figurés. Il est donc impossible de faire une numération des PE, mais l'on peut en estimer la richesse à l'objectif à immersion : ± rares PE, + 11 à 50 champs X 1 000 pour trouver 1 PE, ++ 2 à 10 champs pour trouver 1 PE, +++ au moins 1 PE trouvé par champ.

## Résultats

Dans le tableau I figurent les résultats de la présence ou non des PE fécaux pour des malades ayant un parasitisme intestinal s'accompagnant fréquemment d'une éosinophilie sanguine.

Tableau I.

n	parasites présents	Eosinophilie fécale et parasites intestinaux. <i>Faecal eosinophilia and intestinal parasites.</i>	
		présence d'éosinophiles dans les selles	consistance des selles
21	larves d'anguillules	positive : 9 négative : 12	liquides et pâteuses 5 moulées, 7 liquides ou pâteuses
9	Ankylostomidés	positive : 4 négative : 5	pâteuses ou glaires 5 moulées
4	<i>Enterobius vermicularis</i>	positive : 2 négatives : 2	pâteuses pâteuses
2	<i>Ascaris lumbricoides</i>	positive : 1 négative : 1	pâteuse pâteuse
2	<i>Trichuris trichiura</i>	positive : 1 négative : 1	pâteuse pâteuse
4	<i>Schistosoma mansoni</i>	positive : 2 négative : 2	pâteuses 1 moulée, 1 pâteuse
3	<i>Taenia saginata</i>	positive : 1 négative : 2	pâteuse 1 moulée, 1 pâteuse
1	<i>Paragonimus sp</i>	négative : 1	pâteuse
7	<i>Isoospora belli</i>	positive : 6 négative : 1	liquide à pâteuse liquide
1	<i>Cryptosporidium parvum</i>	positive : 1	liquide
54	total	positive 27 négative 27	moulée 0 moulées 12

n = nombre de selles étudiées

On constate que l'éosinophilie fécale survient en moyenne chez la moitié des porteurs d'helminthes et de coccidies. En ce qui concerne la consistance des selles, les PE ne sont pas retrouvés dans les selles moulées sans glaires.

Pour les malades chez lesquels ont été trouvés des protozoaires dans les selles, la recherche des PE fécaux a été négative, sauf pour *I. belli* et *C. parvum*. Il s'agissait de 9 *Entamoeba histolytica/dispar* (4 kystes = K et 5 formes végétatives = FV), 2 K *Chilomastix mesnili*, 3 *Blastocystis hominis*, 3 K *Endolimax nanus*, 6 *Giardia intestinalis* (5 K et 1 FV), 5 *Entamoeba coli* (2 K et 3 FV), 2 *Entamoeba butschlii* (1 K et 1 FV), 2 *Dientamoeba fragilis*.

## Discussion

L'éosinophilie fécale est retrouvée chez la moitié des malades ayant une helminthose ou une coccidiose et jamais dans les autres protozooses intestinales.

La présence des PE dans les selles correspond à une éosinophilie tissulaire : ces cellules gagnent la muqueuse de l'intestin à l'intérieur du tube digestif pour réagir contre les helminthes ou les allergènes (4) qui sont présents. Le nombre des polynucléaires éosinophiles dans les tissus est beaucoup plus important, en particulier en cas d'inflammation, que ceux présents dans le sang. Ceux-ci sont « en route » généralement pour la défense des tissus du corps « are merely en route in the blood to the defense of body tissue generally » (11).

Les PE du sang ne représentent qu'1/40<sup>e</sup> à 1/400<sup>e</sup> des PE tissulaires (11).

L'éosinophilie fécale, qui provient de l'éosinophilie tissulaire, est en relation avec différents facteurs variables. Quand l'étiologie est parasitaire, ces facteurs de formation diffèrent de ceux de l'éosinophilie allergique alimentaire ou médicamenteuse. Ces facteurs sont en particulier :

– Le contact tissulaire, très faible pour les helminthes uniquement intestinaux comme le trichocéphale et l'oxyure. Pour *Ascaris lumbricoides*, le transit du stade larvaire migrant par les poumons est bref : l'éosinophilie sanguine ne dure que deux mois après l'infestation, ce qui correspond à une éosinophilie fécale également brève. Pour *Strongyloides stercoralis*, les auto-infestations répétitives conditionnent d'importantes variations des éosinophilies sanguines et fécales.

– La charge parasitaire, par exemple pour la douve de Chine, une très faible infestation ne déclenche pas d'éosinophilie sanguine.

– Dans l'ankylostomose due à *Ancylostoma duodenale*, la durée de vie du parasite est de 2 à 6 ans alors que le taux de l'éosinophilie, sans rapport avec le nombre de larves infestantes, est de 3,5 % après 3 ans (3).

### Éléments provenant des PE

Ceux-ci sont nombreux, libérés à partir des grandes et petites granulations, ainsi que du cytoplasme de ces cellules. Nous n'envisagerons que ceux qui sont observés lors de l'étude microscopique des selles :

– Granulations : les grandes granulations sont fréquemment observées dans les selles après coloration des PE à l'examen direct. Elles sont de coloration variant de jaune-or à brun foncé, souvent en amas ou traînées, leur morphologie et la présence de PE intacts facilite leur identification alors que leur noyau isolé n'est généralement pas identifiable. Leur présence peut être due à une lyse cellulaire causée par le milieu intestinal défavorable (pH, hypotonie, enzymes...), mais plus probablement à une dégranulation des PE liée à leur activation au contact des helminthes. Cette activation peut être observée dans l'intestin, mais pas dans le sang.

– Cristaux bi-pyramidaux de Charcot-Leyden. Rappelons d'abord que les cristaux de Charcot-Leyden ne sont jamais observés, même en cas de forte éosinophilie, dans le sang fraîchement prélevé. Nous rappelons aussi qu'ils ont été découverts et décrits par ROBIN lors d'une autopsie d'un malade de Charcot, dont la durée et les conditions de conservation du corps avant sa réalisation ne sont pas précisées (5). Nous avons pu observer dans les selles la formation de ces cristaux et les avons trouvés dans 50 % des selles étudiées ici où étaient présents des PE et jamais en leur absence. Leur formation se produit dans les solutions hypotoniques et ils sont dissous par l'alcool éthylique (1). Ils sont constitués uniquement par une protéine, la lysophospholipase (15) qui se trouve au contact de la membrane de la cellule (1).

– Corps lipidiques (*lipid bodies*) ont été décrits en particulier dans le cytoplasme des PE (15) d'où ils sont libérés. La présence des PE libérant dans les selles les différents éléments qu'ils contiennent est en faveur du rôle joué par ces corps lipidiques à l'origine de la stéatorrhée, notamment dans l'isosporose où elle a été fréquemment observée (2) et où l'éosinophilie fécale est pratiquement constante, comme nous l'avons constaté.

L'apparition d'une protéine étrangère dans l'organisme humain, que ce soit sous forme de grain de pollen ou de larve d'helminthe, provoque immédiatement une réaction des polynucléaires basophiles avec libération d'histamine, suivie dès les premières heures d'un contrôle par l'afflux tissulaire des polynucléaires éosinophiles. Cette « mise en route » entraîne une éosinopénie sanguine (8, 10) qui survient dans les heures

qui suivent l'agression et se poursuit quelques jours, 2 à 4, jusqu'à la production par la moelle d'une quantité compensatrice suffisante de PE.

Il s'ensuit une éosinophilie sanguine qui suit l'évolution décrite par LAVIER (9) dans les helminthoses, le contact avec les vers étant alors persistant, différent de celui avec les allergènes comme le pollen, qui est souvent intermittent.

Cette réaction tissulaire est difficile à observer et à suivre dans l'organisme humain puisqu'elle nécessite des biopsies répétées. La surveillance de l'éosinophilie fécale est facile, peut être répétée tous les jours, même si elle n'a pas une aussi bonne visualisation que celle de l'histo-pathologie.

### Conclusion

L'éosinophilie fécale, comme l'éosinophilie sanguine, s'observe principalement dans deux groupes de maladies apparentés : les maladies parasitaires (helminthoses, coccidioses) et les allergies intestinales.

L'étude de l'éosinophilie fécale après coloration directe par le trichrome permet en outre de préciser des données étiologiques de ces maladies.

### Références bibliographiques

1. ACKERMAN SJ, HZHOU Z, TENEN DG, CLARK MA, TU Y-P & IRVIN CG – Human Eosinophil lysophospholipase (Charcot-Leyden crystal protein): Molecular cloning, expression, and potential functions in asthma. Eds. Gleich GJ, Kay AB. *Eosinophils in allergy and inflammation*. Marcel Dekker Inc, New York, 1994, pp. 21-54.
2. BRANDBORG LL, GOLDBERG SB & BREIDENBACH WC – Human coccidiosis. A possible cause of malabsorption. The life cycle in small-bowel mucosal biopsies as a diagnostic feature. *N Engl J Med*, 1970, **283**, 1306-1313.
3. BRUMPT LC – Déductions cliniques tirées de cinquante cas d'ankylostomose provoquée. *Ann Parasitol*, 1952, **27**, 237-249.
4. CHALLACOMBE DN, WHEELER EE & CAMPBELL PE – Morphometric studies and eosinophil cell counts in the duodenal mucosa of children with chronic non-specific diarrhoea and cow's milk allergy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1986, **5**, 887-891.
5. CHARCOT JM & ROBIN C – Observation de leucocytémie. *Mém Soc Biol*, 1853, **5**, 44-50.
6. GIEMSA G – Eine vereinfachung und vervollkommnung meiner methylenazur-methylenblau-eosin-farbemethode zur erzielung der Romanowsky Nocht'schen chromatinfarbung. *Zentabl Bakteriol Parasitenkd Infekkrankh*, 1904, **37**, 308.
7. GOMORI G – A rapid one-step trichrome stain. *Am J Clin Path*, 1950, **20**, 661-664.
8. HONSINGER RW, SILVERSTEIN D & VAN ARSDEL PP – The eosinophil and allergy: why? *J Allergy Clin Immunol*, 1972, **49**, 142-155.
9. LAVIER G – L'éosinophilie sanguine dans les helminthoses. *Sang*, 1944-1945, **16**, 510-528.
10. LOWELL FC – Clinical aspects of eosinophilia in atopic disease. *JAMA*, 1967, **202**, 109-112.
11. OSGOOD EE – Number and distribution of human hemic cells. *Blood*, 1954, **9**, 1141-1153.
12. PETITHORY JC & ARDOIN FG – The demonstration, staining and prevalences, in pathological and non-pathological specimens, of eosinophils in faeces. *Ann Trop Med Parasitol*, 2002, **96**, 523-528.
13. PETITHORY JC & ARDOIN FG – L'éosinophilie fécale. A paraître.
14. WELLER PF, BOZZA PT, YU W & DVORAK AM – Cytoplasmic lipid bodies in eosinophils: central in eicosanoid generation. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, **118**, 450-452.
15. WELLER PF, GOETZL EJ & AUSTEN KF – Identification of human eosinophil lysophospholipase as the constituent of Charcot-Leyden crystals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, **77**, 7440.
16. WHEATLEY WB – A rapid staining procedure for intestinal amoebae and flagellates. *Am J Clin Path*, 1951, **21**, 990-991.