### République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des frères Mentouri Constantine 1

### Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Appliquée Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master En hygiène hospitalière et santé

### **Thème**

## LES PROTOZOOSES INTESTINALES DIAGNOSTIQUÉES AU LABORATOIRE DE L'ÉTABLISSEMENT HOSPITALIER DIDOUCHE MOURAD

### Présentée par :

Zekri Ahlem

Merrouche kamel

Jury:

**Président :** Pr Hamidchi A Université des frères Mentouri Constantine 1

**Examinateur :** Dr Belaid C Spécialiste à l'établissement hospitalier Didouche

Mourad

Encadreur : Dr Djaballah M Maitre assistante à l'établissement hospitalier

Didouche Mourad -Faculté de médecine 03 -

**Co-encadreur**: Dr Ghorri S MAB Université des frères Mentouri Constantine 1

Année universitaire

2017/2018

### Dédicace:

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessés de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

Je dédie ce modeste travail à :

### <u>A ma très chère mère</u>

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et l'accorder santé, longue vie et bonheur.

### Mon frère: Saleh

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie.

### Mes sœurs :

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Madjeda, Fouzia, Samira, Rahima, Rachida et Yasmina

### Tous mes amies sans exception:

Je vous remercie pour votre soutien tout le long de ces années de travail et pour les moments passés de joie ou de tristesse toujours on a été épaulés l'une a l'autre.

Ibtissem, Zineb, Fatima, Rania et Loubna

### Touts les enfants:

Taym, Mahdi ,Mohemmed , Barae Meriem ,Malek, Maram,Marya , Nada, Tarek,Rawia,Islem,Oussama,Abdou, et Feriel

Tous ce qui me connaît.

Ahlem zekri

### Dèdicace

### a Allah

Le tout misèricordieux,le très misèricordieux, le tout puissant qui m'a inspire, qui m'a guidè sur le droit chemin, je vous dois ce que j'ètais .ce que je suis et ce que je serais inchallah.

Soumission, louanges et remerciment pour votre clèmence et misèricorde

### A ma très chère maman

Ce travail reprèsente le si peu avec lequel je pourrai vous remercier.

Aucun mot, aucune dédicace ne sourait exprimer

A sa juste valeur, l'ampleur de l'affection

Et de l'admiration que j'eprouve pour vous.

Mon diplôme vous appartient.

que dieu vous gardeet vous accorde longue vie afin que je puisse a mon tour vous combler

je t'aime

### <u>A ma sœur soussou</u>

En tèmoignage de profonds liens fraternels qui nous unissent ; je vous dèdie ce travail.tes encouragements et conseils m'ont èté d'un grand secours ces quelques ligfnes ne souront exprimer toute l'affection et l'amour que je porte.puisse Dieu vous procurer santè, bonheur, rèussite et prospèrité qu vous mèritez.

### a mes profs

Dr: Djaballah et Mm: ghorri, Qui m'a fait l'honneur de juger ce mémoire. Je tiens ici à le témoigner mes plus chaleureux remerciements pour ses précieux conseils, pour son aide de rédaction du mémoire et pour son rigueur scientifique.

Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A tous mes amis et collègues

Ahlem,Romaissa, les 2 rania ,Ahmed

MERROUCHE KAMEL

### Remerciements:

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux, nous disons « ALHAMDOULILLAH », qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons tout d'abord notre remerciements à Dr Djaballah Malika qui nous a honorée de sa confiance en acceptant la direction de ce mémoire et a fait preuve de patience à notre égard, je lui reconnais d'avoir toujours respecter et faciliter mes initiatives, nous te tenons à la saluer pour son exigence, sa disponibilité, ses encouragements, et ses conseils très précieux, nous sommes très reconnaissants de la confiance qu'elle nous a témoignée.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre co- encadreur Dr Ghorri Sanaa, pour ses conseils judicieux, son jugement critique et son appui tout au long de cette étude. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqué.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant d'examiner notre mémoire et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur Kassem Chawech N, le chef de département de Biologie Appliquée.

Enfin, nous remercions tout le personnel du laboratoire de parasitologie — mycologie à l'établissement hospitalier Didouche Mourad et tous les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

### TABLES DES MATIERES

1.Introduction	01
2. Revue bibliographique	03
2.1. Generalité sur les protozoaires	03
2.2. Classification	03
2.3. Les protozoaires intestinaux	04
2.3.1. Les amibes	04
2.3.1.1. Classification des amibes	05
2.3.1.2. Epidémiologies de l'amoebose intestinale	05
2.3.2. Les flagelles intestinaux	07
2.3.2.1. Classification des flagelles	08
2. 3.2.2. Epidémiologies de giardiose intestinal	08
2.3.3. Les coccidioses intestinales.	12
2.3.3.1 Classes des coccidies	12
2.3.3.2 Cryptosporidiose	12
2.3.4. Isosporose	15
2.3.5. Cyclosporose	19
2.3.6 .Les ciliés intestinaux	22
2.3.6.1 Généralité sur les ciliés	22
2.3.6.2 Epidémiologie de balantidiose intestinale	23
2.3.7 .Blastocystose intestinale	27
2.3.7.1 Classification	27
2.3.7.2 Épidémiologie	28
3. Matériel et méthodes	31
3.1. Population, lieu et durée de stage	31
3.2. Matériel	32
3.3. Méthode	33
4. Résultat	42
4.1. Prévalence globale de protozoaires intestinaux	42
4.2. Répartition des cas positifs selon le protozoaire isolée	43
4.3. Étude des cas positifs en fonction du sexe	48
4.4. Étude des cas positifs en fonction des années	48
4.5.Étude des cas positifs en fonction de l'âge	49

### TABLES DES MATIERES

Annexes

4.6. Étude des cas positifs selon les adresses	50
4.7. Étude des cas positifs selon l'association parasitaire	51
4.8. Étude des cas positifs selon la provenance	53
4.9. Étude des cas positifs selon les signes cliniques	54
5. Discussion	55
6. Conclusion.	59
Bibliographie	
Résumée	

### LISTE DES FIGURES

Figure 01: kyste d'Entamoeba histolytica	P 06
Figure 02 : Cycle évolutif d'Entamoeba histolytica	P 06
Figure 03: kyste de Giardia intestinalis kyste	P 08
Figure 04: Forme végétative de Giardia intestinalis	P08
Figure 05 : Cycle évolutif de Giardia intestinalis	Р 10
Figure 06 : Cycle évolutif de Cryptosporidium parvum	P 14
Figure 07: Oocystes de Cryptosporidium parvum dans les selles	P 14
Figure 08: Oocyste sporulé d'Isospora belli	P 16
Figure 09 : Cycle évolutif d'Isospora belli	P 18
Figure 10 : Structure des oocystes d'Isospora. belli	P 19
Figure 11 : Cycle biologique de Cyclospora cayetanensis	P 21
Figure12 : Oocystes de Cyclospora cayetanensis	P 21
Figure 13: Forme végétative et kystique de Balantidium coli	Р 24
Figure14: Le cycle évolutif d'un Balantidium coli	P 25
Figure15: Les quatre formes de <i>Blastocystis sp</i>	P 28
Figure16:Cycle de vie de <i>Blastocystis</i> sp	P 29
Figur 17 : Matériel de laboratoire utilisé pour le diagnostic des parasitoses	P 31
Figure 18: Réactifs utilisés au laboratoire pour la copro-parasitologie	P 32
Figure 19: Prélèvement des selles	P 34
Figure 20 : Forme vacuolaire de <i>Blastocystis</i> sp. Examen direct à l'état frais	P 35
Figure21: Kyste d'Entamoeba coli. concentration par la technique de Ritchie	P 36
Figure 22: Kyste Pseudolimax butchlii Examen direct au Lugol	Р 38
Figure23: Forme végétative de Giardia intestinalis colorée au MIF	P 39
Figure 24 · Forme végétative de Giardia intestinalis coloration au Giemsa	P 40

### Liste des tableaux

Tableau 01 : Les étapes de technique de concentration Ritchie	P 37
Tableau 02 : Répartition des cas positive selon le protozoaire isolée	P 43
Tableau 03 : Les différentes formes parasitaires diagnostiquées	P 44-46
Tableau 04 : Étude des cas positifs en fonction des années	P 48
Tableau 05 : Étude des cas positifs selon les adresses	P 50
<b>Tableau 06 :</b> Fréquence d'association parasitaire	P 52

.

### LISTE DES ABREVIATIONS

M.I.F: Merthiolate-Iode-Formol

M.F: Merthiolate-Formol

**E.P.S**: Examen parasitologique des selles

 $\mathbf{E.H}:$  Etablissement Hospitalier

# 

L'Afrique de par sa situation quasi-entière dans la ceinture intertropicale constitue un terrain de prédilection pour les affections parasitaires. Parmi ces affections, les parasitoses intestinales occupent une place de choix. En tous les pays africains, la quasi-totalité de la population est infesté à un moment de leur vie, et la prévalence élevée de ces parasitoses intestinales constituent les principaux facteurs de malnutrition et de dégradation de la santé, influant négativement sur le rendement économique. (OMS; 1993)

Les parasitoses intestinales, bien qu'elles suscitent de nos jours peu d'intérêt à coté des maladies comme le sida, la tuberculose, le paludisme et l'onchocercose, constituent en milieu tropical un problème de santé publique, en raison essentiellement des conditions climatiques favorables, de l'absence ou de l'insuffisance de mesures d'hygiène et d'assainissement et enfin de la pauvreté. A ces nombreux facteurs participant à la recrudescence des maladies parasitaires s'y ajoutent aussi l'instabilité socio-économique qui désorganise le système de santé, le coût de médicaments et les difficultés de leur distribution ainsi que la surveillance du traitement. (Cheikhrouhou F *et al* ; 2009)

Le pouvoir pathogène de ces parasites est aussi très variable, allant du simple portage asymptomatique à des tableaux symptomatique gravissimes, voire mortels. L'étude de ces parasites constitue un reflet du niveau d'hygiène alimentaire et fécale, de l'accès à l'eau potable et à la salubrité de l'environnement. (X. Nicolas *et al* ; 2001)

Notre pays (Algérie) se situant au nord des tropiques et vue les mouvements migratoire des différentes populations de pays d'Afrique tropicale et subtropicale peut constituer un énorme facteur de risque de transmission de ses parasitoses.

Avant d'envisager des études très fines sur les différents aspects de ces maladies parasitaires, il apparaît nécessaire d'estimer d'abord leur prévalence.

## Revue Bibliographique

### 2. Revue bibliographique

### 2.1 Généralité sur les protozoaires

Les **Protozoaires** (du grec protos = premier; zoôn = animal) sont des organismes unicellulaires microscopique de 1 à 100 µm de diamettre, eucaryote hétérotrophes dépourvue de chlorophylles, se nourries par osmose pour les forme parasites ou phagocytose pour les formes libres. Une seule cellule très spécialisée capable de remplir toutes les fonctions vitales. Les protozoaires doivent se déplacer, digérer, respirer, éliminer leurs déchets par excrétion et se reproduire pour survivre. Leur cellule unique est donc beaucoup plus complexe que les cellules retrouvées chez les métazoaires. Ils vivent exclusivement dans l'eau ou dans les sols humides ou à l'intérieur d'un organisme (dans le mucus pulmonaire, l'intestin, la panse de certains animaux...). (André Beaumont  $et\ al\ ;\ 2004$ )

Le groupe des protozoaires est para phylétique. S'il a été par le passé décrit comme un embranchement, il ne constitue plus un taxon valide dans les classifications phylogénétiques modernes. Les protozooses digestives sont dues à des amibes (*entamoeba histolytica, entamoeba coli...*, flagellés (*Giardia* sp et *Tritrichomonas* sp) les cilies (*Balantidium coli*) et des coccidies (*Isospora* sp, *Cryptosporidium* sp, *Microsoridium sp* et les *blastocystis* sp. Ils sont connus pour être responsables de nombreuses maladies telles que l'amibiase et certaines dysenteries ,giardiose , cryptosporidiose.(Cavalier-Smith T ;1993)

Les cellules protozoaires ont plusieurs rôles, elles peuvent être :

- des prédateurs qui peuvent s'attaquer aux algues, aux bactéries et même à d'autres protozoaires
- des parasites.
- des nécrophages.

### 2.2 Classification:

Les Protozoaires sont divisés en cinq embranchements principaux sont :

1/-Les Sarcomastigophores (sarkodes=charnu, mastigos=fouet, phoros=qui porte) comprennent les amibes et les Flagellés qui se déplacent à l'aide de mouvements amiboïdes ou à l'aide d'un flagelle. Certaines amibes du sol sont couvertes d'une coquille, le test qui permet de résister à la dessiccation.

2/-Les Ciliés (embranchement Ciliata), comme *Balantidium coli*, sont des Protozoaires les plus spécialisés et ceux qui ont la plus grande complexité structurelle. Ils sont caractérisés par la présence de nombreux cils.

3/-Les Apicomplexes (embranchement Apicomplexa) sont des parasites possédant une combinaison caractéristique d'organelles appelée complexe apical formé d'anneaux polaires, microtubules sous pelliculaires, micromères, conoïdes.

4/-Les Microspores (embranchement Microspora) sont des spores unicellulaires qui contient sporoplasme uni ou binuclée et représentants des parasites intra cellulaire obligatoires de la majorité des groupes d'animaux.

5/-Les Myxozes (embranchement Myxozoa) sont des Parasites d'invertébrés et poissons germe amiboïde qui forme de volumineux plasmodes plurinucléés à l'origine de tumeurs chez l'hote. (Antoine Morin ; 2002)

### 2.3 Les protozoaires intestinaux

Les protozoaires sont actuellement les parasites les plus fréquemment rencontrés au cours des examens parasitologiques des selles dans les laboratoires d'analyses médicales.

### **2.3.1** Les amibes :

Les amibes sont des êtres vivants du groupe des rhizopodes constitués d'une seule cellule qui est mobile. Les amibes vivent dans des milieux humides et peuvent pénétrer dans l'organisme humain par l'eau de boisson ou la prise d'aliments contaminés. (Plorde J J ; 2004)

### **2.3.1.1.** Classification des amibes :

Selon la morphologie du noyau on distingue deux groupes :

- le noyau de type « Entamibe » présent chez les amibes du genre Entamoeba
- le noyau de type « Limax » présent chez les amibes du genre *Pseudolimax et Endolimax*
- autres. (Cheikhrouhou F; 2010)

A/: type « Entamibe » : Noyau constitué par une membrane périphérique tapissée d'une couche de chromatine un caryosome petit, central ou excentré

\*Entamoeba histolytica

\*Entamoeba dispar

\*Entamoeba moshkovskii

\*Entamoeba hartmanni

\*Entamoeba coli

\*Entamoeba polecki

B: type « Limax »

• Genre *Pseudolimax*: noyau avec membrane nucléaire très mince et volumineux caryosome central entouré de granules achromatiques, encore appelés granules péricaryosomiens, correspondant aux chromosomes.

\*Iodamoeba butschlii

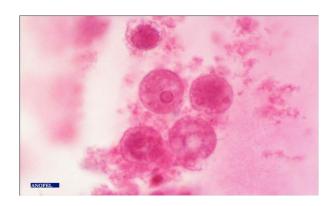
• Genre *Endolimax* : noyau avec membrane nucléaire mince, et caryosome volumineux, parfois excentré.

\*Endolimax nanus

### 2.3.1.2 pidémiologies de l'amoebose intestinale

L'amoebose est définie comme l'état dans lequel l'organisme humain héberge Entamoeba histolytica avec ou sans manifestations cliniques, Entamoeba histolytica. Ainsi, on distingue des formes asymptomatiques dites « amoebose-infection » et des formes symptomatiques appelées « amoebose-maladie ». (Pierre Aubry et al ; 2016)

Ces formes peuvent être de localisation intestinale siégeant prin-cipalement au niveau du côlon, tout comme elles peuvent être extra-intestinales essentiellement hépatiques ou pulmonaires. Aujourd'hui, les parasitoses digestives demeurent un problème majeur de santé publique particulièrement dans les pays en voie de développement. De plus, certaines situations favorisent le développement de ces parasitoses ; il s'agit de : la corticothérapie prolongée, l'immunodépression, le séjour en zone tropicale et les pratiques sexuelles à risque (homosexuels, rapports oroanaux). La contamination est quasi exclusivement digestive avec une transmission indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Parfois cette voie de contamination est directe par le contact des mains avec des matières fécales infectées. La prévention repose essentiellement sur l'hygiène alimentaire. (Bourée P; 2011), (Plorde J; 2004)



**Figure 1 :** kyste d'*Entamoeba histolytica coloration* (MIF - 20μm)

### 2.3.1.3. Cycle de l'amibiase :

### A): Cycle commensal

Le kyste libère 4 noyaux qui se divisent en 8 amoebules qui donnent 8 amibes qui se reproduisent par scissiparité. Ces amibes peuvent former des kystes qui sont éliminés dans le milieu extérieur et permettent la propagation de la maladie Au cours de ce cycle, l'hôte est asymptomatique : c'est un porteur sain.

### B): Cycle pathogène

Lors d'un affaiblissement du système immunitaire, ou d'un déséquilibre de la flore, les formes végétatives peuvent envahir la paroi colique. Elles perforent le colon et diffusent par voie sanguine jusqu'au foie (hépatite amibienne, abcès amibien), jusqu'au poumon, voire le cerveau, la rate, les muscles, les voies urinaires. (Aubry P;2016)

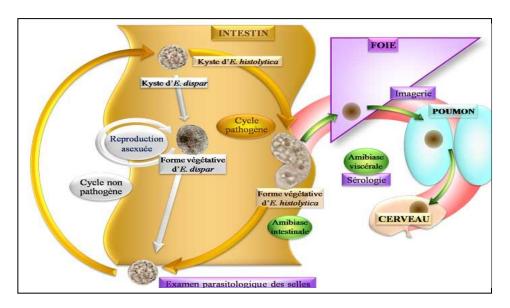


Figure 2 : Cycle évolutif d'Entamoeba histolytica

### 2.3.1.4 Diagnostique

On réalise un examen parasitologique des selles :

- \*Examen microscopique à l'état frais (formes végétatives vivantes, trophozoïtes)
- \*Coloration au MIF (Merthiolate-Iode-Formol) : permet l'observation des structures internes et de réaliser un diagnostic différentiel (par rapport à d'autres espèces non pathogènes).
- \*Mise en culture, techniques de concentration parasitaire facilitent l'observation des kystes. (Emilie Bonnet ; 2014)

### 2.3.1.5 Prophylaxie

La prévention contre l'amoebose entre dans le cadre de l'amélioration des connaissances de la population en matière d'hygiène individuelle et collective et de la connaissance des modes de transmission. (Bourée P; 2010), (B. Ndiaye *et al*; 2017)

### A. Prophylaxie générale

Cette prophylaxie est illusoire en pays d'endémie, les investissements sociaux et économiques étant beaucoup trop importants. Théoriquement, elle repose sur plusieurs mesures :

- Dépistage et traitement des porteurs sains.
- Assainissement des réseaux d'adduction d'eau et de traitement des eaux usées.
- -Aménagement de latrines et interdiction des engrais humains dans les pays où cette technique d'enrichissement des sols est utilisée.
- Protection des aliments contre les mouches, les blattes et les animaux domestiques.

### B. Prophylaxie individuelle

Il faut lutter contre la transmission par des recommandations d'hygiène élémentaire stricte par le lavage des mains, l'épluchage des fruits et des légumes consommés crus.

### 2.3.2 Les flagelles intestinaux

Les flagellés sont des protozoaires (micro- organismes unicellulaires Eucaryotes) portent de flagelles qui leur servent d'organes locomoteurs. Qu'on trouve dans les selles sous la forme végétative ou kystique pour certains d'entre eux. (ANOFEL ; 2010)

On distingue deux groupes sont :

• Les poly flagellaires : cavitaires (intestinaux, uro-génitaux)

• Les mono flagellaires: sang et tissus

### 2.3.2. 1 Classification des flagelles

• Genre Giardia (Giardia intestinalis)

• Genre Enteromonas: (Enteromonas hominis)

• Genre *Chilomastix:* (*Chilomastix mesnili*)

• Genre Trichomonas: (Trichomonas intestinalis,

• Genre Embadomonas: (Embadomonas intestinalis)

### 2. 3.2.2 Giardiose intestinal

### > L'Agent pathogène

Giardia intestinalis est un parasite protozoaire opportuniste flagellé intestinal cosmopolite très fréquemment rencontre en forme de cerf-volant. Ayant une symétrie bilatérale Et mesurant environ 7 x 15 microns. Se protozoaire caractérise par deux formes. Kystes et des trophozoites.

Le stade kystique représente la formes infectieuse de parasite rejetée dans l'environnement avec les fèces et demeurant infectieuse pendant plusieurs mois (Figure04).les trophozoites représentent la forme mobile et active (Figure05).ils vivent colles a la muqueuse de l'intestin grêles plus particulièrement entre le duodénum et le jéjunum.( J.EUZEBY ; 2002)



**Figure 03:** Forme végétative de *Giardia intestinalis* 



**Figure 04:** *Giardia intestinalis* kyste coloration MIF

### **≻** Épidémiologie

Giardia compte parmi les endoparasites les plus fréquents chez les enfants de moins de 10 ans. La prévalence parmi cette classe d'âge est significativement supérieure à celle des être humains plus âgés. L'excrétion des kystes s'observe aussi bien chez les sujets montrant des symptômes cliniques que chez les sujets asymptomatiques. L'infection induit une immunité partielle engendrant une maladie moins sévère lors de réinfection et dans certains cas l'élimination de l'agent pathogène.

### **Classification**

Embranchement: Sarcomastigophora

Sous-embranchement : mastigophora (existence d'un ou plusieurs flagelles)

Classe: Zoomastigophora

Ordre: Diplomonadida

Genre: Giardia

Espece: Giardia intestinalis (Claude Moulinier; 2002)

### > Cycle évolutif

Le cycle de *Giardia intestinalis* est homoxène. Les trophozoïtes envahissent l'intestin grêle, se fixent aux cellules épithéliales de la muqueuse, se multiplient par division binaire répétée et produisent des kystes résistants, immédiatement infectieux, qui sont excrétés dans l'environnement par les selles.

Le nombre de kystes excrétés atteint souvent de très grands nombres. Une infection est causée par l'ingestion de kystes. La période prépatente dure de 4 à 16 jours et la période patente généralement plusieurs semaines à plusieurs mois, durant lesquels les kystes sont excrétés de manière intermittente. (PIERRE A *et al* ; 2014), (ANOFEL ; 2010)

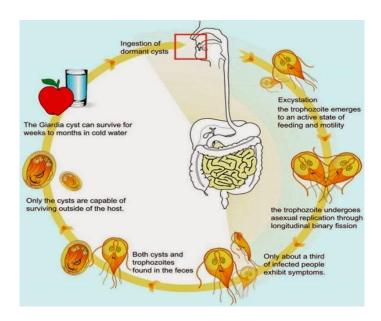


Figure05 : Cycle évolutif de Giardia intestinalis

### Mode de contamination

La contamination se fait toujours a partir de kystes .dans les eaux contamines sales ou les aliments consommes crus. Souilles par des kystes par des mains sales d'un porteur (auto-infection possible).il y'a des contaminations familiales et interhumains et donc il y a un rôle des conditions d'hygiène (des mouches et des cadavres) dans la transmission de maladie. (Pierre Aubry *et al* ; 2014)

### > Diagnostic

Le diagnostic biologique repose sur des examens parasitologiques des selles répétés. On met fréquemment en évidence les kystes, plus rarement les trophozoïtes en cas de diarrhée à transit rapide. L'examen d'un seul échantillon de selles donne une sensibilité de 60 à 80%, alors que l'examen de trois échantillons successifs donne plus de 90% de sensibilité.

Dans certains cas, l'aspiration de liquide duodénal permet de faire le diagnostic. La recherche d'antigènes spécifiques dans les selles par différentes méthodes immunologiques est très performante, mais peu de laboratoires la pratiquent en routine. (Bourée P *et al* ; 2011)

### > Prophylaxie

Comme l'affection est susceptible de se propager rapidement, il se peut que votre médecin vous suggère de traiter toute votre famille en même temps. Votre médecin peut également vous suggérer de prendre votre médicament pendant plus longtemps ou de changer votre médicament selon l'intensité de votre maladie. (ANOFEL; 2010)

Les enfants sont plus susceptibles de subir de la déshydratation que les adultes à cause de leur petite taille, les parents et les soignants doivent donc surveiller l'apparition des signes de déshydratation et s'assurer que l'enfant boit beaucoup de solution réhydratante. Les solutions orales de réhydratation que l'on peut se procurer dans les pharmacies sont un excellent moyen d'aider un enfant à rester bien hydraté. Si vous mélangez la poudre d'électrolytes avec de l'eau, assurez-vous que l'eau est propre pour éviter une réinfection. (PIERRE A *et al* ; 2014)

Il existe plusieurs moyens efficaces d'éviter de contracter ou de transmettre cette infection. N'oubliez pas ces petits conseils :

- abstenez-vous de boire l'eau non traitée provenant de cours d'eau, de rivières ou de lacs même si elle vous semble très propre. Quand vous utilisez l'eau provenant de ces sources, faites-la bouillir au préalable pour 2 minutes (ou 3 minutes si vous vous trouvez en altitude);
- lavez bien vos mains à l'eau et au savon avant et après les repas, la préparation des aliments, le changement des couches et après avoir été aux toilettes;
- gardez votre enfant chez vous s'il est infecté et ne peut contrôler sa défécation. Il ne devrait pas fréquenter la garderie ni l'école;
- évitez d'avaler de l'eau lorsque vous nagez dans les piscines publiques ou les lacs, car les taux de chlore utilisés couramment dans les piscines ne tuent pas les kystes;
- essayez de manger des aliments bien cuits et chauds, et épluchez toujours les légumes et les fruits crus.

### 2.3.3. Les coccidioses intestinales

Les coccidies sont des parasites protozoaires (appartenant au groupe des Apicomplexa), qui se caractérisent par une infestation digestive chez l'hôte définitif, aboutissant à la production d'oocystes libérés dans les fèces. Leur cycle comprend des phases intracellulaires (dans les cellules épithéliales principalement).

Les coccidies parasitent principalement les mammifères (et quelques espèces affectent les oiseaux). Leur répartition est mondiale (Fayer R *et al* ; 2000)

### 2.3.3.1 Classe des coccidies

- Cryptosporidium spp
- Cyclospora spp
- Isospora belli

### 2.3.3.2 Cryptosporidiose

La cryptosporidiose est une maladie intestinale grave dit à l'ensemble des parasitoses liées aux protozoaires du genre *Cryptosporidium*.

Dès 1907, des études menées sur la muqueuse gastrique de souris mettent en évidence la présence intracellulaire du parasite. Ces parasitoses sont restées plutôt rares et cantonnées à l'animal jusqu'en 1976 où le premier cas de cryptosporidiose humaine à *Cryptosporidium parvum* est décrit chez une petite fille. Les premiers cas de cryptosporidiose chez les patients séropositifs (VIH+) sont rapportés au début des années 1980. (Fayer R *et al*; 2000), (http://www.infectiologie.org.tn)

Aujourd'hui qu'il existe plusieurs espèces différentes voire génotypes pouvant engendrer la pathologie chez l'homme. La cryptosporidiose cause principalement des problèmes diarrhéiques pouvant entraîner la mort chez des hôtes généralement immunodéficient

### Classification

Embranchement: apicompexa

Classe: coccidea

Ordre: eucoccidiorida

famille : cryptosporidiidae Genre: cryptosporidium

Espece: cryptosporidium parvum (Claude Moulinier;2002)

### 2.3.3.3 Agent pathogène

Cryptosporidium parvum, une espèce commune et peu spécifique a longtemps été considérée comme l'unique espece responsable de la cryptosporidiose chez l'homme et chez les autres mammifères.

Le génome du *Cryptosporidium parvum* a été séquencé en 2004 et s'est trouvé être inhabituel parmi les eucaryotes. En effet, les *Cryptosporidium* ne contiennent pas de mitochondries mais possèdent à la place un organite découvert récemment et appelé mitosome depuis 1999. Celui-ci n'ayant pas d'ADN mitochondrial, ses constituants ne peuvent avoir pour origine que l'ADN nucléaire. (DEROUIN F *et al* ; 2007)

### 2.3.3.4 Mode de transmission

La contamination s'effectue par ingestion d'oocystes. Les oocystes étant directement infectants des leur émission et très résistants dans l'environnement, Les sources d'infection chez l'humain sont les animaux domestiques (surtout les veaux, les agneaux, les chevreaux, les porcelets, les poulains et les reptiles).

La contamination peut être directe entre un hôte infecte et un hôte sain ou indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments souille par des oocystes. Il s'agit d'une parasitose cosmopolite, pouvant être responsable d'épidémies. (Chabasse.C *et al* ; 2002)

### 2.3.3. 5 Cycle évolutif

La *Cryptosporidium* est un parasite de l'épithélium intestinal du grêle dont le cycle comporte une multiplication asexuée (schizogonie) et une multiplication sexuée (gamogonie) conduisant à la formation d'oocystes élimine avec les selles.

Schizogonie et gamogonie s'effectuent dans une vacuole intracellulaire située au niveau du pôle apical des entérocytes. La schizogonie conduit à la libération de mérozoïtes qui infectent d'autres cellules intestinales et assurent la dissémination parasitaire le long du tractus digestif. (Fayer R *et al* ; 2000) ; (Chabasse.C *et al* ; 2002)

La différenciation vers la gamogonie conduit à la formation des oocystes.

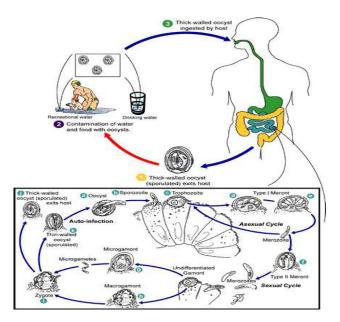
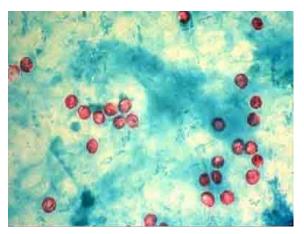


Figure 06 : Cycle évolutif de Cryptosporidium parvum

### 2.3.3.6 Diagnostique

Le diagnostic de cryptosporidiose est fait le plus souvent à l'aide d'un examen parasitologique des selles qui met en évidence un parasite du genre *Cryptosporidium*.

La technique la plus utilise est la coloration de Zielh Neelsen modifiée sur étalements obtenus directement ou après des techniques de concentration. Les cryptosporidies apparaissent alors en rose fonce ou en rouge, contrastant avec le reste des matières fécales colorées en vert. (http://www.infectiologie.org.tn)



**Figure 07:** Oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans les selles. Coloration Ziehl Nielsen, x40

2.3.3.7 Traitement

À l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement curatif, c'est-à-dire qui n'élimine pas

l'agent pathogène. Cependant, il est possible de diminuer les symptômes de la maladie grâce à

des antibiotiques de la classe des rifamycines. Il n'existe pas de vaccin contre la

cryptosporidiose. Des essais en médecine vétérinaire de l'utilisation d'un charbon activé et

d'un mélange d'acides organiques ont démontré une diminution de 67 % de l'excrétion, une

amélioration de la clinique et une amélioration de la croissance des animaux. (DEROUIN F et

al; 2007)

2.3.3.8 Prévention

La prévention est la méthode la plus efficace pour diminuer l'impact de cette maladie sur

la population. Il s'agit de suivre des règles d'hygiène alimentaire en évitant l'ingestion d'eau ou

d'aliments pouvant être souillés par des matières fécales contenant le pathogène.

Chez les patients immunodéprimés, la prévention peut passer par la consommation d'eau

en bouteille uniquement. La prévention collective est également mise en place en protégeant

les ressources naturelles d'eau, ainsi que les réseaux de distribution d'eau, des sources de

contamination. (Chabasse.C et al; 2002)

2.3.4 Isosporose

L'isosporose est une parasitose intestinale produites principalement par une coccidie

intracellilaire due isospora belli, qui probablement parasitent l'homme est un parasite d'un

cycle monoxene, c'est-à-dire qu'il ne présente qu'un seul hôte. (Chabasse.C et al ; 2002)

2.3.4.1 Classification

Embranchement : Apicompexa

Classe: Coccidea

Ordre: Eimeriida

Famille : Eimeriidae

Genre: Isospora

Espece: Isospora belli (Claude Moulinier; 2002)

Page 15

### 2.3.4.2 Epidémiologie

Les conditions d'hygiène-sanitaires sont déterminantes pour la transmission de cet organisme, qui est acquis par ingestion de nourriture et d'eau contaminée par des excréments qui contiennent des oocystes de ce parasite.

Des cas ont été signalés dans le monde entier, mais la fréquence est plus élevée dans les zones tropical et subtropical.

Il a été démontré que *Isospora belli* est un parasite opportuniste depuis l'apparition Le sida est devenu très important en raison de l'augmentation du nombre de cas signalés. (Neira O; 2010)

### 2.3.4.3 Biologie et morphologie de parasite

Isospora belli est la seule espèce du genre Isospora spécifique de l'homme. Rencontrée dans la majorité des cas chez les sujets infectés par le VIH, cette infection opportuniste à tropisme intestinal est responsable de diarrhées.

L'isosporiose est considérée comme une maladie parasitaire à une transmission orofécale, par le biais de matières fécales contaminées, puisque La contamination s'effectue par ingestion d'oocystes *Isospora* belli.

L'oocystes est des structures ovales qui ont une couverture transparente, et on observe à l'intérieur un ou deux sporoblastes, ou la Présence de trophozoïtes. (Chabasse.C *et al* ; 2002)



Figure08 : oocyste sporulé d'Isospora belli

### 2.3.4.4 Cycle évolutif

- \* au moment de l'excrétion, l'oocyste immature contient habituellement un sporoblast.
- \*Après avoir été excrété, le sporoblaste est divisé en deux et sécrètent une muqueuse kystique, devenir sporozoïtes; et les sporozoïtes sont divisés deux fois pour former quatre sporozoïtes.
- \* L'infection se produit par ingestion d'oocystes Spores qui sont délogées dans l'intestin grêle proximal (duodénum et jéjunum) Là où il a son habitat final. Les sporozoïtes sont libérés et envahissent les cellules épithéliales intestinales à l'aide du complexe apical, où elles se développent en trophozoïtes.

Ceux-ci subissent une division asexuée par la schizogonie.

- \* Pour donner naissance à un ezquizonte avec une grande quantité de mérozoites (stades asexués uninucléés libérés lors de la rupture de la cellule hôte et de la souffrance des schizontes (stades asexués multinucléés) matures de désintégration; Les mérozoïtes libérés envahissent de nouvelles cellules Les cellules épithéliales, et continuent leur reproduction asexuée
- \* pour finalement se différencier Transformé en macrogametocytes (femelle) et microgamétocytes (mâle)
- \*et commencez le Cycle sexuel par sporogonie et donner naissance à un macrogameto et un microgameto, qui En dehors et sur la paroi intestinale, on effectue la fertilisation pour donner naissance à Un zygote qui se transforme en oocystme immature. La maturation de l'oocystème se produi Passage intestinal vers l'extérieur avec des matières fécales. (Ajeagah G *et al* ; 2014) , (Neira O; 2010)

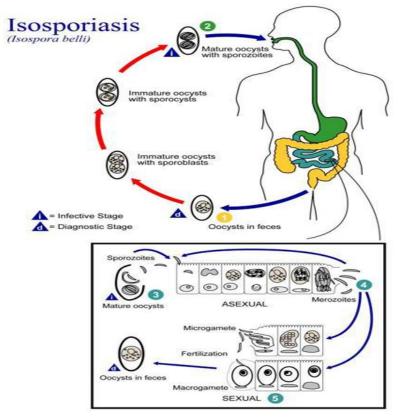


Figure 09 : Cycle évolutif de Isospora belli

### 2.3.4.5 Pathogénie

Isospora belli peut provoquer une atrophie des villosités et une hyperplasie des cryptes dans l'intestin grêle. Ainsi que la réaction inflammatoires dans la lamina propria comprennent des éosinophiles, des neutrophiles, des lymphocytes et des cellules plasmatiques. Le mécanisme précis qui entraîne ces changements est inconnu, Épaississement des villosités intestinales ils peuvent conduire à Syndrome de Malabsorption.

L'infection des voies biliaires par Isospora belli est également possible. Le parasite peut compléter son cycle de vie dans les voies biliaires et les oocystes peuvent être observés dans la bile. (Bialek R *et al*; 2001)

### 2.3.4.7 Diagnostic de l'isosporose

Le diagnostic d'isosporose repose sur la mise en evidence des oocystes d'*Isospora belli* dans les selles. Les oocystes ont une forme ovalaire et mesurent de 25 à 30 µm de long sur 12 à 16 µm de large. Ils contiennent un sporoblaste et parfois deux sporocystes plus ou moins differencies. (Ajeagah G *et al* ; 2014) ; (http://www.infectiologie.org.tn)



**Figure 10** : Structure des oocystes d'*I. belli*. Après coloration au Lugol dans les selles, x400; noter la présence de 2 sporocystes

### 2.3.4. 8 Prévention

Une seule prévention : les mesures d'hygiène individuelle. Il n'y a pas de chimioprophylaxie. Le seul moyen de se préserver de cette infection est la prévention individuelle, avec mise en pratique de mesures hygièno-diététiques visant à réduire le risque de contamination. (Chabasse.C *et al* ; 2002)

### 2.3.5 cyclosporose

L'infection à *Cyclospora* ou Cyclosporose est due à un protozoaire, *Cyclospora cayetanensis*, dont le réservoir est strictement humain.

C'est en 1977 que le potentiel pathologique de *Cyclospora cayetanensis* est reconnu pour la première fois. Une alerte épidémique en Amérique du Nord entre mai et juillet 1996 attire l'attention de la communauté scientifique. (ORTEGA *et al* ; 1997)

### 3.2.5.1 Classification

Embranchement : Apicomplexa

Classe: Sporozoea

Ordre: Eucoccidiorida Famille: Emeriidae Genre: Cyclospora

Espece: Cyclospora cayetanensis (Claude Moulinier; 2002)

### 2.3.5.2 Epidémiologie

La cyclosporose est une coccidiose apparentée aux autres coccidies d'intérêt médical, c'est un protozoaire, parasite intracellulaire obligatoire. L'homme est le seul réservoir de parasite. La contamination humaine se fait par voie féco-orale par ingestion d'eau et ou d'aliments (fruits, végétaux consommés crus) souillés par des oocystes matures et infestant. (Ynés R *et al* ; 2010), (Chacín-Bonilla *et al* ; 2010)

### 2.3.5.3 Cycle évolutif

C. cayetanensis est un parasite intracellulaire dont le cycle biologique de type monoxène n'est pas complètement caractérisé. Celui-ci débute par l'ingestion d'oocystes matures et sporulés c'est-à-dire renfermant chacun deux sporocystes contenant chacun deux sporozoïtes infectants.

Sous l'action des sucs digestifs, les sporozoïtes sont libérés dans la lumière intestinale et pénètrent les entérocytes de l'intestin grêle. La multiplication asexuée produit des mérontes de type 1 et 2. Ces derniers peuvent évoluer vers un stade sexué, avec la formation de gamètes mâles (microgamétogonie) ou femelles (macrogamétogonie). La fusion des gamètes donne naissance à un oocyste (8 à 10 µm) immature excrété dans les selles à la mort de l'entérocyte. Le parasite ne devient infectieux qu'après une maturation dans le milieu extérieur dépendant de la température (une à deux semaines si la température est comprise entre 23 et 27°C), l'oocyste acquérant alors sa forme dite sporulée. (http://www.infectiologie.org.tn)

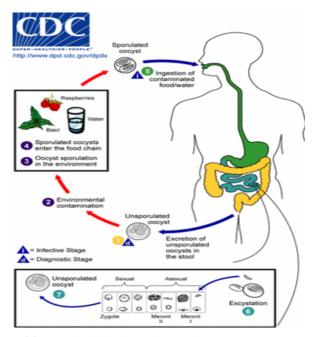


Figure 11 : Cycle biologique de Cyclospora cayetanensis

### 2.3.5.4 Diagnostic de la cyclosporose

Le diagnostic repose sur l'examen parasitologique des selles. Il doit être répété (au moins trois examens de selles espacés), effectués rapidement après émission à cause de la grande sensibilité 2 des oocystes à la dessiccation. Une méthode de concentration (méthode de Ritchie) est indispensable du fait de la faible excrétion des oocystes. Les oocystes se présentent à l'examen microscopique comme des éléments sphériques à double paroi épaisse, de l'ordre de 8 à 10 µm de diamètre (figure12). Ils sont colorés en rouge sur fond vert par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée, comme les oocystes de *Cryptosporidium*, mais ceux-ci sont plus petits (ils ont 4 à 6 µm de diamètre). Il est nécessaire de bien préciser au laboratoire le parasite recherché. (Chabasse.C *et al* ; 2002), (http://www.infectiologie.org.tn)

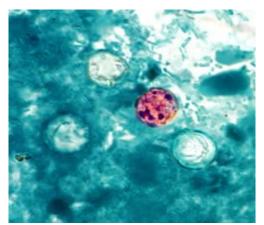


Figure12 : Oocystes de Cyclospora cayetanensis

### 2.3.5.5. Prévention

Les oocystes de *C. cayetanensis* sont très résistants dans le milieu extérieur. Ils résistent à la chloration, à l'iode. Ils sont inactivés par la chaleur à 70°C pendant 15 mn, à la congélation à 20°C pendant 48 heures.

La prévention repose sur les règles hygièno-diététiques classiques :

- Respect des règles d'hygiène de base, lavage soigneux des mains notamment en sortant des toilettes, lavage des ustensiles de cuisine et du plan de travail, en particulier avant de manipuler des aliments.
- Lavage soigneux des aliments (fruits et légumes consommés crus) pouvant être souillés par des oocystes de *Cyclospora*, avec de l'eau destinée à la consommation humaine.
- Cuisson des aliments, si les conditions de lavage ne peuvent pas être appliquées (manque d'eau ou eau de provenance douteuse), en particulier en zone d'endémie. (Chacín-Bonilla *et al* ; 2010)

### 2.3.6 Les ciliés intestinaux

### 2.3.6.1 Généralité sur les ciliés

Les ciliés sont des protistes évolues. Anciennement appelés infusoires.les ciliés constituent une classe unique.ils vivent dans tous les milieux aquatiques et se caractérisent par la présence d'une bouche. D'un anus et au moins a une étape de leur cycle de vie.par des cils vibratiles utilises pour la nage.la marche ou pour faire bouger l'eau qui les environne de façon a se procurer de la nourriture .leur cellule contient deux noyau le macronucléus et le micronucleus .implique dans la reproduction sexuée ou conjugaison.

Les ciliés se multiplient en outre par scissiparité transversale ou de nombreux ciliés vivent commensaux dans la pense des herbivores dont ils partagent la nourriture .sous une forme parasitaire. L'un d'eux vit dans l'intestin humain ou il provoque une inflammation appelée balantidiose. (André Beaumont ; 2010)

### 2.3.6.2 Classification

Elle est basée essentiellement sur la disposition et la dimension des cils vibratiles

À cote des cils simples. On trouve des organites plus volumineux constitues par des cils agglomeres.

Revue bibliographique

On distingue deux classes:

classe des holotriches :

Ciliés dont la ciliature est faite de cils simple et de membranelles.la classification

interne de cette classe se fait d'après la position de la bouche.

Exemple: Colpodium colpoda. Paramecium caudatum.

classe des spirotriches :

Ils présentent des organites ciliaires complexes comme des cirres ou des membranes

ondulantes formant une frange adorale. (André Beaumont; 2010)

Exemple: balantidium coli, stylonychia

2.3.6.2 Balantidiose intestinale

La balantidiose, ou balantidiase, est une maladie infectieuse due à un parasite :

Balantidium coli. Il s'agit d'une maladie parasitaire du côlon, dû à l'infestation du

seul protozoaire cilié parasite de l'homme (Balantidium coli). Elle considère comme une

maladie beaucoup plus professionnelle.

Le Balantidium du côlon (Balantidium coli), fait partie d'est un gros protozoaire cilié

commensal du porc, du singe et parfois du rat, qui détermine accidentellement chez l'homme

une parasitose intestinale : la balantidose. C'est le plus gros protozoaire et le seul cilié

pathogène pour l'homme. (FREDERICK L et al; 2008)

> Classification :

Embranchement : Ciliophora

Classe: Litostomatea

Ordre: Vertibuliferida

Famille: Balantidiidae

Genre: Balantidium

Espèce: Balantidium coli

(Claude Moulinier; 2002)

Page 23

#### > La morphologie

#### A. La forme végétative :

Dans les selles, le *Balantidium* a une forme ovalaire de 80 micromètres en général (mais qui peut aller de 30 à 300 microns). Les mouvements de ses cils sont coordonnés et il se déplace en spirale. Il possède 2 noyaux dont seul le plus gros est visible sans coloration :

- le *macronucleus* réniforme (ou noyau végétatif), servant aux fonctions végétatives.
- le *micronucleus*, situé dans la cavité du précédent, qui assure les fonctions de reproduction.

Ce protozoaire présente de nombreuses vacuoles digestives où sont digérés, bactéries, débris cellulaire. Dans sa région postérieure est situé un pore (le cytoprocte) d'où sont expulsés les résidus alimentaires dans le milieu externe. On observe à chaque pôle de la cellule une vacuole pulsatile qui maintient la pression osmotique en évacuant l'eau qui pénètre en permanence dans le corps cellulaire. (Schuster F *et al* ; 2008)

#### **B.** Forme kystique:

Dans le milieu extérieur, la forme de résistance du *Balantidium* est représentée sous forme de kyste entouré d'une paroi épaisse. De forme sphérique (diamètre: 50 micromètres), c'est l'élément contaminant l'homme par voie orale. (FREDERICK L *et al* ; 2008)

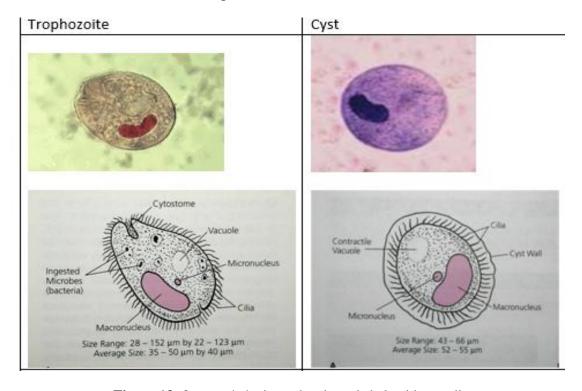


Figure 13: forme végétative et kystique de balantidose coli

#### > Cycle évolutif

Son cycle évolutif comporte deux stades : un stade trophozoïte cilié et un stade kystique avec résistance environnementale. Les kystes sont infectieux. Après avoir été ingérés, les kystes perdent leur coque protectrice dans l'intestin grêle et les trophozoïtes se fixent sur la muqueuse de l'iléon terminal et du côlon âpre il aura une émission des kystes puis une transmission orale. . (FREDERICK L *et al* ; 2008)

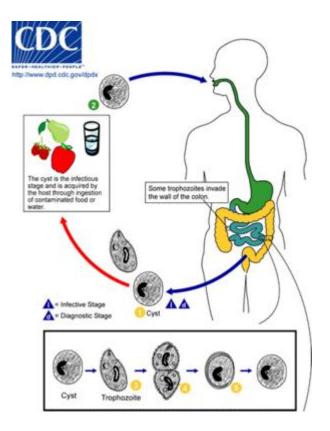


Figure14: Le cycle évolutif d'un balantidium coli

#### > pathogénicité et toxicité

Les foyers d'infection (> 95 %) les plus courants de B. coli sont l'iléon terminal et le côlon, en particulier la région rectosigmoïdienne. B. coli est le seul protozoaire cilié qui s'avère pathogène chez l'humain; l'infection du tractus gastro-intestinal est souvent bénigne et peut être asymptomatique. Les infections à B. coli ressemblent à l'amibiase, en ce sens qu'elles peuvent être asymptomatiques.

Toutefois, il est possible d'observer des symptômes de dysenterie chez des patients malnutris, alcooliques ou immunodéprimés En phase aiguë, la balantidiase fulminante se caractérise par une diarrhée intense et des selles muco-sanglantes, des nausées, des vomissements, des céphalées; elle affiche un taux de mortalité de 30 % Les infections chroniques se manifestent par une diarrhée non sanglante, des crampes, une halitose et des douleurs abdominales consécutives à un envahissement du gros intestin par les trophozoïtes

Les protozoaires qui infiltrent la sous-muqueuse peuvent provoquer des abcès et des lésions hémorragiques pouvant finalement entraîner une appendicite et des infections secondaires d'origine bactérienne, telles que des infections utérines, une vaginite ou une cystite. (BOUREE P; 2016), (Schuster F et al 2008)

#### 2.3.6.3 Symptômes et complication :

Balantidiose est une infection intestinale rare causée par la bactérie, Balantidium coli, un seul parasite unicellulaire (protozoaire cilié) qui infecte fréquemment les porcs, mais parfois (rarement) infecte les humains. Certaines personnes infectées ne présentent aucun symptôme ou seulement la diarrhée légère et des douleurs abdominales, mais d'autres peuvent éprouver des symptômes plus graves qui rappellent d'une inflammation aiguë de l'intestin. Les symptômes de Balantidiose peuvent être similaires à ceux d'autres infections qui causent l'inflammation intestinale, par exemple, la dysenterie amibienne.

- Une dysenterie, s'accompagnant de selles glaireuses, et de sang avec douleurs abdominales
- Des hémorragies intestinales associées à une péritonite, et à une colite (inflammation du côlon) chronique (s'étalant sur une longue période). (BOUREE P; 2016)

#### > Diagnostic

Balantidiasis est diagnostiquée par un examen microscopique des selles d'un patient. Un échantillon de selles est recueilli et un montage humide est prêt. Les trophozoïtes ou kystes peuvent être détectées dans les selles. Balantidium coli est transmis périodiquement, par conséquent les échantillons de selles doivent être recueillis et examinés fréquemment immédiatement afin de faire un diagnostic définitif.

Revue bibliographique

Les trophozoïtes peuvent également être détectée dans les tissus. Afin de recueillir un

échantillon de tissu de l'intestin, une sigmoïdoscopie procédure est utilisée. Une fine, creuse

instrument appelé sigmoïdoscope est utilisé pour inspecter visuellement les sections du gros

intestin : le rectum et le côlon sigmoïde. Un médecin peut chercher des hémorragies, des

ulcères, et de l'inflammation afin de diagnostiquer la cause de la diarrhée et d'autres plaintes

gastro-intestinales, et peut prendre une biopsie de tissus pour l'inspection. (BOUREE P. 2016)

2.3.6.4 Prophylaxie

La prévention et basée sur les mesure d'hygiène ainsi que l'assainissement permettra de

prévenir la propagation de la maladie car la transmission se fait par l'ingestion d'aliments

contaminés et l'eau. Ainsi, la purification de l'eau potable est essentielle. La manipulation des

aliments et la cuisson peut aussi aider à prévenir l'infection. En diminuant l'exposition à des

excréments de porc ou porc permettra de réduire les risques d'infection. (FREDERICK L et al

; 2008)

2.3.7 Blastocystose intestinale

Blastocystis sp est actuellement considère comme un protozoaire pathogène émergent

ou re-émergent en effet c'est un parasite unicellulaire très largement rencontre dans le transit

intestinal de l'homme et de divers animaux. Il présente donc un intérêt non négligeable pour

la sante publique. (Stenzel DJ et al; 1996)

2.3.7.1 Classification

Embranchement: Chromalveolata

Classe: Blastocystae

Ordre: Blastocystida

Famille: *Blastocystidae* 

Genre: Blastocystis spp (Vogelberg C; 2010)

Page 27

# 2.3.7.2 Épidémiologie

Blastocystis est un genre de protozoaires parasite émergent unicellulaires appartenant au groupe des straménopiles qui inclut des algues, les diatomées et les oomycètes.qui est responsable d'infection cosmopolite fréquente. Le groupe des Blastocystis comprend de nombreuses espèces, vivant dans le tractus gastro-intestinal d'espèces aussi diverses que l'homme, les animaux de ferme, les oiseaux, les rongeurs, les reptiles, les amphibiens, les poissons et les cafards. La maladie hydrique qu'ils peuvent provoquer est appelée blastocystose. (COYLE CM et al; 2012)

#### 2.3.7.3 La morphologie

Les *Blastocystis* avoir des morphologies variées en quatre formes sont souvent décrites: **vacuolaire**, **granulaire**, **amiboïde** et **kyste**. La morphologie de l'organisme dépend largement des conditions environnementales notamment de l'oxygène. La présence de toutes ces formes dans l'intestin de l'hôte n'est pas claire. (Vogelberg C; 2010)

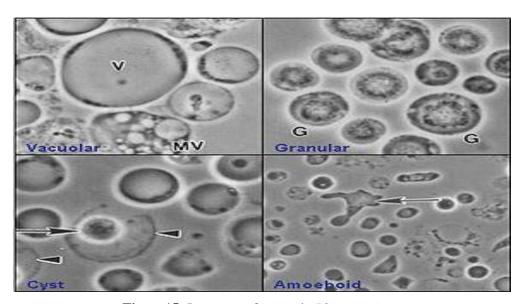


Figure15: Les quatre formes de Blastocystis sp

#### **2.3.7.4** Cycle de vie

Le cycle de vie présumé commence avec l'ingestion de kystes. Après ingestion, le kyste se transforme vers les autres formes qui peuvent à leur tour se re-transformer en kystes. Ces kystes sont relâchés dans l'environnement extérieur par les excréments et sont transmis à l'homme et à d'autres animaux par la voie fécale-orale pour répéter l'ensemble du cycle. (Maylis de L ; 2011)

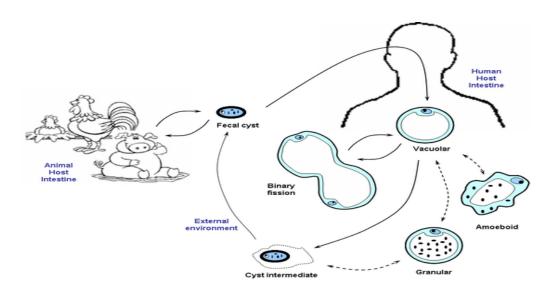


Figure16:Cycle de vie de Blastocystis

#### 2.3.7. 5 Mode de transmission

La transmission se produit par la voie oro-fecale par absorption d'eau ou d'aliments soulés par des formes kystique de Blastocystis sp.il s'agit donc d'une transmission indirecte aisée liée au péril fécal.

Il existe également une transmission directe qui est surtout rencontrée chez les homosexuels ou bien lors d'auto infestation. (Majer S et al; 2015)

#### 2.3.7.6 Diagnostic

Il repose sur la mise en évidence du parasite dans les selles fraîchement émise, les techniques d'enrichissement entraînant souvent sa lyse et la technique recommandée est celle de Ritchie. La coloration au lugol permet de confirmer le caractère non iodophile de la vacuole.

La culture de ce parasite s'effectue dans un milieu à protozoaire, en anaérobiose à 37C à pH neutre, en présence de germes fécaux. Le temps de pousse est de 24 à 48 heures.

(Majer S et al; 2015); (Pinel C et al; 1999)

#### 2.3.7.7 Prévention

La prévention de Blastocystis sp et autres parasites peut être fait si certaines précautions sont utilisées lors de voyages dans des pays à haut risque. Ne pas manger de la viande insuffisamment cuite ou de poisson , le lait non pasteurisé ou de la crème glacée , de la nourriture auprès des vendeurs et des fruits comme les baies ou raisins et des salades rue . Mangez des aliments qui sont cuits à travers et servis chauds et de fruits que vous pouvez peler comme les bananes et les oranges. Ne buvez pas l'eau du robinet et garder la bouche fermée lors de la douche. Utiliser de l'eau en bouteille pour boire et se brosser les dents. Sodas et bière devraient être en sécurité dans leur contenant d'origine aussi longtemps que vous cassez le joint vous. Lavez-vous les mains fréquemment et toujours après avoir utilisé les toilettes ou avoir changé une couche. Si une installation de lavage n'est pas disponible, utiliser un désinfectant pour les mains. (Majer S et al ; 2015)

# 

#### 3. Matériel et méthodes

Ce travail se propose d'évaluer la prévalence des protozooses intestinales humaines chez des patients adressés à l'établissement hospitalier Didouche Mourad et d'identifier les espèces à l'origine de ses protozooses afin de développer des mesures de prévention.

#### 3.1. Population, lieu et durée de stage :

Il s'agit d'une étude descriptive analytique rétrospective portant sur les résultats des examens parasitologiques des selles (EPS) réalisés chez les adultes et les enfants au sein du laboratoire de parasitologie - mycologie à l'EH de Didouche Mourad sur une période de 15 mois.

Dans notre étude, nous avons analysés 402 prélèvements de selles dont 79 étaient positifs, les 323 cas ont été exclus (cas négatifs), parmi les patients inclus, 64 cas représentaient les malades consultant en ambulatoire et 15 cas étaient des malades hospitalisés.

Après collecte des données et leur saisie, l'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel Excel adapté à l'épidémiologie.

#### 3. 2. Matériel:

#### 3.2.1. Matériel utilisé :

- Microscope optique
- Centrifugeuse
- Etuve
- Une hotte
- Bec bunsen
- Entonnoir
- Supports pour les tubes
- Pipette Pasteur
- Lames et lamelles
- Tubes secs
- portoirs



**Figure17 :** Matériel de laboratoire utilisé pour le diagnostic des parasitoses.

#### 3.2.2. Milieux de culture :

- Milieu de Loock- Egg (Annexe 01)
- Milieu de Jone's (Annexe 02)

## 3.2.3. Produits et réactifs chimiques:

Des solutions nécessaires pour les concentrations et les colorations (tampon acéto-acetique, formol, colorants...).

Colorant MIF (merthiolate, iode, formol)

- -Alcool absolu
- -Acétone
- Formol à 10%
- Glycérine
- Eau distillée
- Eau physiologique stérile
- Iode
- lodure de potassium
- Ether éthylique
- Acide acétique
- Méthanol
- Phénol
- Colorant de Giemsa en poudre
- Glycérol
- -Noir chlorazol
- -MGG (May grunwald giemsa)
- Chlorure de sodium NaCl
- -Chlorure de calcium Ca<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>
- Chlorure de potassium KCl
- -Chlorure de magnésium MgCl



**Figure 18 :** Réactifs utilisés au laboratoire pour la coproparasitologie des selles.

#### 3.3. Méthodes:

#### 3.1. Recueil des données :

La collecte des renseignements a été faite à partir des registres de l'unité de parasitologie mycologie, et à partir des dossiers des patients hospitalisés.

Des fiches d'exploitations étaient obligatoirement remplies comprenant: l'identité des malades (nom, prénom, sexe, âge, adresse), la date de l'analyse, le service demandeur, les renseignements cliniques, et les différentes explorations biologiques quand elles existaient et enfin les résultats des examens macroscopiques et microscopiques des EPS. (Annexe 03)

# 3.2. Définition du cas positif :

Un sujet est considéré parasité lorsque l'examen direct suivi par la technique complémentaire de la selle révèle la présence d'un ou de plusieurs parasites sous diverses formes : forme kystique, forme végétative.

# 3.3. Étude parasitologique des selles :

Les selles constituent le véhicule normal des formes de dissémination des parasites dans le milieu extérieur. L'examen parasitologique des selles met en évidence et identifie les parasites éventuellement présents à l'intérieur du tube digestif humain. Cette analyse permet le dépistage et le diagnostic étiologique des maladies parasitaires, ce qui permet au clinicien de démarrer ou de réajuster une action thérapeutique efficace bien adaptée au malade et à son contexte épidémiologique.

# 3.3.1. L'examen macroscopique :

#### II faut noter:

- la couleur et la consistance de la selle/ ainsi que la présence éventuelle de sang, de glaires, de mucosités et de pus.
- l'aspect des selles (dures, moulées, molles, pâteuses, liquides).
- présence d'éléments ou résidus nutritionnels non digérés.

Sur des selles moulées ou pâteuses, rechercher particulièrement les œufs d'helminthes
et les kystes de protozoaires. Pur contre, sur des selles molles, diarrhéiques ou mucosanguinolentes, rechercher avant tout les formes végétatives des protozoaires.
(QUEBEC; 2014);(OMS; 1993)



Figure19: Prélèvement des selles

## 3.3.3.2. L'examen microscopique :

C'est le procédé le plus simple, le plus rapide et le moins coûteux qui permet d'observer les parasites dans les selles. Il peut montrer aussi la mobilité des formes végétatives des protozoaires. Il doit comporter deux préparations, la première à l'eau physiologique et la deuxième au lugol.

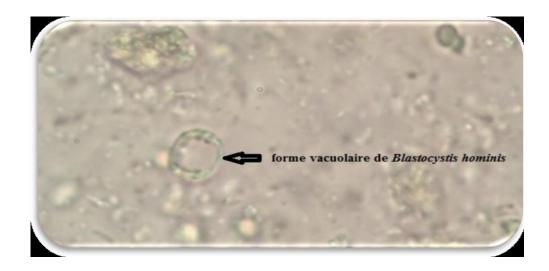
# • Distribution des protozoaires intestinaux dans les selles (QUEBEC ; 2014)

<u>Selles</u>	<u>Kystes</u>	<b>Trophozoïtes</b>
Fermes		<b>A</b>
Pâteuses		
Molles		
Liquide		

#### a). Examen direct à l'eau physiologique (état frais)

Prélever à l'aide de l'anse de platine une fraction de matière fécale et la diluer dans l'eau physiologique dans un tube à hémolyse (à défaut des vers à pied) bien triturer, puis déposer une goute de la suspension sur la lame.

La préparation doit être mince et examiner en entier ; tout d'abord au grossissement (objectif x 10), une fois les éléments parasitaires suspects repérés on les confirme au grossissement (objectif x 40). (Bouree P ; 1987)



**Figure 20 :** Forme vacuolaire de *Blastocystis* sp. Examen direct à l'état frais. Objectif  $\times$  40.

#### b). Examen après concentration - Méthode de Ritchie-

Cette technique permet d'augmenter la sensibilité de la recherche des formes kystiques, mais ne permet pas la mise en évidence des formes végétatives.

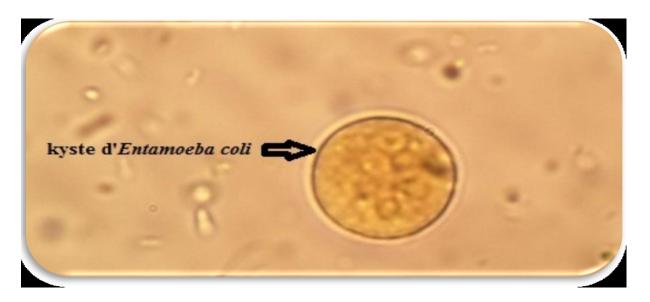
La concentration est obtenue en combinant la sédimentation à la centrifugation et l'élimination des résidus de la digestion par l'action dissolvante de l'éther éthylique. Cette technique permet de bien concentrer les kystes des protozoaires. (Bouree P ; 1987) ; (OMS ;1993)

#### • Réalisation

**1.**Diluer 1 volume de selle dans 10 volumes de réactif de Ritchie (100 mL de formol, 9g de NaCl, 900 mL d'eau distillée) (Annexe04)

- 2. Mélanger et laisser sédimenter quelques secondes
- 3. Transvaser dans un tube à centrifuger
- **4.** Ajouter de l'éther (inflammable) : 1/3 d'éther pour 2/3 du mélange
- **5.** Boucher et mélanger par retournements pendant 30 secondes
- 6. Centrifuger 2 min à 1500 tr/min
- **7.** Eliminer le surnageant par retournements
- **8.** Faire un examen direct sur le culot de centrifugation

#### Résultat:



**Figure21:** Kyste d'*Entamoeba coli*. Examen âpres concentration par la technique de Ritchie. Objectif  $\times$  40

Les étapes de cette technique sont mentionnées avec des images dans le tableau suivant :

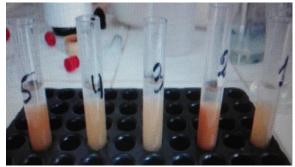
**Tableau 01 :** les étapes de technique de concentration formol-éther (Ritchie)



1): Prélèvement de la selle



2): Dilution de la selle dans le formol et filtration



3): Remplissage du tube avec 1/3 dilution de selle et 2/3 éther



4): Centrifugation 2500 t/mn pendant 02 à 03 minutes



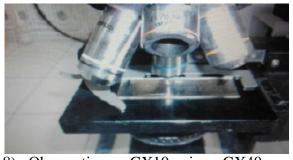
5): Formation du culot de centrifugation



6) : Récupération du culot après avoir jeter le surnagent



7) : Prélèvement d'une goute de culot et examen avec une goute de lugol



8): Observation au GX10 puis au GX40

#### c). Examen après coloration au lugol

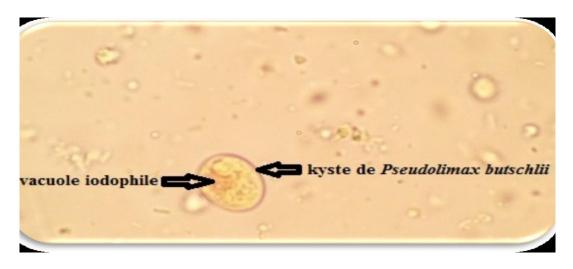
La coloration au lugol est utilisée pour identifier des formes kystiques de protozoaires (surtout d'amibe) dans les selles.

Elle permet de mieux visualiser certains éléments d'identification : vacuole, noyau, caryosome. (OMS ; 1993)

#### Réalisation

Même procédure que l'examen précédent à l'état frais mais en diluant les matières fécales dans une goutte de Lugol.( Annexe05)

La coloration au lugol permet de colorer et d'apprécier l'iodophilie des vacuoles de certains protozoaires ( *Pseudolimax butchlii*) en les colorant en brun et surtout d'étudier la structure des noyaux des kystes des protozoaires.



**Figure 22:** Kyste *Pseudolimax butchlii* Examen direct au Lugol. Objectif × 40.

#### d). Examen après coloration au MIF (Merthiolate, Iode, Formol)

Elle permet de mieux visualiser certains éléments d'identification : le cytoplasme est coloré en rouge et les structures nucléaires ressortent en rouge sombre ou noir. (OMS; 1985) , (OMS; 1993).

#### Réalisation

Réaliser un examen direct classique (une goutte d'eau physiologique sur une lame porte objet + un fragment de selle) ou utiliser le culot de centrifugation d'une technique de concentration.(annexe06).

Rajouter une goutte de MIF (Merthiolate, Iode, Formol).

#### Méthode en tube:

Préparer une suspension de selles dans le colorant (MIF) jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. A l'aide d'une pipette pasteur. On prend une goute et on observe au microscope à l'objectif x40.

La méthode de fixation et de coloration en tube permet une bonne observation de la structure nucléaire (chromatine, caryosome) nécessaires à l'identification des formes végétatives ou kystiques de nombreux protozoaires.

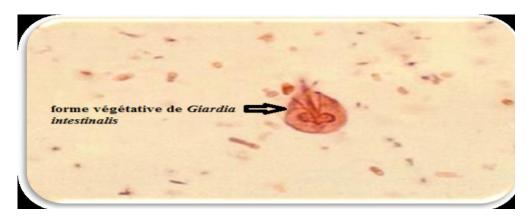


Figure23: Forme végétative de *Giardia intestinalis* colorée au MIF. Objectif × 40.

#### e- Coloration au Noir Chlorazol

C'est une coloration intéressante des protozoaires .Cette technique a l'avantage de réunir dans une seule opération la fixation, la coloration, et la différentiation des protozoaires.

La coloration est plus nette avec des selles fraiches. Le fond de la préparation est grisvert claire lorsque le frottis est mince, il est plus ou moins rouge si le frottis est épais. Chez les protozoaires : les noyaux et caryosomes, les corps sidérophiles et la membrane cellulaire vont du vert clair au noir. Les hématies vont du rose au rouge foncé, les fibres musculaires sont également colorées en rouge et les levures et bactéries sont par contre vert – foncé à noir.(OMS; 1987)

Les résultats seraient comparables à ceux de l'hématoxyline ferrique.

# g). Examen après coloration au GIEMSA

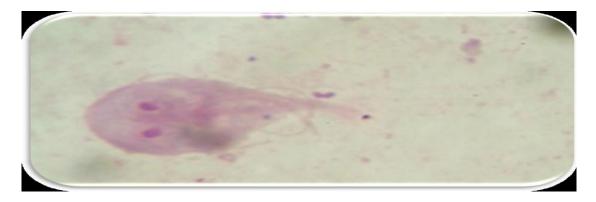
Cette technique est spécifique pour la mise en évidence des formes végétatives des flagellés (Annexe07)

#### • Réalisation

- Faire un étalement de selle sur une lame et laisser sécher à l'air pondant 3-5 min.
- -Fixer à l'aide du méthanol pendant 5 minutes ;
- -Préparer une solution à raison de 1/3 de solution mère de GIEMSA et 2/3 eau physiologique.
- -Verser la solution extemporanée sur la lame et laisser agir pondant 20-30 min.
- -Rincer les frottis à l'eau de robinet
- -Mettre une goutte de l'huile à immersion et observer au microscope optique gx 100.

#### • Lecture microscopique :

Le cytoplasme des formes végétatives est coloré en bleu alors que les flagelles et les noyaux sont colorés en rouge. (OMS ; 1993) , (Bouree ; 1987)



**Figure 24 :** Forme végétative de *Giardia intestinalis*. Coloration au Giemsa. Objectif  $\times 100$ .

#### **3.3.3.3.** Culture

En pratique on ne la met en œuvre que lorsque les examens microscopiques ont été Négatifs. Elle peut rendre service lorsque l'identification imprécise est gênée par un nombre réduit de trophozoïtes.

La culture des selles en milieux spécifiques pour les protozoaires permet la multiplication de rares amibes ou flagellés observés à l'examen direct et dont le diagnostic n'a pu être établi d'une façon certaine. Cet artifice technique est aussi un moyen pour mettre en évidence des protozoaires qui n'auraient pas été décelés d'emblée en particulier certains flagellés sans kystes (*Pentatrichomonas*) ou à kystes rares (*Enteromonas*). On ne devra pas toute fois s'imaginer que la coproculture pallie les insuffisances techniques. Il faut en outre souligner que *Giardia intestinalis* ne se multiplie pas sur les milieux ordinaires pour amibes et flagellés.

# 

## 4. Résultat

#### 4.1. Prévalence globale de protozoaires intestinaux :

Cet index (IPS) représente le pourcentage d'examens positifs par rapport au nombre global des examens effectués.

Parmi 402 prélèvements de selles analysés durant 15 mois 79 cas étaient positifs et 323 cas exclus de l'étude.

Nous avons trouvé 79 patients parasités dans la population d'étude, ce qui correspond à un taux global d'infestation de 19.65%.

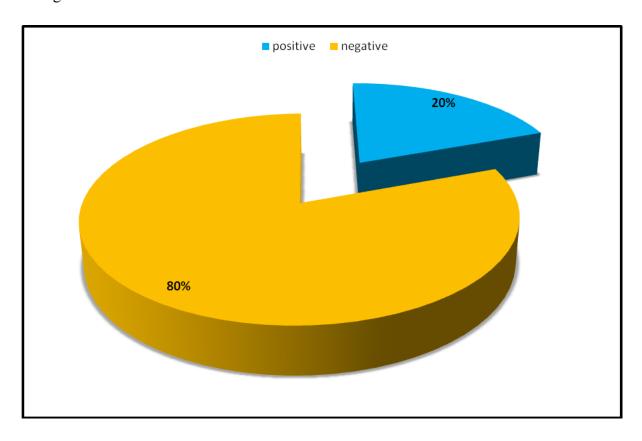


Figure24 : camembert représentant la prévalence globale de protozoaires intestinaux

## 4.2. Répartition des cas positifs selon le protozoaire isolée :

Les protozoaires intestinaux dans notre étude étaitent dominé par79 cas positifs, le *Blastocystis sp.* Était retrouvé 55 fois suivis par les amibes 36 cas.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau 02

Tableau 03: Répartition des cas positive selon le protozoaire isolée

Espèce	Nombre de cas + %
Blastocystis sp	55 (55%)
Entamoeba coli	04 (04%)
Entamoeba histolytica	04 (04%)
Entamoeba dispar	03 (03%)
Endolimax nanus	25 (25%)
Giardia intestinalis	05 (05%)
Chilimastix mesnili	04 (04%)
Cryptosporidium sp	00 (00%)
Isospora sp	00 (00%)
Cyclospora sp	00 (00%)
Balantidium coli	00 (00%)
	Entamoeba coli  Entamoeba histolytica  Entamoeba dispar  Endolimax nanus  Giardia intestinalis  Chilimastix mesnili  Cryptosporidium sp  Isospora sp  Cyclospora sp

# • Les différentes formes parasitaires retrouvées :

Les différentes formes des protozoaires retrouvées au cours de cette étude sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 03: Les différentes formes parasitaires diagnostiquées durant cette enquête.

Parasite	Forme végétative obj×100	Forme kystique obj×100
Entamoeba histolytica		
Entamoeba dispar		

Ent amo eba Coli

En dol ima x nan us

Chilomastix		
Mæsnilii		
rdi		
a		
inte		
stin		
alis		
ans		
	Bla	
	sto	
	cys	
	tis	
	ho	
	min	
	is	

#### 4.2.1. Prévalence des amibes

La prévalence des amibes est de 36, *Endolimax nanus* est observer chez 25% des patients examinés.

Cette figure représente la répartition des différentes espèces d'amibes :

Figure25 : camembert représentant la répartition des différentes espèces d'amibes

# 4.2.2. Prévalence e de Blastocystis sp

C'est le protozoaire classé au premier rang avec une prévalence de 55 %.

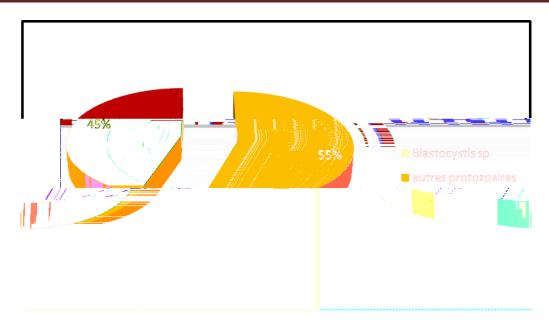


Figure26 : camembert représentant la prévalence de blastocystis sp

## 4.2.3. Prévalence e des Flagellés :

La prévalence des flagellés est de 9% répartis entre *Giardia intestinalis* et *Chilomastix mesnili* Cette Figure représente la répartition des différentes espèces de flagellés :

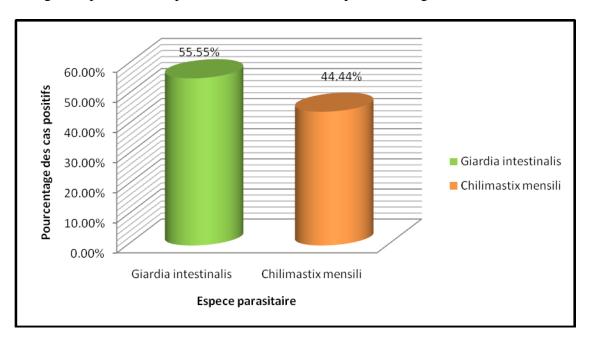


Figure27 : Histogramme représentant la répartition des différentes espèces des flagellés

# 4.3. Étude des cas positifs en fonction du sexe :

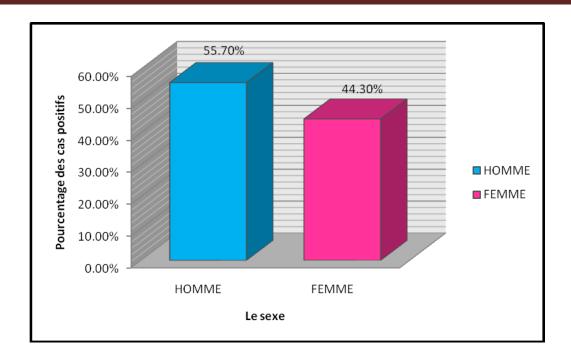


Figure 28 : Histogramme représentant les cas positifs en fonction du sexe

On observe une légère prédominance masculine avec Sex ratio H/F =1.25

# 4.4. Étude des cas positifs en fonction des années

Dans notre recherche le cas positifs en 2017 a était augmenté par rapport a 2016 avec un taux67.09 % face a 32.91%.

Tableau 04: Étude des cas positifs en fonction d'année

Année	Nombre des cas positive	Taux %
2016	26	32.91
2017	53	67.09

# 4.5.Étude des cas positifs en fonction de l'âge :

La tranche d'âge 20-29 est la plus élevée  $\,$  avec un taux de 35.44% suivie par la tranche  $\geq 9$  avec 20.26%

Les résultats sont mentionnés dans la figure suivante :

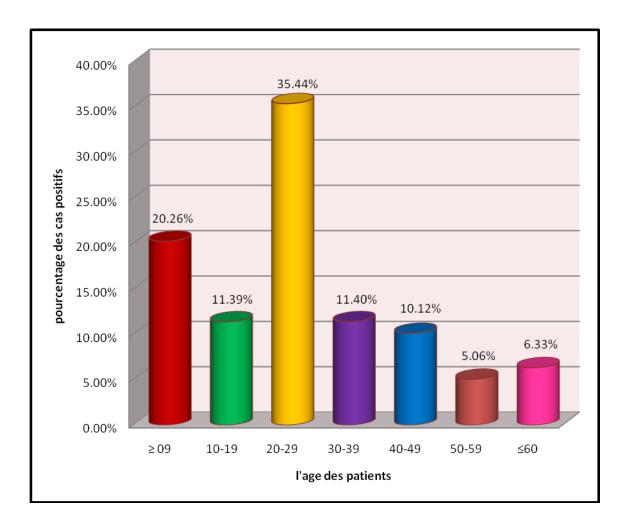


Figure29 : Histogramme représentant l'étude des cas positifs en fonction de l'âge

# 4.6. Étude des cas positifs selon les adresses

Parmi 79 cas positive isolée ,49 résident a Didouche mourad avec taux de 62.03%.

Les résultats sont mentionnés dans le tableau 04.

Tableau 05 : Étude des cas positifs selon les adresses

Adresse	Nombre de cas positifs	Taux %
Didouche Mourad	49	62.03
Hammâ Bouzienne	12	15.19
Ben Echergui	05	6.33
Bkira	06	7.59
Adresse non déclarée	07	8.86
Total	79	100

# 4.7. Étude des cas positifs selon l'association parasitaire

La plus part des patients ont était toucher par un seul protozoaire par un pourcentage de 72.21%.

Les résultats sont mentionnés dans la figure suivant :

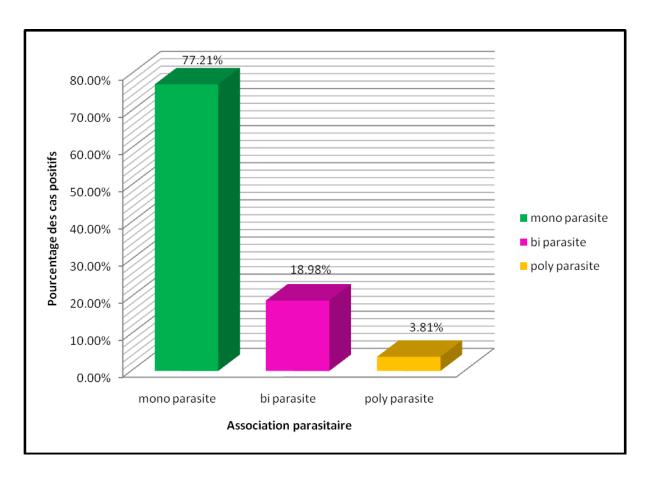


Figure 30 : Histogramme représentant l'étude des cas positifs selon

Dans les 14 cas de biparasitisme et 03 cas de polyparasitisme signalés, différentes espèces parasitaires étaient associées et cela est mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Fréquence selon l'association parasitaire

	Associations parasitaires	Taux%
	Entamoeba histolytica +Entamoeba dispar	1.27
	Entamoeba coli + Blastocystis hominis	2.53
Double	Blastocystis hominis+ Chilimastix mesnili	1.27
	Endolimax nanus +Chilimastix mesnili	1.27
	Endolimax nanus+ Blastocystis hominis	8.86
	Giardia intestinalis + Blastocystis hominis	2.53
	Entamoeba histolytica +Entamoeba dispar+ Endolimax nanus	1.27
Triple	Entamoeba coli + Blastocystis hominis +Endolimax nanus	1.27
	Endolimax nanus+ Blastocystis hominis+ Chilimastix mesnili	1.27

# 4.8. 'Etude des cas positifs selon la provenance:

Selon le statut hospitalier, 81.02% représenaient les patients consultant en externes et 18.98% les malades hospitalisés.

Nous avont noté une égalité des cas en provenance des services de Pédiatrie et des cas en provenance de services de médecine interne avec 7.59 %.

Les autres services sont aussi touchée mais avec un taux ne dépassant pas les 2 cas

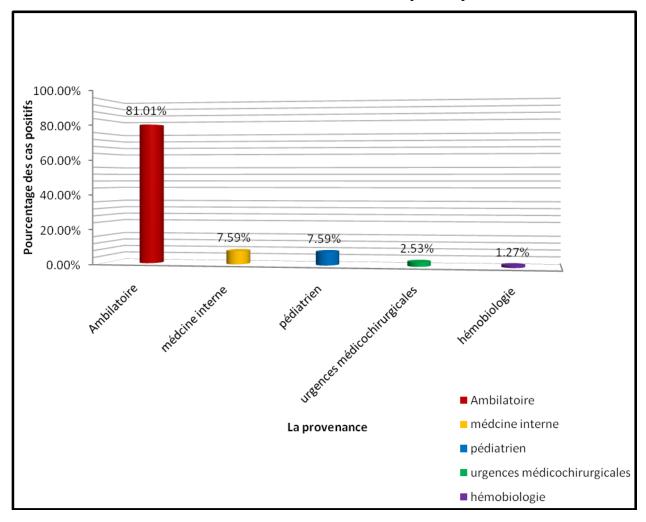


Figure31 : Histogramme représentant l'étude des cas positifs selon la provenance

## 4.9. Étude des cas positifs selon les signes cliniques :

Le nombre de cas le plus élevé a été marquée par les patients orientés pour bilans de travail avec un taux de 32.91%.

Parmi les cas déclaré on a observé que les douleurs abdominales étaient les plus fréquentes avec 17cas soit un taux de 21.52%.

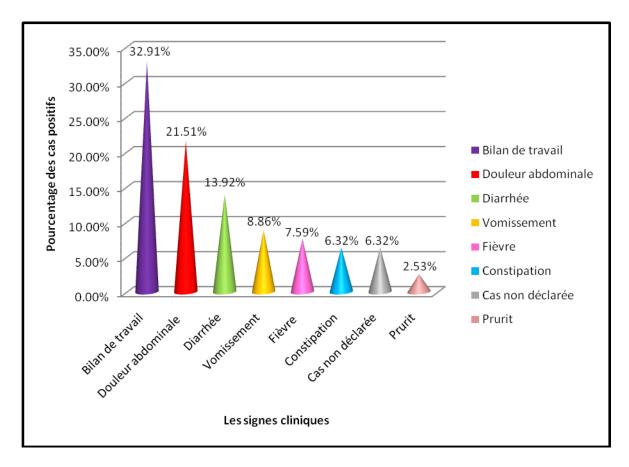


Figure 32 : Histogramme représentant l'étude des cas positifs selon les signes cliniques

# 

#### 5. Discussion

Les parasitoses intestinales touchent surtout les populations des pays en développement, En milieu tropical, elles constituent un problème de santé publique et exposent ces derniers à une morbidité et à une mortalité très élevées.

Le diagnostic de ces parasitoses exige donc un examen parasitologique des selles bien codifié aussi bien sur le plan technique que sur le choix de la méthodologie appliquée.

L'objectif de ce travail était de déterminer le taux de prévalence des protozooses intestinales diagnostiquées au service de parasitologie-mycologie de l'établissement hospitalier de Didouche mourad.

Une étude rétrospective analytique a été menée et a porté sur les résultats des examens de parasitologie des selles.

Dans notre étude, nous avons analysé 402 prélèvements de selles dont 79 étaient positifs, ce qui correspond à un taux global d'infestation de 19.65%, ce taux enregistré est inferieure à ceux retrouvés par nos voisins tunisiens qui ont noté des taux de 26.6% (Cheikhrouhou *et al*; 2009) et des taux de 30,6 % dans le bassin du fleuve Sénégal, (Faye O *et al*; 1998), Ces dernières valeurs traduisent probablement une hygiène précaire favorable au mode d'infestation par ingestion d'aliments souillés à la faveur des mains sales.

Par contre notre étude était supérieure à celle observée en Italy, (Calderaro *et al* ; 2013) qui a noté une prévalence de 16.6%. Cette différence du taux peut être expliquée par l'amélioration des conditions sanitaires et l'élévation du niveau de vie de la population.

Les 323 cas ont été exclus (cas négatifs), parmi les patient inclus, 64 cas représentaient les malades consultant en ambulatoire et 15 malades étaient hospitalisés dans les différents services de l'établissement hospitalier de Didouche mourad.

En fonction des espèces, l'examen parasitologique des selles a montré que *Blastocystis sp* était le plus fréquemment rencontré avec un taux de 55 % cette fréquence est supérieure à celle observée en Italy avec un pourcentage de 10.31 %.(Calderaro *et al* ; 2013)

La part de responsabilité de *Blastocystis*. *sp* dans la genèse des symptômes cliniques est délicate à appréhender dans la mesure où il est très souvent associé à de nombreux autres parasites et agents infectieux intestinaux. S'agit-t-il d'un agent pathogène ou bien est-t-il simplement opportuniste ?

Il convient dans un premier temps de rappeler les définitions des mots pathogène et opportuniste. On qualifie de pathogène ce qui provoque une maladie, en particulier un microorganisme capable de déterminer une infection alors qu'on qualifie d'opportuniste un microorganisme qui ne manifeste sa virulence que sur un organisme dont les défenses immunitaires sont affaiblies.

Des critères de pathogénicité ont été ainsi déterminés par certains auteurs qui stipule

- la constatation d'un nombre important de *Blastocystis sp*, supérieur à 5 par champ microscopique (au grossissement X 100)
- la présence de signes cliniques
- et surtout l'absence d'autre étiologies connue de diarrhée et troubles digestif (virale, bactérienne, parasitaire autre que *Blastocystis*...). (BOUREE; 2007)

Dans notre étude nous avons marqué que *Endolumax nanus* avec un taux de 25%, suivi d'*Entamoeba coli, Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* avec un pourcentage de 11%. Par contre, (Zida A *et al* 2014) ont trouvé *Entamoeba coli avec* un taux de (55.6%), *Entamoeba histolytica* (10.4%), *Endolumax nanus* (0.5%).

Le complexe E. histolytica/E. dispar a été trouvée avec un taux de 5.06% supérieur de celui noté par (Cheikhrouhou *et al*; 2009) seulement un taux de 2.2%, par ailleurs si on compare ce taux à une celui d'une étude antérieure menée par Allouache et al (non publié) à Constantine on le trouve proche (4,5%).

En effet l'émergence d'Entamoeba histolytica hématophage responsable des formes symptomatiques peut survenir même plusieurs années après la contamination, elle apparaît à l'occasion d'un affaiblissement de l'état général ou diminution des défenses immunitaires comme est le cas pour les personnes âgées, malgré cette fréquente de l'amibiase, il n'a été constaté que de rares formes dysentériques, ceci serait en faveur de la faible agressivité des souches d'amibes non pathogène. (Emile bonet; 2014)

Nous avons noté un taux de flagellés de 9% répartis entre *Giardia intestinalis* et *Chilimastix mesnilli*. représentés par deux espèces, la première est la plus fréquemment rencontrée avec un taux de 4%, ce chiffre est inférieur à celui retrouvé dans une étude faite en Tunisie par( Cheikhrouhou et al 2009) avec des taux de 28.6 % et supérieur celui retrouvé en Ouagadougou (4.7%),( Zida A *et al* 2014).

La Giardiose prédomine chez les enfants, essentiellement ceux vivant en collectivités, ce qui s'explique par une forte exposition au péril fécal en bas âge, et probablement aussi par une plus grande sensibilité au parasite dans cette tranche d'âge.( Euzeby J; 2002)

Le deuxième flagellé isolé dans notre étude est le *Chilomastix mesnilii*, parasite nonpathogène, avec une fréquence de 4%, qui est légèrement supérieure à celle rencontrée à Tlemcen (3.33%) et à Ouagadougou (2.7%).

On ne marque aucune présence de coccidies ; étant donné que ses parasites nécessitent des colorations spécifiques ( Ziehel Neelson) et qui ne sont pratiquées qu'a la demande du clinicien.

Pour les ciliés, l'absence de ce protozoaire peut être expliquée par l'absence de réservoir du parasite (porcs).

En fonction du sexe, on marque une légère prédominance masculine avec un sex-ratio H/F=1.25 a été noté, ce qui peut être expliqué par le nombre important des bilans de travail et qui sont le plus souvent représenté par les adultes jeunes.

Selon les années nous avons observé une augmentation des cas positifs durant l'année 2017 avec un taux de 67.09%, ceux-ci peut être expliqué par l'ouverture de l'unité de parasitologie qui ne s'est effectuée qu'au mois de Mai 2016.

En fonction de l'âge nous avons remarqué que la classe modale est située entre 20-29ans, soit un taux de 35.44% enregistré, ce qui correspond au sujet jeune. Cette tranche d'âge a une vie communautaire plus active et l'adulte jeune consommant le plus souvent les aliments rapide (Fast food) en dehors de son domicile, suivi des enfants de moins de 09 ans avec un taux de 20.26%.

Selon l'origine des patients nous avons remarqué que la majorité résidaient dans la commune de Didouche mourad avec 49 cas soit un taux de 62.03%, suivi des patients

résident au niveau des communes limitrophes (Hamma Bouzienne avec un taux de 15.19%, Bkira 7.59% et Ben Echergui 6.33%).

L'élévation de la prévalence au niveau de la commune de Didouche Mourad peut être expliquée par le fait que le nombre des patients inclus dans l'étude appartient majoritairement à cette région, et qui est la plus proche de l'EH.

Concernant les associations, au cours de notre étude, nous avons remarqué que les cas de mono-parasitisme étaient les plus observés avec un taux de 72.21 %, 18.97 % des cas étaient biparasité et 3.81% avaient un poly parasitisme. Pour les 18 cas du bi et poly parasitisme signalés, on remarque que toutes les associations retrouvées sont de type : parasites pathogènes + parasites non pathogènes. La présence d'associations parasitaires indique un très faible niveau d'hygiène sanitaire alimentaire et fécal et des conditions de vie défavorables pour ses individus. La prédominance d'association à Protozoaires s'explique par le fait que ces parasites ont souvent un mode d'infestation semblable.

Selon la provenance 81.02% représente les patients consultant en externe et 18.98% sont des malades hospitalisée, nous notons une égalité des cas en provenance des services de médecine interne et des cas en provenance des services pédiatrie, les autres services sont aussi touchée mais avec un taux ne dépasse pas les deux cas. , Ce résultat explique que ces protozooses intestinales ne nécessitent pas l'hospitalisation du malade puisqu'elles ne sont pas invasives en général.

Les patients symptomatiques représentaient le taux le plus important (44,30%) avec comme première symptomatologie : les douleurs abdominales (21.52%) suivi des diarrhées et vomissements avec un taux de (13.92%, 8.86%) respectivement. Selon une étude faite à Ouagadougou. Les signes cliniques étaient des diarrhées (25.73%) suivi de douleurs abdominales (22.87%).

Pour les sujets asymptomatiques (Bilan de travail), le taux était plus élevé (32.91%.). Ce résultat signifie que les signes digestifs ne sont pas toujours présents chez les sujets infestés et sont considérés donc comme porteurs asymptomatiques représentant ainsi une source de contamination et de propagation de l'infection dans la population ce qui justifie la mise en place d'un traitement et la nécessité d'un dépistage dans les collectivités.

# 

### **Conclusion**

La prévalence des parasitoses intestinales chez les malades adressés à l'EH Didouche Mourad présentant un signe d'appel digestif, reste élevée.

La majorité des espèces parasites répertoriées sont non pathogènes. Les affections sont très largement dominées par l'amibiase et l'infection à Blastocystis.ces parasitoses constituent un indicateur du niveau d'hygiène d'une population. Leur épidémiologie est liée au péril fécal, ce qui explique que les pays en développement sont les plus concernés. L'amélioration du niveau de vie dans les pays industrialisés a nettement réduit leur incidence.

L'examen parasitologique des selles permet l'identification du parasite le plus souvent sous forme kystique à l'examen direct ou après concentration par les techniques complémentaires. Ces kystes représentent les formes de résistance et de dissémination dans le milieu extérieur. Ils sont responsables de la contamination fécoorale chez l'être humain.

Les résultats obtenus sont préliminaires et cette analyse doit être approfondie en augmentant l'échantillonnage et la période d'étude.

Des mesures préventives s'imposent avec notamment une sensibilisation des populations en insistant sur l'hygiène fécale. Le bon entretien des sanitaires plus particulièrement pour les enfants et le traitement convenable des eaux et des aliments destinés à la consommation pour lutter contre ces parasitoses reste l'arme la plus efficace.

### Cette lutte passe par :

- La sensibilisation des populations en ce qui concerne :
  - L'hygiène fécale.
  - Lavage et désinfection des crudités avant de les consommer;
  - L'assainissement général dans les quartiers et les lieux publics des communes.

### **Conclusion**

- Nos recommandations imposent la sensibilisation des autorités sanitaire concernant :
  - Le dépistage et le traitement de tous les sujets parasités;
  - L'éducation sanitaire au niveau des populations par les médias ;
  - La formation et le perfectionnement des personnels de santé;
  - Les stratégies d'assainissement dans les communes et les villes.

Nous souhaitons réaliser d'autres études dans l'avenir sur terrain sur un grand échantillon et sur une période plus longue, pour avoir des résultats plus concluants et pour avoir une réelle appréciation sur le problème des parasitoses intestinales.

## Bibliographic Brown and the second s

- **1.** Cheikhrouhou F, Trabelsi H, sellami H, et al. Parasitoses intestinales dans la région de sfax (sud tunisien) étude rétrospective. Rev Tun Infectiol. 2009;3(12):14-18.
- **2.**Organisation Mondiale de Santé. Parasitologie médicale : technique de base pour le laboratoire .Genève .1993
- **3.**X. Nicolas, B. Chevalier, F. Simon, F. Klotz, "Traitement des parasitoses intestinales (amibiase et mycose excluses)", Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris), 9-062-A-60, pp. 1-13, 2001
- **4.** André Beaumont, Pierre Cassier . Livre de biologie animale TOME1 .DUNOD ,  $3^{\circ}$  édition .2004. P 20-21
- **5.**Cavalier-Smith T. (1993), Kingdom protozoa and its 18 phyla. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 57, 953-994.).
- 6. Antoine Morin Les Protozoaires 2002 Biologie U.d'Ottawa
- **7.**Cikhrouhou F .Laboratoire de Parasitologie –Mycologie ,Faculté de médecine. SFAX. Les amibes.
- **8.**Pierre Aubry, Bernard-Alex Gaüzère. Médecine tropicale. Amoebose (amibiase) .2016.
- **9.**Bouree .P Aide mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale .3° edition .Médecine-science Flammarion .2011 .
- **10.**Plorde, J. J. 2004. Rhizopods. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), Sherris medical microbiology: An introduction to infectious diseases (4th ed., pp. 733-740).
- **11.**Emilie Bonnet, *Entamoeba histolityca*; épidémiologie évolution dans la connaissance de la pathogenèse du diagnostic de la thérapeutique et de la prévention, 2014.
- **12.**B. Ndiaye, Diagne-Guèye, T. Soko, A. Ndiaye, F. Klotz Amoebose intestinale. Elsevier Masson SAS.2017
- **13**.ANOFEL ; Abrégé Connaissances et pratique, Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales ; 2éme éd2010
- **14.**J. EUZEBY. Sur l'épidémiologie de la giardiose humaine, Scientia Parasitologica, 2002, **1**, 11-21
- **15.**Moulinier,livre :parasitologie et mycologie médicales,2002
- **16**.PIERRE A, B ,ALEX G,et al. Giardiose et syndrome de malabsorption intestinale, Actualités 2013 M à j15/10/2014

- **17.**Bourée P, Bisaro F., Nsimba B. Diagnostiquer et traiter une giardiose. *Option Bio*, 2011, 454, 18-19.
- **18.**Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. Int J Parasitol. 2000;30(12-13):1305–22
- **19.**Kalthoum Kallel. Les coccidioses digestives.Laboratoire de Parasitologie Hôpital La Rabta.http://www.infectiologie.org.tn PDF
- **20.**Derouin F., Eliaszewicz M., Pouillot R., Roze S. Rapport sur les « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp.* » AFSSA .2007
- **21.**C. Chabasse, M. Danis, C. Guiguen, D. Richard-Lenoble, F. Botterel, M.Miégeville; ANOFEL, Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales, Elsevier Masson, 2<sup>e</sup> édition, 2010, p. 30 à 33.
- **22.**Neira O P, Barthel M E, Wilson L G, Muñoz S N. *Isospora belli* infection in HIV positive patients: report of two cases and literature review. Rev Chilena Infectol. juin 2010;27(3):219-227
- **23.** Ajeagah Gideon, Karie Mouncharou Jean E. Dynamique de l'abondance des oocystes d'*Isospora belli* dans un milieu aquatique en zone tropicale (Cameroun) 10.1051/hydro/2014
- **24.**Bialek R, Overkamp D, Rettig I, Knobloch J. Case report: Nitazoxanide treatment failure in chronic isosporiasis. Am J Trop Med Hyg 2001;65:94-95.
- **25.**Ortega YR, Raymond N, robert hg, et al, Pathologic and Clinical Findings in Patients with Cyclosporiasis and a Description of Intracellular Parasite Life-Cycle Stages, J Infect Dis (1997) 176 (6): 1584-1589.
- **26.**Ynés R ,Ortega , Roxana Sanchez, « Update on Cyclospora cayetanensis, a Food-Borne and Waterborne Parasite », *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 23, n° 1, janvier 2010, p. 218-234
- **27.**Chacín-Bonilla L. Epidemiology of *Cyclospora cayetanensis*: A review focusing in endemic areas. Acta Trop. 2010 Sep;115(3):181-93.
- **28.**Frederick L S, Lynn R A, Current World Status of *Balantidium coli*, Clin Microbiol Rev. 2008 Oct; 21(4): 626–638.
- **29.**Schuster, F. L., & Ramirez-Avila, L. (2008). Current world status of Balantidium coli. Clinical Microbiology Reviews, 21(4), 626-638.
- **30.**Bouree P, Balantidium coli dans les urines, J med et santé tro10.1684/mst.2016.0561P: 22-3

- **31.**Stenzel DJ, Boreham PF,Blastocystis hominis revisited.Clin Microbiol Rev October 1996 vol. 9 no. 4 563-5841
- **32.**Vogelberg C, Stensvold CR, Monecke S et al. Blastocystis sp, subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. Parasitology international. 2010;(159):469-471 .Epub 2010 .
- **33.**Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, et al. *Blastocystis*: to treat or not to treat... Clin. Infect. Dis. 2012; 54: 105–110.
- **34**. Maylis de Lorgeril , thèse : infection a *Blastocystis hominis* épidémiologie, physiopathologie, contrôle, 2011
- **35.**Majer S, Neumayr A. Parasites de l'appareil gastro-intestinal. Forum médical suisse. 2015;15(11):242-250.
- **36.**C. Pinel, C. Réjasse, S. Picot, et al, **Blastocystis** hominis :réflexions épidémiologiques cliniques à de plus 3500 examens et propos coprologique, 1999, p:601-4, Service de parasitologie-mycologie, Hôpital Albert-Michallon, BP 217, 38043 Grenoble Cedex 9.
- **37**. Technique de diagnostic des parasitoses intestinales applicables par les services de soins de santé premiers ssp , Genève , organisation mondiale de santé , 1985
- **38.**Manuel pour l'étude aux laboratoires des infections intestinales aiguaies. Genève, organisation mondiale de santé, 1987
- 39. Bouree P, Examens de laboratoire en médecine tropicale . Masson . Paris 1987
- **40.**Karine Thivierge. Institut national de sante publique QUEBEC. Méthodes de laboratoire en parasitologie intestinale. 2014
- **41**.Organisation Mondiale de Santé. Parasitologie médicale : technique de base pour le laboratoire .Genève .1993
- **42.**Faye O, N'dir O, Gaye O, et al . Les parasitoses intestinalis dans le bassin du fleuve Sénégal. Résultats d'enquêtes effectuées en milieu rural. Médecine d'Afrique Noire : 1998, 45 (8/9)
- **43.**Bouree P, Lancon A. *Blastocystis*, pathogène ou simple « indicateur » d'une inflammation digestive. Option Bio. 2008;(16):398.
- **44**.Zida A, Sangare´ I, Bamba S et al. Prévalence du parasitisme intestinal en milieu carcéral à Ouagadougou (Burkina Faso). Médecine et Santé Tropicales 2014 ; 24 : 383-387

45. Boorom K, Jones M, Leelayoova S. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. Parasites and Vectors, 2008, 1, 40.

### Resume

Les protozoaires sont actuellement les parasites les plus fréquemment rencontrés au cours des examens parasitologiques des selles dans les laboratoires d'analyses médicales.

Leur recherche nécessite souvent l'utilisation de techniques et de colorations appropriées.

Leur identification, aisée pour certains, plus délicate pour la plupart est uniquement basée sur leur observation au microscope.

Pour chaque espèce, les différentes formes pouvant être trouvées chez l'homme (Trophozoites, kystes, oocystes) seront observées après différentes techniques de concentration et de coloration ainsi qu'à l'état frais pour certaines d'entre elles.

L'objectif de ce travail était de déterminer le taux de prévalence des protozooses intestinales diagnostiquées au service de parasitologie-mycologie de l'établissement hospitalier de Didouche mourad.

Une étude rétrospective analytique portant sur les résultats des examens de parasitologie des selles.

Dans notre étude, nous avons analysés 402 prélèvements de selles dont 79 étaient positifs, ce qui correspond à un taux global d'infestation de 19.65%

Les protozoaires intestinaux dans notre étude était dominé par79 cas positive, le *Blastocystis*. sp. Était retrouvée 55 fois suivis par les amibes avec 36 cas.

L'examen parasitologique des selles permet l'identification du parasite le plus souvent sous forme kystique à l'examen direct ou après concentration par les techniques complémentaires.

The protozoa are now the most frequently encountered during parasitological examinations of sells in medical laboratories

their research often requires the use of appropriate coloring techniques

their identification, easy for some, more delicate for the most part is only based on their microscopic observation

for each species, the different forms that can be found in the home will be observed after various techniques of concentration and coloring as well as the fresh state for some of them

the objective of this work was to determine the prevalence rate of diagnosed intestinal protozoa in the service of parasitology-mycology of the Didouche mourad hospital facility

a retrospective analytical study on the results of parasitological examinations of sel

in our study we analyzed 402 sell-offs, 79 of which were positive, which corresponds to an overall infestation rate of 19.65%

the intestinal protozoa in our study were dominated by 79 positive cases, blastocystis sp found 55 livers followed by amoeba with 36 cases

the parasitological examination of the sells makes it possible to identify the parasite most often in cystic form on direct examination or after concentration by complementary techiques الأوليات (نوع من أنواع الطفيليات) هي حاليا الأكثر شيوعا في الفحوصات الطفيلية داخل مخابر التحليل. البحث عنهم يتطلب تطبيق تقنيات التلوين الخاصة بكل نوع حيث يتم تحديد البعض منها يكون عن طريق الرؤية بالمجهر الإلكتروني.

يمكن إيجاد جميع أنواع و أشكال الطفيليات لدى الإنسان ( هيئة حية، مقاومة، بويضات) و يمكن تحديدها عن طريق تقنيات التلوين و التركيز.

الهدف من هذا العمل هو تحديد معدل انتشار الطفيليات على أمعاء الإنسان المتواجدة في مخبر علم الطفيليات بالمستشفى ديدوش مراد- قسنطينة.

دراسة تحليلية قبلية تحمل مختلف نتائج التحليلات الطفيلية.

في دراستنا، قمنا بتحليل 402 عينة، 79 منها كانت موجبة (مريض) الموافق لنسبة عدوى إجمالية 19.63%.

من بين 79 حالة موجبة كانت الأغلبية لـ المتبرعمة بـ 55 مرة

و الأميباب 36 حالة.

التحليل الطفيلي يسمح بتحديد هوية و طبيعة الطفيلي سواء بطبيعة المقاومة عن طريق التقنية المباشرة أو عن طريق التركيز مستعملي التقنيات المساعدة.

### 

### Milieu Loock Egg

8g de Chlorure de sodium NaCl

0.2g de Chlorure de calcium Ca<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

0.2g de Chlorure de potassium KCl

0.01g de Chlorure de magnésium MgCl

2g de Phosphate de sodium dibasique

0.4g de bicarbonate de sodium

0.3g de phosphate de potassium monobasique

+1Litre d'eau distillé

Autoclaver à 121C° pdt 15min (15IBS pression). Refroidir à température ambiante et éliminer tout précipité par filtration (papier Whatman # 1). Réautoclaver pour stériliser.

### 2- Préparer le milieu aux œufs inclinés :

- -Stériliser les œufs de poules fraîches par chauffage dans 70% d'éthanol
- -Couler dans un bécher gradué
- -Ajouter 12.5ml de la solution de Loock à 45ml de solution d'œufs
- -Mélanger dans un mixeur
- -Filtrer sur une gaze dans un flacon
- -Placer sous vide pour éliminer les bulles d'air
- -Mettre 5ml de quantité d'œuf émulsifié à des tubes de culture standard de 16x125 mm
- -Autoclaver à 100° pendant 10 min en position inclinée
- -Ouvrir après refroidissement à température ambiante
- -Ajouter 6ml de la solution de Loock
- -Autoclaver à121° pendant 15min, Pression : 15 lbs.
- Après refroidissement à température ambiante, serrer les bouchons et conserver au frigo pendant 6 mois.

### Milieu de Jone's

### **Solution:**

Na2HPO4 9,46 g dans 1 L d'eau distillée

KH2PO4 9.08 g dans 1 L d'eau distillée

NaCl 9,00 g dans 1 L d'eau distillée

### **Préparation:**

- 1. Mélanger 93,8 ml de Na2HPO4 avec 31,3 ml de KH2HPO4 et 562,5 ml de NaCl.
- 2. Dans la solution tamponnée, ajouter l'extrait de levure (Oxoid) à 0,1%.
- 3. Autoclaver à 15 lb-pendant 15 min.
- 4. Avant l'utilisation, ajouter 10% de sérum de cheval (inactivé par la chaleur à 56 ° C pendant 30 min) au milieu de Jones.

Transférer 50mg (ou plus) de matière fécales (Utiliser un écouvillon stérile) à un tube de centrifugation avec bouchon à vis, contenant le milieu de Jones (3 ml). Incuber à 37 ° C pendant 48 à 72 h. (Note: La présence de bactéries dans l'échantillon va créer l'environnement anaérobie nécessaire pour que *Blastocystis* se développe.) Lors de la sous-culture, transférer environ 50-100 uL des sédiments de chaque culture utilisée, dans 3 ml de milieu de Jones frais contenant 10 % (Chaleur inactivée) du sérum de cheval.

Repiquage des sous-culture tous les 3-4 jours.

**Examen :** Les cultures sont examinées avec ou sans iode à un grossissement de x 40 et x 100.

Etablisse	ement Hospitalier Didouche Mourad
	Laboratoire Central
<u>Un</u>	ité De Parasitologie-Mycologie
	Date:
	Prélèvement:
Patient:	
Nom:	
Prénom:	
Age:	
Nº:	Ser:
Biologie:	
Examen parasitolo	gique:
Aspect macroscopi	que:
Examen direct:	
Culture:	

### Les réactifs utilisés dans la concentration de Ritchie :

- -solution de formole a 10%
- -solution d'éther éthylique

### Annexe 05

### Préparation d'une solution de Lugol a 5%

- Iodure de potassium.....1g
- Eau distillée......10ml

NB: dissoudre l'iodure dans un peu d'eau, puis l'iode peu à peu et le reste de l'eau.

Cette solution est stable pendant quelques semaines et doit être conservée en flacon brun.

Au moment de l'emploi, mélanger le lugol à la solution M.F dans les proportions suivantes :

Les solutions permettent de conserver de grandes quantités de selles après dilution au 1/3 des matières fécales et trituration sur un tamis.

		•		
Merthiolate –Iode-Formol (M .I.F)				
Teinture de merthiolate : (à conserver en flacon brun)				
•	Merthiolate (mercurothiosalicylate de Na)	1g		
•	Monoéthanolamine	1g		
•	Acétone	100g		
•	Alcool absolu	525ml		
•	Eau qsp	1000ml		
•	Eosine a l'eau	2g		
Solution M.F :(a conserver en flacon brun)				
•	Teinture de merthiolate	200ml		
•	Formol du commerce.	25ml		
•	Glycérine	5ml		
•	Eau distillée	250ml		

### Coloration de Giemsa

### **Matériel**:

- \* Lames d'étalement fixées.
- \* Cuve à coloration.
- \* Giemsa
- \* Chronomètre.
- \*Méthanol.

### Préparation des réactifs

- 1. Verser le méthanol dans un flacon contenant des billes de verre (ou des petits galets très propres).
- 2. Ajouter la poudre et la laisser doucement se déposer au fond du flacon.
- 3. Agiter ensuite pendant 3 minutes de manière circulaire.
- 4. Ajouter enfin le glycérol et mélanger de la même manière.
- 5. Remuer ensuite, toujours de cette manière 3 fois par jour, pendant 4 jours consécutifs.
- 6. Filtrer.
- 7. Noter la date de fabrication.

Une solution mère se conserve trois mois à l'abri de l'air (bien boucher), de la lumière (en flacon opaque) et de l'humidité (en dehors du réfrigérateur).

Solution de travail de Giemsa:

- 1. Diluer la solution mère au dixième dans de l'eau.
- 2. Bien mélanger.