



Popular and Democratic Republic Of Algeria
Ministry of Higher Education and Scientific Research

Ziane Achour University of Djelfa

Laboratory of Exploration and Valuation of Ecosystems of the Steppic Environment.

Faculty of Natural and Life Sciences

Biology department

Thesis for obtaining the degree of LMD Doctor

Option: Impact of parasitic zoonoses on public health via water, food and environment.

Presented by:

Mlle. SEBAA Soumia

Thesis Title

Contribution to the study of the place of protozoan parasites in the etiology of enteritis in the human population in hospital and non-hospital environment from urban and rural areas via animal sources.

Publicly presented in front the jury composed of:

M ^r BOUTIBA S	MCA	U. Z. A. Djelfa	President
M ^r HAMADI T M	Professor	E.N.S.V. Alger	Examiner
M ^r LAFRI I	MCA	I.S.V. Blida	Examiner
M ^r AIT BELKACEM A K	MCA	U. Z. A. Djelfa	Examiner
M ^{rs} GUERZOU A	MCA	U. Z. A. Djelfa	Examiner
M ^r HAKEM A	Professor	U. Z. A. Djelfa	Supervisor
M ^r KOLTAS I S	Professor	U.C. Adana-Turquie	Co-Supervisor

Academic year: 2019-2020



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Ziane Achour de Djelfa

Laboratoire D'exploration et de Valorisation des Ecosystèmes du Milieu
Steppique.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD

Option : Impact des zoonoses parasitaires sur la santé publique via l'eau, les
aliments et l'environnement.

Présenté par :

Mlle. SEBAA Soumia

Intitulé de Thèse

**Contribution à l'étude de la place des parasites protozoaires dans
l'étiologie des entérites chez la population humaine en milieu
hospitalier et non hospitalier issues des zones urbaines et rurales
via les sources animales.**

Soutenu publiquement devant les membres de jury composé de :

M ^r BOUTIBA S	MCA	U. Z. A. Djelfa	Président
M ^r HAMADI T M	Professeur	E.N.S.V. Alger	Examineur
M ^r LAFRI I	MCA	I.S.V. Blida	Examineur
M ^r AIT BELKACEM A K	MCA	U. Z. A. Djelfa	Examineur
M ^{me} GUERZOU A	MCA	U. Z. A. Djelfa	Examinatrice
M ^r HAKEM A	Professeur	U. Z. A. Djelfa	Rapporteur
M ^r KOLTAS I S	Professeur	U.C. Adana-Turquie	Co-Rapporteur

Année universitaire: 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À Mon Père

Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consenti pour mon éducation et ma formation. Rien ne serait assez éloquent pour exprimer la fierté, la reconnaissance et l'amour que je te porte. Qu'Allah le tout puissant te procure, santé, longue vie et bonheur.

À Ma Mère

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour pour tous les sacrifices que tu as consenti de me donner et pour tes prières qui m'ont permis de vivre ce jour. Qu'Allah le tout puissant te protège et t'accorde, santé, longue vie et bonheur.

J'espère rester à la hauteur de vos espoirs.

À mes très chères sœurs : Fatima, Sihem Amel et Sarah et mon chéri neveu Mohamed, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Vous avez de près ou de loin contribué à ma formation. Affectueuse reconnaissance.

Finalement Je dédie ce modeste travail A tous ceux qui me sont chers.



Remerciement

Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à mon promoteur le professeur **HAKEM Ahcène**, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude. Puisse Allah le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.

Un grand remerciement au professeur **KOLTAŞ Ismail Soner** de l'université de Çukurova-Turquie d'avoir accepté de co-encadrer ma thèse. Un grand merci pour tous ses conseils, sa disponibilité, et son assistance. Puisse Allah le tout puissant vous accorder bonne santé, prospérité et bonheur.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait monsieur le Docteur **BOUTIBA Saad** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Je remercie vivement monsieur le professeur **Hamadi Taha Mousadek** de l'université d'Alger d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance et d'avoir examiné ce travail.

Je remercie vivement monsieur le docteur **LAFRI Ismail** de l'université de Blida d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance et d'avoir examiné ce travail.

Je remercie vivement monsieur le docteur **AIT BELKACEM Abelkarim** de l'université de Djelfa d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance et d'avoir examiné ce travail.

Je remercie vivement madame le docteur **GUERZOU Ahlem** de l'université de Djelfa d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance et d'avoir examiné ce travail.



Remerciement

Je voudrais également présenter ma reconnaissance et mes remerciements les plus chaleureux à Madame **DEMIRKAZIK Mehtap**, Docteur à l'université de Çukurova-Turquie, pour la réalisation du sous-typage de *Blastocystis*. Que ce travail soit pour moi l'occasion de vous exprimer mon admiration ainsi que ma gratitude.

Je voudrai également présenter ma reconnaissance et mes remerciements les plus chaleureux au docteur **DEBAGHA Mohamed**, médecin spécialiste en biologie médicale (laboratoire privé d'analyses médicales), de m'avoir permis de réaliser des expériences.

À Madame **DJERIDANE Yamina**, un grand merci pour votre assistance. Soyez assuré de mon profond attachement.

Un grand remerciement pour tous les personnels du laboratoire central du l'établissement public hospitalier de Laghouat (Paramédicaux, biologistes et médecins) d'avoir contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Un énorme remerciement pour le Docteur **BAROUDI Djamel**, et le professeur **SAID Amer**, je vous remercie infiniment pour votre disponibilité au cours de la correction de mon article, malgré la distance vous êtes toujours présent avec vos corrections et vos remarques pertinente. *Je vous exprime ma profonde gratitude.*

Mes profonds remerciements à l'équipe du laboratoire de parasitologie de l'université de Çukurova-Turquie ; **AYFER, EDA** et monsieur **SARI MEHMET** pour leur chaleureux accueil. Veuillez trouver ici, le témoignage de ma grande gratitude avec ma reconnaissance et ma haute considération. Ces quelques lignes ne sauront exprimer toute l'affection et l'amour que je vous porte. Puisse Allah vous procurer santé, bonheur, réussite et prospérité que vous méritez.



Sommaire

Liste des tableaux.....	(i)
Liste des figures	(ii)
Liste des abréviations.....	(iii)
Introduction générale	01
Chapitre I : Partie bibliographique	04
PARTIE 1 : Généralité sur les parasitoses intestinales	04
1.1. Définition.....	04
1.2. Classification des parasites intestinaux.....	04
1.2.1. Protozoaires intestinaux.....	06
1.2.2. Helminthes.....	06
1.2.2.1. Némathelminthes.....	07
1.2.2.2. Plathelminthes.....	07
1.3. Mode de contamination des parasites intestinaux.....	07
1.4. Importance des parasitoses intestinales sur le plan clinique.....	07
1.5. Principales parasitoses intestinales.....	08
1.5.1. Protozoaires.....	09
1.5.1.1. Amibes.....	09
1.5.1.2. Giardiose.....	14
1.5.1.3. Trichomonose intestinale.....	17
1.5.1.4. Cryptosporidiose.....	19
1.5.2. Helminthes.....	23
1.5.2.1. Oxyures.....	23
1.5.2.2. Trichocéphale.....	26
1.5.2.3. Tæniasis.....	28
PARTIE 2: Rappel sur la Blastocystose	31
2.1. Historique et classification de <i>Blastocystis</i> spp.....	31
2.2. Diversité génétique de <i>Blastocystis</i> spp.	33
2.3. Biologie de <i>Blastocystis</i> spp.	35
2.3.1. Caractères morphologiques.....	35
2.3.1.1. Forme vacuolaire	35
2.3.1.2. Forme granulaire	37
2.3.1.3. Forme kystique	38

2.3.1.4. Forme amiboïde	39
2.3.2. Transmission de <i>Blastocystis</i> spp. et cycle évolutif encore hypothétique.....	40
2.4. Physiopathologie de <i>Blastocystis</i> spp.	41
2.4.1. Identification des facteurs de virulence de <i>Blastocystis</i> spp. in vitro.....	42
2.4.2. Identification des facteurs de virulence de <i>Blastocystis</i> spp. in vivo.....	43
2.5. Impacte de <i>Blastocystis</i> spp. en santé humaine.....	45
2.6. Les méthodes de diagnostic de <i>Blastocystis</i> spp.	46
2.6.1. Observation au microscope optique.....	46
2.6.2. Mise en culture des selles.....	46
2.6.3. Recherche de copro-antigènes.....	47
2.6.4. Méthodes moléculaires.....	48
2.6.4.1. PCR Conventionnelle.....	48
2.7. Traitement et prophylaxie.....	50
2.7.1. Traitement de la blastocystose.....	50
2.7.2. Prophylaxie.....	51
Chapitre II : Études expérimentales.....	52
Première partie expérimentale : Profils épidémiologique et clinique des parasitoses intestinales humaines dans la région de Laghouat.....	52
1. Introduction.....	52
2. Matériel et Méthodes.....	52
2.1. Type et lieu de l'étude.....	52
2.2. Patients.....	53
2.3. Méthodologie de travail.....	54
2.3.1. Collection des échantillons et examen parasitologique des selles.....	54
2.3.1.1. Examen microscopique à l'état frais (DLM).....	55
2.3.1.2. Examen microscopique après concentration	55
2.3.1.3. Examen microscopique après coloration permanente de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) (MZN)	58
2.3.1.4. Technique de Graham (Scotch-test).....	59
2.3.1.5. Mise en culture xénique (XIVC)	59
2.3.2. Analyses statistiques.....	60
3. Résultats.....	61

3.1. Analyse descriptive de la population d'étude.....	61
3.2. Analyse de la fréquence parasitaire.....	63
3.3. Analyse épidémiologiques de la fréquence parasitaire.....	67
3.3.1. Analyse de la fréquence parasitaire selon le service.....	67
3.3.2. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction des classes d'âge.....	68
3.3.3. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction du sexe des patients.....	71
3.3.4. Analyse de la fréquence parasitaire selon le lieu d'habitation.....	73
3.3.5. Analyse de la fréquence parasitaire selon la source d'eau consommée.....	75
3.3.6. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction du contact avec les animaux...	77
3.3.7. Analyse temporelle de la fréquence parasitaire.....	79
3.3.7.1. Analyse de la fréquence parasitaire selon les années d'étude.....	79
3.3.7.2. Analyse de la fréquence parasitaire selon les saisons.....	82
3.3.7.3. Évolution mensuelle de la fréquence parasitaire.....	83
3.3.8. Analyse de la fréquence parasitaire selon la consistance des selles.....	85
3.4. Analyse clinique de la fréquence parasitaire.....	87
3.4.1. Analyse clinique de la fréquence parasitaire chez les immunocompétents.....	87
3.4.2. Analyse clinique de la fréquence parasitaire chez les immunodéprimés.....	90
3.5. Modalité d'association des parasites.....	91
4. Discussion	94
4.1. Prévalence des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat.....	94
4.2. Profil épidémiologiques des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat.....	98
4.3. Profil cliniques des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat.....	102
5. Conclusion.....	105
Deuxième partie expérimentale: Identification moléculaire des sous-types de <i>Blastocystis</i> issues des souches humaines dans la région de Laghouat.....	106
1. Introduction.....	106
2. Matériel et Méthodes.....	107
2.1. Type, lieu et population d'étude.....	107
2.2. Méthodologie de travail.....	107
2.2.1. Examen parasitologique des selles.....	107

2.2.1.1. Examen microscopique direct à l'état frais (DLM) et après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (MZN).....	107
2.2.1.2. Mise en culture xénique (XIVC).....	108
2.2.2. Analyse moléculaire de <i>Blastocystis</i> spp.....	108
2.2.2.1. Extraction de l'ADN.....	108
2.2.2.2. Amplification en chaîne par polymérase PCR.....	109
2.3. Analyses statistiques.....	111
3. Résultats.....	112
3.1. Caractéristiques épidémiologique et démographiques de la population d'étude.....	112
3.2. Analyse épidémiologique de l'infection par <i>Blastocystis</i> spp.....	113
3.2.1. Prévalence de l'infection à <i>Blastocystis</i> spp.....	113
3.2.2. Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction du sexe.....	113
3.2.3. Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des tranches d'âges.....	113
3.2.4. Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. selon le lieu d'habitation.....	114
3.2.5. Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de la source d'eau consommée et du contact avec les animaux.....	115
3.2.6. Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des symptômes cliniques.....	115
3.2.7. Relation entre la charge parasitaire et les symptômes clinique au portage de <i>Blastocystis</i> spp.....	118
3.2.8. Répartition de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de la consistance des selles.....	119
3.3. Association de <i>Blastocystis</i> spp. avec les autres parasites.....	120
3.4. Comparaison entre les différentes méthodes utilisées.....	121
3.4.1. Sensibilité et spécificité de différentes méthodes utilisées.....	121
3.4.2. Comparaison entre les techniques utilisées concernant les détails morphologiques.....	122
3.5. Identification moléculaire de <i>Blastocystis</i> spp.....	125
3.5.1. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> selon le sexe des patients.....	126

3.5.2. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction des tranches d'âge des patients.....	127
3.5.3. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de lieu d'habitation.....	128
3.5.4. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de la source d'eau consommée.....	129
3.5.5. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de la présence ou de l'absence de contact avec les animaux.....	131
3.5.6. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction des symptômes cliniques.....	132
3.5.7. Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de la charge parasitaire.....	134
4. Discussion.....	136
4.1. Prévalence de <i>Blastocystis</i> spp. dans la wilaya de Laghouat.....	136
4.2. Distribution des sous-types de <i>Blastocystis</i> spp. dans la wilaya de Laghouat.....	140
4.3. Profil épidémiologique de <i>Blastocystis</i> spp. dans la wilaya de Laghouat.....	145
4.4. Profil clinique de <i>Blastocystis</i> spp. dans la wilaya de Laghouat.....	148
4.5. Transmission de <i>Blastocystis</i> spp. d'origine hydrique et zoonotique dans le monde.....	150
5. Conclusion.....	155
Conclusion Générale.....	156
Références bibliographiques.....	158

ANNEXES

Résumé

Liste des Tableaux

Tableau 01: Caractéristique morphologiques des formes végétatives des amibes parasites de l'intestin de l'homme.....	10
Tableau 02: Caractéristique morphologiques des formes kystiques mûres des amibes parasites de l'intestin de l'homme.....	12
Tableau 03: Morphologie des différents stades évolutifs de <i>Cryptosporidium</i> spp. Images de microscopie électronique par transmission.....	19
Tableau 04: Caractéristiques utilisées pour reclasser <i>Blastocystis</i> spp. parmi les protozoaires.....	31
Tableau 05: Molécules ayant montré une efficacité dans le traitement de la blastocystose.....	50
Tableau 06: Caractéristiques descriptives de la population d'étude.....	62
Tableau 07: Taux du portage des parasitoses intestinales.....	63
Tableau 08: Fréquences des différentes espèces de parasites.....	63
Tableau 09: Répartition du taux de parasitisme selon le service.....	67
Tableau 10: Fréquence parasitaire selon le service hospitalier.....	68
Tableau 11: Répartition du taux de parasitisme en fonction des tranches d'âge des patients.....	68
Tableau 12: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction des classes d'âge des patients.....	69
Tableau 13: Répartition du taux de parasitisme en fonction du sexe des patients.....	71
Tableau 14: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction du sexe des patients.....	71
Tableau 15: Répartition du taux de parasitisme selon le lieu d'habitation.....	73
Tableau 16: Fréquences d'infestations parasitaires selon le lieu d'habitation.....	74
Tableau 17: Répartition du taux de parasitisme selon la source d'eau consommée.....	75
Tableau 18: Fréquences d'infestations parasitaires selon la source d'eau consommée....	76
Tableau 19: Répartition du taux de parasitisme en fonction du contact avec les animaux.....	77
Tableau 20: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction du contact avec les animaux.....	78
Tableau 21: Répartition du taux de parasitisme selon les années d'étude.....	79
Tableau 22: Fréquences d'infestations parasitaires selon les années d'étude.....	80
Tableau 23: Répartition du taux de parasitisme selon les saisons.....	82

Tableau 24: Fréquences d'infestations parasitaires selon les saisons.....	82
Tableau 25: Evolution mensuelle de la fréquence parasitaire.....	84
Tableau 26: Répartition du taux de parasitisme selon la consistance des selles.....	85
Tableau 27: Fréquences d'infestations parasitaires selon la consistance des selles.....	86
Tableau 28: Répartition du taux de parasitisme selon la symptomatologie clinique.....	87
Tableau 29: Répartition des signes clinique par rapport à la présence d'infection parasitaire chez les patients immunocompétents.....	88
Tableau 30: Fréquences des signes cliniques chez les immunocompétents et leur corrélation avec l'infestation parasitaire.....	89
Tableau 31: Fréquences des signes cliniques chez les immunodéprimés et leur corrélation avec l'infestation parasitaire.....	91
Tableau 32: Fréquence des espèces parasites retrouvées chez les immunodéprimés.....	91
Tableau 33: Fréquence des associations parasitaires.....	93
Tableau 34: Séquences d'amorces utilisées pour le sous-typage de <i>Blastocystis</i> spp.....	110
Tableau 35: Caractéristiques générales des patients participant à l'étude.....	112
Tableau 36: Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction du sexe.....	113
Tableau 37: Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des tranches d'âge.....	113
Tableau 38: Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. selon le lieu d'habitation.....	114
Tableau 39: Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de la source d'eau consommée et le contact avec les animaux.....	115
Tableau 40: Variation de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des symptômes cliniques.....	116
Tableau 41: Association entre les signes cliniques et la présence et l'absence de <i>Blastocystis</i>	117
Tableau 42: Association entre la charge en <i>Blastocystis</i> spp. et les signes cliniques.....	118
Tableau 43: Distribution de la fréquence de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de l'aspect des selles.....	119
Tableau 44: Répartition des infestations mixtes entre <i>Blastocystis</i> spp. et les autres espèces de protozoaires.....	121

Tableau 45: Vrais et faux cas diagnostiqués par chaque méthode utilisée.....	121
Tableau 46: Sensibilité et spécificité de différentes méthodes utilisée et leur accord avec le milieu de Boeck et Drbohlav (LE).....	122
Tableau 47: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. selon le sexe des patients.....	126
Tableau 48: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des tranches d'âge des patients.....	127
Tableau 49: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de lieu d'habitation.....	128
Tableau 50: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de la source d'eau consommée.....	130
Tableau 51: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction du contact avec les animaux.....	131
Tableau 52: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction des symptômes cliniques.....	133
Tableau 53: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> spp. en fonction de la charge parasitaire.....	135
Tableau 54: Répartition des sous-types de <i>Blastocystis</i> spp. dans les pays africains.....	143

Liste des figures

Figure 01: Diagramme des principaux parasites intestinaux de l'Homme.....	05
Figure 02: Cycle biologique d' <i>Entamoeba histolytica</i>	14
Figure 03: Trophozoïte de <i>Giardia intestinalis</i>	15
Figure 04: La forme kystique de <i>Giardia intestinalis</i>	16
Figure 05: Cycle évolutif de <i>Giardia intestinalis</i>	17
Figure 06: Trophozoïte de <i>Trichomonas intestinalis</i>	18
Figure 07: Cycle évolutif de <i>Trichomonas intestinalis</i>	18
Figure 08: Cycle évolutif de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	23
Figure 09: Caractéristique morphologique de l'adulte mâle et femelle d' <i>Enterobius vermicularis</i>	24
Figure 10: Œuf d' <i>Enterobius vermicularis</i>	25
Figure 11: Cycle évolutif d' <i>Enterobius vermicularis</i>	26
Figure 12: Caractéristique morphologique de l'adulte mâle et femelle de <i>Trichuris</i> spp.....	27
Figure 13: Œuf non embryonnée de <i>Trichuris</i> spp.....	27
Figure 14: Cycle évolutif de <i>Trichuris</i> spp.....	28
Figure 15: Aspect morphologique de l'adulte et l'embryophores de <i>T. saginata</i> et <i>T. solium</i>	29
Figure 16: Cycle évolutif de <i>T. saginata</i> et <i>T. solium</i>	30
Figure 17: Phylogénie des straménopiles établie par comparaison des séquences du gène de l'ARNr 18S.....	32
Figure 18: Phylogénie du genre <i>Blastocystis</i> définie par comparaison des séquences du gène de l'ARNr 18S.....	34
Figure 19: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme vacuolaire de <i>Blastocystis</i> spp. rencontrée en culture <i>in vitro</i>	36
Figure 20: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme granulaire de <i>Blastocystis</i> spp.....	37
Figure 21: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme kystique de <i>Blastocystis</i> spp.....	38
Figure 22: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme amiboïde de <i>Blastocystis</i> spp.....	39

Figure 22 : Cycle de développement de <i>Blastocystis</i> spp. proposé par Tan (2004).....	40
Figure 23 : Cycle de développement de <i>Blastocystis</i> spp. (revisité par Tan, 2008 et Wawrzyniak et al. 2013).....	41
Figure 24 : Modèle hypothétique de la pathogénicité de <i>Blastocystis</i> spp. sur les cellules épithéliales intestinales.....	43
Figure 25 : Section histologique du côlon de souris infectées par <i>Blastocystis</i> spp.....	44
Figure 26 : Principe de la technique d'amplification en chaîne par polymérase ou PCR et la révélation des produits amplifiés.....	49
Figure 27 : (A) : Carte géographique d'Algérie, (B) : Carte géographique de la wilaya de Laghouat montrant la provenance des patients	53
Figure 28 : Examen microscopique à l'état frais.....	55
Figure 29 : Examen microscopique après concentration: Technique de Ritchie modifié.	56
Figure 30 : Examen microscopique après concentration: Technique de Willis.....	57
Figure 31 : Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (MZN).....	58
Figure 32 : Test de Graham (Scotch test).....	59
Figure 33 : Mise en culture xénique (XIVC).....	60
Figure 34 : Forme vacuolaire de <i>Blastocystis</i> spp. (X400)	64
Figure 35 : Forme kystique d' <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (X400).....	64
Figure 36 : Forme kystique de <i>Giardia intestinalis</i> (X400).....	64
Figure 37 : Forme kystique d' <i>Entamoeba coli</i> (X400).....	64
Figure 38 : Forme kystique d' <i>Endolimax nana</i> (X400).....	65
Figure 39 : <i>Enterobius vermicularis</i> ; (A) : Œufs d'oxyure (scotch test) (X400), (B) et (C) : Extrémité médiane et postérieure d'une femelle d'oxyure (scotch test) (X100), (D) : Extrémité antérieure d'une femelle d'oxyure et sorti des œufs via l'action du scotch (X100).....	65
Figure 40 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> spp. (X1000).....	66
Figure 41 : Œuf de <i>Teania saginata</i> (X400).....	66
Figure 42 : Œuf de <i>Trichuris trichiura</i> (X400).....	66
Figure 43 : Répartition du taux de parasitisme selon le service.....	67
Figure 44 : Répartition des espèces parasitaires en fonction de l'âge des patients.	70
Figure 45 : Représentation schématique de la corrélation entre les deux classes d'âge et les espèces parasitaires.....	70

Figure 46: Répartition de l'infection chez les deux sexes en fonction de la classe d'âge.....	72
Figure 47: représentation schématique de la corrélation entre le sexe et les espèces parasitaires.....	72
Figure 48: Schéma représentatif de la corrélation entre la provenance des patients et les espèces parasitaires.....	74
Figure 49: Représentation schématique de la corrélation entre le mode de consommation d'eau et les espèces parasitaires.....	77
Figure 50: Représentation schématique de la corrélation entre le contact avec les animaux et les espèces parasitaires.....	78
Figure 51: Comparaison entre les facteurs de risque à l'infection parasitaire dans la wilaya de Laghouat.....	79
Figure 52: Répartition de l'infection par classe d'âge et années d'étude.....	81
Figure 53: Représentation schématique de la corrélation entre les années d'étude et les espèces parasitaires.....	81
Figure 54: Représentation schématique de la corrélation entre les saisons et les espèces parasitaires.....	83
Figure 55: Répartition mensuelle des parasitoses intestinales.....	85
Figure 56: Représentation schématique de la corrélation entre la consistance des selles et les espèces parasitaires.....	87
Figure 57: Fréquence des signes cliniques.....	89
Figure 58: Représentation schématique de la corrélation entre les signes cliniques et la présence ou l'absence d'infection parasitaire chez les immunocompétents.....	90
Figure 59: Répartition des associations parasitaires observées.....	92
Figure 60: Prévalence de <i>Blastocystis</i> selon les tranches d'âge.....	114
Figure 61: Association entre la présence de <i>Blastocystis</i> et les signes cliniques.....	117
Figure 62: corrélation entre la charge en <i>Blastocystis</i> et les signes cliniques.....	119
Figure 63: Association entre la présence de <i>Blastocystis</i> et la consistance des selles.....	120
Figure 64: (A) Examen à l'état frais après coloration au Lugol montre la forme granulaire (étoile) et les formes vaculaires (flèches) de <i>Blastocystis</i> (X400). (B) Examen à l'état frais en eau physiologique montre la forme kystique (étoile) et la forme vaculaire de <i>Blastocystis</i> (flèche) (X400).....	123

Figure 65: Frottis fécaux colorés au MZN montrant plusieurs formes vacuolaires (flèches) et plusieurs formes kystiques (étoile) de <i>Blastocystis</i> (X1000).....	123
Figure 66: Culture <i>in vitro</i> montrant : (A) Les formes amiboïdes de <i>Blastocystis</i> ; (B) les formes vacuolaires (flèche) et la forme granulaire (étoile) de <i>Blastocystis</i> (X400).....	124
Figure 67: Culture <i>in vitro</i> montrant : (C1, 2) division cellulaire de <i>Blastocystis</i> (X400).....	124
Figure 68: Électrophorèse sur gel d'agarose de produits de PCR conformément aux amorces STS. M; Marqueur d'ADN de 100 pb (Biobasic).....	125
Figure 69: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> selon le sexe des patients.....	126
Figure 70: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction des tranches d'âge.....	127
Figure 71: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de lieu d'habitation.....	129
Figure 72: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de la source d'eau consommée.....	130
Figure 73: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction du contact avec les animaux.....	132
Figure 74: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction des signes cliniques.....	134
Figure 75: Distribution des sous-types simples et mixtes de <i>Blastocystis</i> en fonction de la charge parasitaire.....	135

Liste des abréviations

ADN	Acide Desoxyribonucléique
ADNr 18S	Acide ribonucléique de la petite sous unité ribosomique
ARN	L'acide ribonucléique
ARNr 18S	Acide Ribonucléique de la petite sous unité ribosomique
BME	Basal minimal essential medium
Cyt	Cytoplasme
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPS	Examen parasitologique des selles
FECT	Formol ether concentration technique
GM-CSF	Granulocyte - macrophage colony stimulating factor
gx	Glycocalyx
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IBS	Irritable Bowel Syndrome
IFA	Immunofluorescence indirect Assay
IMDM	Iscove's modified Dulbecco's medium
Ly	Lysosomes
MALDI- TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry
MEM	Minimum essential medium
MET	Microscopie électronique à transmission
MLO	Mitochondrion-Like Organelles
MIF	Mertthiolate-Iode-Formol
N	Noyaux
NF-kB	Nuclear factor kappa B
NOS	Oxyde nitrique synthase
NO	Monoxyde d'azote
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism

RPMI 1640	Rockwell Park Memorial Institute medium 1640
SIDA	Syndrôme d'immuno-déficience acquise
spp.	Espèce
STs	Sous-types
STS-PCR	Sequence Tagged Site-PCR
ssu rRNA	Small subunit ribosomal RNA
VC	Vacuole centrale
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
ZO	Zona occludens

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies liées à la contamination de l'environnement par les microorganismes, particulièrement les helminthes et les protozoaires intestinaux, sont nombreuses dans les pays en voie de développement (RACURT et *al.* 2006). Leur forte expansion dans certaines zones de ces pays est essentiellement due aux conditions climatiques favorables, au manque d'hygiène et d'assainissement et au faible niveau socioéconomique (RASO et *al.* 2005). Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'année 2015, on évalue à 3,5 milliards le nombre de sujets infectés par des parasites digestifs et à 450 millions le nombre de malades (WHO, 2015).

En plus, l'amibiase intestinale due au protozoaire *Entamoeba histolytica* est la troisième cause de mortalité par maladies parasitaires dans le monde après le paludisme et la bilharziose, elle affecte approximativement 180 millions personnes, dont 40000 à 110000 décèdent chaque année (COUDERT et DREYFUSS, 2010). Egalement, la giardiose, provoquée par *Giardia intestinalis* est une cause fréquente de diarrhée (FAYE et *al.* 1997 ; YADOLLAHIE et *al.* 2002), et qui peut avoir un impact négatif sur la croissance et le développement des enfants (SIMSEK et *al.* 2004). En outre *Cryptosporidium* spp. constitue un des principaux agents étiologiques des maladies diarrhéiques chez les patients immunodéprimés et les patients immunocompétents, et il a été associé à un taux de létalité relativement élevé ainsi qu'au retard de croissance d'origine nutritionnelle (PELETZ et *al.* 2013). Concernant les helminthiases, l'oxyure représente la parasitose la plus fréquente avec 1 milliard de personnes infectées dans le monde (BENOUIS, 2012). A côté des protozoaires les plus connus comme *Entamoeba*, *Giardia*, et *Cryptosporidium* d'autres parasites unicellulaires entériques comme les *Blastocystis* ont été identifiés mais demeurent généralement négligés par les autorités sanitaires.

Blastocystis spp. est le parasite anaérobie le plus commun qui colonise le tractus gastro-intestinal de l'homme ainsi que de nombreux animaux (NOEL et *al.* 2005). La prévalence de l'infection varie considérablement d'une région à l'autre mais en générale elle est plus élevée dans les pays en développement qui pouvant atteindre une prévalence de 100% (EL SAFADI et *al.* 2014) que dans les pays développés (20%) (TAN 2008). Cette différence de prévalence entre ces pays peut essentiellement s'expliquer par des conditions d'hygiène plus précaires puisque la voie oro-fécale est considérée comme la principale voie de transmission de ce parasite (EL SAFADI, 2014). Dans son blog dédié à *Blastocystis* (<http://www.blastocystis.net/>), Rune Stensvold du Statens Serum Institute de Copenhague au Danemark avance le nombre de 1 milliard d'individus qui pourraient être infectés par ce

parasite à travers le monde. Un tel chiffre amène naturellement à la question de l'impact réel de *Blastocystis* spp. en santé publique (CIAN, 2016).

Morphologiquement *Blastocystis* spp. présentent un polymorphisme important, se traduisant par l'existence de quatre formes (vacuolaire, granulaire, amiboïde et kystique) (TAN, 2008), nécessitant ainsi des techniques de diagnostics plus sensibles. La culture *in vitro* est rapportée comme étant plus sensible dans la détection de *Blastocystis* spp. que l'examen microscopique direct dans plusieurs études (DOGRUMAN-AL et al. 2009a ; SANTOS ET RIVERA, 2013 ; DAGCI et al. 2014 ; COSKUN et al. 2016). Les approches de la biologie moléculaire utilisant la PCR (Polymerase Chain Reaction) a révélé une sensibilité et une spécificité plus élevée que celle de la microscopie optique et à la culture *in vitro* (SANTOS et RIVERA, 2013 ; DAGCI et al. 2014 ; RIABI et al. 2018). A l'heure actuelle, 17 sous-types ont été clairement définis sur la base d'une séquence partielle de l'ARNr 18S (ALFELLANI et al. 2013a) dont neuf d'entre eux (ST1-ST9) sont capables d'infecter l'homme (STENSVOLD et al. 2007a). Le ST3 est le plus prédominant dans les études épidémiologiques, en particulier dans les pays africain (HUSSEIN et al. 2008; ALFELLANI et al. 2013a; EL SAFADI et al. 2014; BEN ABDA et al. 2017). D'ailleurs, la dernière décennie a vu un intérêt croissant porté à ce protozoaire qui s'est traduit par l'augmentation significative du nombre annuel de publications sur ce parasite, la création de la *Blastocystis* Research Foundation (BRF) aux Etats-Unis (<http://www.bhomcenter.org/>) et l'ajout en 2006 par l'OMS de *Blastocystis* spp. sur la liste des parasites à rechercher dans le cadre d'une vérification de la qualité de l'eau de boisson (WHO, 2008). Jusqu'à dernièrement, le pouvoir pathogène de *Blastocystis* spp. est controversé du fait d'un portage asymptomatique très fréquent. De plus sa grande diversité génétique a probablement contribué à sous-estimer son importance clinique. Des études récentes suggèrent une pathogénie variable selon les sous-types (TAN et al. 2010), néanmoins l'accumulation récente de données génomiques et épidémiologiques couplées à celles d'études *in vivo* et *in vitro* et de cas cliniques montrent que l'infection par *Blastocystis* spp. peut être associée à une variété des troubles gastro-intestinaux, et pouvant jouer un rôle dans le syndrome du Côlon Irritable (IBS) et dans les maladies inflammatoire de l'intestin (Inflammatory Bowel Disease) (YAKOOB et al. 2004; DOGRUMAN-AL et al. 2009b ; JONES et al. 2009 ; YAKOOB et al. 2010a ; YAKOOB et al. 2010b), ainsi que dans les manifestations cutanées comme l'urticaire (VOGELBERG et al. 2010 ; HAMEED et HASSANIN, 2011). Tandis que les populations immunodéprimées sont les plus susceptibles à l'infection par *Blastocystis* spp. en faisant un parasite opportuniste de premier plan (WAWRZYNIAK, 2012).

En effet, les études portées sur l'épidémiologie de ce parasite reflètent le niveau d'hygiène alimentaire et fécale, de l'accès à l'eau potable et à la salubrité de l'environnement. En Algérie, d'après la série statistique de l'OMS de 2014, 16% de la population n'a pas accès à des sources améliorées d'eau potable et 5% de la population n'a pas accès à des assainissements améliorés (OMS, 2014), en plus vue les mouvements migratoires des différentes populations des pays d'Afrique tropicale et subtropicale qui peuvent constituer un énorme facteur de risque de transmission des parasitoses intestinales à sollicité notre intérêt à étudier la prévalence et la distribution des sous-types de *Blastocystis* spp. en niveau de la wilaya de Laghouat au quelle les données épidémiologiques et moléculaire concernant sur ce parasite étaient inexistantes.

En Afrique, plusieurs études ont été menées sur la distribution des STs de *Blastocystis* spp. en Tunisie (BEN ABDA et al. 2017), en Libye (ABDULSALAM et al. 2013 ; ALFELLANI et al. 2013a), en Egypte (HUSSEIN et al. 2008 ; SOUPPART et al. 2010 ; FOUAD et al. 2011 ; EL DEEB et KHODEER, 2013), au Sénégal (EL SAFADI et al. 2014), en Tanzanie (PETRASOVA et al. 2011 ; FORSELL et al. 2016), aux Nigéria et Libéria (ALFELLANI et al. 2013a) et en Angola (DACAL et al. 2018).

Aucune étude n'a été portée sur l'identification des STs de *Blastocystis* spp. issue de souche humaine en Algérie, de ce fait les objectifs de cette thèse sont comme suit :

- Evaluer la prévalence des parasites intestinaux (protozoaires et helminthes) intervenant dans l'étiologie des maladies intestinales dans la région de Laghouat en tenant compte des paramètres épidémiologiques et cliniques retenus.
- Estimer la prévalence de *Blastocystis* spp. et la distribution des STs pour la première fois en Algérie par la mise au point de la PCR conventionnelle suivie par le sous type des souches. Comparer la sensibilité et la spécificité des différentes techniques de diagnostic utilisés pour la recherche de *Blastocystis* spp. Déterminer une éventuelle corrélation entre les STs de *Blastocystis* spp. et les facteurs épidémiologiques et cliniques. La thèse est structurée en trois chapitres ; le premier chapitre s'intéresse à une synthèse bibliographique sur les parasitoses intestinales et sur la biologie de *Blastocystis*, le second chapitre aborde les études expérimentales qui subdivisent en deux parties ; la première partie discute le profile épidémiologique et clinique des parasites intestinaux et la deuxième partie s'intéresse à l'identification moléculaire de *Blastocystis* spp. et enfin nous achevons ce travail par une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I
PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE 1 :
Généralité sur les parasitoses
intestinales

PARTIE 1 : Généralité sur les parasitoses intestinales

1.1. Définition

D'après GOSLING (2005), le Parasitisme est une relation intime entre deux organismes dont le premier (parasite) tire profit de l'autre (hôte), généralement pour obtenir des nutriments ou l'utiliser comme un support physique. Dans la plupart des cas de parasitisme, l'hôte subit des dommages de la part du parasite à un moment donné du cycle de vie. (COMBES, 1995). Dans ce contexte, les parasites peuvent être définis comme des organismes présents durant un temps significatif dans ou sur un autre organisme vivant dont ils obtiennent tout ou une partie des nutriments qui leur sont nécessaires et auquel ils ont un potentiel de nuisance (COMBES, 1995).

Parmi ces parasites on s'intéresse dans le présent travail à celles qui occupent un milieu stable où ils sont protégés des fluctuations du milieu extérieur en prenant comme habitat le tube digestif de l'homme et seraient à l'origine des parasitoses intestinales humaine.

Les parasitoses intestinales sont des maladies dues à la présence dans le tube digestif humain ou animale des parasites appartenant à deux embranchements celui des protozoaires qui comprend des espèces unicellulaires et celui des helminthes ou métazoaires comprenant des espèces pluricellulaires (SEGHIRE et OURAIBA, 2014 ; KIENTEGA, 2015), ces parasites pour survivre, s'adaptent à l'environnement dans lequel ils se trouvent en subissant différentes transformations (ERLANDSEN et *al.* 1996 ; CENTENO-LIMA et *al.* 2013).

1.2. Classification des parasites intestinaux

Une grande variété de parasites vit dans le tube digestif. Ils appartiennent à deux groupes zoologiques différents : les protozoaires et les helminthes. La majorité de ces parasitoses ne sont pas spécifiques de l'homme, mais communes à l'homme et à des animaux : on parle de zoonoses parasitaire (NICOLAS et *al.* 2002 ; ZONGO, 2002), (Figure 01).

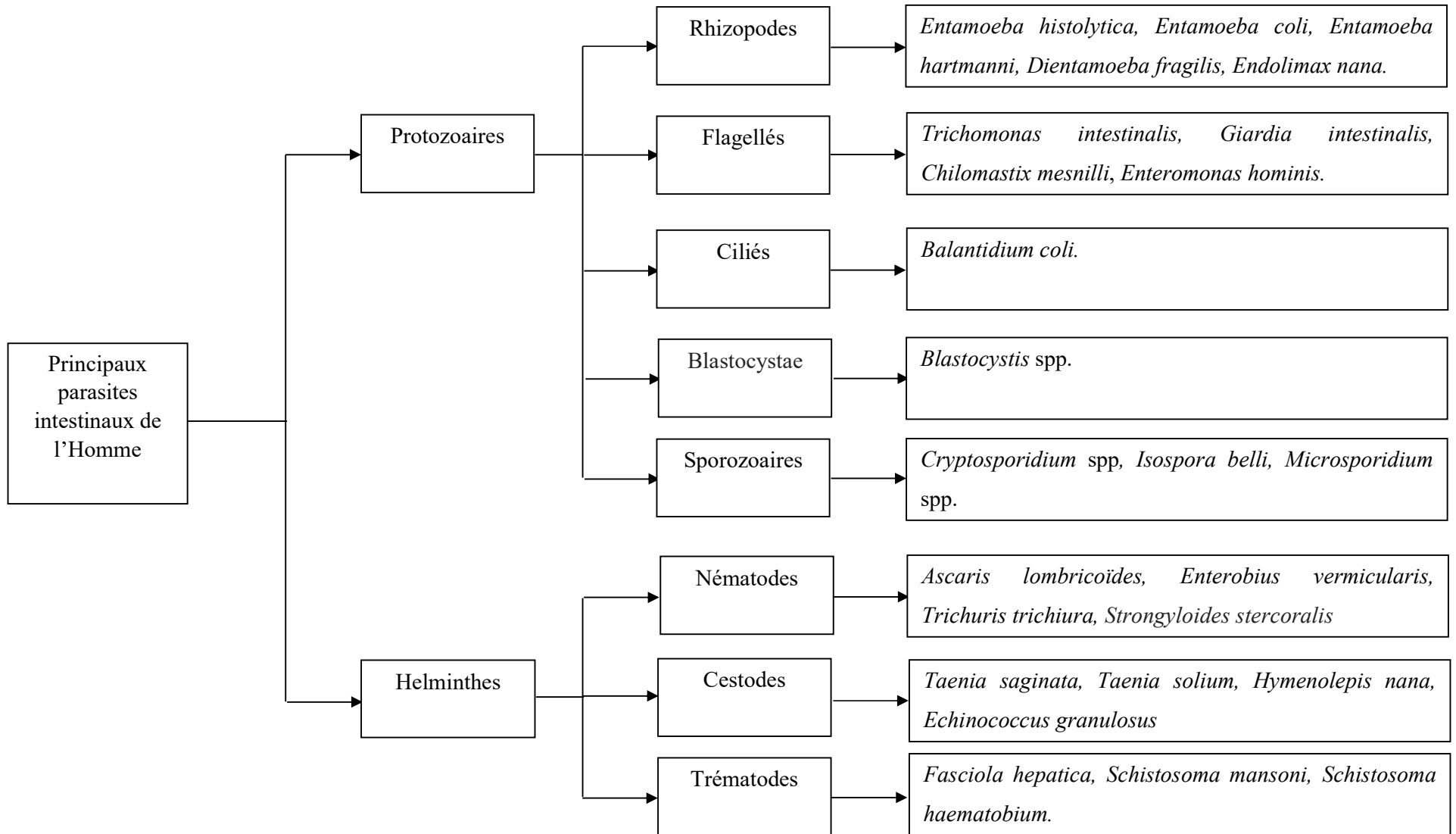


Figure 01: Diagramme des principaux parasites intestinaux de l’Homme (BENOUIS, 2012 ; SUZUKI et al. 2013).

1.2.1. Protozoaires intestinaux

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires microscopiques, dépourvus de chlorophylle. Leurs tailles varient de (1-600 µm), (YERA et *al.* 2015). Habituellement les protozoaires se trouvent dans l'hôte parasité sous deux formes : une forme mobile appelée forme végétative ou trophozoites et une forme immobile appelée forme kystique ; forme de résistance dans le milieu extérieur (KIENTEGA, 2015 ; YERA et *al.* 2015).

Le cytoplasme des protozoaires généralement incolore, contient plusieurs organites (mitochondrie, appareil de Golgie, reticulum endoplasmique, ribosome). Le cytoplasme est entouré par une membrane cytoplasmique munie ou non de cils ou de flagelles, le noyau, de forme très variable contient un ou plusieurs nucléoles (BRUCE et *al.* 2009).

Ils se multiplient par mitose ou par reproduction sexuée. Certaines espèces de protozoaires possèdent des cycles complexes où alternent de manière régulière des phases de multiplication asexuée et des phases de reproduction sexuée (BENOUIS, 2012).

Les protozoaires se divisent en fonction de leur appareil locomoteur, en quatre classes : les rhizopodes, les flagellés, les ciliés et les sporozoaires (DUPOUY-CAMET, 2000).

- Classe des rhizopodes : Ce sont des êtres unicellulaires capables d'émettre par la surface de leur corps des prolongements protoplasmiques appelés pseudopodes.
- Classe des flagellés : Ce sont des parasites dont l'appareil locomoteur est constitué d'un ou plusieurs flagelles et parfois d'une membrane ondulante. Ils peuvent présenter un axostyle ou non.
- Classe des ciliés : Ils se déplacent à l'aide de cils vibratiles. Seul *Balantidium coli* possède un intérêt médical.
- Classe des sporozoaires / Coccidies : Ils sont dépourvus d'appareil locomoteur différencié.

1.2.2. Helminthes

Ce sont des vers pluricellulaires, macroscopiquement visibles et à sexes séparés. Les vers adultes sont dépourvus d'organes locomoteurs et se déplacent grâce à leur plasticité (NICOLAS et *al.* 2002). Disposant de systèmes digestifs, reproducteurs, et nerveux sophistiqué, ils sont parfois de très grande taille (NICOLAS et *al.* 2002 ; SUZUKI et *al.* 2013 ; YERA et *al.* 2015), leurs cycles biologiques comprend plusieurs stades évolutifs qui se succèdent : œuf, larve et adulte impliquant des hôtes spécifiques définitifs et intermédiaires (BENOUIS, 2012). Leur transmission est orale ou transcutanée. Les helminthes se divisent en deux classes : les Nématelminthes (ou Nématodes) présentant un corps cylindrique jamais

segmenté et les Plathelminthes (ou Platyodes) caractérisés par un corps aplati rubané ou foliacé (NICOLAS *et al.* 2002).

1.2.2.1. Nématelminthes

Vers rond à corps non segmenté, possédant une cavité générale libre. Ils se caractérisent par la présence d'un appareil digestif complet : bouche, œsophage, intestin et rectum, un appareil génital, un système excréteur et un système nerveux (SUZUKI *et al.* 2013).

1.2.2.2. Plathelminthes

➤ Trématodes :

Vers au corps non segmenté avec un tégument portant des épines, ils sont munis d'un moyen de fixation ; les ventouses buccales et ventrales, un tube digestif incomplet, un appareil génital complexe et un système excréteur. Ces vers sont responsable de distomatose intestinale chez l'animal et accidentellement chez l'Homme (BENOUIS, 2012 ; SUZUKI *et al.* 2013 ; YERA *et al.* 2015).

➤ Cestodes

Vers plats à corps segmenté pouvant atteindre plusieurs mètres de long, leur tégument à microvillosité assure la nutrition ce qui explique l'absence du tube digestif. Ils se caractérisent par la possession d'une tête ou scolex où siègent les organes de fixation (ventouses et crochets), un appareil génital hermaphrodite, un système excréteur et nerveux (BENOUIS, 2012 ; SUZUKI *et al.* 2013 ; YERA *et al.* 2015).

1.3. Mode de contamination des parasites intestinaux

Les parasites intestinaux peuvent pénétrer dans l'organisme par deux voies différentes : la voie buccale et la voie transcutanée (ZONGO, 2002; FENG et XIAO, 2011).

- Pénétration par voie buccale : La contamination se fait par ingestion d'éléments infestant contenus dans l'eau ou les aliments souillés: cas d'œufs embryonnés d'*Ascaris* ou de *Trichocéphale*, de kystes mûrs d'amibes, de *Giardia* ou d'oocystes mûrs des coccidies.
- Pénétration par voie transcutanée : Elle se fait de façon active par effraction cutanée, ce mode de contamination est le fait des larves *Strongyloïdes* ou d'Anguillules, d'*Ankylostome* et de *Furcocercaire* de Schistosomes.

1.4. Importance des parasitoses intestinales sur le plan clinique

Au cours de ces deux dernières décennies, les parasitoses intestinales ont fait l'objet de nombreuses études (GUILLAUME, 2007 ; CERTAD, 2008 ; BEYLES, 2011). Ces études ont permis de situer la place occupée par les parasitoses intestinales dans l'ensemble de la pathologie infectieuse (GOLVAN, 1987).

La pathogénicité des parasites dépend de la diversité de ces derniers, de leurs localisations, migrations, métabolismes, et aux différents stades de leur développement, On distingue cinq types d'action sur l'organisme (GOLVAN, 1987 ; ZONGO, 2002).

➤ **Action spoliatrice**

Le parasite vivant aux dépens de son hôte est spoliateur par définition. Les spoliations souvent mineures s'expriment davantage si les parasites sont nombreux (anémie ankylostomienne) ou lorsqu'ils détournent à leur profit certaines substances (anémie de Biermer par spoliation en vitamine B12 dans le cas du bothriocéphale) (ANOFEL, 2014).

➤ **Action toxique**

Elle est due aux toxines libérées au moment de la piqûre des hôtes vecteurs ou au moment de la pénétration transcutanée des larves. Elle peut être aussi due aux toxines sécrétées par certains parasites à l'intérieur de l'organisme (toxines nécrosantes des amibes, toxine hémolytique des bothriocéphales, etc...). L'action toxique est souvent majorée à la mort du parasite suite à un traumatisme ou au traitement (fissuration ou rupture d'un kyste hydatique, lyse sous thérapeutique des microfilaires) avec de fréquents phénomènes allergiques ou anaphylactiques (ANOFEL, 2014 ; KIENTEGA, 2015).

➤ **Action traumatique**

Tout parasite perforant une muqueuse ou le revêtement cutané peut constituer une porte d'entrée microbienne (amibes et abcès amibien, filaire de Médine et perforation au niveau des malléoles) (GOLVAN, 1987, KIENTEGA, 2015).

➤ **Action mécanique**

C'est l'obstruction de l'intestin ou du canal de Wirsung par un paquet d'ascaris ou occlusion intestinale par la migration ou la perforation d'un ver ou encore la compression par un kyste hydatique, l'agression duodénale par les ankylostomes (ANOFEL, 2014 ; ZONGO, 2002).

➤ **Action inflammatoire et irritative**

Certains parasites occasionnent par leur présence même, une irritation plus ou moins intense. On peut citer par exemple, l'irritation du côlon par certains protozoaires entraînant une diarrhée (KIENTEGA, 2015).

1.5. Principales parasitoses intestinales

Les parasitoses intestinales sont des affections dues à la présence des parasites pathogènes ou non, dans l'intestin grêle ou le colon de l'homme. Les parasites intestinaux sont nombreux, divers et variés. Ils se différencient par leur morphologie, leur cycle évolutif, leur

mode de contamination, leurs manifestations cliniques, leur diagnostic et leur traitement (ZONGO, 2002).

Nous traiterons dans cette partie les différents parasites qui ont été le plus fréquemment retrouvés dans le présent travail

1.5.1. Protozoaires

1.5.1.1. Amibes

➤ Généralité

Les amibes intestinaux se composent de plusieurs espèces de protozoaires intestinaux qui infectent les humains et les animaux y compris : *E. histolytica*, *E. coli*, *E. dispar*, *E. hartmani*, *E. polecki*, *E. morskovikii*, *Dientamoeba fragilis*, *E. nana* et *Pseudolimax butschlii* (CLARK et al. 2002 ; NGEIYWA et ODITYO, 2016). Tous ces organismes, mise à part *E. gingivalis* qui est localisée au niveau de la bouche, peuvent être isolés à partir des prélèvements des selles. Ces parasites appartiennent à l'Embranchement *Sarcomastigophora* à la Super Classe des *Rhizopoda*, à la Classe des *Lobosea* et à l'Ordre des *Amoebida*. (ZONGO, 2015).

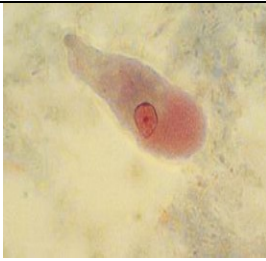
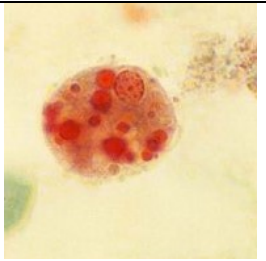
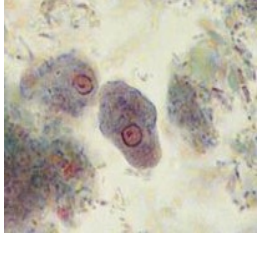
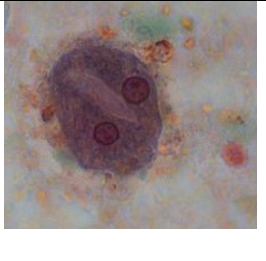
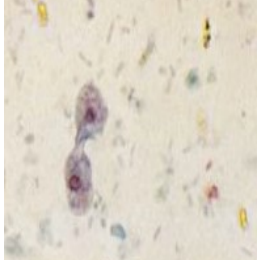
Parmi ces protozoaires entériques, seule *Entamoeba histolytica* hématophage est pathogène pour l'homme, responsable de la dysenterie amibienne. Par contre, les autres, inoffensives par elles-mêmes, sont des espèces commensales, localisées exclusivement dans la lumière de l'intestin où elles se nourrissent principalement de bactéries et de débris cellulaires (ZONGO, 2015 ; NDIAYE et al. 2017).

Il y a trois espèces d'amibes intestinales avec des caractéristiques morphologiques identiques (trophozoïte non hématophage et kyste): *Entamoeba histolytica* (amibe pathogène), *Entamoeba dispar* et *Entamoeba moshkovskii* (amibes non pathogène). Ces trois espèces sont morphologiquement indiscernables en microscopie optique, seule les outils de biologie moléculaires et immunologique ont permis de les différencier (NDIAYE et al. 2017).

➤ Caractères morphologique

Les amibes du genre *Entamoeba* sont de petite taille et possèdent un seul noyau. Le pseudopode est unique et se présente sous forme de protubérance antérieure. Le cycle de vie est très simple et s'accomplit avec un seul hôte. Presque toutes les espèces du genre (excepté *E. gingivalis*) forment des kystes de taille variable avec un nombre de noyaux allant de 1 à 8. Ces caractéristiques sont importantes dans l'identification des espèces (PETITHORY et al. 1998 ; RASOAMAMPIONONA, 2005). Le tableau 01 et le tableau 02 résument certaines caractéristiques (les formes végétatives et les formes kystiques) des espèces d'amibes les plus fréquemment retrouvées dans le tube digestif humain (Tableau 01 et 02).

Tableau 01: Caractéristique des formes végétatives des amibes parasites de l'intestin de l'homme (PETITHORY et al. 1998).

Espèces	Mouvement	Taille Cytoplasme	Noyau Taille Caryosome	Chromatine périphérique	Photos
<i>E. histolytica</i> Non hématophage	Vifs et directionnels en limace pseudopodes long, moyen invisible, moins rapide que la forme hématophage	15-24 µm	3 - 7 µm Petit et net	Fine en lisère continu ou en pointille	
<i>E. histolytica</i> hématophage	Vifs et directionnels en limace pseudopodes long, moyen invisible, plus rapide.	20-40 µm	3 - 7 µm caryosome punctiforme central	chromatine fine régulière en collier de perles	
<i>E. dispar</i>	Vifs et directionnels en limace pseudopodes long, moyen invisible	10-15µm Propre (aspect pommèle fréquent)	3 - 7 µm Petit et net	Fine en lisère continu ou en pointille	
<i>E. coli</i>	Lents non directionnels pseudopodes courts, moyen visible	20-30µm Grosses vacuoles, inclusions variées	5-7µm gros grisâtre à contours flous	Epaisse en gros grains	
<i>E. hertmanni</i>	Vifs, pseudopodes long et fins	3-10µm Nombreuse petites vacuoles, inclusions	2-3µm punctiforme	Grossière	

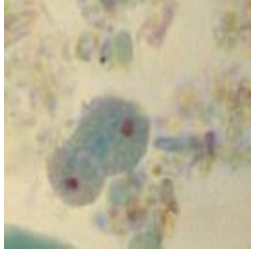
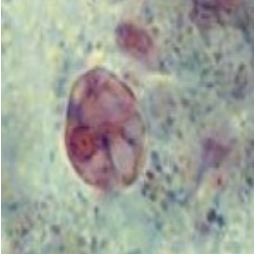
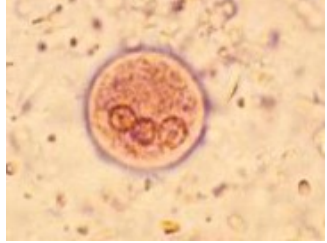
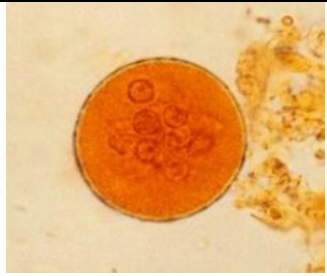
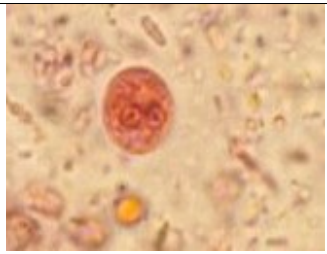

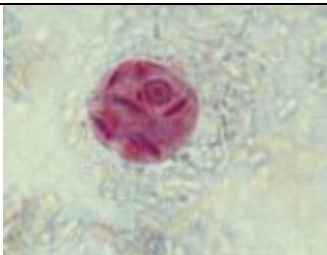
Espèce	Mouvement	Taille Cytoplasme	Noyau Taille Caryosome	Chromatine périphérique	Photos
<i>E. nana</i>	Pseudopodes en grappe de boule	5-10µm	1 seul noyau gros et irrégulier	Absence	
<i>E. polecki</i>	Lents non directionnels Pseudopodes arrondis et lents	10-25 µm	Membrane nucléaire mince, le caryosome est centrale ou excentré	Fine et régulièrement repartie	

Tableau 02: Caractéristique des formes kystiques mûres des amibes parasites de l'intestin de l'homme (PETITHORY et al. 1998).

Espèces	Taille et forme	Membrane	Noyau et inclusions	Photos
<i>E. histolytica</i>	10 - 15 μm ronde	Mince, peu réfringente	1-4 noyaux Chromidium (1 en général) en saucisse	
<i>E. coli</i>	15-30 μm souvent déformé	Epaisse à double contour, très réfringente	8 noyaux Plusieurs chromidium en aiguilles	
<i>E. hertmanni</i>	3 - 10 μm arrondi	Mince	4 petits noyaux Plusieurs vacuoles chromidium semble à <i>E. histolytica</i>	
<i>E. nana</i>	7-12 μm sphérique à ellipsoïdale.	Mince, peu réfringent	4 noyaux Absence des chromatines	
<i>E. polecki</i>	9-17 μm arrondis ou ovalaires	Assez épais Réfringent	2 noyaux Nombreuses petite vacuoles	

➤ **Cycle évolutifs d'*Entamoeba histolytica***

Le cycle évolutif d'*Entamoeba histolytica* est double: il existe chez de nombreux porteurs sains un cycle non pathogène assurant la dissémination de l'amibiase, tandis que chez les malades se déroule le cycle pathogène, caractérisé par l'apparition des formes histolytica (LEJEUNE, 1991 ; MEHLHORN, 2008 ; BENOUIS, 2012 ; GHOUDHURI et RANGAN, 2012 ; ZONGO, 2015 ; NDIAYE et al. 2017).

- **Le cycle non pathogène :** Après ingestion, la membrane des kystes se lyse et libère des amibes à quatre noyaux dans le milieu gastro-intestinal, chaque noyau va subir une mitose suivie par la division du cytoplasme donnant naissance à 8 petites amibes ou amoebules qui se transforment en trophozoïtes de type minuta. La forme minuta se multiplie par scissiparité, après plusieurs divisions, elle s'arrondie et donne une forme pré-kystique qui s'entoure d'une membrane épaisse pour donner un kyste mur à quatre noyaux. Ce dernier rejeté dans les selles, assure la dissémination de l'amibe dans le milieu extérieur, C'est au cours de ce cycle que s'effectue la dissémination de l'amibiase assurée par des sujets porteurs sains.
- **Le cycle pathogène :** Il résulte de la transformation des formes minuta en formes histolytica. Cette « mutation » se produit sous l'influence de multiples facteurs soit extrinsèques (modification de la flore bactérienne du colon, irritation chimique ou mécanique de la muqueuse), soit intrinsèques et fonction de la souche d'amibe. Les formes histolytica possèdent un riche équipement enzymatique (trypsine, pepsine, hyaluronidase) qui leur confère un pouvoir nécrosant. Elles franchissent par effraction la muqueuse colique, créant des ulcérations en coup d'ongle. Elles parviennent dans la sous muqueuse ou elles se multiplient activement par scissiparité, déterminant des abcès en « bouton de chemise » plus étendus en profondeur qu'en surface (ce sont des micro-abcès). Les formes histolytica contenues dans ces abcès sous muqueux sont généralement rejetées dans la lumière intestinale puis à l'extérieur ou elles meurent rapidement. Mais dans certains cas, elles passent dans la circulation mésentérique et gagnent par voie porte le foie, ou elles exercent leur pouvoir nécrosant. A partir de la localisation hépatique, l'amibe peut gagner, par contigüité ou par voie sanguine, les poumons, plus rarement d'autres organes.

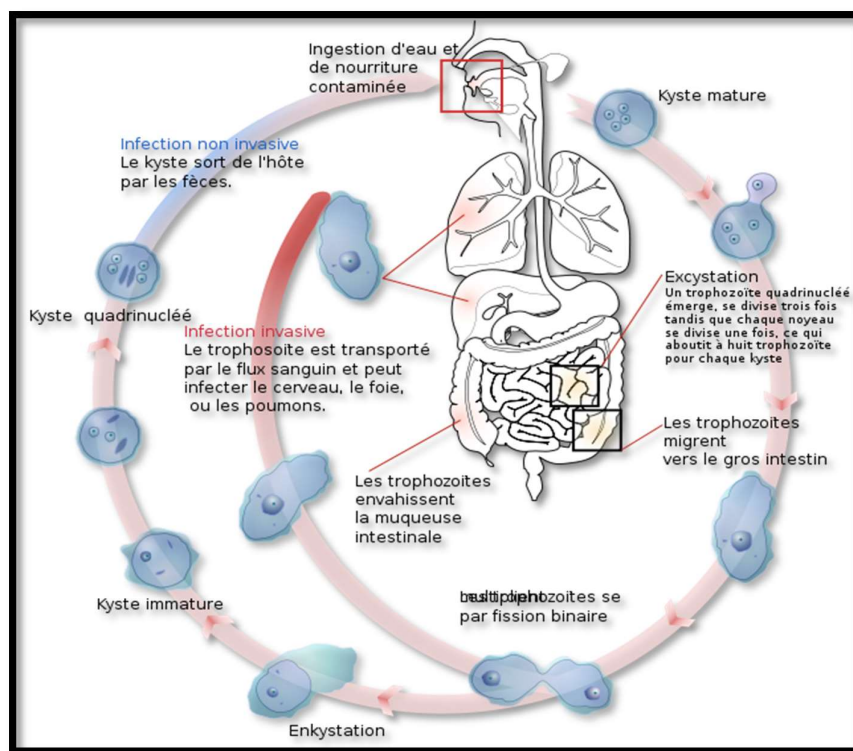


Figure 02: Cycle biologique d'*Entamoeba histolytica* (BEYLS, 2011).

1.5.1.2. Giardiose

➤ Généralité

Les membres du genre *Giardia* sont des protozoaires flagellés appartenant au sous-embranchement des *Sarcomastigophora*, à la classe des *Zoomastigophora*, l'ordre des *Diplomonadida* et à la famille des *Hexamitidés* (DECOCK, 2002 ; HERZOG, 2002). Ils infestent fréquemment les voies intestinales de nombreuses espèces de vertébrés (THOMPSON, 2008), essentiellement localisés au niveau du duodénum et le jéjunum. Elle est asymptomatique mais elle peut être à l'origine d'une entérite chronique accompagnée d'un syndrome de malabsorption en cas d'infestation massive (HERZOG, 2002). Cette parasitose est connue comme étant l'affection parasitaire humaine la plus répandue à travers le monde (DECOCK, 2002).

➤ Caractères morphologique

Giardia est connue sous deux formes : une forme végétative, le trophozoïte mobile et non infectieux qui ne peut pas survivre hors de l'hôte à cause de sa fragilité ; et une forme de résistance, le kyste immobile, qui assure la dissémination et la contamination (PETITHORY et al. 1998).

- **La forme végétative ou Trophozoïte :** La forme végétative vit au niveau du duodénum, à la surface de la muqueuse, où elle se multiplie par division binaire. Le trophozoïte mesure 6 à 10 μm de largeur sur 10 à 20 μm de longueur pour une épaisseur de 2 à 4 μm avec un aspect piriforme (Figure 03). Il possède une dépression ventrale qui joue un rôle dans la fixation du parasite aux cellules intestinales. L'extrémité antérieure est arrondie et l'extrémité postérieure est pointue. Il est actif et mobile grâce à quatre paires de flagelles : 2 flagelles antérolatéraux, prenant leur origine devant les noyaux et sortant par la face dorsale, 2 flagelles postéro-latéraux, prenant leur origine entre les noyaux et sortant par la face ventrale, 2 flagelles caudaux, prenant leur origine entre les noyaux et sortant par la face ventrale à l'extrémité postérieure du parasite et 2 flagelles ventraux épais, au fond du sillon formé par la concavité de la face ventrale. L'axostyle partage le corps en deux moitiés symétriques. Cette forme contient 2 noyaux bien visibles (PETITHORY et *al.* 1998 ; DECOCK, 2002 ; HERZOG, 2002).

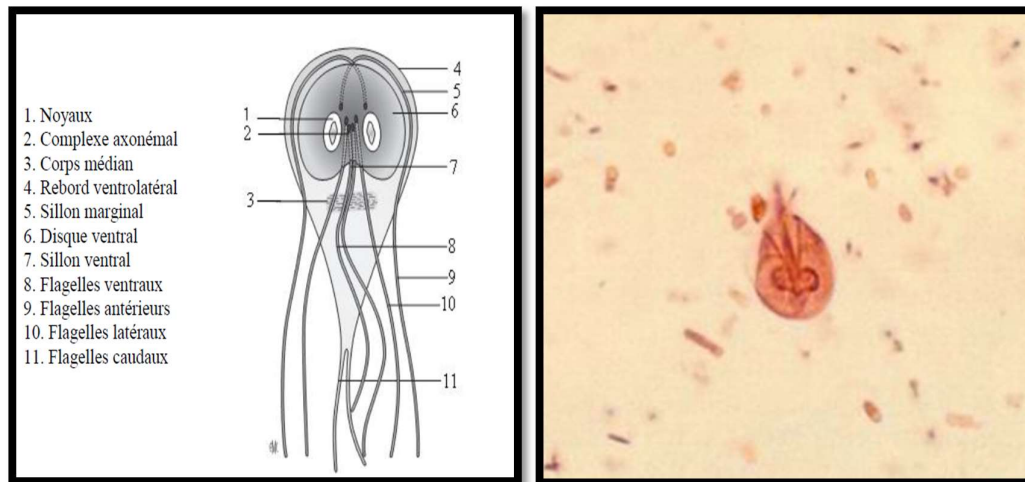


Figure 03: Trophozoïte de *Giardia intestinalis* (PETITHORY et *al.* 1998 ; GUILLAUME, 2007).

- **La forme kystique :** Il représente la forme de résistance et de dissémination du parasite. Il est de forme ovale de 7 à 10 μm de largeur pour 8 à 12 μm de longueur. Ce dernier est entouré par une paroi mince et réfringente et il contient 2 à 4 noyaux, selon le stade de maturité (2 dans les kystes récemment formés et 4 dans les plus matures). Des corps basaux, des corps médians, des fragments du disque ventral et des résidus des structures flagellaires composent aussi ce kyste donnant l'impression de contenir un S au centre (PETITHORY et *al.* 1998 ; DECOCK, 2002 ; HERZOG, 2002) (Figure 04).

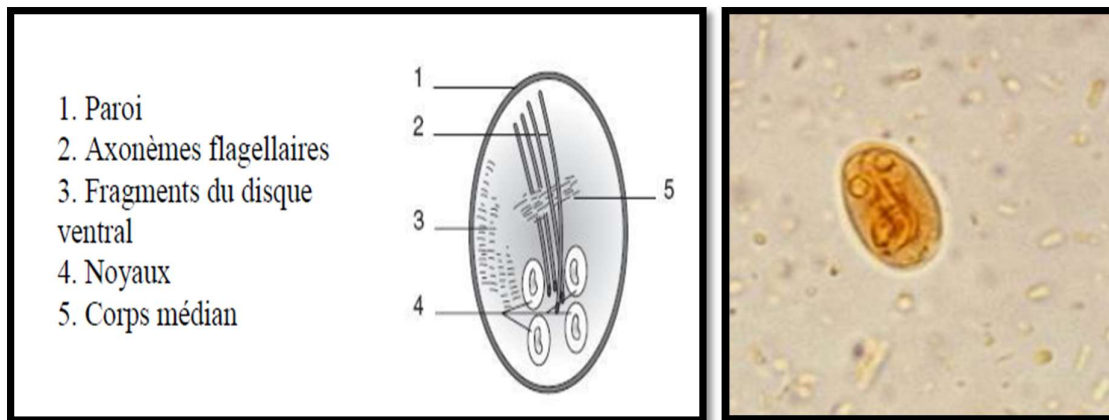


Figure 04: La forme kystique de *Giardia intestinalis* (PETITHORY et al. 1998 ; GUILLAUME, 2007).

➤ Cycle évolutif de *Giardia intestinalis*

Le cycle parasitaire du *Giardia*, est simple, direct et monoxène. L'infestation d'un nouvel hôte a lieu lors de l'ingestion du kyste contaminant le milieu extérieur (HERZOG, 2002). L'excystement est induit par les enzymes gastriques (pepsine), pancréatiques puis duodénales. La sortie des trophozoïtes est un mécanisme actif qui nécessite le mouvement des flagelles d'une part et la libération des enzymes contenues dans les vacuoles kystiques d'autre part (LEJEUNE, 1997). Un kyste donne naissance à deux trophozoïtes immatures, après leur séparation, ils subissent d'abord une phase de maturation (DECOCK, 2002).

Une fois dans l'intestin grêle, les trophozoïtes se multiplient activement. Certains d'entre eux se fixeront à la bordure en brosse des cellules intestinales et seront à l'origine de l'expression clinique de la maladie, d'autres poursuivront leur chemin le long du tube digestif pour subir l'enkystement (HERZOG, 2002). Ce dernier a lieu principalement dans le gros intestin (cæcum et côlon) mais également dans la partie terminale de l'iléon. Les facteurs environnementaux tels que le PH et la concentration en sels biliaires ou en acides gras semblent intervenir dans l'activation du phénomène de l'enkystement. Ensuite, les kystes sont rejetés dans le milieu extérieur où ils peuvent survivre plusieurs mois, notamment en milieu humide et frais. Notons, enfin que les trophozoïtes peuvent passer dans les excréments, leur très faible résistance dans le milieu extérieur explique qu'ils soient rarement des éléments infestants (DECOCK, 2002).

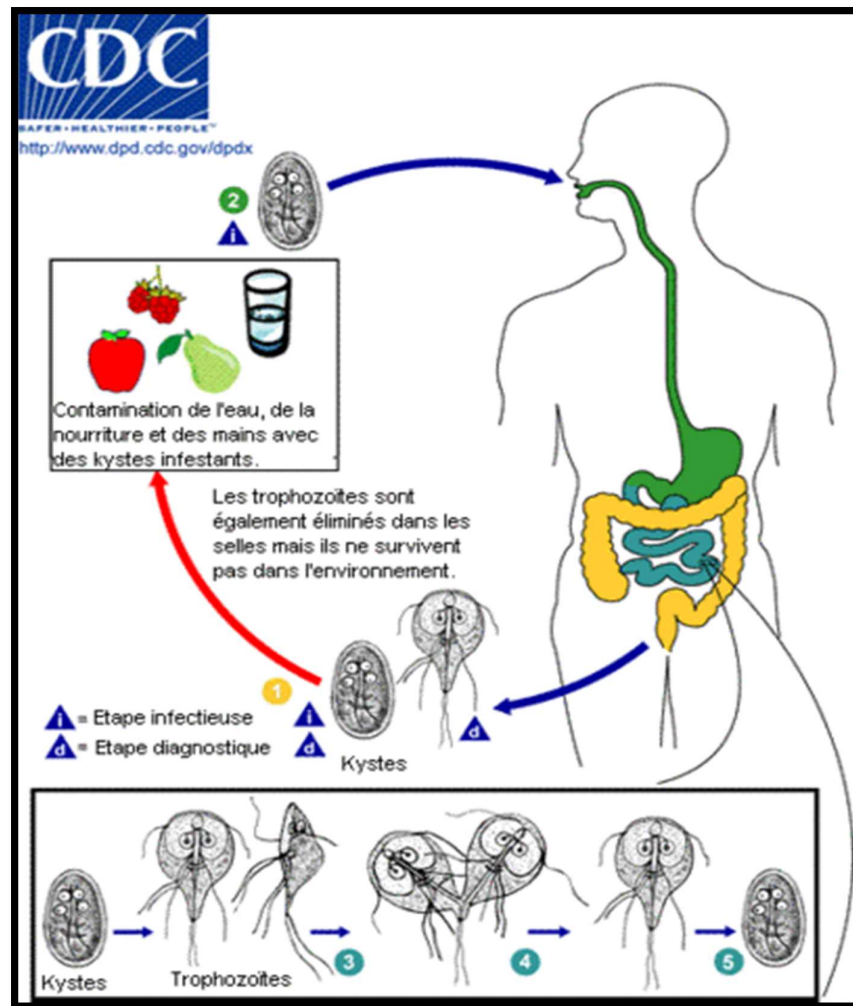


Figure 05: Cycle évolutif de *Giardia intestinalis* (DPDx-CDC)

Source : <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>

1.5.1.3. Trichomonose intestinale

➤ Généralité

Parasitose induite par un protozoaire flagellé appartenant au phylum *Sarcomastigophora*, à la Classe des *Zoomastigophora*, à l'Ordre des *Trichomonadida*, à la Famille des *Trichomonadidae* (DECOCK, 2002 ; HERZOG, 2002). Il se localise particulièrement dans la partie iléo-caecale de l'intestin de l'homme et il est répandu partout dans le monde. Il est très mobile et se multiplie par division binaire. Celle-ci est accélérée en milieu très alcalin. Il ne s'enkyste jamais (OUERMI, 2006).

➤ **Caractères morphologique**

Trichomonas intestinalis n'est connu que par sa forme végétative; il est piriforme de 10 à 15 de long sur 7 à 10 de large. Le flagelle récurrent est relié au corps par une membrane ondulante qui continue au-delà de la partie terminale formant le flagelle postérieur. Il à 5 flagelles antérieurs, son corps est traversé par un organe de soutien appelé axostyle (NDIAYE, 2006 ; OUERMI, 2006 ; SAGHROUNI, 2008) (Figure 06).

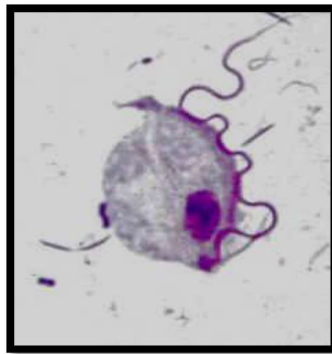


Figure 06: Trophozoite de *Trichomonas intestinalis* (OUERMI, 2006).

➤ **Cycle évolutif de *Trichomonas intestinalis***

Le cycle de vie de *Trichomonas intestinalis* est direct, L'homme s'infeste par ingestion de formes végétatives, soit de façon directe par les mains sales soit de façon indirecte par l'intermédiaire de l'eau de boisson, des aliments souillés par les selles des porteurs de *Trichomonas intestinalis* (NDIAYE, 2006).

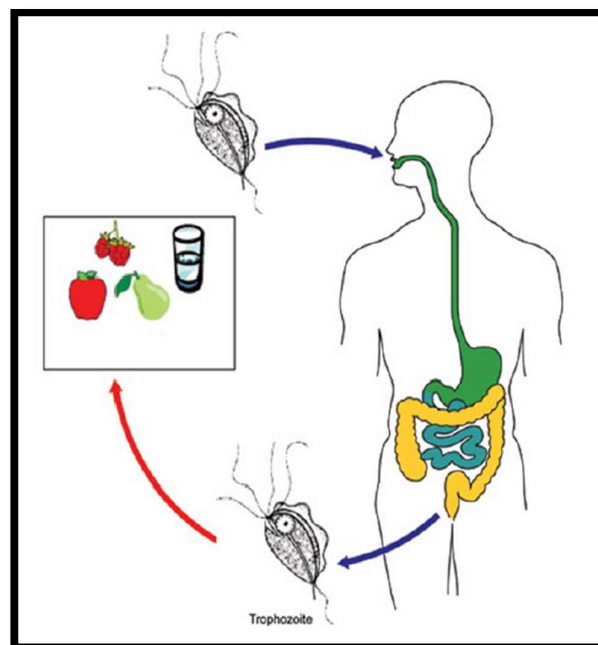


Figure 07: Cycle évolutif de *Trichomonas intestinalis* (SAGHROUNI, 2008).

1.5.1.4. Cryptosporidiose

➤ Généralité

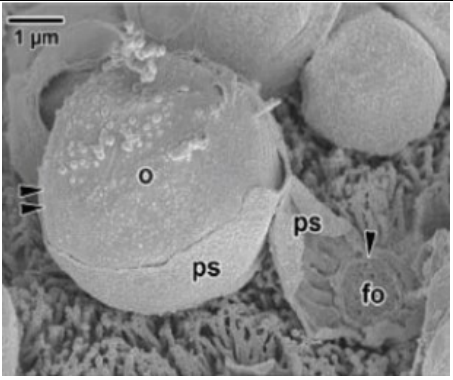
La cryptosporidiose est causée par des protozoaires intracellulaires, mais extra-cytoplasmiques; ils évoluent dans une vacuole parasitophore dépendante de la membrane plasmique de la bordure en brosse (ROCQUES, 2006). Les espèces du genre *Cryptosporidium* appartiennent à l'embranchement des *Apicomplexa*, sous-embranchement des *Sporozoa*, classe des *Sporozoasida*, sous-classe des *Coccidiasina*, ordre des *Eucoccidiorida*, au sous-ordre des *Eimeriorina* et à la famille des Cryptosporidiés (ROCQUES, 2006 ; PHILIPPIN, 2010).

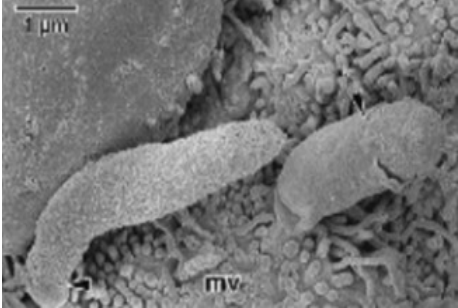
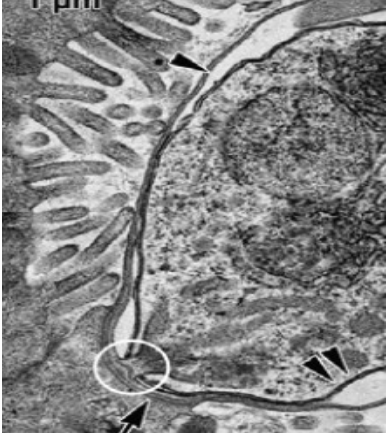
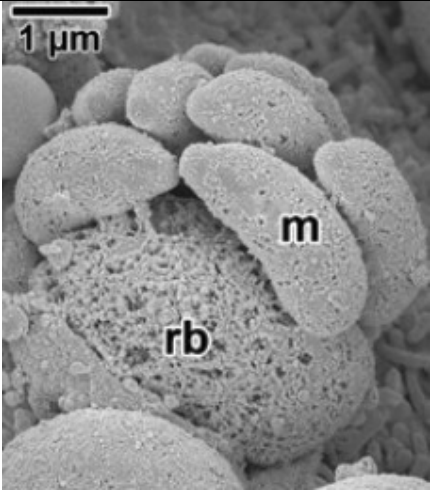
Une zoonose cosmopolite des humains et des animaux, asymptomatique mais chez les individus immunodéficients, elle occasionne des troubles digestifs sévères qui peut entraîner la mort (PHILIPPIN, 2010), touchant les cellules épithéliales (entérocytes) gastro-intestinales, tant chez l'humain ainsi que plus de 79 espèces de mammifères, 30 espèces d'oiseaux, 57 espèces de reptiles et 9 espèces de poissons. Ce très grand nombre d'espèces différentes montre la très faible spécificité d'hôte du genre *Cryptosporidium* (BOURDAIS-MASSNET, 2008).

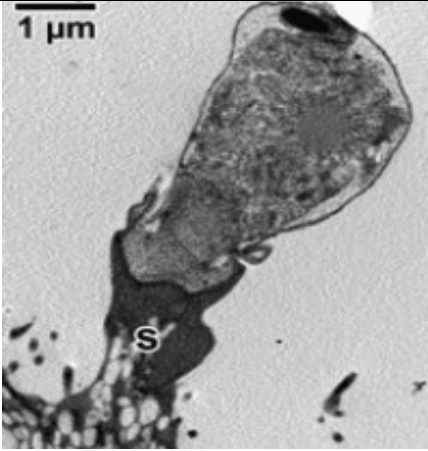
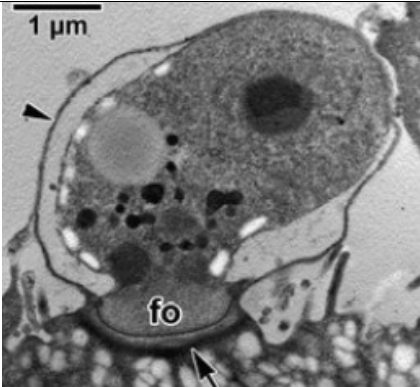
➤ Caractères morphologique

Dans le tableau suivant (Tableau 03) se trouve une description détaillée des différents stades évolutifs du parasite.

Tableau 03: Morphologie des différents stades évolutifs de *Cryptosporidium* spp. Images de microscopie électronique par transmission d'après VALIGUROVA et al. (2008). Description d'après FEYER (1997) in CERTAD (2008).

Forme évolutives	Description	Photos
Oocystes	<ul style="list-style-type: none"> - Forme sphérique à ovoïde. - diamètre entre 4 et 8 μm selon les espèces. - Chaque oocyste contient quatre sporozoïtes nus sans sporocystes.. - Une paroi composée de deux couches, interne et externe, bien distinctes. - À l'un de leurs pôles, une structure unique semblable à une fente s'étend sur 1/3 à 1/2 de leur circonférence. 	 <p>o : Oocyst ps : vacuole parasitophore fo : organelle nourricier</p>

<p>Sporozoïtes et merozoïtes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ils sont élancés, virguliformes. - Présence d'un complexe apical. 	 <p>mv : microvillosités</p>
<p>Trophozoïtes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ils possèdent un noyau unique proéminent et une organelle d'attachement/nourricier bien développé montré par la flèche sur l'image. 	
<p>Mérontes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Un cycle de multiplication asexué (merogonie ou schizogonie), mène à la formation de mérontes de type I contenant chacun six à huit merozoïtes. - Une fois matures les merozoïtes se séparent du corps résiduel. - Ils peuvent évoluer vers des mérontes type II à quatre merozoïtes. 	 <p>m : merozoïtes rb : corps résiduel</p>

<p>Microgamontes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ils ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. - Des divisions nucléaires successives dans le microgamontes forment de microgamètes. - Ils sont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie. 	
<p>Macrogamontes</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Forme sphérique à ovoïde. Ils présentent en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent. - Les microgamètes fécondent les macrogamètes pour produire un zygote qui évolue en oocyste. 	 <p>fo : organelle nourricier</p>

➤ Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp.

D'après ROCQUES (2006) ; BOURDAIS-MASSENET (2008) ; CERTAD (2008) ; PHILIPPIN (2010).

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont des parasites monoxènes, c'est-à-dire à un seul hôte. Ces parasites ont un cycle de développement assez complexe qui débute par l'ingestion de sa forme de résistance et de dissémination ; l'oocyste sporulé, qui est directement infestant, excrété avec les excréments des sujets infectés. Le cycle parasitaire se décompose en plusieurs parties : l'excystation, des phases de multiplications asexuées (schizogonie ou mérogonie) et sexuées (gamétogonie), suivie d'une fécondation et enfin de la sporogonie (ou sporulation).

- Excystation

Après l'ingestion, l'oocyste se excyste sous l'action des conditions du milieu intestinal (température, enzymes, sels biliaires, etc...). Libérant ses 4 sporozoïtes nus, éléments infectants Cette excystation se fait très facilement ce qui permet au parasite d'envahir rapidement le tractus intestinal. Les sporozoïtes s'attachent alors à l'épithélium de la bordure

en brosse des entérocytes et se transforment en trophozoïtes en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui leur confère une position intracellulaire mais extra cytoplasmique.

- **Schizogonie ou Mérogonie**

Ces trophozoïtes se transforment en mérontes de première génération (schizontes du type I) contenant huit mérozoïtes du type I formés par des divisions nucléaires successives.

Une fois libérés, ces mérozoïtes I ont deux devenir possibles : soit ils envahissent les cellules épithéliales voisines pour former des mérontes de deuxième génération soit ils participent à un phénomène de rétro infection en reformant des mérontes de première génération. Ce recyclage permet d'allonger la période d'excrétion, d'augmenter le nombre d'oocystes excrétés et d'amplifier la pathogénicité, même si un petit nombre d'oocystes a été ingéré. Enfin, ces mérontes II (2ème génération) forment quatre mérozoïtes, qui vont produire les gamontes.

- **Gamétogonie**

Les mérozoïtes produisent des micro-gamontes mâles et des macrogamontes femelles qui évolueront en micro et macrogamètes. Un microgamonte produit jusqu'à 16 microgamètes qui une fois matures, féconderont le macrogamète pour donner un zygote.

- **Sporogonie ou sporulation**

Chez *Cryptosporidium* la sporogonie se fait chez l'hôte : le zygote évolue en oocyste sporule directement dans le tractus intestinal. Il existe deux sortes d'oocystes se distinguent par l'épaisseur de leur paroi, les oocystes à paroi épaisse sont directement éliminés avec les excréments et ceux à paroi plus fine (qui constitue environ 20 % des oocystes) libèrent leurs sporozoïtes directement dans le tractus digestif et donnent lieu à une auto-infestation et à un nouveau cycle de développement chez le même hôte.

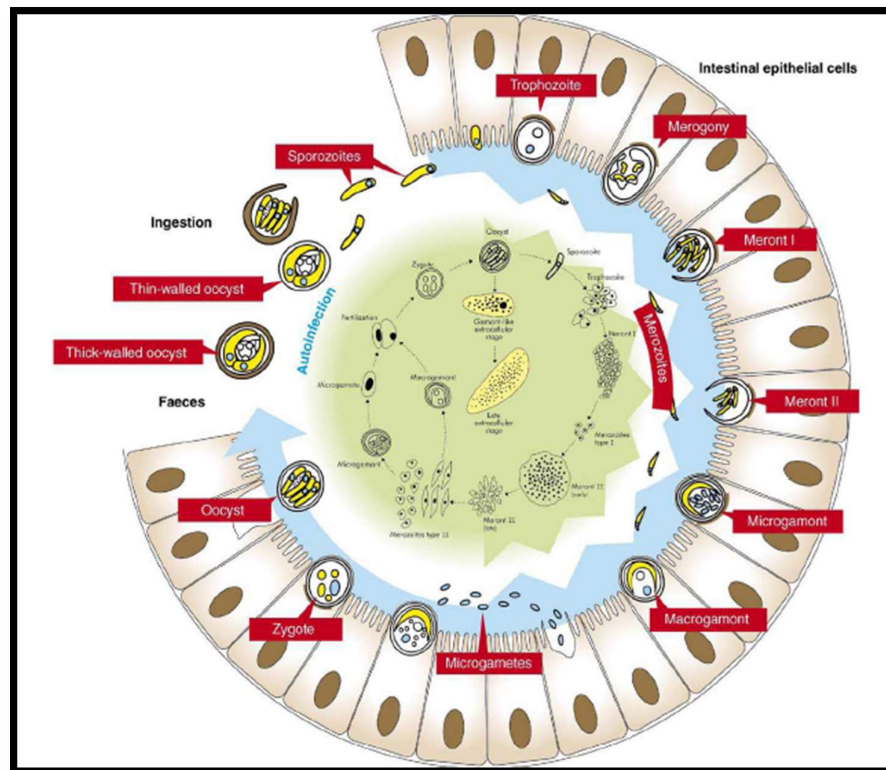


Figure 08: Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. (BOURDAIS-MASSET, 2008).

1.5.2. Helminthes

1.5.2.1. Oxyures

➤ Généralité

L'Oxyurose est une parasitose intestinale causée par un vers nématode *Enterobius vermicularis* appartient au Phylum des *Helminthes*, à la Classe des *Némathelminthes*, à l'Ordre des *Ascaridida* à la Famille des *Oxyuridae* (NDIAYE, 2006). Cette infection cosmopolite, très fréquente, atteignant un milliard d'individus, tant en zones tempérées qu'en zones tropicales (DURAND et al. 2004).

La contamination se fait surtout par l'ingestion des œufs des vers, la plupart du temps, ces œufs proviennent d'eau et d'aliments contaminés ou des mains de personnes infectées surtout des jeunes enfants. La contamination de l'homme est souvent intrafamiliale, et l'auto-infestation est fréquente (PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).

➤ **Caractères morphologique**

- **Adulte**

Les oxyures sont des petits organismes blancs, cylindriques, fusiformes, à section circulaire (vers ronds). Ils sont dépourvus de cavité cœlomique et d'appendices. Leur corps non métamérisé est protégé par une cuticule stratifiée, protéique dont la présence impose une croissance par mues (NDIAYE, 2006).

La femelle est ovipare, mesure 9 à 13 mm de long et 0,3 à 0,5 mm de diamètre. Elle possède une queue pointue occupant le tiers de la longueur totale du corps. Les voies génitales sont constituées par deux utérus et deux ovaires. Elles s'ouvrent par un trou commun, aboutissant à une vulve transversale à lèvres saillantes, située un peu en avant du quart antérieure du corps. L'anus est à environ 2 mm de la pointe terminale, (DURAND et *al.* 2004 ; PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).

Le mâle a une longueur varie de 3 à 5 mm, et le diamètre de 100 à 200 μm . Son extrémité postérieure est recourbée ventralement et tronquée ; elle est généralement pourvue d'un seul spicule, rarement visible. La queue, précédée d'un cône génital, est porteuse de deux paires de grosses papilles allongées. Elle est parfois pourvue d'ailes caudales et peut s'élargir en une bourse caudale (DURAND et *al.* 2004 ; PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).



Figure 09: Caractéristique morphologique de l'adulte mâle et femelle d'*Enterobius vermicularis* (DURAND et *al.* 2004).

- **Œufs**

Les œufs, incolores et lisses, ont une forme ovalaire asymétrique. Ils mesurent de 50 à 60 μm de long par 30 à 32 μm de large. Dès la ponte, habituellement sur la marge anale, ces œufs renferment un embryon mobile et sont infestants en moins de 6 heures (auto-infestation possible) (DURAND et *al.* 2004 ; PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).



Figure 10: Œuf d'*Enterobius vermicularis* (EL TAHIRI, 2008).

➤ **Cycle évolutif d'*Enterobius vermicularis***

Le cycle d'*Enterobius vermicularis*, est un cycle monoxène direct, dont l'Homme est le seul hôte. L'infection commence le plus souvent par l'ingestion d'œufs. Cette ingestion peut se produire par les ongles, par les aliments souillés, ou encore par l'inhalation de poussières contenant des œufs (DURAND et *al.* 2004 ; NDIAYE, 2006 ; EL TAHIRI, 2008). Les œufs éclosent sous l'effet des sucs digestifs et libèrent les larves qui évoluent dans l'intestin grêle où elles subissent 5 mues en 2 à 4 semaines dans la région caeco-appendiculaire, les larves deviennent adultes et capables de s'accoupler (PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).

Après l'accouplement dans la région iléocœcale, les mâles restent sur place où ils meurent et sont expulsés dans les selles. Les femelles migrent le long du côlon. Elles progressent de 12 à 14 cm par heure. Les femelles gravides traversent l'anus, cette migration s'effectue essentiellement la nuit et dure environ 3 heures. Elles se fixent alors par leurs lèvres cornées sur la peau de la marge anale et y pondent entre 4 000 et 17 000 œufs (10 000 en moyenne), en une quinzaine à soixantaine de minutes. Ces œufs sont embryonnés à la ponte et sont directement contaminants, (DURAND et *al.* 2004 ; NDIAYE, 2006 ; EL TAHIRI, 2008 ; PRIEUR, 2013 ; GEFFROY, 2014).

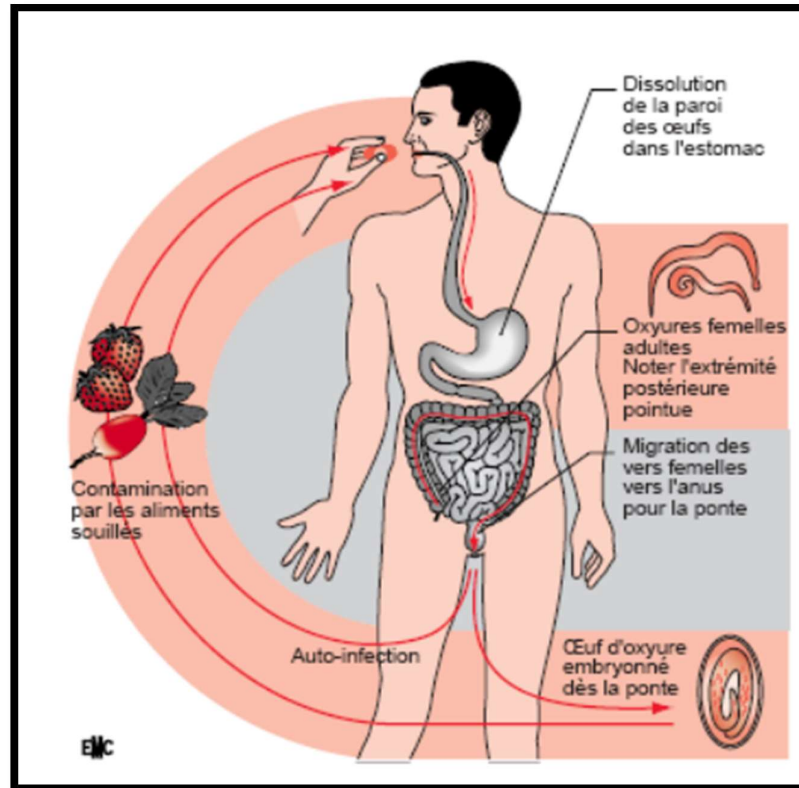


Figure 11: Cycle évolutif d'*Enterobius vermicularis* (EL TAHIRI, 2008).

1.5.2.2. Trichocéphale

➤ Généralité

Parasitose induite par un nématode hématophage appartenant au phylum *Nematoda*, classe *Adenophorea*, ordre des *Trichocephalida* et à la famille des *Trichuridae*. Ils se trouvent dans la lumière colique et caecale des mammifères (OLLAGNIER, 2007).

➤ Caractères morphologique

- Adultes

Les adultes sont des vers blanchâtres dont la forme générale est celle d'un fouet, ils mesurent de 3 à 5 cm de longueur avec une partie antérieure effilée. L'extrémité postérieure est recourbée chez le mâle et effilée chez la femelle, et se fixent à la muqueuse du caecum. Les vers adultes sont hématophages (5µl de sang/ ver/ jour) (DELTOUR, 2000 ; AMIOUR, 2016).

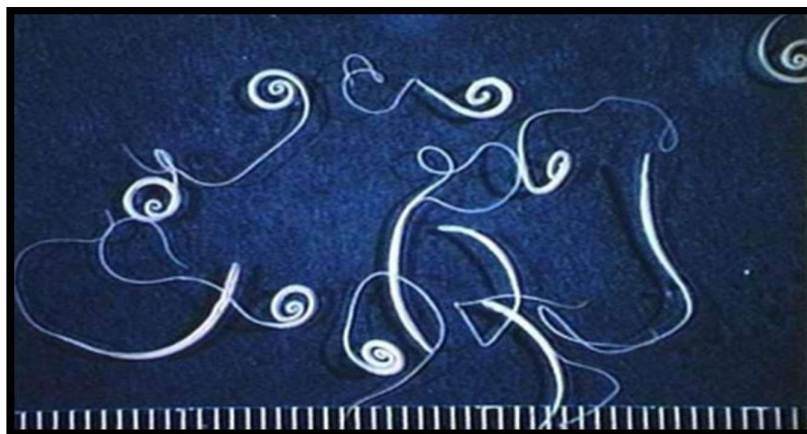


Figure 12: Caractéristique morphologique de l'adulte mâle et femelle de *Trichuris* spp. (AMIOUR, 2016).

- Œufs

Les œufs de *Trichuris* spp. sont ovoïdes et mesurent entre 50 et 58 μ m de longueur pour 22 à 27 μ m de largeur. Ils ont une coque épaisse munie de deux bouchons polaires proéminents à chaque extrémité, qui leur donnent un aspect caractéristique (AMIOUR, 2016).



Figure 13: Œuf non embryonné de *Trichuris* spp. (AMIOUR, 2016).

➤ Cycle évolutif de *Trichuris trichiura*

Le trichocéphale est un ver très ubiquiste. Il parasite de nombreuses espèces animales ainsi que l'homme. Son cycle de développement est simple, à un hôte unique, dit cycle monoxène. Il comprend quatre stades larvaires, suivi d'un stade pré adulte puis d'un stade adulte (DELTOUR, 2000).

Les femelles pondent des œufs (environ 30 000 par jour) qui sont expulsés avec les excréments. Dans le milieu extérieur et sur le sol, les œufs s'embryonnent et se transforment au bout de trois semaines en larve infestante. L'infestation débute par l'ingestion des œufs embryonnés dans lesquels se trouvent les larves du troisième stade. Celles-ci, après s'être libérées de leur enveloppe suite à une digestion au niveau de l'intestin grêle et du caecum, se transforment ensuite en larves 4, puis en pré adultes et enfin en adultes. Tout cela conduit à la formation d'œufs qui sont ensuite rejetés avec les excréments (OLLAGNIER, 2007). On

rencontre les *trichuris* dans le caecum et le colon de leurs hôtes où ils ponctionnent les vaisseaux et déchirent des tissus à l'aide de leur stylet situé sur leur extrémité antérieure. Les trichures ne prélèvent que la quantité du sang nécessaire à leurs besoins et l'utilise complètement (DELTOUR, 2000).

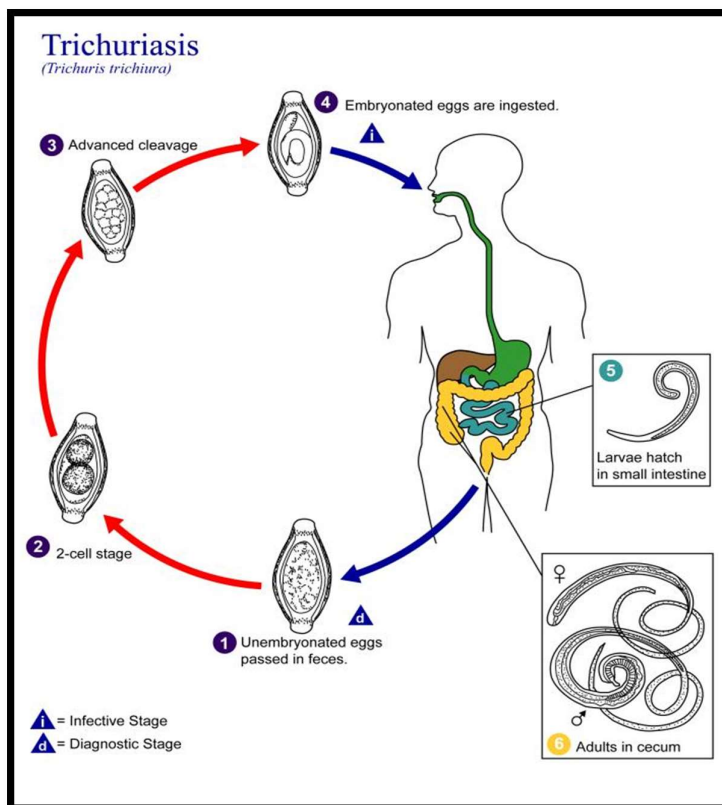


Figure 14: Cycle évolutif de *Trichuris* spp. (DPDx-CDC)

Source : <https://www.cdc.gov/dpdx/trichuriasis/index.html>

1.5.2.3. Tæniasis

➤ Généralité

Les parasites, agents de taeniasis humain, sont *Taenia saginata* et sa forme larvaire *Cysticercus bovis* et *Taenia solium* et sa forme larvaire *Cysticercus cellulosae*. Ils appartiennent à l'Embranchement des Plathelminthes, à la Classe des Cestoda, à l'Ordre des Cyclophyllidea et à la Famille des Taenidea (GAUDIOT, 2000).

Les ténias, *Taenia saginata* et *Taenia solium*, sont des cestodes, vers plats, cosmopolites, parasites de l'intestin grêle de l'Homme. Ils ont une forme rubanée, sont segmentés, hermaphrodites, et leur évolution comporte un stade adulte et un stade larvaire. Les stades larvaires, ou cysticerques, sont hébergés par les hôtes intermédiaires (bovins, porcins). Ces stades larvaires sont infectants par voie orale pour l'Homme (hôte définitif), chez lequel ils

déterminent le tœniasis. Cependant, l'Homme peut accidentellement devenir hôte intermédiaire pour *T. solium* : ses larves peuvent déterminer une cysticercose sous-cutanée, musculaire, neurologique ou oculaire (ANOFEL, 2016).

➤ **Caractères morphologique**

- *Taenia saginata*

C'est un cestode de grande taille, mesurant de 4 à 10 mètres, composé de 1.000 à 2.000 proglottis, dont les gravides peuvent renfermer plus de 100.000 œufs. Le scolex est piriforme, mesurant de 1 à 2 mm de diamètre sans rostre ni crochet. Les premiers anneaux sont courts et ceux qui sont mûrs sont plus longs que larges. Les œufs viables ingérés par les bovins au pâturage se transforment en cysticerques (*Cysticercus bovis*) en 60 à 70 jours. Ils sont un peu plus petits que ceux de *C. cellulosae* de *T. solium* (GAUDIOT, 2000 ; BENOUIS, 2012).

- *Taenia solium*

Taenia solium est un ver plat de 2 à 4 mètres de longueur (parfois jusqu'à 8 mètres) comprenant 800 à 1000 proglottis : ceux qui sont gravides renferment 30.000 à 50.000 œufs; le scolex globuleux mesure 1 mm de diamètre, légèrement quadrangulaire il présente un rostre court et une double couronne de crochets. Le développement complet du cysticerque s'accomplit en 9 à 10 semaines: ce cysticerque a la forme d'une vésicule ovoïde remplie de liquide de 15 mm de longueur sur 7 à 8 de large: il présente l'aspect d'une vésicule remplie de liquide, contenant un scolex invaginé (GAUDIOT, 2000 ; BENOUIS, 2012).

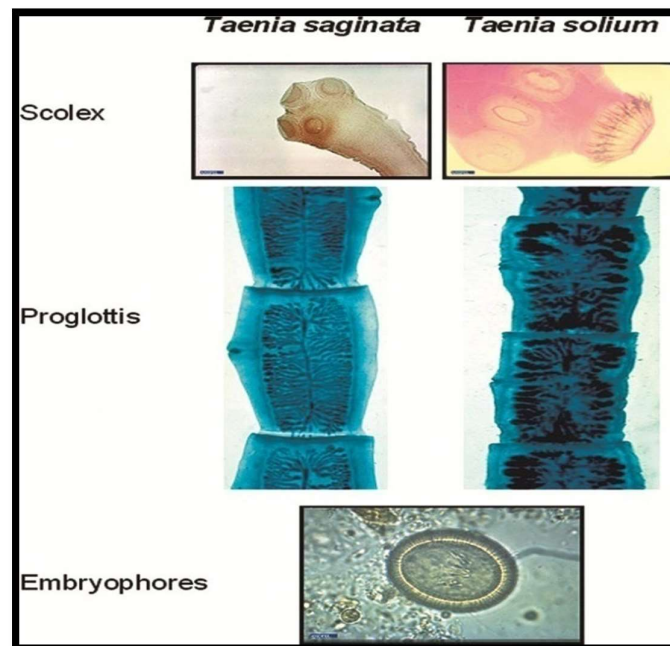


Figure 15: Aspect morphologique de l'adulte et l'embryophores de *T. saginata* et *T. solium* (ANOFEL, 2016).

➤ Cycle évolutif de *T. saginata* et *T. solium*

T. saginata et *T. solium* présentent un cycle biologique similaire seul l'hôte intermédiaire est différente. En effet le cestode adulte vit au niveau de l'intestin grêle de l'homme, après fécondation les segments gravides sont éliminés avec les excréments dans le milieu extérieur où ils éclosent libérant les œufs embryonnés. Ces derniers sont ingérés par l'hôte intermédiaire où la coque est dissoute libérant la larve cysticerque et quand l'hôte définitif ingère la viande peu cuite de l'hôte intermédiaire le cysticerque devient adulte (Figure 16) (GAUDIOT, 2000 ; BENOUIS, 2012).

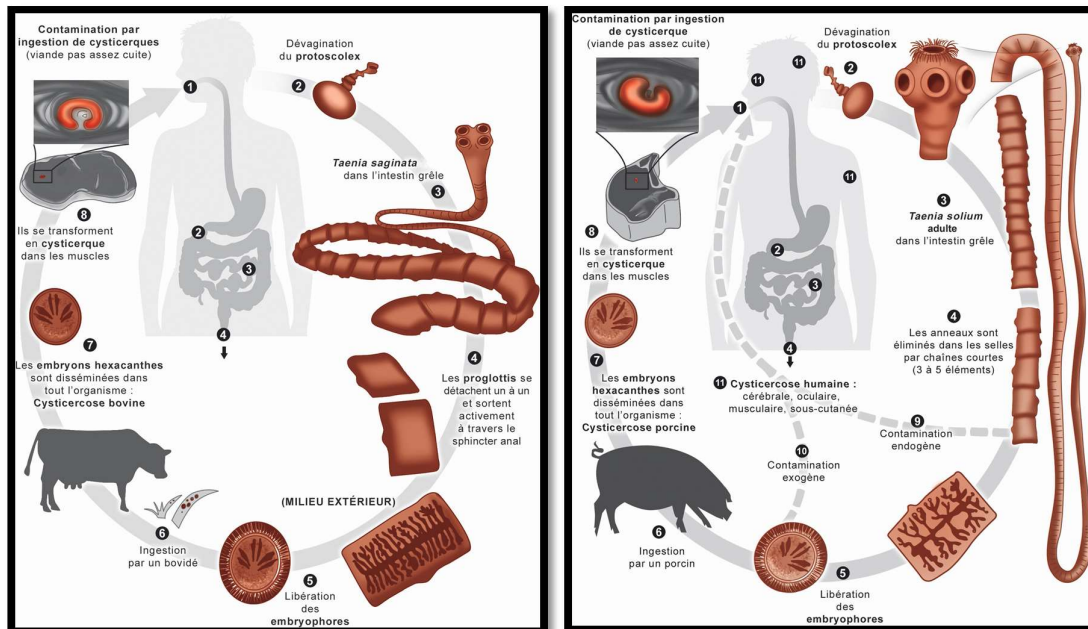


Figure 16: Cycle évolutif de *T. saginata* et *T. solium* (ANOFEL, 2016).

PARTIE 2 :

Rappel sur la Blastocystose

PARTIE 2: Rappel sur la Blastocystose

2.1. Historique et classification de *Blastocystis* spp.

Blastocystis a été décrit pour la première fois au début du XX^{ème} siècle par Alexeieff (1910, 1911), qui l'a alors considéré comme un nouveau genre de champignon du groupe des Ascomycètes voisins des levures et lui a donné le nom *Blastocystis enterocola*. En 1912, Brumpt remplace *enterocola* par *hominis* pour les organismes retrouvés dans les selles humaines. Sur la base de ces études, *Blastocystis* spp. a été rapproché des levures en raison de son importante variation de taille, son absence d'organe locomoteur et son mode de division par fission binaire qui peut être facilement confondu avec un mode de division par bourgeonnement (EL SAFADI, 2014). Ce n'est qu'en 1967 que *Blastocystis* sera classé parmi les protozoaires à partir de critères morphologiques et physiologiques (Tableau 04), tels que l'absence de croissance sur des milieux fongiques, une sensibilité à des molécules utilisées contre les protozoaires et une résistance aux fongicides (ZIERDT, 1967).

Tableau 04: Caractéristiques utilisées pour reclasser *Blastocystis* spp. parmi les protozoaires (ZIERDT, 1991).

Characteristic	Yeast	<i>B. hominis</i>
Strict anaerobe	No	Yes
No growth on fungal or bacteriological media	No	Yes
Growth on media developed for intestinal protozoa	No	Yes
No growth on surface of solid media	No	Yes
Requires presence of bacteria for growth; axenic growth achieved slowly under carefully controlled conditions	No	Yes
Capable of ingesting bacteria and other particulate matter	No	Yes
Cultures die in 2-3 days at 22°C or overnight at 4°C	No	Yes
No growth below 33°C, but cell death at 30°C	No	Yes
Optimal growth at 37°C	No	Yes
Optimal growth at neutral pH	No	Yes
No growth at pH 5.5	No	Yes
Resistant to 400 µg of amphotericin per ml	No	Yes
Sensitive to drugs effective against intestinal protozoa	No	Yes
No cell wall	No	Yes
Reproduction by endodyogony, schizogony, binary fission, and plasmotomy (cutting off) individual <i>B. hominis</i> from the ameba form	No	Yes
No budding	No	Yes
Supports stable bacterial endosymbiont (an obligate mutualism)	No	Yes
Slow-feeding pseudopods	No	Yes
Rapid locomotion pseudopods	No	Yes
Limiting membrane with micropinocytotic vesicles	No	Yes
Membrane-bound CB, a reproductive organelle, formerly called vacuole	No	Yes
Mitochondria in all cells; mitochondria show a general morphology similar to that in other protozoa, with short saccate cristae when in the resting mode	No	Yes

L'avènement de la systématique moléculaire, qui repose sur l'analyse et la comparaison de la séquence du gène codant l'ARN de la petite sous-unité ribosomale (ssu rRNA) de *B. hominis* avec celle d'autres eucaryotes conclut au fait que cet organisme n'est pas monophylétique avec la levure (*Saccharomyces*), les champignons (*Neurospora*), les sporozoaires (*Toxoplasma*) ou les sarcodines (*Dictyostelium*) (Johnson et al. 1989). Quelques années plus tard une phylogénie reposant sur les séquences complètes du gène de l'ARN ribosomique (ARNr) 18S a révélé l'émergence de ce parasite au sein du groupe des Straménopiles (SILBERMAN et al. 1996). Ce groupe complexe, appelé aussi hétérokontes,

regroupe à la fois des organismes unicellulaires et pluricellulaires, hétérotrophes ou phototrophes, qu'ils soient libres comme les diatomées et les algues brunes ou parasites comme les oomycètes. Le phylum des Straménopiles fut créé en 1986 par Cavalier-Smith et regroupait initialement des organismes caractérisés par la présence au cours de leur cycle de développement d'un stade qui possède un flagelle à mastigonème (CAVALIER-SMITH, 1986). Silberman révèle que *Blastocystis* spp. est proche phylogénétiquement du flagellé *Proteromonas lacertae* (SILBERMAN et al. 1996), un endosymbionte flagellé de l'intestin de lézards et d'amphibiens (Figure 17). Ces deux organismes partagent certaines caractéristiques, notamment le fait d'être des parasites de l'intestin de vertébrés ou encore de posséder un stade de résistance qui est aussi le stade de contamination (le stade kystique). Toutefois, à la différence des straménopiles, *Blastocystis* ne possédant pas de flagelle (et donc pas de mastigonème), une nouvelle classe, celle des *Blastocystae* a été spécialement créée (CAVALIER-SMITH, 1987). A ce jour, *Blastocystis* spp. et *Pythium insidiosum* sont les seuls straménopiles connus pouvant infecter l'intestin de l'Homme (KRAJAEJUN et al. 2006 ; EL SAFADI 2014 ; CIAN, 2016).

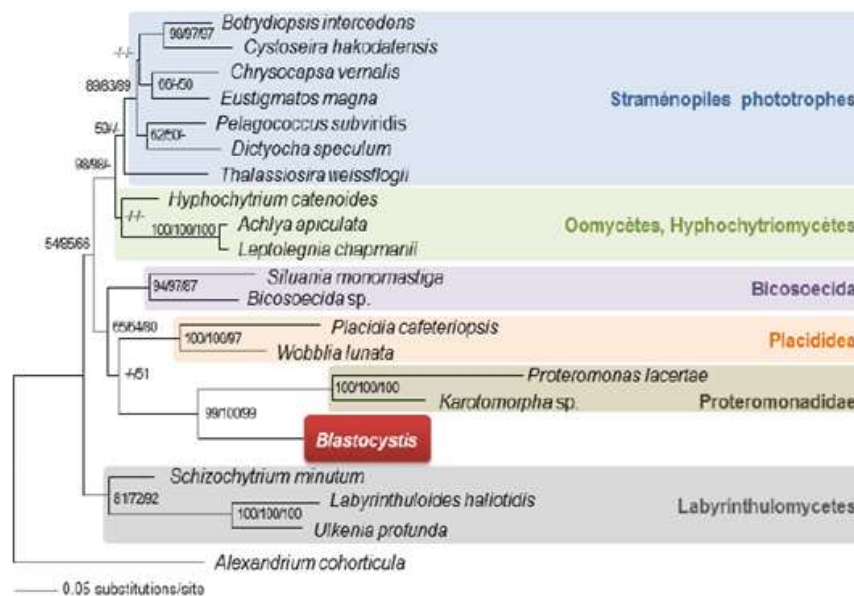


Figure 17: Phylogénie des straménopiles établie par comparaison des séquences du gène de l'ARNr 18S (CIAN, 2016).

Cet arbre phylogénétique, obtenu par la méthode de maximum de vraisemblance, a été enraciné sur le dinoflagellé *Alexandrium cohorticula* qui appartient au phylum des Alveolata et qui est phylogénétiquement proche des straménopiles. On note l'émergence de *Blastocystis*

au sein des straménopiles hétérotrophes et un lien de parenté statistiquement soutenu avec le groupe des Proteromonadidae (CIAN, 2016).

D'après la classification de Silberman qui est toujours d'actualité, *Blastocystis* spp. appartient à l'Embranchement *Hétérokonta* (Straménopile), à la Classe des *Blastocystae*, à l'Ordre des *Blastocystida*, et à la Famille des *Blastocystidea* (SILBERMAN, 1996).

2.2. Diversité génétique de *Blastocystis* spp.

Blastocystis spp. a été retrouvé chez l'homme comme chez de très nombreux groupes d'animaux comme les insectes (blattes) (SURESH et al. 1997 ; YOSHIKAWA et al. 2007), les reptiles (SURESH et al. 1997 ; HO et al. 2001), les oiseaux (ARISUE et al. 2003 ; NOËL et al. 2003 ; RIVERA et TAN 2005 ; STENSVOLD et al. 2009), les mammifères (ARISUE et al. 2003 ; NOËL et al. 2003 ; RIVERA et TAN 2005 ; STENSVOLD et al. 2009), les Marsupiaux (STENSVOLD et al. 2009), les poissons (KÖNIG et MÜLLER 1997), les amphibiens (YOSHIKAWA et al. 2004a), et les mollusques (PEREZ-CORDON et al. 2007). Cependant, aucune différence morphologique significative n'a été mise en évidence par microscopie photonique ou électronique entre isolats provenant d'hôtes très variés. Pourtant, les premiers travaux d'UPCROFT et al. (1989) montrent des différences dans le nombre de bandes chromosomiques obtenues par électrophorèse en champs pulsé pour différents isolats de *B. hominis* ce qui fut aussi confirmé par CARBAJAL et al. (1997) la comparaison avec ces derniers profils caryotypiques d'isolats obtenus chez l'homme, affirment ainsi que les isolats humains et animaux sont en fait des espèces dissemblables, donnant naissance à de nouvelles espèces comme *B. ratti* chez le rat (CHEN et al. 1997), *B. lapemi* chez le serpent de mer (TEOW et al. 1991), *B. geocheloni* chez la tortue, *B. cycluri* chez l'iguane, et *B. pythoni* chez le python (SINGH et al. 1996).

Diverses méthodes moléculaires ont été utilisées pour caractériser génétiquement les isolats de *Blastocystis*, en utilisant la méthode Random Amplified Polymorphic DNA ou RAPD (YOSHIKAWA et al. 1996, 1998 ; INIT et al. 1999 ; TAN et al. 2006), la Restriction Fragment Length Polymorphism ou RFLP basée sur l'amplification du gène codant l'ARNr 18S (CLARK 1997 ; INIT et al. 2007 ; WONG et al. 2008 ; JANTERMTOR et al. 2013). À partir de ces profils et selon les études furent alors créés des ribodèmes, des sous-groupes, des sous-types, des génotypes, des clades ou des elfatypes rendant toute taxonomie et comparaison des isolats extrêmement complexe.

Dans le cadre d'une très large analyse phylogénétique, des analyses de la séquence du gène ssu rRNA, de plusieurs isolats humains et animaux, montrent l'existence d'au moins 9 sous-types (STs), chacun d'entre eux pouvant représenter une espèce. Certaines séquences

d'isolats humains sont identiques à celles d'isolats animaux, confirmant ainsi le potentiel zoonotique de *Blastocystis* et sa faible spécificité d'hôte (Noël et al. 2005). Par ailleurs, plusieurs STs sont capables d'infecter l'Homme et, par conséquent, l'espèce *B. hominis* précédemment décrite n'est plus taxonomiquement valable puisque non monophylétique (« espèce » non spécifique de l'Homme). STENSVOLD et al. (2007a) ont proposé de nommer chaque isolat identifié par *Blastocystis* spp. suivi éventuellement du numéro de sous-type allant de ST1 à ST9. L'homme est supposé être l'hôte spécifique du ST3, les autres STs étant retrouvés chez une large variété d'animaux incluant les primates, les ovins, les bovins, les porcins, les chiens (ST 1, 2, 5, 8), les rongeurs (ST 4) et les oiseaux (ST 6, 7). Le ST 9 a retrouvé actuellement uniquement chez l'homme. Par la suite, un nouveau ST10 a été identifié chez des primates et des artiodactyles (STENSVOLD et al. 2009) puis 5 autres STs supplémentaires (ST11 à ST15) furent caractérisés chez différents hôtes : le ST11 chez les éléphants, le ST12 chez la girafe, et récemment a été retrouvé chez l'homme (RAMIREZ et al. 2016), le ST13 chez le quokka et le kangourou gris (PARKAR et al. 2010) le ST14 chez les bovins et le ST15 chez les primates (FAYER et al. 2012 ; ALFELLANI et al. 2013b). Récemment, 2 nouveaux STs (ST16 et ST17) ont été découverts chez les kangourous et le Gondi de l'Atlas (ALFELLANI et al. 2013c).

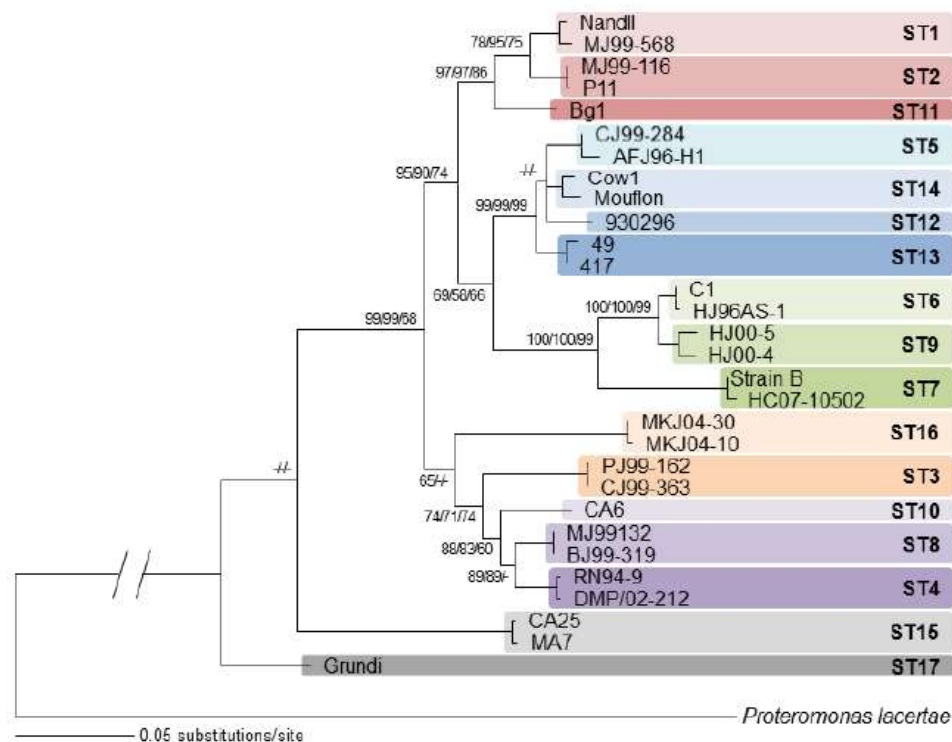


Figure 18: Phylogénie du genre *Blastocystis* définie par comparaison des séquences du gène de l'ARNr 18S (CIAN, 2016).

Cet arbre phylogénétique obtenu par la méthode de maximum de vraisemblance a été enraciné sur le straménopile *Proteromonas lacertae* qui est phylogénétiquement proche de *Blastocystis*. Les 17 STs identifiés au sein du genre *Blastocystis* peuvent chacun représenter une espèce du fait des distances évolutives observés entre STs. Les ST1 à ST9 ont été retrouvés chez l'Homme avec des fréquences variables (CIAN, 2016).

2.3. Biologie de *Blastocystis* spp.

2.3.1. Caractères morphologique

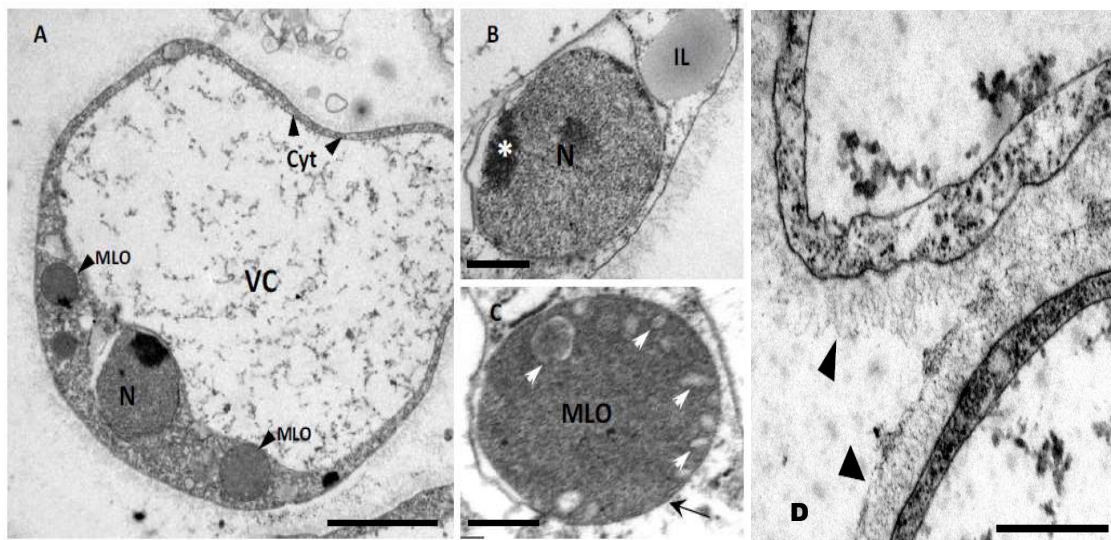
Ce protozoaire parasite anaérobie présente un polymorphisme important, se traduisant par l'existence de quatre formes majeures, connues sous le nom de forme vacuolaire, granulaire, amiboïde et kystique, rencontrées dans les selles de patients infectés et en culture *in vitro* (TAN, 2008). Par conséquent, cette multitude de formes différentes rend difficile l'assignation d'une forme spécifique au parasite (EL SAFADI, 2014).

D'autres formes mineures du parasite ont pu être ponctuellement décrites dans des selles fraîches comme les formes multi-vacuolaires ou avacuolaires (STENZEL et BOREHAM 1996). A ce jour, il est impossible de se fixer sur l'existence réelle de ces formes et leur rôle éventuel car elles pourraient représenter des formes vacuolaires dégénérées (EL SAFADI, 2014). L'observation par microscopie électronique à transmission met en évidence la présence des organismes typiquement eucaryotes ; le(s) noyau(x), l'appareil de Golgi, et le réticulum endoplasmique (WAWRZYNIAK, 2012). On constate également la présence d'organites à double membranes possédant des crêtes, faisant étrangement penser à des mitochondries, ce qui paraît naturellement surprenant chez un organisme anaérobie, ces organites appelés MLO pour « mitochondria-like organelle » ont une forme sphérique ou ovale avec un diamètre de 1 à 3 μm . Leur nombre est variable selon les isolats ou même selon les formes d'un même isolat (ZIERDT, 1986 ; ROUSSEL, 2011).

2.3.1.1. Forme vacuolaire

La forme vacuolaire a été considérée comme la forme cellulaire typique de *Blastocystis* (STENZEL et BOREHAM, 1996). Elle représente la forme la plus fréquente et la plus aisément identifiable dans les selles ou en culture *in vitro* (EL SAFADI, 2014). De forme sphérique, sa taille peut varier considérablement, allant d'un diamètre de 2 μm à 200 μm , pour une moyenne d'environ 15 μm (WAWRZYNIAK, 2012). Comme son nom l'indique, la forme vacuolaire est caractérisée par la présence d'une vacuole en position centrale occupant environ 90% du volume de la cellule (Figure 19), repoussant ainsi le cytoplasme sous forme d'une fine bande périphérique. Les organites cellulaires comme le(s) noyau(x), les MLOs, l'appareil de Golgi, et le réticulum endoplasmique sont la plupart du temps regroupés à une

extrémité de la cellule, conduisant à un épaissement de la bande cytoplasmique à cet endroit (STENZEL et BOREHAM, 1996 ; TAN, 2008). La fonction exacte de la vacuole centrale est encore inconnue, elle pourrait agir comme vacuole de stockage pour stocker des glucides ou des lipides nécessaires à la croissance cellulaire (YOSHIKAWA et *al.* 1995a; YOSHIKAWA et *al.* 1995b). En microscopie électronique à transmission, cette vacuole apparaît claire aux électrons ou présente un aspect finement granuleux distribué de manière irrégulière (STENZEL et BOREHAM, 1996; TAN 2008).



Légende : (A) La forme vacuolaire est caractérisée par une large vacuole centrale (VC), entourée par une fine bande de cytoplasme (Cyt), au sein duquel se trouvent le noyau (N), et des organites à double membrane (MLO). (B) Grossissement montrant l'ultra-structure du noyau (N) ainsi que les structures qui l'entourent, comme des inclusions lipidiques (IL). (C) Grossissement d'un MLO montrant la présence d'une double membrane (flèche), et de structures pouvant être apparentées à des crêtes (pointes de flèche). (D) Le glycocalyx (pointes de flèches) entourant la forme vacuolaire peut atteindre une épaisseur de 200 nm. Echelle: (A) 5µm, (B) 1µm, (C) 300nm, (D) 500nm.

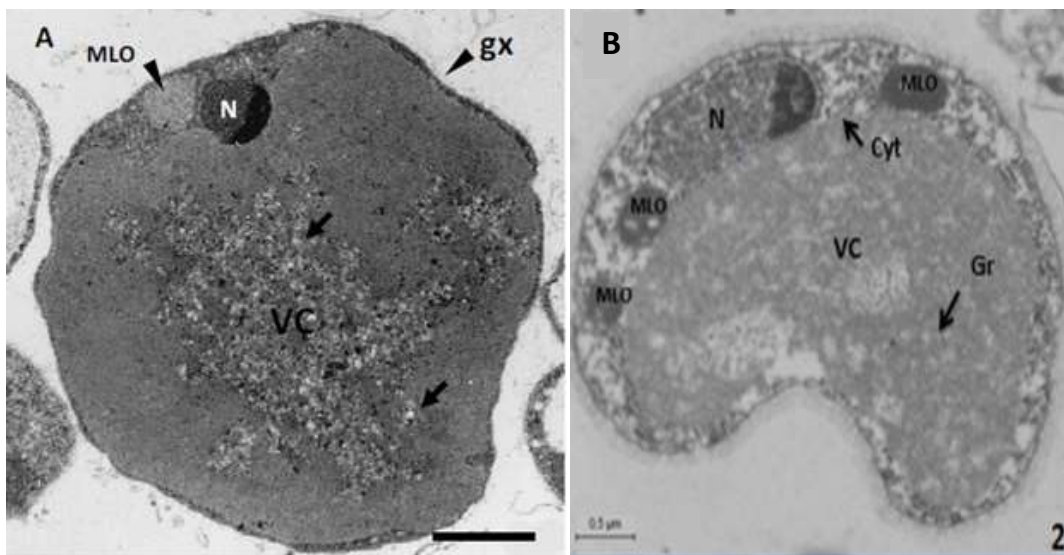
Figure 19: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme vacuolaire de *Blastocystis* spp. rencontrée en culture *in vitro* (WAWRZYNIAK, 2012).

Cette forme est souvent entourée d'un manteau de surface, appelé couche fibrillaire ou d'une capsule d'épaisseur variable pouvant être apparentée à un glycocalyx (Figure 19-D) (LANUZA et *al.* 1996). Celui-ci est relativement épais pour des parasites fraîchement isolés de selles, mais devient de plus en plus fin durant les étapes de culture en laboratoire (CASSIDY et *al.* 1994). Certaines cellules en sont même complètement dépourvues *in vitro* (DUNN et *al.* 1989). La raison pouvant expliquer cette variation d'épaisseur est encore inconnue. Un rôle de ce glycocalyx serait de piéger des bactéries, en vue d'un apport de nutriments pour la croissance de la cellule, ce manteau de surface pourrait également protéger

le parasite contre le choc osmotique (CASSIDY *et al.* 1994), et constituer une barrière mécanique contre les effecteurs du système immunitaire de l'hôte (TAN *et al.* 1997).

2.3.1.2. Forme granulaire

La forme granulaire est caractérisée par la présence de granules dans le cytoplasme où la vacuole centrale (Figure 20). Sa taille est légèrement plus petite que celle de la forme vacuolaire, et varie de 3 à 80 μm . Les granules ont des aspects hétérogènes et ont été décrits comme de petites vésicules ou des gouttes lipidiques (DUNN *et al.* 1989). La forme granulaire est principalement trouvée dans des cultures relativement anciennes ou en présence d'antibiotiques. Pour certains auteurs, elle serait plutôt une forme vacuolaire au contenu cellulaire particulier plutôt qu'un stade parasitaire distinct (STENZEL *et* BOREHAM, 1996).



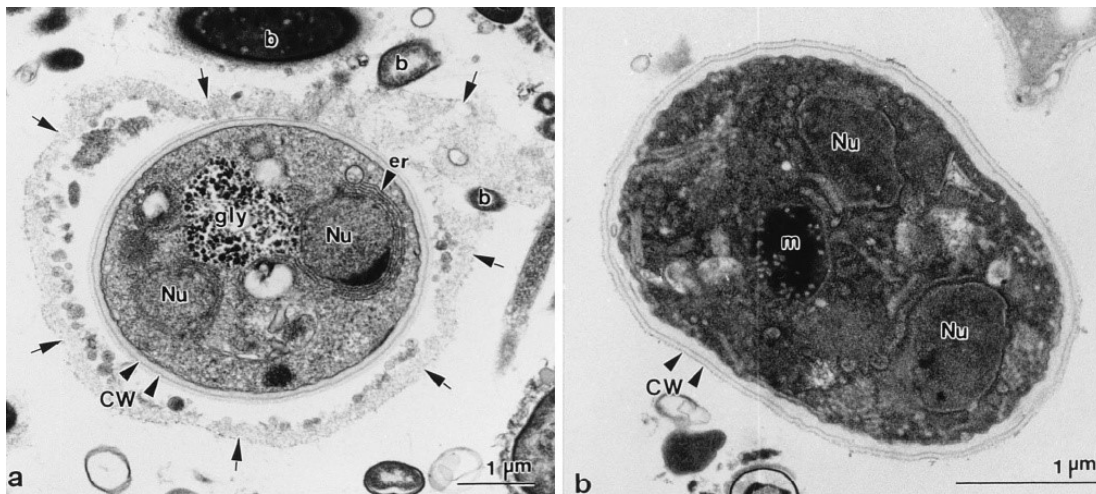
Légende : (A) : selon STENZEL *et* BOREHAM (1996) ; (B) : selon EL SAFADI (2014). La forme granulaire est également entourée d'un glycocalyx (gx) et présente une large vacuole (VC) au contenu très granuleux (flèches). Autour de la vacuole est observée une fine bande de cytoplasme dans lequel on retrouve, de manière similaire à la forme vacuolaire, les organites comme le noyau (N) et des organites à double membrane (MLO). Echelle (A) : 2 μm , (B) : 0,5 μm .

Figure 20: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme granulaire de *Blastocystis* spp.

2.3.1.3. Forme kystique

La forme kystique (Figure 21) a été trouvée pour la première fois dans les selles d'un patient atteint du SIDA en 1988 (MEHLHORN, 1988), mais ce n'est qu'à l'étude de STENZEL et BOREHAM qu'une description morphologique détaillée de la forme kystique a été fournie (STENZEL et BOREHAM, 1991). La difficulté majeure de l'observation de kystes de *Blastocystis* spp. dans les fèces est essentiellement due à leur taille plus petite (3 à 5 µm) et leur forme, qui les rendent quasi indétectables par un examen en microscopie photonique classique (EL SAFADI, 2014).

Le contenu cellulaire peut comporter un ou plusieurs noyaux (pouvant aller jusqu'à 4), des MLO, des grains de glycogène et de lipides, ainsi que de multiples vacuoles (STENZEL et BOREHAM, 1996). Bien que sensible aux désinfectants usuels, le kyste est capable de survivre dans l'eau distillée pendant plus de 19 jours à température ambiante (Moe et al. 1996), contrairement aux formes vacuolaires et granulaires, qui sont sensibles à l'oxygène et aux variations de température et d'osmolarité (ZIERDT, 1991). Des études d'infections expérimentales de rats (HUSSEIN et al. 2008), de souris (MOE et al. 1997) et d'oiseaux (IGUCHI et al. 2007) par des kystes de *Blastocystis* spp. montrent également que la forme kystique serait la principale forme infectieuse du parasite, et que la transmission est de type oro-fécale (YOSHIKAWA et al. 2004b). La forme kystique constitue donc probablement la forme de résistance et de dissémination de *Blastocystis* spp. dans l'environnement.



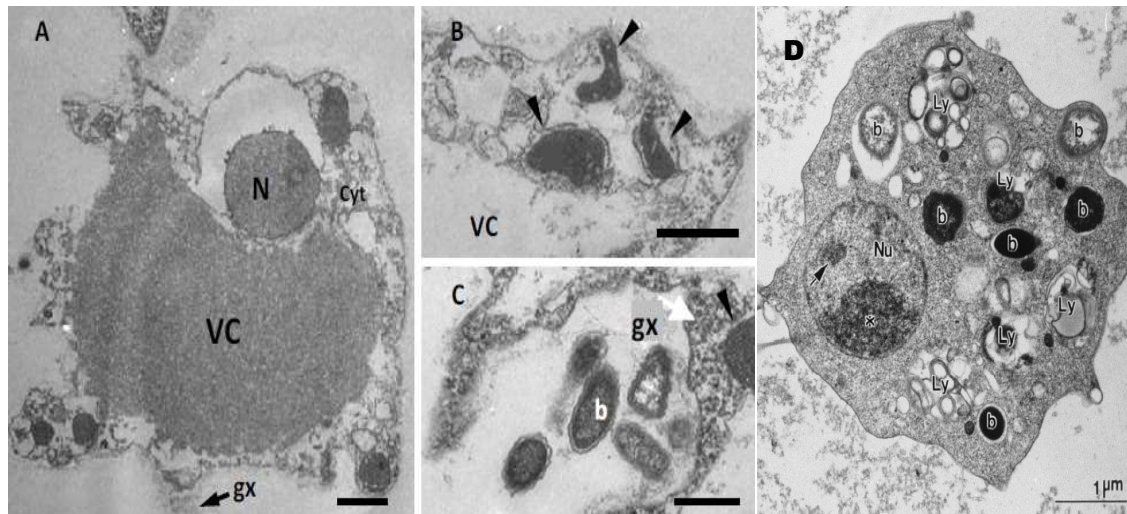
Légende : La forme kystique est entourée d'une paroi formée de plusieurs couches (CW) et présente un ou plusieurs noyaux (N), des MLO, des réserves de glycogène (gly), de multiples vésicules (v) ainsi que des inclusions lipidiques (IL). Notez l'absence de la vacuole centrale retrouvée chez les autres formes du parasite. Echelle : 1 µm.

Figure 21: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme kystique de *Blastocystis* spp. (STENZEL et BOREHAM, 1996).

2.3.1.4. Forme amiboïde

Cette forme a été décrite pour la première fois dans les selles liquides d'un patient diarrhéique qui est finalement décédé d'une pneumonie (ZIERDT et TAN 1976). Elles sont plus petites, jusqu'à 10µm de diamètre, présentent un aspect irrégulier et possèdent des pseudopodes (TAN et SURESH, 2006).

Les études ultra structurales en microscopie électronique à transmission (MET) ont mis en évidence la présence de bactéries dans des vacuoles pouvant correspondre à des lysosomes, suggérant un rôle nutritif de cette forme (STENZEL et BOREHAM, 1996). D'autres études décrivent ces formes avec les mêmes organites que la forme vacuolaire ainsi qu'un ou deux pseudopodes (TAN et *al.* 2001), et avec une large vacuole centrale ou plusieurs petites vacuoles dans le cytoplasme (TAN et SURESH, 2006). Certains auteurs suggèrent que ces formes amiboïdes, cultivables sur milieu gélosé, seraient impliquées dans la pathogénie de ce parasite (TAN et SURESH, 2006). Une étude a montré une corrélation entre le pourcentage de formes amiboïdes dans les cultures d'isolats symptomatiques et l'activité protéase observée dans les lysats cellulaires de parasites, qui sont considéré comme des facteurs de virulence potentielle de *Blastocystis* spp. (RAJAMANIKAM et GOVIND 2013).



Légende : (A) La forme amiboïde, aux contours très irréguliers, est entourée d'un glycocalyx (gx), et présente une large vacuole centrale (VC). (B) Les MLO (pointes de flèche) sont souvent localisés au niveau des extensions cytoplasmiques. (C) Bactéries (b) entourées par un pseudopode (Tan et Suresh, 2006). (D) Forme amiboïde, montrant de nombreux corps ressemblant à des lysosomes (Ly) dans le cytoplasme (STENZEL et BOREHAM, 1996). Echelle : 1µm.

Figure 22: Observations en microscopie électronique à transmission de la forme amiboïde de *Blastocystis* spp. (STENZEL et BOREHAM, 1996 ; TAN et SURESH, 2006).

2.3.2. Transmission de *Blastocystis* spp. et un cycle évolutif encore hypothétique

Le mode de transmission est indirect. La contamination se fait par voie oro-fécale, par le biais des kystes de *Blastocystis* spp. En plus d'une transmission zoonotique possible du parasite, la grande prépondérance des ST1 à ST4 dans la population humaine suggère une forte transmission anthroponotique. Elle pourrait être soit directe, par contact avec des patients infectés (YOSHIKAWA *et al.* 2000 ; NAGEL *et al.* 2012 ; THAITHAISONG *et al.* 2013). Soit indirecte par ingestion de nourritures (CRUZ LICEA *et al.* 2003) ou par l'eau contaminées par des selles humaines (KHALIFA *et al.* 2001 ; ABDULSALAM *et al.* 2012).

Sur la base des travaux publiés sur la morphologie des différentes formes de *Blastocystis* spp. et les modes potentiels de division du parasite, plusieurs cycles biologiques hypothétiques ont été proposés (TAN, 2004 ; TAN, 2008).

L'ingestion de kystes, par consommation d'eau ou d'aliments contaminés, initierait l'infection de l'hôte humain ou animal (TAN, 2004). En effet, ils représentent la forme de résistance et de transmission du parasite. Ils peuvent survivre au moins 19 jours dans l'eau à température ambiante et résistent aux procédés les plus courants de désinfection de l'eau (TAN, 2008). Dans l'intestin de l'hôte, ces kystes se transformeraient en formes vacuolaires représentant les stades trophiques du parasite et qui pourraient s'y diviser. Certaines formes vacuolaires pourraient alors se transformer en formes granulaires ou amiboïdes, mais le rôle de ces deux dernières formes reste encore à clarifier. Puis, un certain nombre de ces formes vacuolaires s'enkysteraient lors de la traversée du côlon avant excrétion des formes vacuolaires et kystiques dans les selles et dissémination dans l'environnement. Les formes kystiques excrétées pourront à leur tour contaminer un nouvel ou le même hôte (Figure 22).

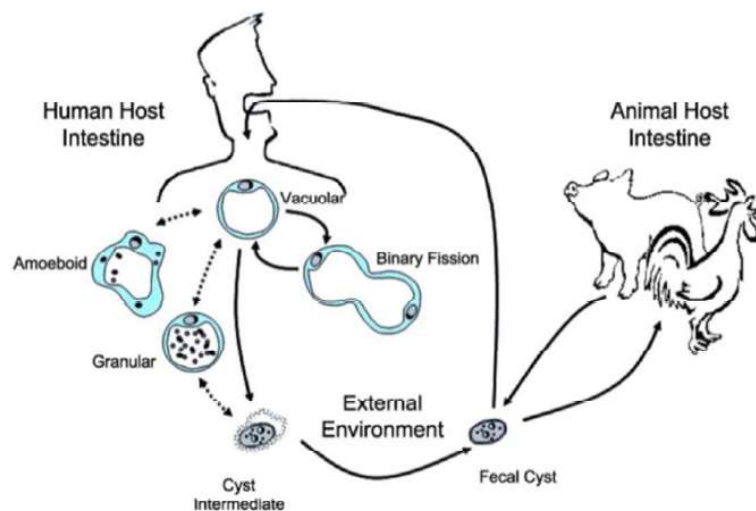


Figure 22 : Cycle de développement de *Blastocystis* spp. proposé par TAN (2004).

En 2008, Tan (TAN, 2008) modifia son cycle sur la base des données récentes suggérant l'existence de génotypes zoonotiques et en tenant compte des réservoirs possibles pour le parasite (Figure 23). L'homme est infecté par 7 sous-types, dont le sous-type 3 et 9 qui semblent être spécifiques à l'homme (WAWRZY尼亚K et al. 2013).

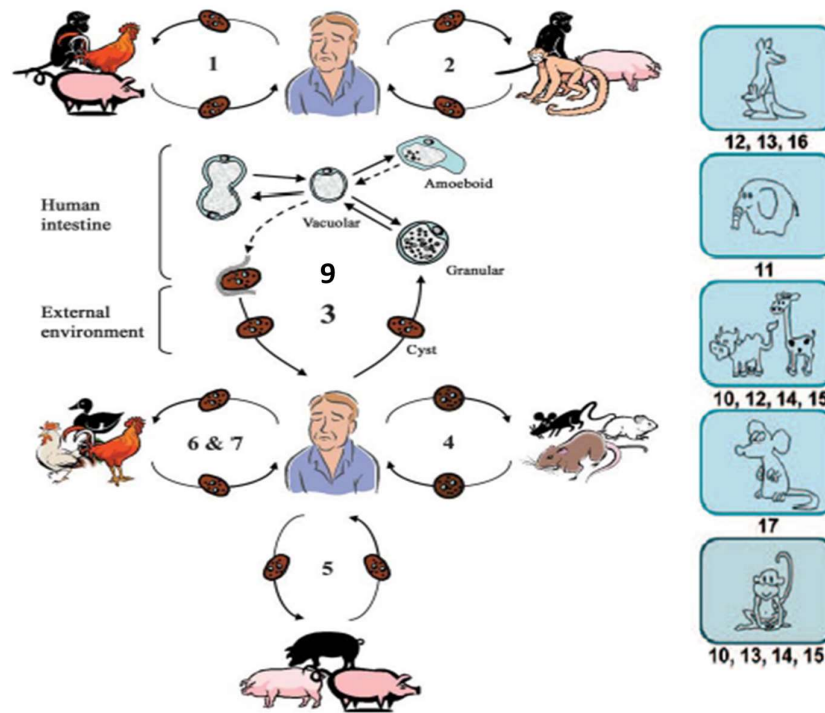


Figure 23 : Cycle de développement de *Blastocystis* spp. (Revisité par TAN, 2008 et WAWRZY尼亚K et al. 2013).

2.4. Physiopathologie de *Blastocystis* spp.

Blastocystis spp. apparaît aujourd'hui de plus en plus comme un pathogène émergent. En effet, l'apparition de nouvelles méthodes de diagnostic a mis en évidence une forte prévalence de *Blastocystis* spp. dans les populations humaines. L'existence d'isolats résistants aux traitements thérapeutiques, son mode de contamination (oro-fécale) et son potentiel zoonotique facilitent grandement sa dissémination (WAWRZY尼亚K, 2012). Les modèles cellulaires constituent aujourd'hui un outil puissant pour étudier les mécanismes impliqués dans une pathologie. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont ainsi été réalisées afin d'évaluer l'influence du parasite sur les mécanismes cellulaires, notamment sur des cellules épithéliales et pour essayer d'associer *Blastocystis* spp. à des perturbations cellulaires.

2.4.1. Identification des facteurs de virulence de *Blastocystis* spp. in vitro

Plusieurs études ont été réalisées in vitro afin de clarifier la physiopathologie de *Blastocystis* spp. Long et ses collaborateurs montrent que des cellules de *Blastocystis* spp. étaient capables d'induire tardivement une réponse inflammatoire avec production d'interleukine (IL)-8 et du granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) par des cellules épithéliales de colon humain (HT-29 et T-84) (LONG et al. 2001). Les IL-8 sont connues pour activer les granulocytes neutrophiles sur un site d'infection mais également les monocytes et les lymphocytes T (BAGGIOLINI et al. 1995 ; WAWRZYNIAK, 2012), alors que le facteur de croissance GM-CSF intervient dans la stimulation de la production de granulocytes neutrophiles et éosinophiles (FABIAN et al. 1992). Les auteurs suggérant qu'il s'agirait d'un mécanisme permettant au parasite de moduler la réponse immunitaire de l'hôte le temps de son implantation. Des effets similaires ont été observés en utilisant le surnageant de culture du parasite (LONG et al. 2001). Cette modulation de la réponse immunitaire est de plus accentuée par la capacité du parasite à dégrader les IgA localisés à la surface de l'épithélium intestinal (PUTHIA et al. 2005 ; EL-SAFADI, 2014), à réduire la production de monoxyde d'azote, ces IgA sont dégradés par des lysats cellulaires de *Blastocystis* spp. et en particulier par les protéases à cystéine sécrétées par le parasite (PUTHIA et al. 2005). Plus récemment, la production d'IL-8 a été décrite comme étant dépendante de la voie de signalisation NF-kB chez des cellules T-84, et que celle-ci est induite par la production de cystéine-protéases par *Blastocystis* spp. Hormis son effet pro-inflammatoire, la surexpression du facteur de transcription NF-kB pourrait également améliorer la survie et la dissémination du parasite (PUTHIA et al. 2008 ; TEO et al. 2014). Ces mêmes auteurs ont aussi montré que le parasite était capable d'induire l'apoptose des cellules épithéliales de rat IEC-6 entraînant ainsi une augmentation de la perméabilité intestinale.

Plus récemment, Wu et collaborateur ont montré que l'adhésion à l'épithélium intestinal de l'hôte représentait une étape cruciale dont l'efficacité dépend des STs (WU et al. 2014). De plus, l'attachement du parasite est inhibé par l'addition de galactose, suggérant qu'il adhère à ce type de résidus à la surface de l'épithélium intestinal (CIAN, 2016). Cette adhésion a lieu préférentiellement au niveau des jonctions serrées et induit un total réarrangement des protéines les constituant, telles que l'occludine et la protéine ZO1 (WU et al. 2014). Enfin, un autre mécanisme de survie développé par le parasite concerne sa résistance au stress nitrosatif, en effet, *Blastocystis* est sensible à l'oxyde nitrique (ou monoxyde d'azote NO) produit par l'oxyde nitrique synthase (NOS) des entérocytes et macrophages qui catalyse la conversion d'arginine en NO et dont l'expression est activée par les cytokines (CIAN, 2016). Cependant,

le parasite est capable de réduire l'expression de la NOS entérocytaire en limitant la disponibilité en arginine et donc en substrat de cette enzyme de l'hôte, induisant ainsi une chute de la production de NO (MIRZA et *al.* 2011 ; CIAN, 2016). En conclusion les études qui impliquant la co-culture des cellules épithéliales intestinales avec *Blastocystis* sp. ont conduit à l'identification de plusieurs mécanismes pathogènes. Celles-ci comprennent l'apoptose, la dégradation des protéines de jonction serrée entraînant une augmentation de la perméabilité intestinale, l'induction de cytokines pro-inflammatoires et la diminution de la concentration d'iNOS. Toutes ces données ont permis de proposer un modèle hypothétique de la pathogénicité de ce parasite (AJJAMPUR et TAN, 2016) (Figure 24).

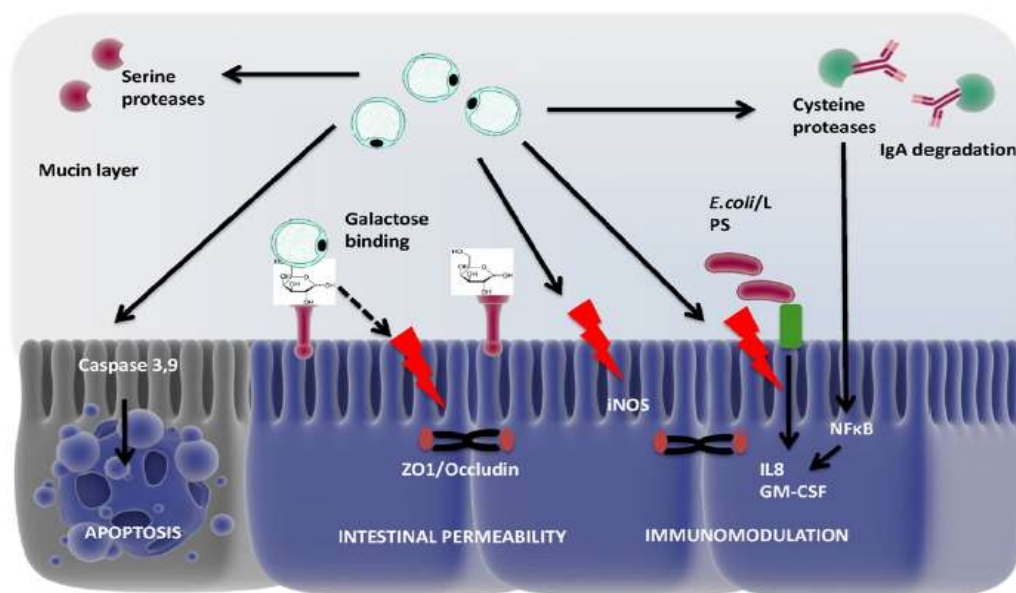
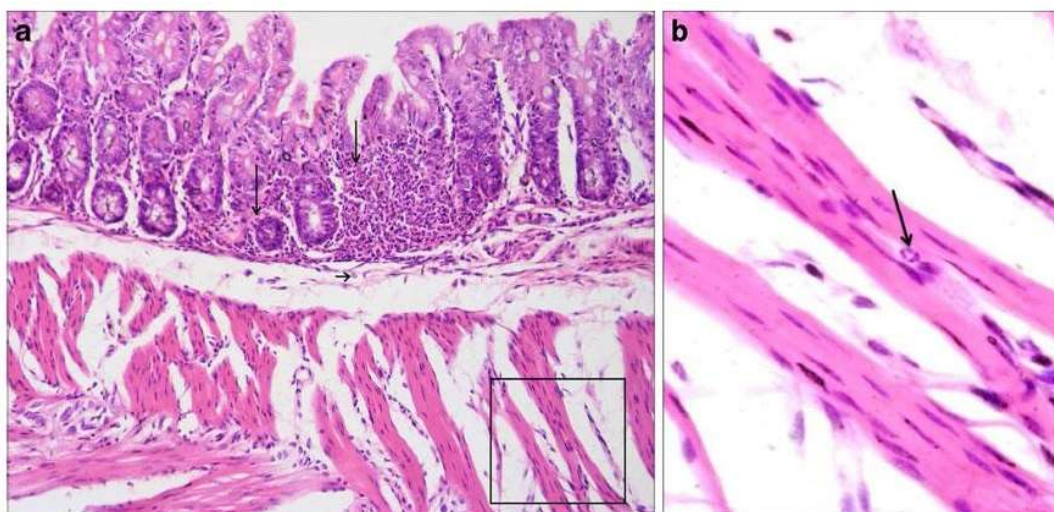


Figure 24: Modèle hypothétique de la pathogénicité de *Blastocystis* spp. sur les cellules épithéliales intestinales (AJJAMPUR et TAN, 2016).

2.4.2. Identification des facteurs de virulence de *Blastocystis* spp. in vivo

Plusieurs études d'infections expérimentales par *Blastocystis* spp. impliquant différents types d'animaux ont été reportées (SURESH et *al.* 1993 ; MOE et *al.* 1997 ; MOE et *al.* 1998 ; HUSSEIN et *al.* 2008 ; IGUCHI et *al.* 2007 ; IGUCHI et *al.* 2009 ; ELWAKIL et HEWEDI, 2010 ; LI et *al.* 2013 ; ABDEL-HAFEEZ et *al.* 2016 ; AJJAMPUR et *al.* 2016). La majorité des infections expérimentales a cependant été réalisée chez la souris et le rat (AJJAMPUR et TAN, 2016). D'après les données disponibles dans la littérature, la souris ne semble pourtant pas être un bon modèle dans le cadre d'infections expérimentales car *Blastocystis* spp. n'a encore jamais été identifié chez cet animal (EL SAFADI, 2014 ; CIAN, 2016). Pourtant des études réalisées chez de souris BALB/c (2 à 4 semaines)

immunocompétentes et de Souris albinos (âgées de 4 semaines) ont montré que l'infection par des kystes (voie orale), ou par des formes vacuolaires (voie intra-caecale) entraînait une certaine léthargie, difficulté de déplacement, voire même une perte de poids des animaux (MOE et al. 1997; ELWAKIL et HEWEDI, 2010). Au niveau intestinal, des formes vacuolaires et granulaires de *Blastocystis* spp. sont retrouvées dans le gros intestin, principalement au niveau du caecum, et la forme kystique a également été décelée au niveau du côlon (MOE et al. 1997; ELWAKIL et HEWEDI, 2010). Au niveau histologique, il a été démontré que *Blastocystis* spp. était capable d'induire une inflammation, des œdèmes et une desquamation de l'épithélium du caecum et du côlon. De plus, la forme vacuaire du parasite pouvait s'infiltrer au niveau du chorion et de la sous muqueuse des animaux montrant ainsi un potentiel invasif (Figure 25) (ELWAKIL et HEWEDI, 2010).



Légende : (a) : observation de la forme vacuaire au niveau du chorion, la muqueuse, la sous muqueuse et la musculature (encadré) x 200, (b) : Agrandissement de l'encadré à x 400.

Figure 25: Section histologique du côlon de souris infectées (ELWAKIL et HEWEDI, 2010).

Contrairement à la souris, les différentes études menées sur le rat en font un potentiel modèle animal (TAN, 2008 ; ALFELLANI et al. 2013c). Hussein et ses collaborateurs (2008) ont analysé le pouvoir infectieux de 4 sous-types (ST1, ST2, ST3, ST4) provenant de patients symptomatiques et asymptomatiques sur des rats Wistar de 4 semaines, infecté par voie orale à partir des cultures axéniques. Parmi les isolats symptomatiques, seul le ST1 induit une mortalité (25%). Les auteurs concluent que seul le ST1 est un sous-type pathogène, et que le potentiel pathogène des STs 3 et 4 est variable. Les symptômes pathologiques les plus importants sont observés chez les rats infectés par des isolats provenant de patients symptomatiques présentés par une intense réaction inflammatoire, un décollement de la muqueuse intestinale, des œdèmes, et la présence de polypes précancéreux au niveau du

caecum et de la partie proximale du colon. Ainsi il 'a été observé que l'inflammation induite par *Blastocystis* spp. a la capacité d'altérer les jonctions serrées, ce qui conduit à des perturbations et à une augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal (HUSSEIN et al. 2008).

Récemment, une revue d'AJJAMPUR et TAN (2016) a résumé et détaillée certaines études réalisées *in vivo* chez différents modèles animaux, suggérant que le rat semble un modèle animal plus intéressant que la souris, ce qui semble plus intéressant d'établir des expérimentations plus poussé pour vérifier le pouvoir pathogène des sous-types de *Blastocystis* spp.

2.5. Impacte de *Blastocystis* spp. en santé humaine

Blastocystis spp. est impliqué dans de nombreux symptômes gastro-intestinaux aspécifiques comme des diarrhées, des douleurs abdominales, anorexie, des nausées, et/ou des vomissements. Ces symptômes sont d'intensité variable, et les infections peuvent être de type aigu ou chronique (STENZEL et BOREHAM, 1996 ; TAN, 2008 ; VASSALOS et al. 2010 ; EL SAFADI et al. 2013 ; HAMMOOD et al. 2016), outre ces désordres gastro-intestinaux, *Blastocystis* spp. jouerait également un rôle significatif dans des maladies inflammatoires de l'intestin comme l'IBS (Irritable Bowel Syndrome) et l'IBD (Inflammatory Bowel Disease) (DOGRUMAN-AL et al. 2009b ; JONES et al. 2009 ; YAKOOB et al. 2010a ; YAKOOB et al. 2010b), ainsi que dans des colites ulcéreuses (TAI et al. 2011; COSKUN et al. 2016). Plusieurs autres études récentes ont fait état d'une invasion tissulaire de l'appendice ou de la muqueuse ou sous-muqueuse colique par le parasite avec une inflammation chronique (FREALLE et al. 2015). De plus, l'identification de *Blastocystis* dans des prélèvements d'appendice chez des patients atteints d'appendicite aiguë suggère une association entre ce parasite et l'inflammation (FREALLE et al. 2015).

Comme dans beaucoup de parasitoses, les populations immunodéprimées sont plus susceptibles aux infections à *Blastocystis* spp. (WAWRZY尼亚K, 2012). Des prévalences importantes du parasite ont ainsi été récemment observées chez des patients immunodéprimés atteints du VIH (STENSVOLD et al. 2011 ; AGHOLI et al. 2013 ; RIVERO-RODRIGUEZ et al. 2013). La prévalence de *Blastocystis* peut aussi être élevée chez des patients immunodéprimés atteints de cancer colorectaux (TASOVA et al. 2000 ; TAN et al. 2009 ; KUMARASAMY et al. 2014), et d'hémopathies (TASOVA et al. 2000 ; POIRIER et al. 2011), chez des transplantés rénaux ou hépatiques (BATISTA et al. 2011) et chez des malades dialysés (KARADAG et al. 2013).

Blastocystis spp. semble également impliqué dans plusieurs cas de manifestations cutanées principalement de l'urticaire de type chronique ou aigu (GUPTA et PARSI, 2006; VOGELBERG et al. 2010; HAMEED et al. 2010 ; HAMEED et HASSANIN, 2011). Il a également été rapporté un cas d'angio-oedème avec une identification de *Blastocystis* spp. dans les selles (MICHELOUD et al. 2007). A ce jour, les mécanismes physiopathologiques permettant d'expliquer la relation entre ce protozoaire digestif et les manifestations cutanées restent encore mal connus (EL SAFADI, 2014), Il a cependant été suggéré que Les antigènes parasitaires pourraient induire l'activation des lymphocytes de la voie TH2 et la production de cytokines puis celle d'IgE comme dans une réponse allergique (EL SAFADI, 2014).

2.6. Les méthodes de diagnostic de *Blastocystis* spp.

2.6.1. Observation au microscope optique

En raison de sa pathogénie controversée, *Blastocystis* spp. reste peu recherché lors des analyses médicales, de plus, son polymorphisme rend son diagnostic difficile en laboratoire et nécessite un technicien expérimenté pour pouvoir le détecter en observation directe dans les échantillons de selles (WAWRZYNIAK, 2012 ; EL SAFADI, 2014). Cette variation en taille et en formes rend la détection microscopique difficile et incohérente ce qui semble avoir entraîné une sous-estimation de la prévalence du parasite (LEELAYOOVA et al. 2002; SURESH et SMITH, 2004). De plus, la forme classiquement détectée est la forme vacuolaire, forme minoritaire dans les échantillons frais de selles, en comparaison des formes kystiques largement majoritaires mais difficilement identifiables qui peut être confondue avec des débris fécaux (TAN, 2004). Plusieurs méthodes de concentrations et de colorations ont été utilisées, parmi ces méthodes la FECT (technique de formol éther concentration), cependant, cette méthode n'est pas réellement recommandée en raison de son agressivité pour les formes vacuolaires et de sa faible sensibilité (SURESH et SMITH 2004; STENSVOLD et al. 2006 ; EL SAFADI, 2014). Les colorations couramment utilisées pour les observations directes sont le lugol iodine, le Giemsa, le MIF (Mertthiolate-Iode-Formol), le Gram et le trichrome, mais en routine seul le Lugol et le Trichrome sont les plus utilisés (TAN, 2008).

2.6.2. Mise en culture des selles

La première publication concernant la mise en culture xénique de *Blastocystis* spp. date de 1921, l'incubation avait lieu à 37°C, dans un milieu salin à 0,5% additionné de 10% de sérum humain. Elles ont permis de mettre en évidence l'importance de l'anaérobiose du milieu de culture puisque le parasite n'était retrouvé que dans le fond des tubes (BARRET, 1921). Par la suite plusieurs mode de culture de *Blastocystis* spp. s'est amélioré ; l'utilisation d'un milieu diphasique Boeck-Drbohlav pré-réduit à base d'œuf épais (BOECK et

DRBOHLAV, 1925) a permis la croissance de *Blastocystis* spp. sur un milieu solide ou semi-solide. Des milieux monophasique ont été développés et testés tel que les milieux Diamond's TPS-1, Jones, MEM199, RPMI 1640 et MEM. Le milieu de Jones (1946) est de loin le milieu le plus utilisé dans la mise en culture d'échantillons de selle de patients dans le cadre d'études épidémiologiques (LEELAYOOVA et al. 2002; YAKOOB et al. 2010b ; DAGCI et al. 2014 ; COSKUN et al. 2016). Plusieurs études on montrées une sensibilité supérieurs des cultures xénique in vitro par rapport à la microscopie optique (LEELAYOOVA et al. 2002 ; TERMMATHURAPOJ et al. 2004; STENSVOLD et al. 2007b; POIRIER et al. 2011).

L'axénisation des échantillons peut ensuite être obtenue à l'aide d'un cocktail d'antibiotiques variés (Pénicilline streptomycine, ampicilline), afin d'éliminer les bactéries provenant de la flore intestinale de l'hôte (ZIERDT, 1991 ; NG et TAN, 1999 ; ZHANG et al. 2012 ; RIABI et al. 2018). Tel que les milieux RPMI (Rockwell Park Memorial Institute medium 1640), IMDM (Iscove's modified Dulbecco's medium), MEM (minimum essential medium), and BME (Basal minimal essential medium). Cependant, de nombreux chercheurs n'ont eu que des tentatives d'axénisation infructueuses et ont émis l'hypothèse que dans certaines conditions, les bactéries étaient nécessaires à la survie de l'organisme, sans doute pour l'apport de nutriments au parasite ou en produisant des métabolites d'intérêt (BOREHAM et STENZEL, 1993 ; HO et al. 1993 ; LANUZA et al. 1997).

2.6.3. Recherche de copro-antigènes

Plusieurs kits commerciaux sont disponibles pour détecter la présence de *Blastocystis* dans des échantillons de selles ou en culture in vitro par le dosage immunologique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) et IFA (immunofluorescence indirect Assay) ; tel que ParaFlor B (Boulder Diagnostics, Boulder, CO, USA), CoproELISA™ *Blastocystis* (Savyon Diagnostics) et Blasto-Fluor (Antibodies Inc., Davis, CA, États-Unis) (ZIERDT et al. 1995 ; KANEDA et al. 2000 ; DOGRUMAN-AL et al. 2015 ; EL-MARHOUMY et al. 2015 ; SALMAN, 2015 ; FARGHALY et al. 2017). Dogruman-Al et collaborateurs ont révélé une sensibilité (92%) assez proche de celle de diagnostic par culture et une spécificité de 87% pour le test CoproELISA™ *Blastocystis* (Savyon Diagnostics) (DOGRUMAN-AL et al. 2015). Son inconvénient majeur est de ne pas cibler tous les STs humains puisque le test met en jeu un mélange d'anticorps produits contre seulement les isolats ST1, ST2, ST3 et ST5 ; toutefois, ceux-ci représentent plus de 80% des isolats isolés jusqu'à présent chez l'Homme (CIAN, 2016).

2.6.4. Méthodes moléculaires

Le diagnostic direct de *Blastocystis* spp. a été facilité par l'apparition des techniques de biologie moléculaire. La mise en place de techniques de PCR (Polymérase Chain Reaction) a permis d'augmenter considérablement la détection de *Blastocystis* spp. Plusieurs méthodes moléculaires de détection suivies en général du sous-typage du parasite ont été décrites. Les premières ayant été mises au point dans les années 1990 (RAPD, RFLP essentiellement basée sur l'amplification de gène de l'ADNr 18S) (YOSHIKAWA et al. 1996 ; YOSHIKAWA et al. 1998 ; CLARK, 1997), qui ont permis de déterminer des amorces spécifiques d'un ST particulier de *Blastocystis* spp. (YOSHIKAWA et al. 1998 ; YOSHIKAWA et al. 2004b ; YOSHIKAWA et al. 2004c).

Malheureusement, cette approche (STS-PCR) ne permet actuellement de détecter que 7 des 17 STs décrits jusqu'à présent (ST1 à ST7). En revanche, elle permet de détecter aisément les co-infections par différents STs. D'ailleurs, une approche similaire de PCR à l'aide d'amorces ciblant le gène de l'ARNr 18S a été développée, néanmoins, c'est la méthode de référence pour mener des études épidémiologiques car tous les STs peuvent être détectés et une forte diversité génétique a été identifiée au sein de certains STs (STENSVOLD et al. 2012). Récemment, deux méthodes de PCR en temps réel ont été développées ciblant respectivement une région de 152 bases d'un gène inconnu (JONES et al. 2008) et une région de l'ARNr 18S de 320 à 350 pb selon les STs (Poirier et al. 2011). Cette dernière approche développée par POIRIER et al. (2011) permettant de quantifier la charge parasitaire, et de mettre en évidence le sous-type du parasite par séquençage des produits amplifiés (POIRIER et al. 2011). Enfin, une méthode alternative de détection a été proposée par spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) mais ne permet pour l'instant que la détection de 5 STs (MARTINY et al. 2014).

2.6.4.1. PCR Conventionnelle

➤ Principe

La technique de Polymerase Chain Reaction (PCR) permet d'amplifier de façon spécifique une séquence d'ADN en plusieurs millions de copies. Cette méthode consiste à polymériser un fragment d'ADN de façon répétée à l'aide d'une enzyme thermostable et de deux amorces sens et antisens. (RIVERA et TAN, 2005 ; HERMINEAUD, 2011). Le programme de PCR comprend une succession d'environ 40 cycles. Chaque cycle de PCR s'effectue en 3 étapes : dénaturation thermique de l'ADN à 95°C, hybridation des amorces à 50-65°C et élongation à 72°C.

➤ Révélation des produits amplifiés

Dans la PCR classique, la détection est faite en end-point (à la fin des réactions de PCR) soit en couplant un test ELISA, soit en réalisant une migration électro-phorétique sur gel d'agarose. Dans la migration électrophorétique, un agent intercalant comme le bromure d'éthidium (BET) ou le Syber®Green est associé pour la visibilité des bandes. Un marqueur de poids moléculaire est utilisé comme échelle aidant dans l'identification de nos produits amplifiés. Une bande contrôle de la taille de notre bande d'intérêt doit être utilisée. Dans certains cas, des témoins faibles sont utilisés (HERMINEAUD, 2011).

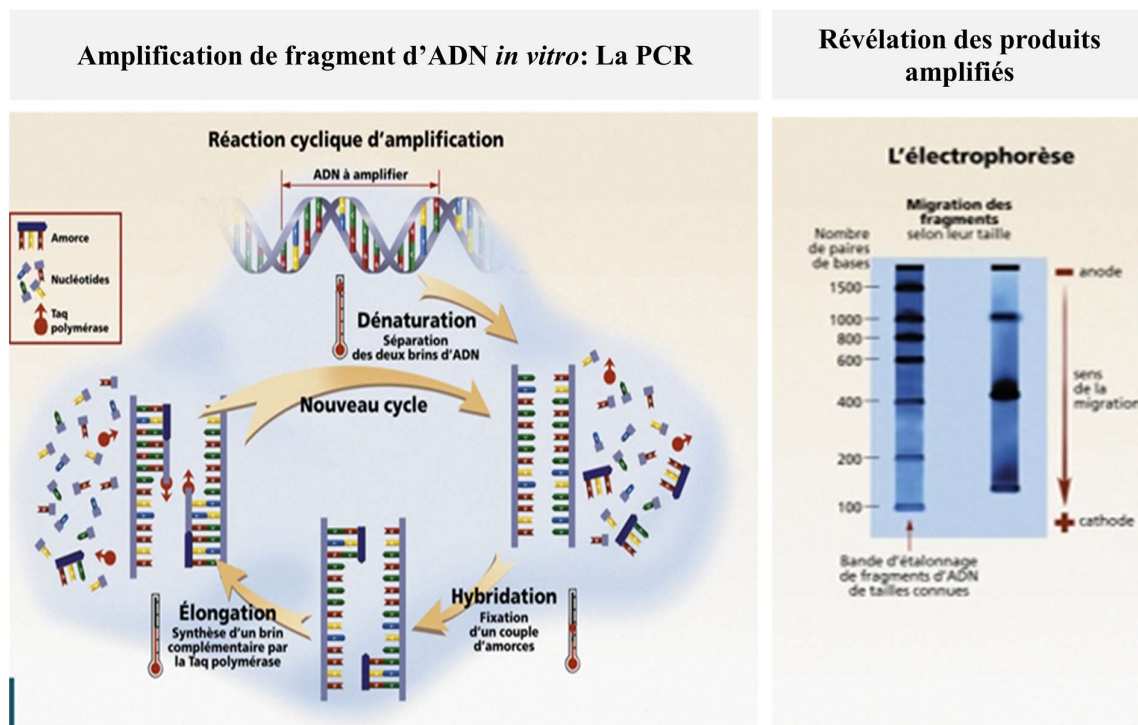


Figure 26: Principe de la technique d'amplification en chaine par polymérase ou PCR et la révélation des produits amplifiés. Source : <https://www.gnis-pedagogie.org/biotechnologie-biologie-amplification-fragment-adn.html>.

2.7. Traitement et prophylaxie

2.7.1. Traitement de la blastocystose

Différentes molécules ont été évaluées pour le traitement de la blastocystose, en général, les traitements contre la blastocystose sont envisagés si le patient présente une diarrhée persistante et si aucun autre pathogène hormis *Blastocystis* spp. est identifié dans les selles du patient (EL SAFADI, 2014). En générale le traitement consiste en l'administration d'une molécule antiparasitaire, le métronidazole, qui est largement utilisée contre les protozoaires parasites anaérobies et qui est généralement efficace contre *Blastocystis* spp. (YAKOOB et al. 2004 ; VOGELBERG et al. 2010 ; TAI et al. 2011). Quoiqu'il en soit, plusieurs autres drogues ont été utilisées le plus souvent en seconde ligne ou en complément du métronidazole et certaines se sont avérées efficaces contre le parasite, le tableau suivant résume le schéma thérapeutique de quelques molécules contre la blastocystose.

Tableau 05: Molécules ayant montré une efficacité dans le traitement de la blastocystose d'après (COYLE et al. 2012 in POIRIER, 2014).

Molécules	Schéma thérapeutique
Métronidazole	Adulte : 500 mg à 750 mg × 3/j pendant 10 jours ; ou 1,5 g/j pendant 7 jours
	Enfant : 15 mg/kg × 2/j pendant 10 jours
Triméthoprime (TMP)/ sulfaméthoxazole (SMX)	Adulte : TMP 320 mg/SMX 1 600 mg/j pendant 7 jours
	Enfant : TMP 6 mg/kg/j pendant 7 jours
Nitazoxanide	Adulte : 500 mg × 2/j pendant 3 jours
	Enfant : 100 à 200 mg × 2/j pendant 3 jours
Paromomycine	25 mg/kg × 3/j pendant 10 jours ; ou 500 mg × 3/j pendant 7 jours
Iodoquinol	650 mg × 3/j pendant 10 à 20 jours
Kétoconazole	200 mg/j pendant 14 jours
Tinidazole	Adulte : 2 g/j pendant 5 jours
	Enfant (< 40 kg) : 50 mg/kg/j pendant 5 jours

2.7.2. Prophylaxie

La transmission de *Blastocystis* spp. étant principalement oro-fécale, la prévention passe par des règles d'hygiène strictes (SOHAIL et FISCHER, 2005 ; BORIES, 2014).

- Hygiène personnel

Il est donc recommandé de se laver les mains avant chaque repas, ou avant toute manipulation de denrées destinées à l'alimentation. De même qu'après chaque selle, ou manipulation d'animaux ou d'excréments.

- Hygiène sanitaire

Il est important de réduire au maximum la dispersion de *Blastocystis* spp. dans l'environnement, et cela passe principalement par une gestion des eaux usées et des latrines. Une réglementation sur l'usage d'engrais humain ou animal est indispensable. Il est nécessaire de mettre en place un certain nombre de mesures afin de réduire le péril fécal.

- Hygiène alimentaire

L'hygiène alimentaire est un axe fort. Il est aussi nécessaire de laver soigneusement tous les fruits et légumes consommés crus, ou à défaut de les éplucher et de les faire cuire. L'eau de consommation est considérée comme une des voies de contamination principale, elle doit donc être filtrée, traitée avec des désinfectants ou bouillie avant consommation.

CHAPITRE II
ÉTUDES
ÉMPIRIQUES

Première partie expérimentale :

**Profil épidémiologique et clinique
des parasitoses intestinales humaines
dans la région de Laghouat**

Première partie expérimentale : Profil épidémiologique et clinique des parasitoses intestinales humaines dans la région de Laghouat.

1. INTRODUCTION

Les parasitoses intestinales constituent toujours, un important problème de santé publique dans les pays en voie de développement. Elles sont le résultat des conditions climatiques, hygiéniques et socio-économique souvent précaires (NDIAYE, 2006).

Le tube digestif de l'être humain peut être colonisé par diverses espèces parasites. Qu'il s'agisse de protozooses ou d'helminthiases, ces parasitoses digestives siègent préférentiellement dans l'intestin. Cette situation stratégique au sein de l'hôte apporte au parasite un substrat nutritionnel régulier et assure la pérennité de son cycle de transmission (BENOUIS, 2012). Majoritairement liées au péril fécal, seules certaines parasitoses intestinales peuvent être pathogènes pour l'organisme humain. Leur pathogénicité se traduit par l'agression de la paroi colique conduisant à colites asymptomatiques, voire des pseudotumeurs ; ce qui justifie leur prise en charge thérapeutique (NICOLAS et *al.* 2001 ; REY et *al.* 2005).

Les études épidémiologiques disponibles sur les parasitoses intestinales dans la population humaines sont généralement réalisées dans le Nord de l'Algérie ; Alger (BACHTA et *al.* 1990 ; AIT-SALEM, 2014 ; BELKESSA, 2014), Oran (BENOUIS, 2012), Tlemcen (SEGHIRE et OURAIBA, 2014 ; KASMI et SAIDOUNI, 2016 ; HADJ MOHAMMED et MOHAMMEDI, 2017) et Constantine (ZEKRI et MERROUCHE, 2018). Cependant peu d'études sont réalisées dans la région steppique algérienne. A cet effet et afin de combler ces lacunes, que ce travail est instauré, l'objectif principal de cette partie de la thèse vise donc à évaluer les profils épidémiologiques et cliniques des parasites intestinaux dans la wilaya de Laghouat.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1.Type et lieux de l'étude

Nous avons réalisé une étude descriptive analytique des parasitoses intestinales humaines sur l'ensemble de 2277 patients provenant du secteur public et du secteur privé, représentatifs des deux milieux urbain (Laghouat et Ksar El Hirane) et rural (Kheng, Sidi Makhlof, Tadjmout, et Hassi Delaa) (Figure 27) sur une période de trois ans allant du 03 Mars 2015 au 31 juillet 2018 dans la ville de Laghouat.

La wilaya de Laghouat est située en plein centre du pays à 400Km au sud de la capital Alger, entre 33° 48' latitude Nord et 02° 53' longitude Est. Et est située à plus de 750m

d'altitude sur les hauts-plateaux et elle est limitée au Nord-Est par la wilaya de Djelfa, à l'Ouest par la wilaya d'El Bayadh, au Nord-ouest par la wilaya de Tiaret et vers le sud par la wilaya de Ghardaïa (Figure 26), (D.P.S.B, 2012).

Sur une superficie de 25052 Km², vit la population de Laghouat estimée à 520188 habitants avec une densité de 20,76 Hab. /Km². Cette population est d'une répartition déséquilibrée à travers l'immense espace territorial de la région. D'une façon générale elle forme des agglomérats principalement aux chefs-lieux avec un taux de 81% et secondairement dans les zones environnantes, soit 5% de la population (D.P.A.T., 2010). Le reste de la population se trouvent en zone éparse (constructions isolées et nomades) (D.P.A.T., 2010). Néanmoins 22,55% de la population de la wilaya de Laghouat sont caractérisées par une activité agro-pastorale.

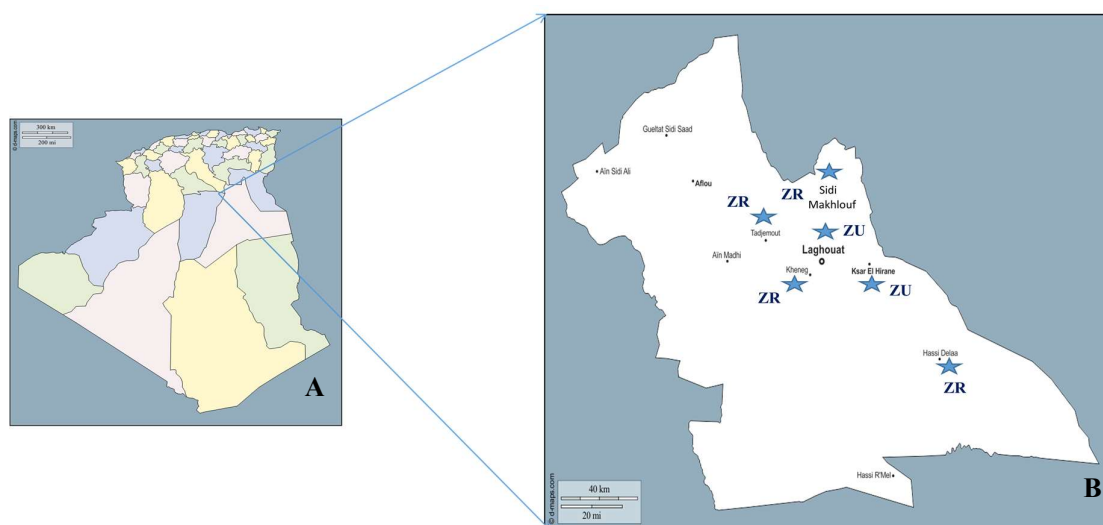


Figure 27: (A) : Carte géographique d'Algérie, (B) : Carte géographique de la wilaya de Laghouat montrant la provenance des patients (Z.U : zones urbaines, Z.R : zones rurales).

Source de la carte : https://d-maps.com/carte.php?num_car=189308&lang=fr

2.2. Patients

Ce travail a concerné l'ensemble de 2277 patients hospitalisés et patients externes âgés de 1 à 89ans ($27,4 \pm 18,66$), adressés par les médecins de libre pratique au niveau de l'établissement public hospitalier (EPH, Laghouat) et aux patients non hospitalisés consultant en externe au niveau du laboratoire privé dans la ville de Laghouat. En générale, les bilans parasitaires sont demandés par les médecins suite à la présence des troubles digestifs comme les douleurs abdominales et/ou diarrhées, l'hyper éosinophilie sanguines et les réactions allergiques ou bien également lors de l'embauchage des cuisiniers et des boulangers.

Pour définir la répartition des patients selon l'âge, nous avons considéré l'intervalle de 0 à 15 ans pour les enfants et pour les adultes les âges supérieurs à 15 ans conformément aux critères établis dans de nombreuses études (ADOU-BRYN et al. 2001 ; MOSTAFI et al. 2011 ; BENOUIS, 2012) où nous avons réalisé le regroupement par tranche de 10 ans chez les enfants et les adultes. Ainsi les patients inclus dans l'étude ont été sélectionnés aléatoirement, sans critères de sélection ni sur le sexe ni sur la tranche d'âge.

Les objectifs de cette étude ont été expliqués aux participants et un questionnaire standard résumant certaines informations comme l'âge, le sexe, lieu d'habitation (urbaine ou rurale), la nature de l'eau consommée, la présence de troubles digestifs, le statut immunitaire, et le contact éventuel avec des animaux a été complété pour chaque patient (Annexe 01). Les fichiers des patients qui ne sont pas remplis sont exclus dans cette étude.

2.3.Méthodologie de travail

Cette partie de l'étude a pour objectif d'identifier et d'évaluer les parasitoses intestinales qui existe dans la wilaya de Laghouat en tenant compte des paramètres épidémiologiques et cliniques retenus. L'étude s'est déroulée dans la wilaya de Laghouat dans deux laboratoires d'analyses médicales : Laboratoire centrale de l'EPH-Laghouat (du 03 Mars 2015 jusqu'à 01 Mars 2017) et Laboratoire privé Dr. Debagha- Laghouat (du 03 Mars 2015 jusqu'à 31 juillet 2018) pour ce qui concerne l'échantillonnage et les examens microscopiques des selles.

2.3.1. Collection des échantillons et examens parasitologiques des selles (EPS)

L'examen parasitologique des selles (EPS) met en évidence et identifie les parasites éventuellement présents à l'intérieur du tube digestif humain. Il comprend de façon standard un examen macroscopique et microscopique direct et après concentration et coloration du prélèvement (ROUSSET, 1993). A côté de ces examens pratiqués de façon systématique, d'autres techniques ont été réalisées en fonction de la parasitose suspectée dans cette partie de la thèse:

- La coloration de Ziehl-Neelsen Modifiée a été effectuée sur les prélèvements diarrhéiques à la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* spp.
- La culture in vitro sur milieu de Boeck and Drbohlav et milieu de Jones ont été effectuées lors de suspicions des cas de *Blastocystis* spp.
- Technique de Graham ou scotch test pour la recherche des œufs d'oxyures.

2.3.1.1. Examen microscopique à l'état frais (DLM)

L'examen à l'état frais est le seul examen qui permet d'apprécier la vitalité des parasites. Il met en évidence les kystes et les formes végétatives des protozoaires ainsi que les œufs et les larves d'helminthes (Rousset, 1993).

Prélever à l'aide de l'anse de platine une fraction de matière fécale en superficie et en profondeur à différents endroits et la diluer au 1/10ème dans de l'eau physiologique à 9%; bien triturer, puis déposer une goutte de la suspension entre lame et lamelle. Même procédure que l'examen précédent à l'état frais mais en diluant les matières fécales dans une goutte de Lugol puis examiner sous microscopique optique au grossissement (X400).

Pour l'examen direct on utilise le Lugol à 1% d'iode dit Lugol Double :

Iode en paillettes 1g
Iodure de potassium 2g
Eau distillée 100 ml

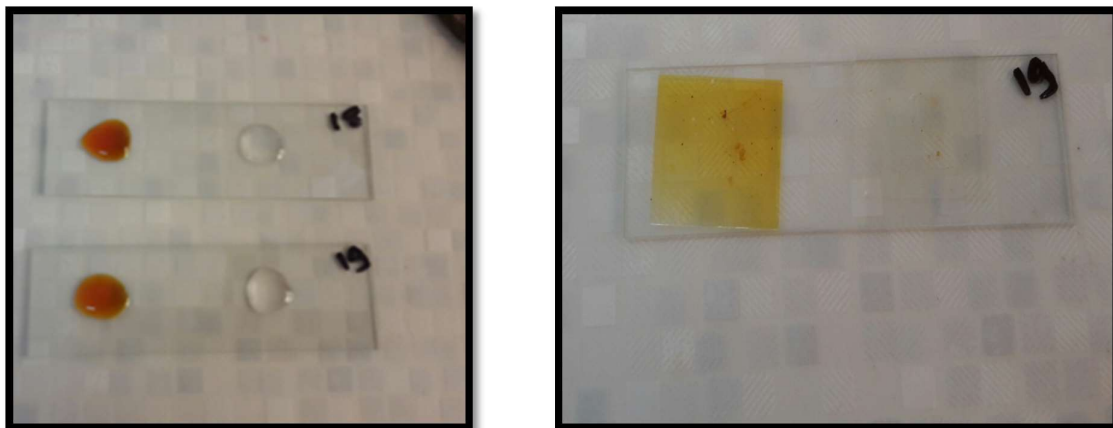


Figure 28 : Examen microscopique à l'état frais.

2.3.1.2. Examen microscopique après concentration

➤ Technique de sédimentation : Ritchie Modifiée (D'après Rousset, 1993)

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 ainsi que les œufs d'ascaris et de schistosomes.

Mode opératoire :

- Diluer 10g de selles dans une solution de formol à 10%
- Mélanger à l'aide d'un agitateur jusqu'à l'obtention d'une suspension légèrement trouble.
- Tamiser à l'aide d'une passoire avec des pores fins.
- Remplir le tube à centrifuger jusqu'à obtenir 7ml.
- Ajouter l'éther au 1/3 (3ml).
- Agiter vigoureusement jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
- Centrifuger à 1500 tours pendant 2 minutes.
- Rejeter le surnageant en renversant le tube d'un mouvement rapide.
- Prélever une goutte du culot avec une pipette pasteur et la déposer entre lame et lamelle.
- Examiner la lame au grossissement (X400).



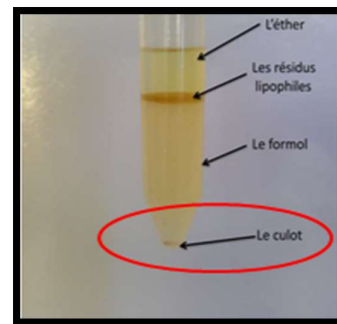
Homogénéiser 2g des selles dans 100 ml d'eau formolée à 10%.



Ajouté 1/3 de l'éther.



Centrifugation à 1500 tours/min pendant 2 minutes.



Déposer la goutte du culot entre lame et lamelle et observé sous microscope optique.

Figure 29 : Examen microscopique après concentration: Technique de Ritchie modifié.

➤ **Technique de flottation : méthode de Willis (D'après Rousset, 1993)**

La technique de Willis est la technique d'enrichissement la plus utilisée. Elle a pour objet de concentrer les éléments parasitaires à partir d'une très petite quantité de déjections. Elle repose sur l'utilisation de solutions dont la densité est supérieure à celle de la plupart des œufs de parasites. Le but est de faire remonter les éléments parasitaires tout en laissant couler les débris fécaux (Rousset, 1993).

Mode opératoire:

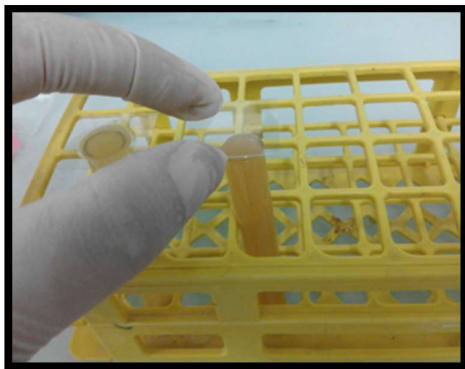
- Suspendez 10g de selles dans 200 ml d'une solution saturée de NaCl à 25%.
- La suspension obtenue est versée dans un tube jusqu'à la limite supérieure (léger bombement du liquide au-dessus du bord).
- On place alors délicatement une lamelle qui doit recouvrir tout le tube sans bulle d'air pendant 15 minutes.
- On la dépose ensuite sur une lame porte objet et on observe à l'objectif (X400).



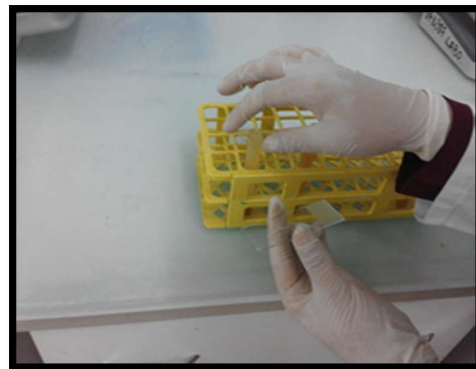
Diluer 10g de selles dans 200ml d'une solution saturée de NaCl.



Tamisage : verser dans un tube à Centrifuger.



Appliquer une lamelle sur le tube en évitant de laisser des bulles d'air



Déposer la lamelle sur la lame, après 15 min observé sous microscope optique.

Figure 30 : Examen microscopique après concentration: Technique de Willis.

2.3.1.3. Examen microscopique après coloration permanente de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) (MZN)

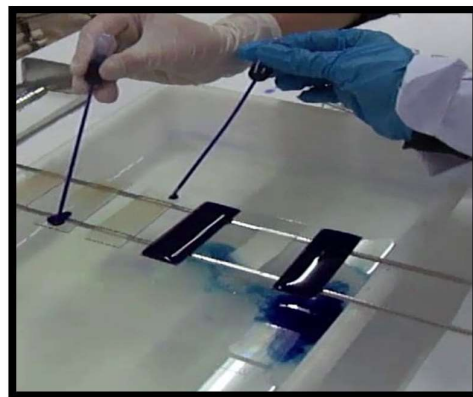
Elle est spécifique pour la coloration des oocystes de *Cryptosporidium* en raison de leur petite taille. Ils apparaissent comme des sphérules rose vif sur un fond vert bleuté. Cette technique a été systématiquement effectuée chez les sujets immunodéprimés et immunocompétents présentant des diarrhées. Le frottis fécal doit être très mince et bien adhérer à la lame. Le frottis est réalisé à partir du culot de la technique de Ritchie modifié. Une goutte du culot, celle-ci est bien étalée sur la lame porte-objet, puis séchée à température ambiante.

Mode opératoire

- Fixer le frottis à l'alcool méthylique pendant 5 minutes.
- Sécher à la température ambiante.
- Fixer brièvement à la flamme.
- Colorer les lames pendant une heure dans la fuchsine phéniquée de Ziehl.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Différencier à l'acide sulfurique à 2% pendant 2 secondes en agitant la lame.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Contre colorer au vert malachite à 5% ou bien par le bleu de méthylène pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher à l'air.
- Observer au microscope optique à l'immersion (X1000).



Fixation des frottis par l'alcool Méthylique.



Coloration des frottis par MZN et observation sous microscope optique.

Figure 31 : Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (MZN).

2.3.1.4. Technique de Graham (Scotch-test)

C'est une technique biologique basée sur le cycle de l'oxyure, les femelles d'oxyures pondent leurs œufs à la marge anale après avoir forcé le sphincter anal, donc on retrouvera les œufs au niveau des plis autour de l'anus (GEFFROY, 2014). Le prélèvement se fera le matin avant toute toilette et avant la défécation car les femelles pondent surtout la nuit. Donc pour la mise en évidence de leurs œufs, on effectue ce test. La lecture se fait directement sous microscope avec l'objectif (X400).

Mode opératoire

- A effectuer au lever avant la toilette et les premières selles.
- Décoller le scotch de son support.
- Appliquer le coté adhésif sur les plis de la marge anale et le maintenir en appuyant quelques secondes.
- Retirer le scotch et l'étaler sur la lame support.
- Examiner la préparation au grossissement (X400).

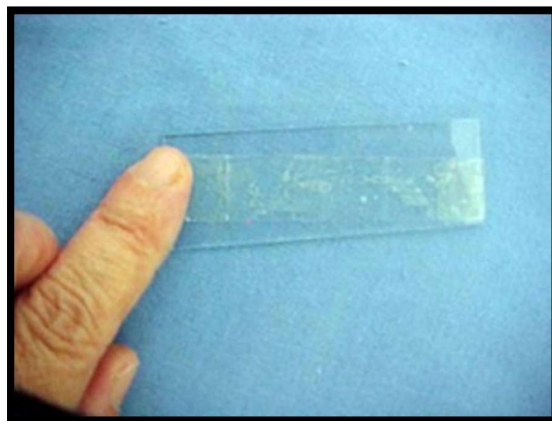


Figure 32: Test de Graham (Scotch test).

2.3.1.5. Mise en culture xénique (XIVC)

La mise en culture est effectuée dans les heures qui suivent l'émission des selles, du fait de la fragilité de la forme cellulaire du parasite, qui ne survie que six à huit heures dans l'environnement (ZHANG et *al.* 2012). Deux milieux de culture xéniques sont utilisés dans cette étude ; le milieu diphasique de Boeck and Drbohlav Locke-egg (LE) (SAKSIRISAMPANT et *al.* 2010) et celui de Jones (JONES, 1946). Après préparation des milieux de culture en laboratoire (annexe 02), et vue le caractère anaérobie strict du parasite, les cultures sont réalisées dans des tubes en verre étanches de 15ml, fermés par un bouchon vissé étanche. Approximativement 50 mg d'échantillons de selles sont cultivés dans 5ml de

milieux de culture additionnés de 10% de sérum de cheval. Les tubes inoculés sont étroitement fermés, placés dans un portoir et incubés à l'étuve à 37 °C.

Après quarante-huit heures, les cultures sont observées toutes les vingt-quatre heures, pour cela un volume de 20 microlitres est prélevé à partir du sédiment de culture, et placé entre lame et lamelle pour une observation microscopique. Les échantillons douteux sont observés à nouveau vingt-quatre heures plus tard et l'absence de *Blastocystis* spp. est confirmée après le cinquième jour de lancement de la culture, alors que les cultures positives au microscope sont ensuite sous-cultivées dans un milieu frais une fois tous les 5 jours.



Figure 33: Mise en culture xénique (XIVC).

2.3.2. Analyses statistiques

Nous avons employé le logiciel XLStat (2018) et Minitab version 18, pour explorer les associations entre les facteurs de risque et l'infection parasitaires. Les données obtenues ont été analysées statistiquement en utilisant le test exact de Khi-2 et celui de l'A.F.C. Les valeurs seront considérés significatifs à $P < 0,05$ avec un risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour un intervalle de confiance IC à 95%.

3. RESULTATS

3.1. Analyse descriptive de la population d'étude

Durant la période d'étude, 2277 sujets avaient bénéficié d'un examen parasitologique des selles (EPS) au niveau de deux laboratoires d'analyses médicales de la ville de Laghouat. Les caractéristiques descriptives de la population d'étude sont présentées dans le tableau 06.

D'après ce tableau, nous constatons que les patients externes sont plus nombreux que ceux hospitalisés (98,6% vs 1,36% ; $p=0,589$), en revanche on note une prédominance des EPS total des patients de sexe masculin (1333 EPS) par rapport aux patients de sexe féminin (944 EPS), avec sex-ratio égale à 1,41. Statistiquement il n'y a pas une corrélation significative entre les EPS totaux et les deux sexes ($X^2= 0,521$; $p=0,470$). En outre, la répartition des sujets d'étude selon la classe d'âge a montré une différence très hautement significative entre les deux classes d'âge et les EPS totaux ($X^2= 23,534$; $p< 0,0001$), dont le tiers de la population examinées était constituée par des adultes (66%). Cependant on note une répartition très hautement significative entre les EPS des patients provenant du milieu urbain que du milieu rural (54% vs 46% ; $X^2= 28,903$; $p< 0,0001$). 617 (27%) des patients inclus dans cette étude présentent un ou plusieurs symptômes gastro-intestinaux, presque la même proportion 645(28%) des patients avait été en contact étroit avec des animaux. Cette répartition des EPS est statistiquement très hautement significative ($p<0,0001$). Néanmoins 53% de la population d'étude consomment l'eau de robinet, par rapport à 47% consomment l'eau minérale/eau de source, le test Khi2 a révélé une répartition significative entre les deux modes de consommation d'eau et les EPS examinés ($X^2= 9,615$; $p=0,002$).

La répartition des EPS effectués avec leurs pourcentages pendant la période d'étude selon les saisons montre que le minimum d'examen parasitologiques des selles a été effectué pendant l'été (453 EPS soit 20%), alors que le maximum a été effectué durant le printemps (679 EPS soit 30%). Au cours de l'automne on note une augmentation au niveau des EPS effectués (641 EPS soit 28%) par rapport à l'été alors qu'il a régressé pendant l'hiver (504 EPS soit 22%), cette répartition des EPS en fonction des saisons n'était pas significative ($X^2=2,954$; $p=0,399$).

Alors que la répartition des EPS effectués avec leurs pourcentages pendant la période d'étude selon les années montre que le minimum des EPS a été enregistré durant l'année 2015 (436 EPS soit 19%), tandis que le maximum a été enregistré durant l'année 2016 (789 EPS soit 35%), au cours des années 2017 et 2018 l'effectifs est sensiblement identique (544 en 2017 et 508 en 2018), cette répartition des EPS en fonction des années d'étude n'était pas significative ($X^2=7,137$; $p=0,068$).

Tableau 06: caractéristiques descriptive de la population d'étude.

Caractéristiques		Patients examinés	Fréquences (%)	<i>p</i> -value
Services	Hospitalisés	31	(01,36)	$X^2=1,368$; $p=0,589$
	Externes	2246	(98,64)	
Sexe	Masculins	1333	(58,50)	$X^2=0,521$; $p=0,470$
	Féminins	944	(41,50)	
Classe d'âge	Adultes >15ans	1498	(65,70)	$X^2=23,534$, $p<0,0001$
	Enfants ≤ 15ans	779	(34,20)	
Provenance	Urbaines	1237	(54,30)	$X^2=28,903$; $p<0,0001$
	Rurales	1040	(45,70)	
Symptômes cliniques	Symptomatiques	617	(27,00)	$X^2=925,550$; $p<0,0001$
	Asymptomatiques	1660	(73,00)	
Source d'eau consommée	Eau de robinet	1201	(52,70)	$X^2=9,615$; $p=0,002$
	Eau minérale/eau de source	1076	(47,30)	
Contacts avec les animaux	Oui	645	(28,40)	$X^2=259,736$; $p<0,0001$
	Non	1632	(71,60)	
Saisons	Automne	641	(28,00)	$X^2=2,954$; $p=0,399$
	Hiver	504	(22,00)	
	Printemps	679	(30,00)	
	été	453	(20,00)	
Années	2015	436	(19,00)	$X^2=7,137$; $p=0,068$
	2016	789	(35,00)	
	2017	544	(24,00)	
	2018	508	(22,00)	

3.2. Analyse de la fréquence parasitaire

Sur les 2277 EPS effectués, nous avons révélé 759 cas avec la présence d'un ou plusieurs parasite, soit une prévalence globale de 33,33% (95% CI: 31,35%-35,27%).

Tableau 07: Taux du portage des parasitoses intestinales.

Résultats	Patients examinés	Taux de prévalence(%)	95% CI
Positifs	759	(33,33)	31,39-35,27
Négatifs	1518	(66,67)	64,73-68,60
Total	2277	(100)	100

L'examen parasitologique des selles a mis en évidence dix parasites intestinaux avec des fréquences variables (Tableau 08). Les protozoaires représentent 97,96% des parasites identifiés et près de 37,94 % des EPS effectués (864 cas de protozoaires) alors que les helminthes constituent 2,04% des parasites recensés et près de 0,79% des EPS effectués (18 cas d'helminthes).

Tableau 08: Fréquences de différentes espèces de parasites.

	Parasites	Patients positifs	Fréquence (%) sur (n°759)	Fréquence (%) sur (n°2277)
Protozoaire	<i>Blastocystis</i> spp.	404	(53,22)	(17,74)
	<i>E. histolytica/dispar</i>	200	(26,35)	(8,78)
	<i>E. coli</i>	94	(12,38)	(4,13)
	<i>E. nana</i>	40	(05,27)	(1,56)
	<i>G. intestinalis</i>	96	(12,65)	(4,22)
	<i>T. intestinalis</i>	23	(03,03)	(1,01)
	<i>Cryptosporidium</i> spp.	07	(0,92)	(0,31)
Helminthes	<i>E. vermicularis</i>	13	(01,71)	(0,57)
	<i>T. saginata</i>	04	(0,53)	(0,18)
	<i>T. trichuira</i>	01	(0,13)	(0,04)

Blastocystis spp. (Figure 34) est le parasite le plus fréquent des EPS positifs (53,22%), suivi par *Entamoeba histolytica/dispar* (26,35%) (Figure 35), *Giardia intestinalis* (12,65%) (Figure 36), *Entamoeba coli* (12,38%) (Figure 37), *Endolimax nana* (5,27%) (Figure 38), *Trichomonas intestinalis* (3,03%), *Enterobius vermicularis* (1,71%) (Figure 39), *Cryptosporidium* spp (0,92%) (Figure 40), *Teania saginata* (0,53%) (Figure 41) et *Trichuris trichiura* (0,13%) (Figure 42).



Figure 34: Forme vacuolaire de *Blastocystis* spp. (X400).
(Photo personnelle 2018).

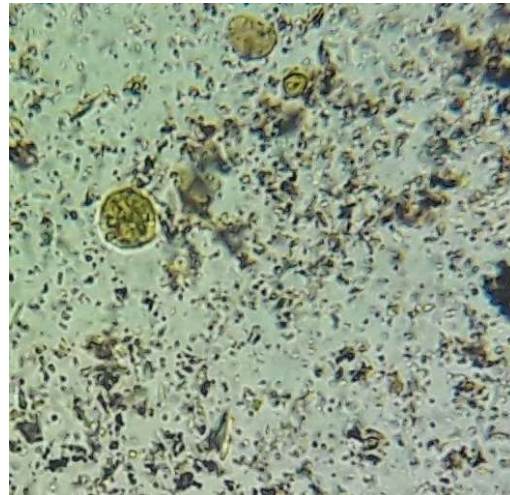


Figure 35: Forme kystique d'*Entamoeba histolytica/dispar* (X400).
(Photo personnelle 2018).

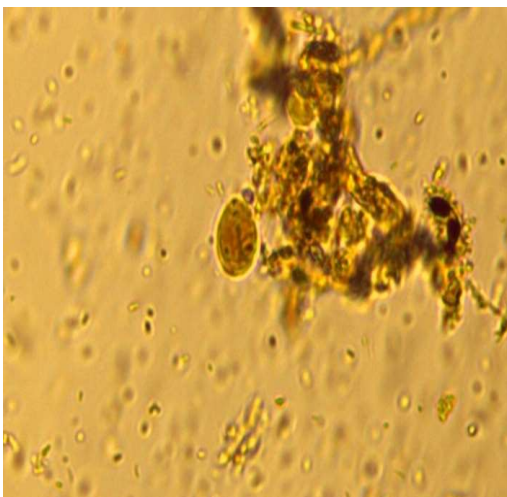


Figure 36: Forme kystique de *Giardia intestinalis* (X400).
(Photo personnelle 2018).



Figure 37: Forme kystique d'*Entamoeba coli* (X400).
(Photo personnelle 2018).

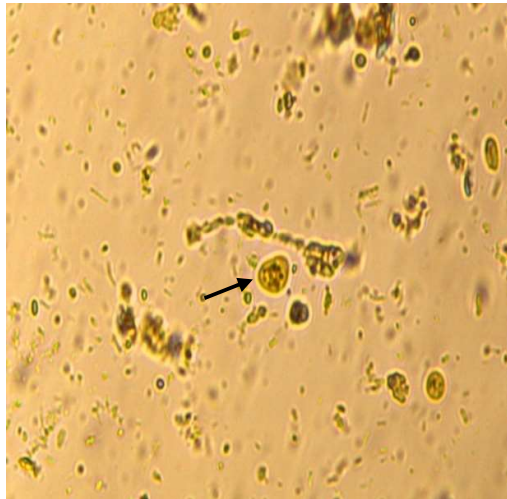


Figure 38: Forme kystique d'*Endolimax nana* (X400) (Photo personnelle 2018).

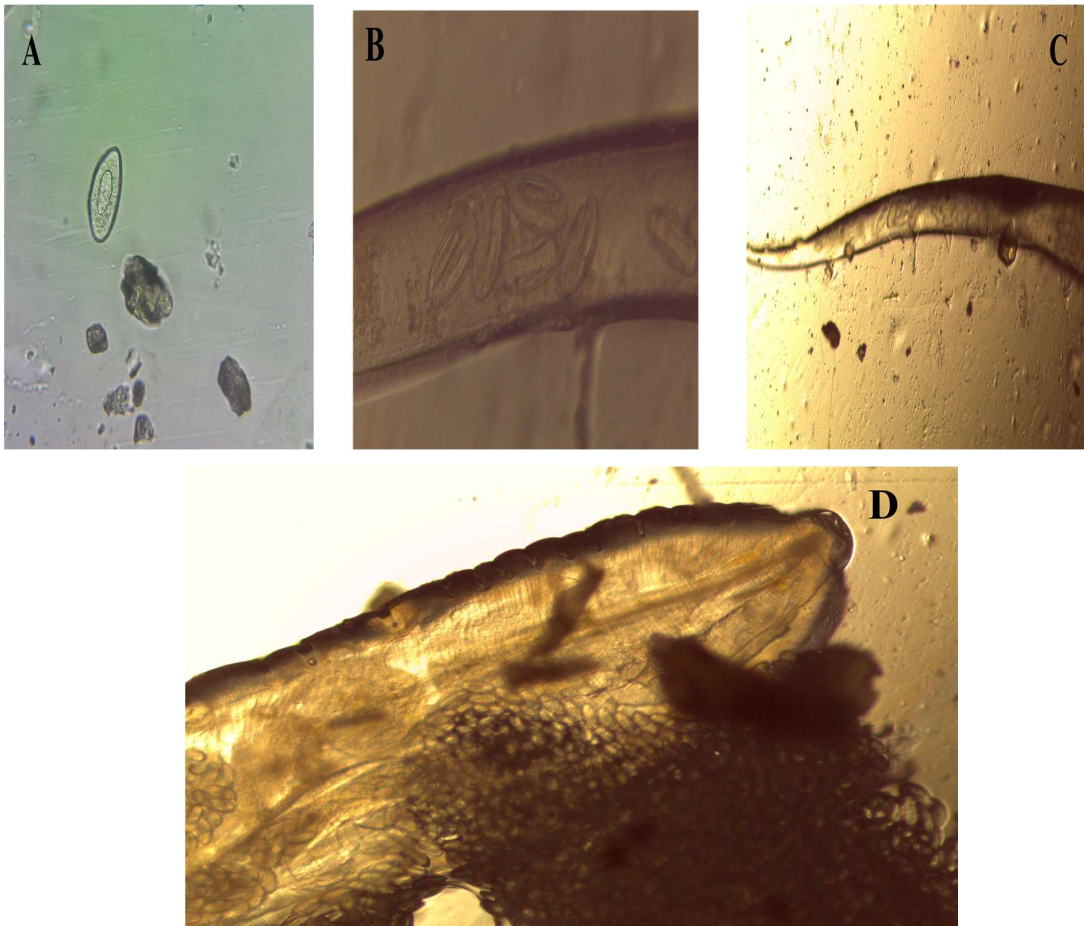


Figure 39: *Enterobius vermicularis* ; (A) : Œufs d'oxyure (scotch test) (X400), (B) et (C) : Extrémité médiane et postérieur d'une femelle d'oxyure (scotch test) (X100), (D) : Extrémité antérieur d'une femelle d'oxyure et sorti des œufs via l'action du scotch (X100) (Photo personnelle 2018).

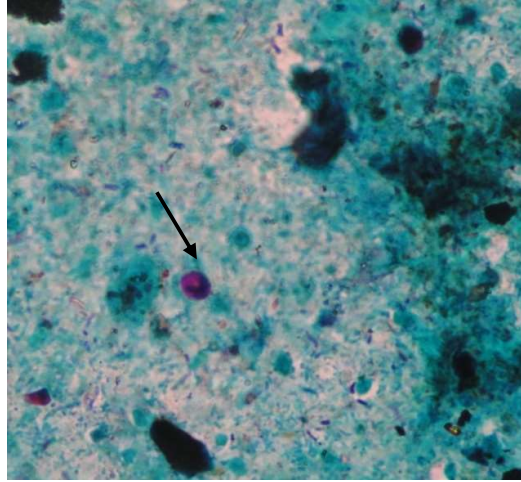


Figure 40: Oocyste de *Cryptosporidium* spp. (X1000) (Photo personnelle 2018).



Figure 41: Œuf de *Teania saginata* (X400) (Photo personnelle 2018).



Figure 42: Œuf de *Trichuris trichiura* (X400) (Photo personnelle 2017).

3.3. Analyse épidémiologiques de la fréquence parasitaire

3.3.1. Analyse de la fréquence parasitaire selon le service

Notre travail porte sur un échantillon de 2277 patients dont 31 représentent les patients hospitalisés à l'EPH-Laghouat contre 2246 les patients consultant ou externe (Tableau 09). L'analyse de la fréquence parasitaire a révélé un taux de 3% chez les patients hospitalisé contre 97% chez les patients externe ($p>0,05$).

Tableau 09: Répartition du taux de parasitisme selon le service.

Services	Patients examinés	Patients positifs	Fréquence(%) sur (n°2277)	Fréquence(%) sur (n°759)	p-value
Hospitalisés	31	22	(0,97)	(03,00)	$\chi^2=39,994$; $p= 0,684$
Externes	2246	737	(32,33)	(97,00)	
Total	2277	759	(33,3)	(100)	

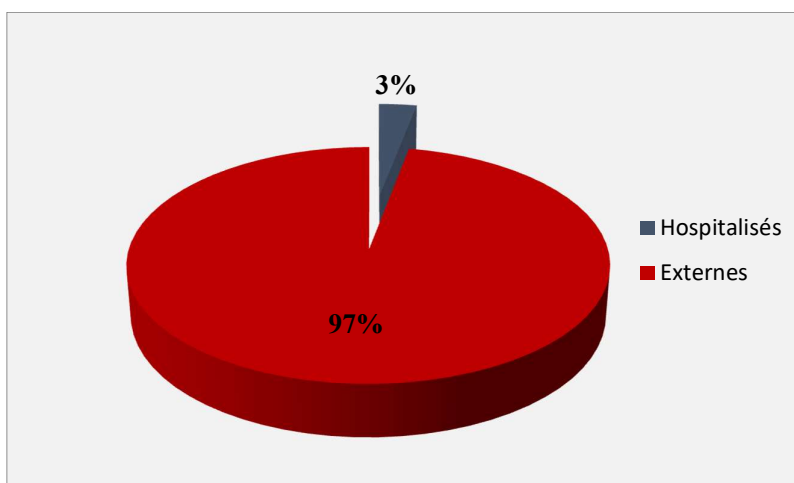


Figure 43: Répartition du taux de parasitisme selon le service.

Parmi les 22 patients hospitalisés trouvés parasités (Tableau 10), nous notons une prédominance des patients provenant du service de pédiatrie avec un taux de 54,6%, suivi par les services de médecine femme (22,7%), service de médecine homme (13,6%) et par celui des urgences avec un taux de 9,1%.

Tableau 10: Fréquence parasitaire selon le service hospitalier.

Services	Patients examinés	Patients positifs	Fréquence(%) sur (n°22)	95% CI
Médecine homme	05	03	(13,60)	10,12-15,89
Médecine femme	08	05	(22,70)	19,32-26,24
Pédiatrie	15	12	(54,60)	51,74-58,35
Urgence	03	02	(09,10)	5,99-12,10

3.3.2. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction des classes d'âge

La répartition des sujets d'étude selon les classes d'âge a montré une différence très hautement significative ($\chi^2= 69,762$, $p=0,001$). Le taux d'infection parasitaire le plus élevé a été enregistré chez la classe d'âge 0-9ans avec un taux de 64,57%, alors que le taux le moins fréquent a été enregistré chez la classe d'âge 50-59ans avec un taux de 20,10% (Tableau 11).

Tableau 11: Répartition du taux de parasitisme en fonction des tranches d'âge des patients.

Tranches d'âge	Nombre de patients examinés	Nombre de patients positifs	Fréquence (%)	<i>p</i> -value
0-9ans	302	195	(64,57)	$\chi^2=69,762$, $p<0,001$
10-19ans	482	160	(33,19)	
20-29ans	493	127	(25,76)	
30-39ans	361	119	(32,96)	
40-49ans	304	88	(28,95)	
50-59ans	199	40	(20,10)	
60+	136	30	(22,06)	

Le tableau 12 représente la répartition des résultats de la distribution de chaque espèce parasites en fonction de groupe d'âge des patients. Ce tableau montre que *Blastocystis* spp. *Entamoeba histolytica/dispar* et *Cryptosporidium* spp. infestent plus les adultes que les enfants avec des pourcentages : 58%, 64% et 100% respectivement, alors que les espèces *Giardia intestinalis* et *Teania saginata* enregistrent une égalité de taux chez les deux classe d'âge (50%), en revanche les oxyures et le cas de Trichocéphale sont trouvés uniquement chez la tranche infantiles.

La répartition des fréquences parasitaires en fonction des tranches d'âges montre une association significative pour les espèces *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Trichomonas intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. et très hautement significative pour l'espèce *Enterobius vermicularis* en faveur de la tranche infantile $p=0,0001$.

Tableau 12: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction des classes d'âge des patients.

Espèces	Adultes >15ans		Enfants ≤15ans		p-value
	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	236	(58,40)	168	(41,60)	0,100
<i>E. histolytica/dispar</i>	128	(64,00)	72	(36,00)	0,030*
<i>E. coli</i>	56	(59,50)	38	(40,50)	0,039*
<i>E. nana</i>	22	(55,00)	18	(45,00)	0,693
<i>G. intestinalis</i>	48	(50,00)	48	(50,00)	0,252
<i>T. intestinalis</i>	13	(56,60)	10	(43,40)	0,015*
<i>Cryptosporidium</i> spp.	07	(100)	00	(00)	0,039*
<i>E. vermicularis</i>	00	(00)	13	(100)	0,0001*
<i>T. saginata</i>	02	(50,00)	02	(50,00)	0,734
<i>T. trichuira</i>	00	(00)	01	(100)	0,236

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

La répartition du taux de prévalence des espèces parasitaires en fonction de l'âge indique que le taux d'infection le plus élevé à été trouvé dans le groupe d'âge 0-9ans et qui a diminué progressivement avec l'âge ($p<0,05$) pour la plupart des espèces. La moyenne d'âge (Min ±Max) des patients infestés est de 24(1±82) (Figure 44).

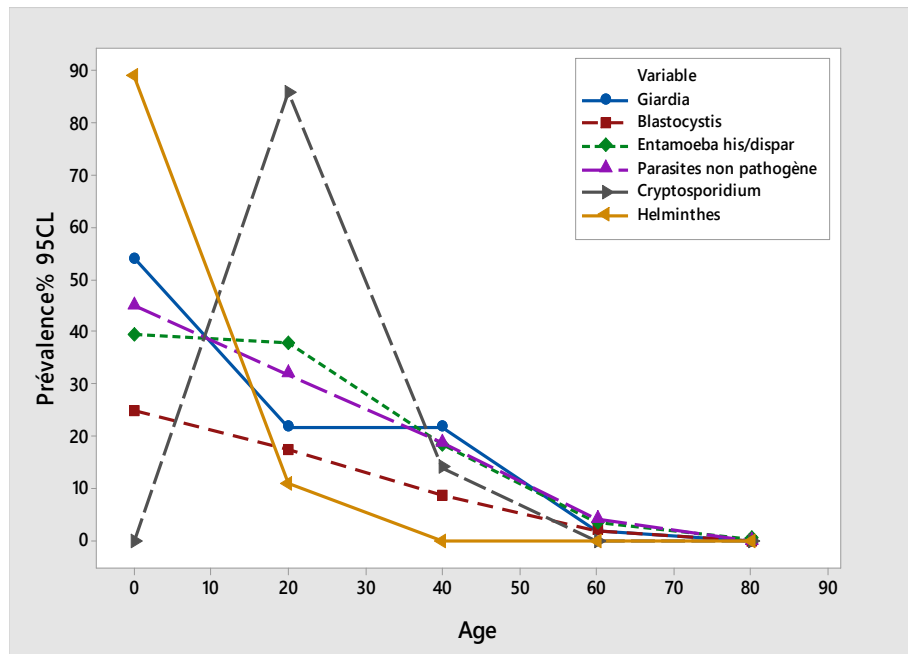


Figure 44: Répartition des espèces parasitaires en fonction de l'âge des patients.

L'analyse de corrélation des espèces parasitaires en fonction de l'âge montre que les espèces *Giardia intestinalis* et *Tenia saginata* sont indépendante de l'âge, alors que les Oxyures et le Trichocéphale sont bien corrélées avec les enfants, tandis que les autres espèces sont bien corrélées avec les adultes (Figure 45).

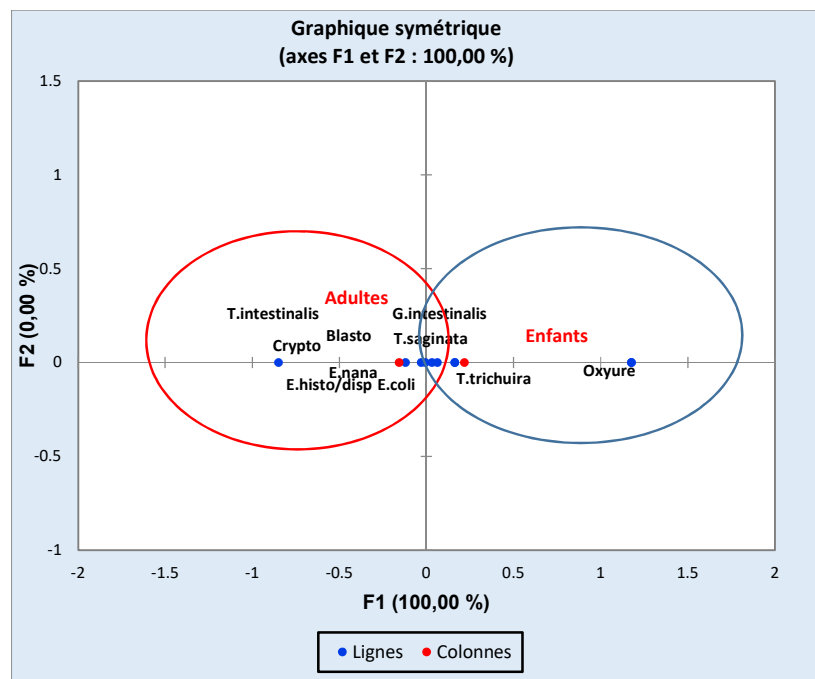


Figure 45: Représentation schématique de la corrélation entre les deux classes d'âge et les espèces parasitaires.

3.3.3. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction du sexe des patients

Parmi les 759 prélèvements de selle positifs, 437 prélèvements sont enregistrés en faveur des patients contre 322 patientes (57,58% vs 42,42% respectivement). Bien qu'aucune différence significative entre la répartition de l'ensemble des parasites recensées et le sexe des patients n'est observée ($p=0,119$) (Tableau 13). Le sex-ratio est de 1,36 pour les parasitoses intestinales.

Tableau 13: Répartition du taux de parasitisme en fonction du sexe des patients.

	Patients positifs	Pourcentage(%)	95% CI	p -value
Masculin	437	(57,58)	54,06-61,09	$\chi^2=56,362$; $p=0,119$
Féminin	322	(42,42)	38,91-45,94	

L'analyse statistique de la répartition des parasites en fonction du sexe des patients a révélé une association significative pour les espèces *Blastocystis* spp. *Entamoeba histolytica/dispar*, *Endolimax nana* et *Trichomonas intestinalis* ($p<0,05$), alors qu'elle n'est pas significative pour les autres espèces (Tableau 14).

Tableau 14: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction du sexe des patients.

Espèces	Masculins		Féminins		p -value
	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	255	(63,10)	149	(36,90)	0,001*
<i>E. histolytica/dispar</i>	101	(51,00)	99	(49,00)	0,018*
<i>E. coli</i>	47	(50,00)	47	(50,00)	0,100
<i>E. nana</i>	26	(65,00)	14	(35,00)	0,020*
<i>G. intestinalis</i>	53	(55,20)	43	(44,80)	0,684
<i>T. intestinalis</i>	06	(26,10)	17	(73,90)	0,004*
<i>Cryptosporidium</i> spp.	04	(57,10)	03	(42,90)	0,663
<i>E. vermicularis</i>	08	(61,50)	05	(38,50)	0,914
<i>T. saginata</i>	02	(50,00)	02	(50,00)	0,759
<i>T. trichuira</i>	01	(100)	00	(00)	0,390

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

La figure 46, montre l'évolution de la prévalence entre les deux sexes avec l'âge (sexe*classe d'âge*infection, $\chi^2=80,468$, $p=0,097$). Comme on peut le constater, la prévalence est généralement plus faible chez les femmes par rapport aux males et qui diminué progressivement avec l'âge chez les deux sexes.

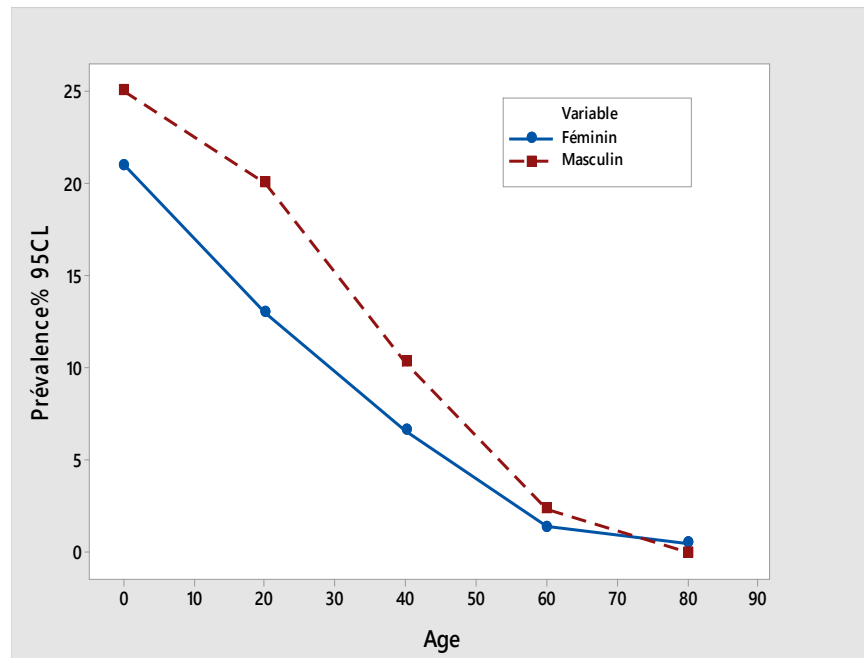


Figure 46: Répartition de l'infection chez les deux sexes en fonction de la classe d'âge.

Concernant la corrélation de la distribution des parasitoses intestinales en fonction du sexe, les espèces ; *Trichuris trichuira*, *Blastocystis* spp. et *Endolimax nana* sont bien corrélées avec le sexe masculin et les espèce *Trichomonas intestinalis* et *E.coli* sont bien corrélées avec le sexe féminin. Alors que les autres espèces sont indépendantes du sexe (Figure 47).

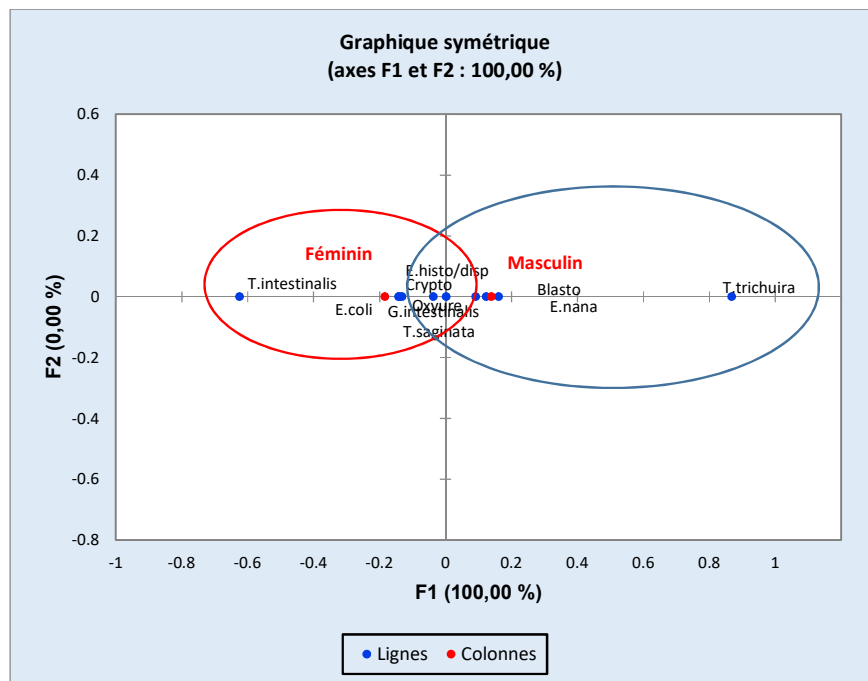


Figure 47: Représentation schématique de la corrélation entre le sexe et les espèces parasitaires.

3.3.4. Analyse de la fréquence parasitaire selon le lieu d'habitation

A la lumière des résultats du tableau 15, la répartition du taux de parasitisme est plus fréquente en milieu rural 53% (soit 406 des cas positifs) qu'en milieu urbain 47% (soit 353 des cas positifs). Statistiquement cette répartition n'était pas significative ($X^2= 45,933$, $p=0,433$).

Les communes de Sidi Makhlouf et Hassi Delaa enregistrent les taux les plus élevés, où la moitié des patients examinés sont trouvés parasités avec des taux respectivement (50,46% et 51,05%), tandis que la commune de Laghouat a accusé le taux le plus faible (26,20%).

Tableau 15: Répartition du taux de parasitisme selon le lieu d'habitation.

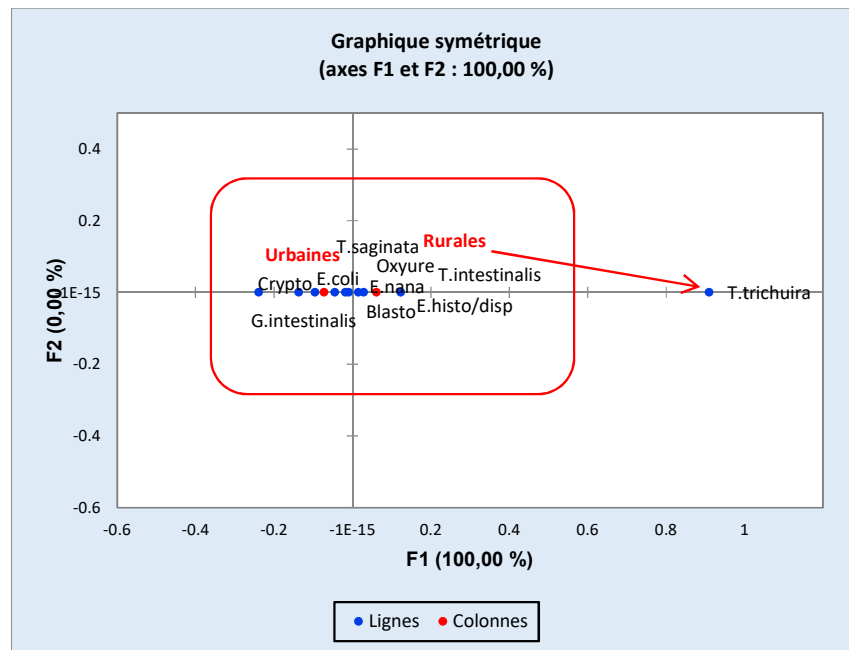
Lieu d'habitation		Nombre de patients examinés	Nombre de patients positifs	Fréquence (%)	<i>p</i> -value
Urbaines	Laghouat	916	240	(26,20)	$X^2= 45,933$; $p=0,433$
	Ksar El Hirane	321	113	(35,20)	
Rurales	Kheng	408	114	(27,94)	
	Sidi Makhlouf	216	109	(50,46)	
	Tadjmout	226	86	(38,05)	
	Hassi Delaa	190	97	(51,05)	

Concernant les résultats de distribution des différentes espèces de parasites en fonction de lieu d'habitation, le tableau 16, indique que la plus part des espèces sont plus au moins répartis avec des taux proches dans les deux milieux, ainsi le cas de Trichocéphale est trouvé dans le milieu rural. Cette distribution des espèces parasitaires n'a montré aucune association significative entre la fréquence des parasites et le lieu d'habitation ($p>0,05$) (Tableau 16).

Tableau 16: Fréquences d'infestations parasitaires selon le lieu d'habitation.

Espèces	Urbaines		Rurales		p-value
	Nombre de patients positifs	(%)	Nombre de patients positifs	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	177	(43,80)	227	(56,20)	0,128
<i>E. histolytica/dispar</i>	89	(44,50)	111	(55,50)	0,507
<i>E. coli</i>	43	(45,70)	51	(54,30)	0,104
<i>E. nana</i>	19	(47,50)	21	(52,50)	0,649
<i>G. intestinalis</i>	50	(52,00)	46	(48,00)	0,287
<i>T. intestinalis</i>	09	(39,20)	14	(60,80)	0,220
<i>Cryptosporidium</i> spp.	04	(57,10)	03	(42,90)	0,842
<i>E. vermicularis</i>	6	(46,10)	07	(53,90)	0,823
<i>T. saginata</i>	02	(50,00)	02	(50,00)	0,888
<i>T. trichiura</i>	00	(00)	01	(100)	0,351

D'après la figure 48, les analyses de corrélation de la distribution des espèces parasitaires montre que presque toutes les espèces trouvées sont indépendante du milieu, elle se présente aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Cependant l'espèce *Trichuris trichiura* est écartée vu sa faible fréquence (un seul cas recensé).

**Figure 48:** Schéma représentatif de la corrélation entre la provenance des patients et les espèces parasitaires.

3.3.5. Analyse de la fréquence parasitaire selon la source d'eau consommée

Nous reportons sur le tableau 17, la répartition des résultats du taux de parasitisme en fonction de source d'eau consommée, cependant les patients qui consomment l'eau de robinet ont un risque plus élevé d'acquérir l'infection que les patients qui consomment l'eau minérale/eau de source (58% vs 42% respectivement). Cette répartition est statistiquement significative ($\chi^2= 56,595, p=0,015$).

Tableau 17: Répartition du taux de parasitisme selon la source d'eau consommée.

	Nombre de patients positifs	Fréquence(%)	95% CI	p-value
Eau de robinet	437	(58,00)	54,06-61,09	$\chi^2=56,595 ;$ $p=0,015$
Eau minérale/Eau de source	322	(42,00)	38,91-45,94	

La répartition des taux de fréquences des espèces parasitaires en fonction de source d'eau consommée (Tableau 18) a montré que la plus part des parasites sont plus fréquents chez les patients qui consomment l'eau de robinet par rapport à l'eau minérale/eau de source comme ; *Blastocystis* spp. (62%), *Cryptosporidium* spp. (71%), *Enterobius vermicularis* (85%), *Teania saginata* (75%) et *Trichuris trichiura* (100%). En outre certaines espèces montrent une égalité de taux comme *Entamoeba coli* et *Endolimax nana* alors que d'autres espèces présentent des taux très proche comme *Giardia intestinalis* et *Entamoeba histolytica/dispar*. Alors que *Trichomonas intestinalis* enregistre un taux plus élevé chez les patients qui consomment l'eau minérale/eau de source (61%) que l'eau de robinet (39%).

Cette distribution des espèces parasitaires a montré une association significative seulement pour les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. ($p<0,05$).

Tableau 18: Fréquences d'infestations parasitaires selon la source d'eau consommée.

Espèces	Eau de robinet		Eau minérale/Eau de source		p-value
	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	249	(61,60)	155	(38,40)	0,019*
<i>E. histolytica/dispar</i>	112	(56,00)	88	(44,00)	0,015*
<i>E. coli</i>	47	(50,00)	47	(50,00)	0,226
<i>E. nana</i>	20	(50,00)	20	(50,00)	0,224
<i>G. intestinalis</i>	51	(53,10)	45	(46,90)	0,028*
<i>T. intestinalis</i>	09	(39,10)	14	(60,90)	0,108
<i>Cryptosporidium</i> spp.	05	(71,40)	02	(28,60)	0,036*
<i>E. vermicularis</i>	11	(84,60)	02	(15,40)	0,599
<i>T. saginata</i>	03	(75,00)	01	(25,00)	0,480
<i>T. trichiura</i>	01	(100)	00	(00)	0,390

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

Les analyses de corrélation entre la fréquence de différentes espèces parasitaires trouvées et le mode de consommation d'eau a révélé que les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura* et *Teania saginta* sont bien corrélées avec le mode de consommation d'eau de robinet, tandis que les espèces *Entamoeba coli* et *Endolimax nana* sont indépendante de mode de consommation d'eau et finalement seulement *Trichomonas intestinalis* est bien corrélé avec le mode de consommation d'eau minérale/eau de source (Figure 49).

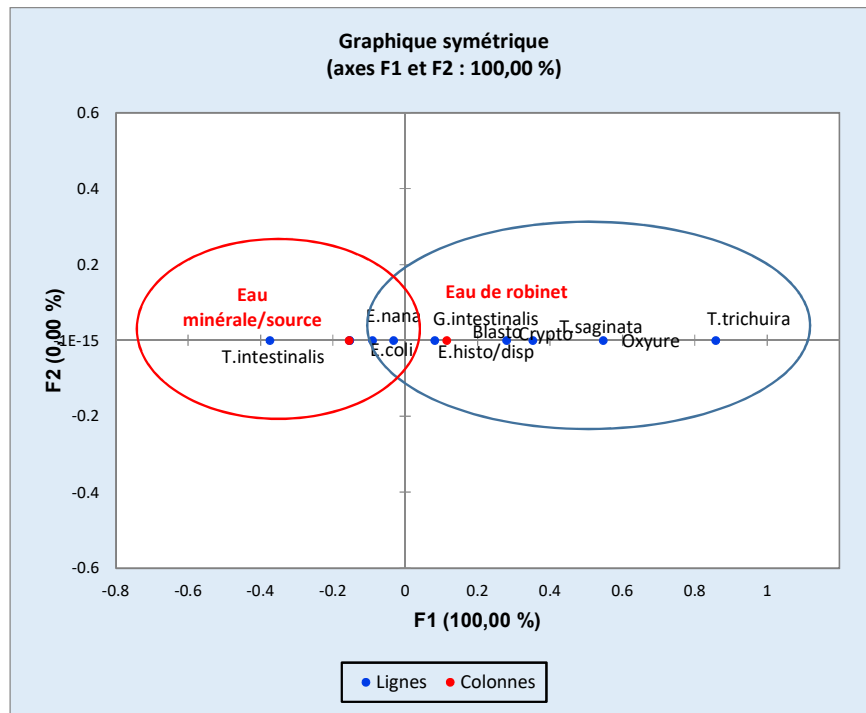


Figure 49: Représentation schématique de la corrélation entre le mode de consommation d'eau et les espèces parasitaires.

3.3.6. Analyse de la fréquence parasitaire en fonction du contact avec les animaux

La fréquence du taux de parasitisme des patients qui sont en contact avec les animaux (66%) est nettement plus élevée par rapport aux patients qui ne le sont pas (34%) (Tableau 19), cette distribution est statistiquement très significative ($X^2=48,054$, $p<0,003$).

Tableau 19: Répartition du taux de parasitisme en fonction du contact avec les animaux.

	Nombre de patients positifs	Fréquence(%)	95% CI	p-value
Contacte avec les animaux « Oui »	502	(66,00)	62,77-69,51	$X^2=48,054$; $p<0,003$
Contacte avec les animaux « Non »	257	(34,00)	30,49-37,22	

Dans le tableau 20, nous constatons bien que la répartition des taux de fréquence de toute les parasites recensés est nettement supérieure chez les patients qui sont en contact avec les animaux. Les analyses statistiques pour les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp, *Enterobius vermicularis* et *Teania saginata* ont montré des associations significatives ($p<0,05$).

Tableau 20: Fréquences d'infestations parasitaires en fonction du contact avec les animaux.

Espèces	Contact avec les animaux « Oui »		Contact avec les animaux « Non »		p-value
	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	271	(67,00)	133	(33,00)	0,043*
<i>E. histolytica/dispar</i>	131	(65,50)	69	(34,40)	0,028*
<i>E. coli</i>	56	(60,00)	38	(40,00)	0,348
<i>E. nana</i>	27	(67,50)	13	(32,50)	0,467
<i>G. intestinalis</i>	69	(71,80)	27	(28,20)	0,017*
<i>T. intestinalis</i>	16	(69,50)	07	(30,50)	0,837
<i>Cryptosporidium</i> spp.	06	(85,70)	01	(14,30)	0,019*
<i>E. vermicularis</i>	09	(69,20)	04	(30,80)	0,049*
<i>T. saginata</i>	04	(100)	00	(00)	0,015*
<i>T. trichuira</i>	00	(00)	01	(100)	0,162

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

Signalons d'emblée que presque toutes les espèces parasitaires sauf le cas de Trichocéphale sont bien corrélées avec la présence du contact avec les animaux (Figure 50).

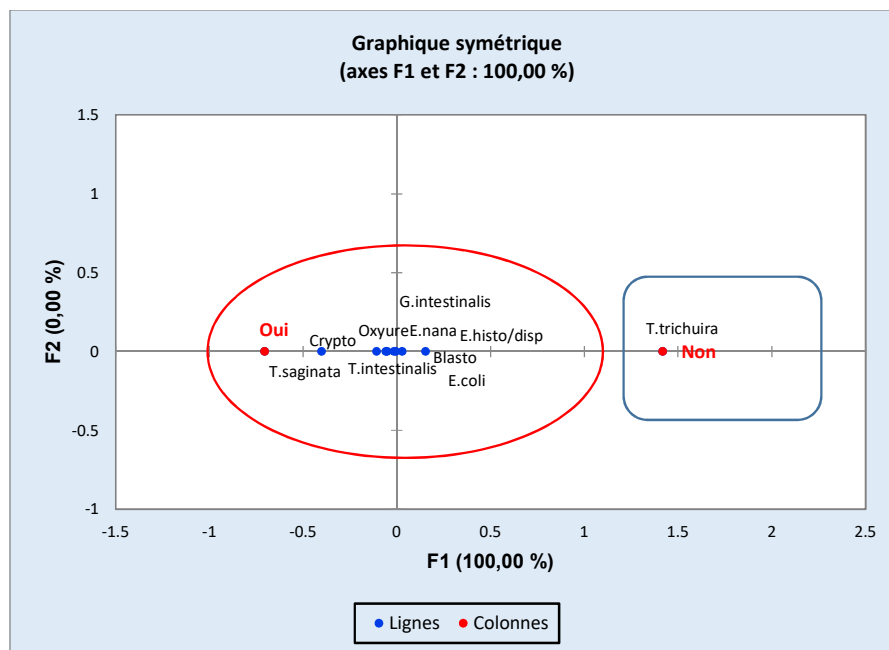


Figure 50: Représentation schématique de la corrélation entre le contact avec les animaux et les espèces parasitaires.

D'après les résultats présentés ci-dessus et la figure 51, on constate que le milieu rural, la consommation d'eau de robinet et le contact avec les animaux sont les facteurs de risque à l'infection parasitaire dans la wilaya de Laghouat.

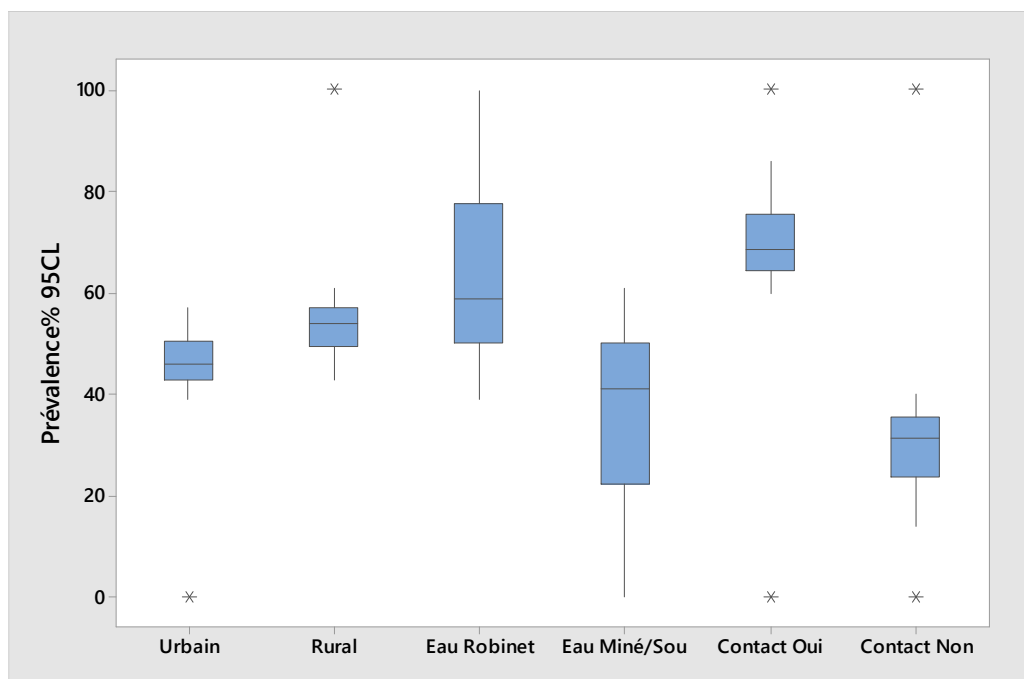


Figure 51: Comparaison entre les facteurs de risque à l'infection parasitaire dans la wilaya de Laghouat.

3.3.7. Analyse temporelle de la fréquence parasitaire

3.3.7.1. Analyse de la fréquence parasitaire selon les années d'étude

La répartition du taux de parasitisme varie d'une année à l'autre avec un minimum en 2015 (17%) et un maximum en 2016 (35%), ce taux régresse relativement pendant les années suivantes, 2017 (26%), et 2018 (22%) (Tableau 21). L'analyse de corrélations montre que la différence est très significative entre les années d'étude ($X^2=189,90$; $p=0,001$).

Tableau 21: Répartition du taux de parasitisme selon les années d'étude.

Années	Nombre de patients positifs	Fréquence(%)	95% CI	<i>p</i> -value
2015	127	(17,00)	14,08-19,39	$X^2=189,90$; $p=0,001$
2016	262	(35,00)	31,14-37,90	
2017	200	(26,00)	23,22-29,49	
2018	170	(22,00)	19,43-25,36	

Concernant la répartition des taux de fréquence des parasites selon les années d'étude, le tableau 22, montre que l'année 2016 a enregistré les taux de fréquences les plus élevés pour la plus part des espèces comme *Blastocystis* spp (32%), *Entamoeba histolytica/dispar* (37%), *Giardia intestinalis* (46%) *Cryptosporidium* spp (43%) et *Entamoeba coli* qui enregistre une égalité du taux en 2016 et en 2018 (30%). Alors que pour les autres espèces, l'année 2018 a enregistré les taux de fréquences les plus élevées pour *Endolimax nana* (32%), *Trichomonas intestinalis* (35%), *Enterobius vermicularis* (46%) et *Teania saginata* (50%).

Tableau 22: Fréquences d'infestations parasitaires selon les années d'étude.

Espèces	2015		2016		2017		2018		p-value
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	60	(15,00)	131	(32,00)	115	(28,00)	98	(25,00)	0,146
<i>E. histolytica/dispar</i>	34	(17,00)	74	(37,00)	48	(24,00)	44	(22,00)	0,781
<i>E. coli</i>	13	(13,00)	28	(30,00)	25	(27,00)	28	(30,00)	0,018*
<i>E. nana</i>	11	(28,00)	08	(20,00)	08	(20,00)	13	(32,00)	0,242
<i>G. intestinalis</i>	17	(18,00)	44	(46,00)	24	(25,00)	11	(11,00)	0,013*
<i>T. intestinalis</i>	05	(22,00)	07	(30,00)	03	(13,00)	08	(35,00)	0,329
<i>Cryptosporidium</i> spp.	01	(14,00)	03	(43,00)	02	(29,00)	01	(14,00)	0,018*
<i>E. vermicularis</i>	01	(08,00)	01	(08,00)	05	(38,00)	06	(46,00)	0,027*
<i>T. saginata</i>	01	(25,00)	01	(25,00)	00	(00)	02	(50,00)	0,441
<i>T. trichuira</i>	00	(00)	00	(00)	01	(100)	00	(00)	0,424

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

L'analyse statistique de la répartition des espèces parasites (Tableau 22), a révélé une association significative en fonction des années d'étude pour les espèces *Entamoeba coli*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp et *Enterobius vermicularis* ($p < 0,05$), alors qu'elle n'est pas significative pour les autres espèces.

Cependant, cette régression du taux de parasitisme au fil des ans à été corrélé par une interaction avec l'âge (années*classe d'âge*infection, $X^2 = 371,923$; $p = 0,011$). L'augmentation de la prévalence avec les années d'études est particulièrement évidente chez la classe d'âge 0-20ans puis elle diminué au fil des ans chez les autres classe d'âge (Figure 52).

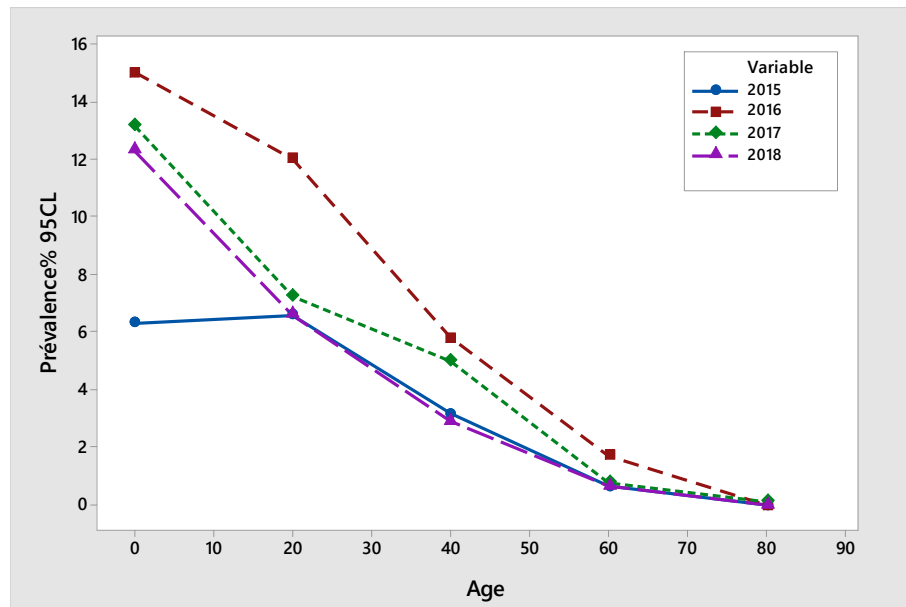


Figure 52: Répartition de l'infection par classe d'âge et années d'étude.

D'après la figure 53, les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp, *Entamoeba coli* et *Enterobius vermicularis* sont bien corrélées avec les années 2016 et 2017, néanmoins les espèces *Endolimax nana*, *Trichomonas intestinalis* et *Tenia saginata* sont bien corrélées avec les années 2015 et 2018. Concernant l'espèce *Trichuris trichiura* est écarté vu sa faible fréquence (un seul cas recensé).

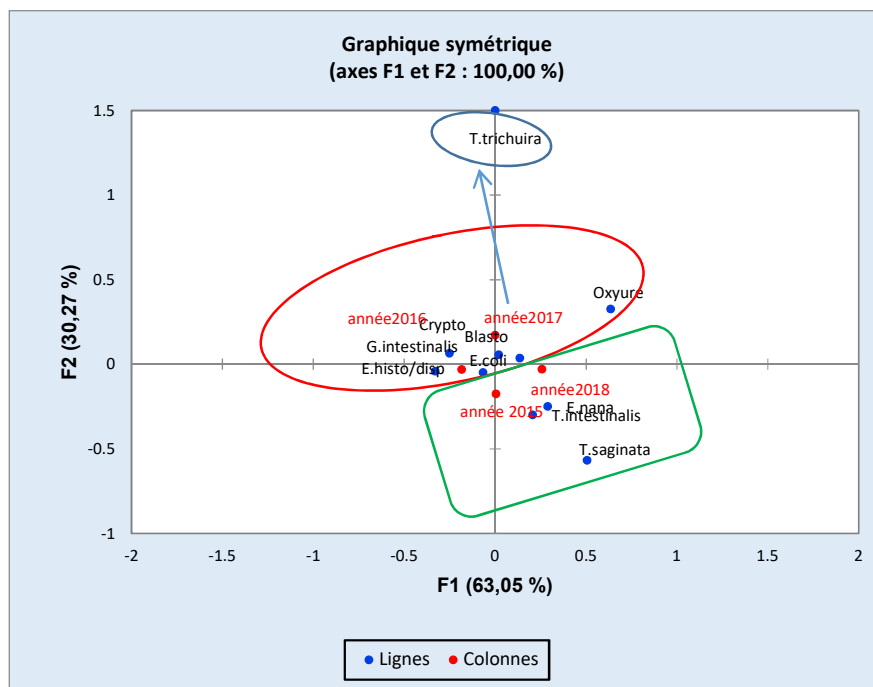


Figure 53: Représentation schématique de la corrélation entre les années d'étude et les espèces parasitaires.

3.3.7.2. Analyse de la fréquence parasitaire selon les saisons

La répartition des espèces parasites en fonction des saisons a montré que, le printemps présent le taux de fréquence de parasitisme le plus élevé (32%), l'automne vient en deuxième position (28%). Les taux de fréquences les plus bas ont été enregistrés pendant la saison d'été (18%) suivi par l'hiver (22%) (Tableau 23). L'analyse statistique a révélé une association très hautement significative entre les saisons et le taux de fréquence parasitaires ($p < 0,0001$).

Tableau 23: Répartition du taux de parasitisme selon les saisons.

Saisons	Nombre de patients	Fréquence(%)	95% CI	p-value
Hiver	167	(22,00)	19,05-24,95	$\chi^2=22,558$; $p < 0,0001$
Printemps	239	(32,00)	28,18-34,79	
Eté	139	(18,00)	15,56-21,07	
Automne	214	(28,00)	24,99-31,39	

D'après le tableau 24 et la figure 54, presque toutes les espèces sont bien corrélées avec le printemps, sauf pour certaines espèces comme *Trichuris trichiura* qui est corrélée avec l'automne, *Cryptosporidium* spp et *Endolimax nana* sont bien corrélées avec la saison d'hiver. Aucune espèce de parasite n'a été corrélée avec la saison d'été. Statistiquement les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba coli*, *Trichomonas intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. ont montrées des corrélations significatives avec les saisons ($p < 0,05$).

Tableau 24: Fréquences d'infestations parasitaires selon les saisons.

Espèces	Hiver		Printemps		Eté		Automne		p-value
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	94	(23,00)	125	(31,00)	69	(17,00)	116	(29,00)	0,016*
<i>E. histolytica/dispar</i>	41	(21,00)	64	(32,00)	39	(20,00)	56	(27,00)	0,916
<i>E. coli</i>	21	(22,00)	41	(44,00)	13	(14,00)	19	(20,00)	0,022*
<i>E. nana</i>	12	(30,00)	12	(30,00)	10	(25,00)	06	(15,00)	0,320
<i>G. intestinalis</i>	21	(22,00)	24	(25,00)	23	(24,00)	28	(29,00)	0,321
<i>T. intestinalis</i>	03	(13,00)	12	(52,00)	02	(09,00)	06	(26,00)	0,012*
<i>Cryptosporidium</i> spp.	03	(43,00)	02	(28,5)	00	(00)	02	(28,5)	0,022*
<i>E. vermicularis</i>	03	(23,00)	06	(47,00)	02	(15,00)	02	(15,00)	0,296
<i>T. saginata</i>	01	(25,00)	03	(75,00)	00	(00)	00	(00)	0,230
<i>T. trichiura</i>	00	(00)	00	(00)	00	(00)	01	(100)	0,466

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

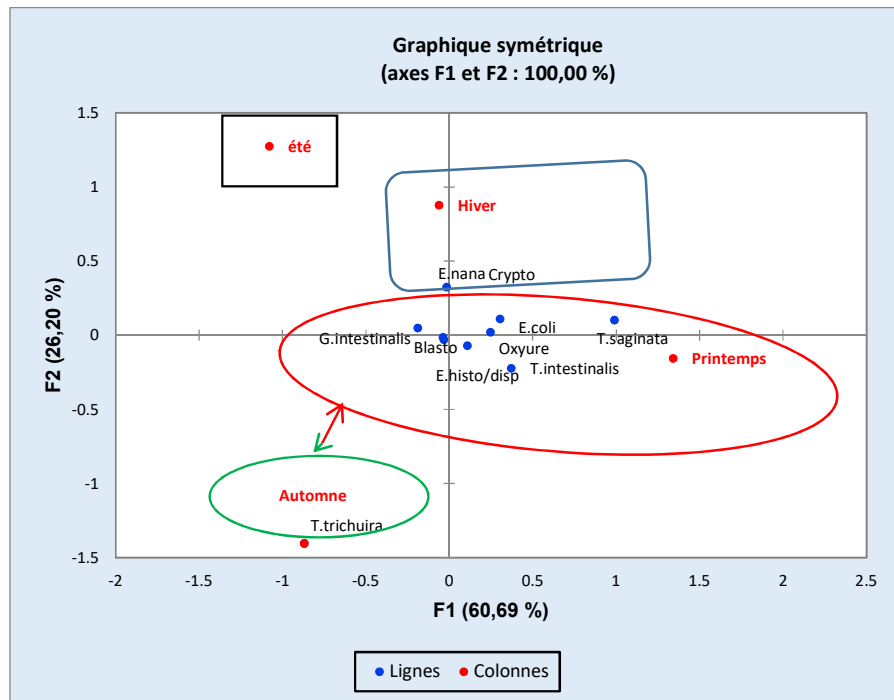


Figure 54: Représentation schématique de la corrélation entre les saisons et les espèces parasitaires.

3.3.7.3. Évolution mensuelle de la fréquence parasitaire

Durant la période d'étude, l'exploitation des données mois par mois indique que le maximum des cas examinés est demandé durant le mois d'Octobre (287 cas examinés) et le mois d'Avril (257 cas examinés), tandis que le minimum des cas examinés est demandé durant les mois Aout et Décembre (112 cas examinés), ainsi le maximum des cas positifs est enregistré durant le mois d'Octobre (96 cas), tandis que le minimum est enregistré durant le mois d'Aout (35 cas). Cependant la fréquence la plus élevée des cas positifs par rapport aux cas examinés est enregistrée durant le mois de Mars 70/181 soit 38,7% et la fréquence la plus basse est enregistrée durant le mois de Novembre 77/248 soit 31% (Tableau 25). Cette répartition des fréquences n'est pas significative ($X^2=9,278$; $p=0,596$).

Tableau 25: Evolution mensuelle de la fréquence parasitaire.

Mois	Nombre de patients examinés	Nombre de patients positifs	Fréquences(%)	p-value
Janvier	149	53	(35,60)	$\chi^2=9,278 ;$ $p= 0,596$
Février	175	57	(32,60)	
Mars	181	70	(38,70)	
Avril	257	94	(36,60)	
Mai	222	70	(31,50)	
Juin	193	62	(32,10)	
Juillet	207	57	(27,50)	
Aout	112	35	(31,30)	
Septembre	134	50	(37,30)	
Octobre	287	96	(33,40)	
Novembre	248	77	(31,00)	
Décembre	112	38	(34,00)	
Total	2277	759	(33,30)	

D'après la figure 55, on remarque une fluctuation des fréquences parasitaires tout le long de l'année avec une évolution des cas positifs durant les premiers mois (Janvier jusqu'à Avril), et une régression jusqu'à Septembre où elle atteint un pic de fréquence durant le mois d'Octobre. On conclut que l'infestation parasitaire dans la wilaya de Laghouat atteint un niveau important au printemps et en automne, alors qu'elle est plus au moins stable durant tout le reste de l'année.

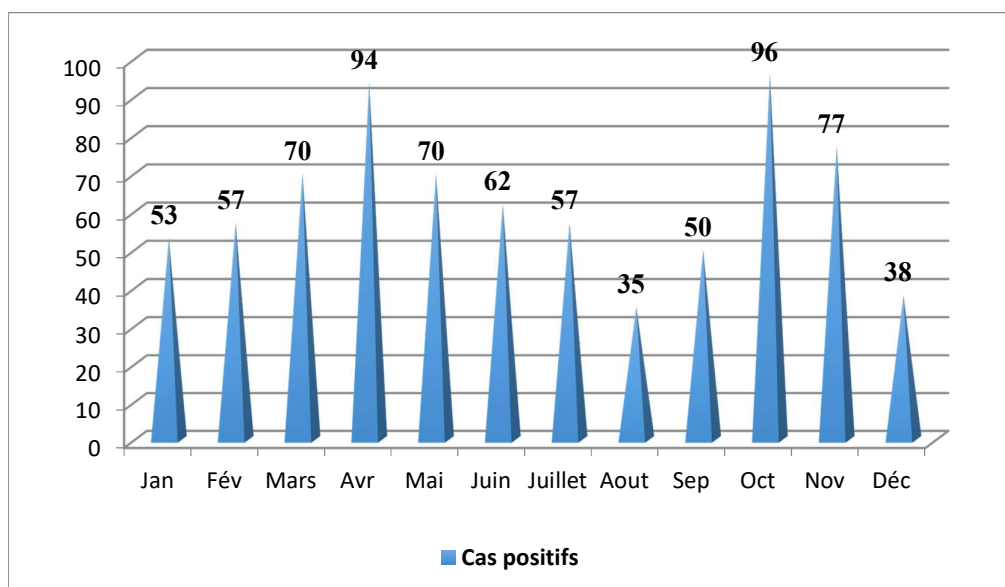


Figure 55: Répartition mensuelle des parasitoses intestinales.

3.3.8. Analyse de la fréquence parasitaire selon la consistance des selles

A la lumière des résultats de tableau 26, la présence d'infection parasitaire est plus fréquente dans les selles d'aspect molle (39%) suivi par l'aspect liquide (19%), et moins fréquente dans les selles s'aspect glaireux (7%), tandis que l'absence d'infection parasitaires est plus fréquente dans les selles d'aspect solide (51,05%) et moulée (31,4%), et légèrement fréquente dans les selles d'aspect liquide (1,4%) et glaireux (0,08%), cette répartition de taux de fréquence parasitaires selon la consistance des selles est très hautement significative ($X^2=608,966$; $p<0,0001$).

Tableau 26: Répartition du taux de parasitisme selon la consistance des selles.

Consistance	Présence d'infection		Absence d'infection		<i>p</i> -value
	Nombre de patients	(%)	Nombre de patients	(%)	
Glaireux	51	(07,00)	01	(0,08)	$X^2=608,966$; $p<0,0001$
Liquide	146	(19,00)	22	(01,40)	
Molle	297	(39,00)	244	(16,07)	
Moulée	134	(18,00)	476	(31,40)	
Solide	131	(17,00)	775	(51,05)	

D'après le tableau 27, on remarque que la distribution des espèces parasites en fonction de la consistance des selles a montré que presque toutes les espèces sont plus fréquentes dans les selles d'aspect molle. *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, et *Trichomonas intestinalis*, ont enregistrés des fréquences plus élevées dans les selles d'aspect molle suivi par les selles d'aspect liquide, cette répartition est très hautement significative pour l'espèce *Entamoeba histolytica/dispar* ($p < 0,0001$), et non significative pour les autres espèces. En revanche la fréquence des espèces *Entamoeba coli* et *Endolimax nana* est plus fréquente dans les selles d'aspect solide ($p < 0,05$), et l'espèce *Cryptosporidium* spp. a été trouvé uniquement dans les selles d'aspect liquide ($p = 0,006$).

Tableau 27: Fréquences d'infestations parasites selon la consistance des selles.

Espèces	Glaireux		Liquide		Molle		Moulée		Solide		p-value
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<i>Blastocystis</i> spp.	21	(05,00)	87	(22,00)	164	(41,00)	67	(17,00)	65	(15,00)	0,174
<i>E. histolytica/dispar</i>	32	(16,00)	57	(28,50)	51	(25,50)	30	(15,00)	30	(15,00)	0,0001*
<i>E. coli</i>	06	(06,00)	12	(13,00)	24	(26,00)	24	(26,00)	28	(29,00)	0,001*
<i>E. nana</i>	02	(05,00)	03	(07,50)	12	(30,00)	10	(25,00)	13	(32,50)	0,048*
<i>G. intestinalis</i>	03	(03,00)	27	(28,00)	44	(46,00)	15	(16,00)	07	(07,00)	0,006*
<i>T. intestinalis</i>	01	(04,00)	05	(22,00)	14	(61,00)	01	(04,00)	02	(09,00)	0,163
<i>Cryptosporidium</i> spp.	00	(00)	07	(100)	00	(00)	00	(00)	00	(00)	0,006*
<i>E. vermicularis</i>	00	(00)	00	(00)	11	(85,00)	02	(15,00)	00	(00)	0,002*
<i>T. saginata</i>	00	(00)	00	(00)	04	(100)	00	(00)	00	(00)	0,181
<i>T. trichiura</i>	00	(00)	00	(00)	01	(100)	00	(00)	00	(00)	0,816

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

L'analyse de corrélation des espèces parasites selon la consistance des selles a montré que les espèces *Entamoeba coli* et *Endolimax nana* sont bien corrélées avec les selles d'aspect solide et moulée, alors que *Entamoeba histolytica/dispar* et *Cryptosporidium* spp sont bien corrélées avec les selles d'aspect liquide, tandis que les espèces : *Blastocystis* spp, *Giardia intestinalis*, *Trichomonas intestinalis*, *Trichuris trichiura*, *Teania saginata* et *Enterobius vermicularis* sont bien corrélées avec les selles d'aspect molle. Aucune espèce n'a été corrélée avec les selles d'aspect glaireux (Figure 56).

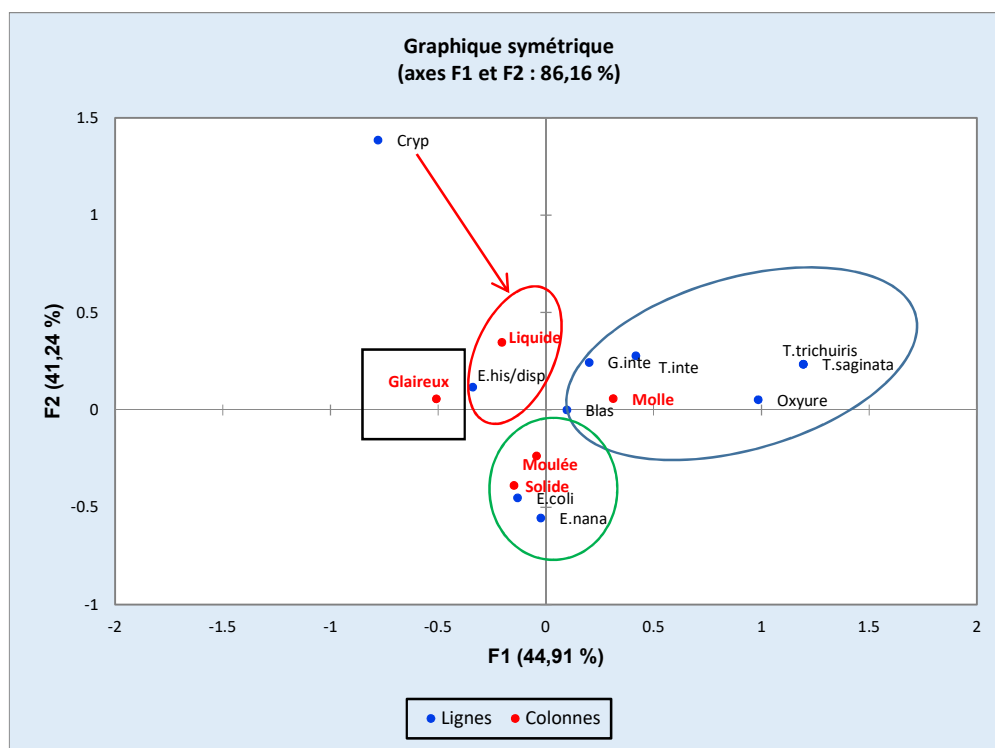


Figure 56: Représentation schématique de la corrélation entre la consistance des selles et les espèces parasitaires.

3.4. Analyse clinique de la fréquence parasitaire

3.4.1. Analyse clinique de la fréquence parasitaire chez les immunocompétents

La fréquence parasitaire est significativement plus élevée chez les patients symptomatiques par rapport aux patients asymptomatiques (67% vs 33% respectivement ; $\chi^2=174,89$; $P<0,0001$), parmi les 513 patients symptomatiques, 488 étaient des patients immunocompétent (Tableau 28).

Tableau 28: Répartition du taux de parasitisme selon la symptomatologie clinique.

Signes	Nombre de patients positifs	Fréquence(%)	95% CI	p-value
Symptomatiques	513	(67,00)	63,45-70,15	$\chi^2=174,89$;
Asymptomatiques	246	(33,00)	29,85-36,55	$P<0,0001$

D'après le tableau 29, les signes cliniques les plus fréquents chez les immunocompétent à la présence des infections parasitaires sont marqués par des douleurs abdominales (262cas), des diarrhées (85cas) et l'association entre les douleurs abdominales+ diarrhée (49cas). L'analyse de la répartition des signes clinique par rapport à la présence ou l'absence d'une infection parasitaire a révélé une différence très hautement significative ($\chi^2= 959,089$; $p<0,0001$).

Tableau 29 : répartition des signes clinique par rapport à la présence d'infection parasitaire chez les patients immunocompétent.

Symptômes cliniques	Présence d'infection		Absence d'infection		p-value
	Nombre des patients	(%)	Nombre des patients	(%)	
Douleurs abdominales	262	(76)	67	(24)	$\chi^2=959,089$; $p<0,0001$
Diarrhée	85	(86)	14	(14)	
Nausées	12	(67)	06	(33)	
Vomissement	25	(86)	04	(14)	
Anorexie	05	(100)	00	(00)	
Fièvre	05	(100)	00	(00)	
Urticaire	02	(100)	00	(00)	
Flatulence/ Constipation	09	(82)	02	(18)	
Prurit anale	18	(90)	02	(10)	
Douleurs +Diarrhée	49	(84)	11	(16)	
Douleurs+Vomissement	11	(69)	05	(31)	
Diarrhée+Nausée+Vomissement	05	(100)	00	(00)	

Les douleurs abdominales, les diarrhées, la fièvre, le prurit anal et l'association entre les douleurs abdominales avec les diarrhées, sont associées significativement avec l'infestation parasitaire (Tableau 30).

Tableau 30: Fréquences des signes cliniques chez les immunocompétents et leur corrélation avec l'infestation parasitaire.

Symptômes cliniques	Nombre de patients positifs	Fréquence(%)	p-value
Douleurs abdominales	262	(53,70)	0,0001*
Diarrhée	85	(17,40)	0,0001*
Nausées	12	(02,46)	0,989
Vomissement	25	(05,12)	0,768
Anorexie	05	(01,02)	0,941
Fièvre	05	(01,02)	0,005*
Urticaire	02	(0,40)	0,999
Flatulence/ Constipation	09	(01,84)	0,128
Prurit anale	18	(03,67)	0,003*
Douleurs +Diarrhée	49	(10,04)	0,0001*
Douleurs+Vomissement	11	(02,25)	0,081
Diarrhée+Nausée+Vomissement	05	(01,02)	0,671

(*) : Résultats significative.

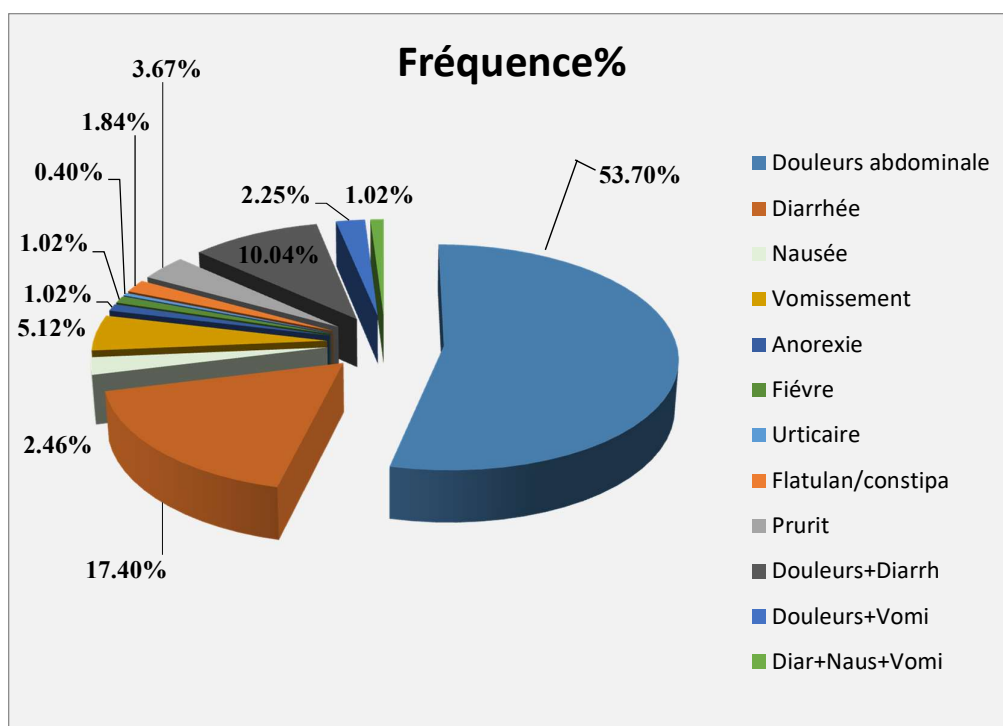


Figure 57: Fréquence des signes cliniques.

L'analyse de la corrélation entre les signes cliniques et la présence ou l'absence d'une infection parasitaire chez les patients immunocompétents a révélé que l'absence d'infection parasitaire est bien corrélée avec les nausées et l'association entre les douleurs abdominales avec vomissement, alors que la présence d'une infection parasitaire est bien corrélée avec le reste des signes cités dans le tableau 29 (Figure 58).

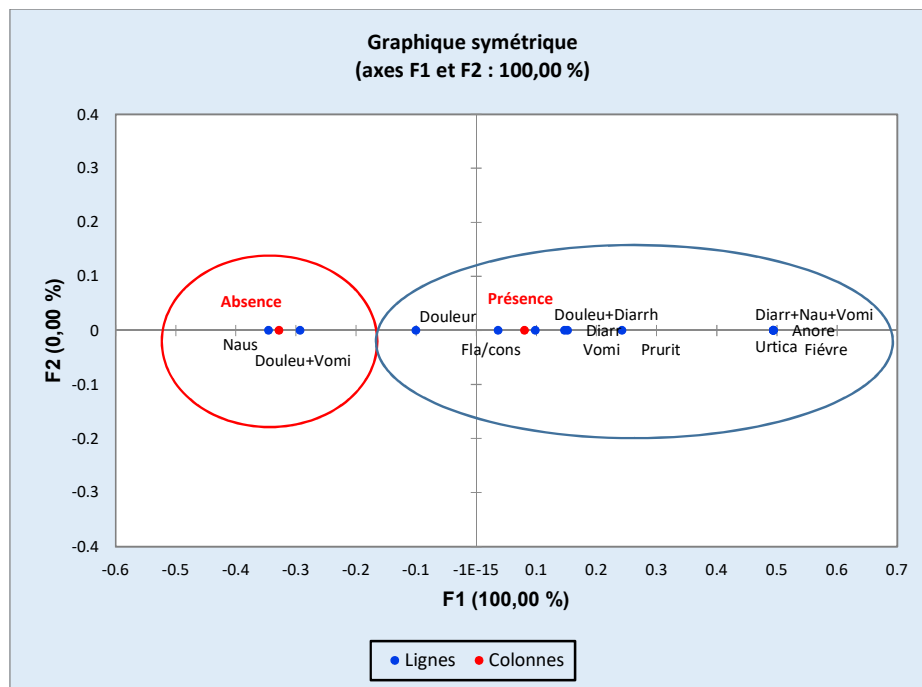


Figure 58: Représentation schématique de la corrélation entre les signes cliniques et la présence ou l'absence d'infection parasitaire chez les immunocompétents.

3.4.2. Analyse clinique de la fréquence parasitaire chez les immunodéprimés

Parmi les 513 patients symptomatiques, 25 patients étaient immunodéprimés dont dix patients sont atteints du VIH, deux patients transplantés rénaux, quatre patients cancéreux sous chimiothérapie et neuf patients dialysés.

D'après le tableau 31, deux signes ont été observés chez les immunodéprimés ; les douleurs abdominales et les diarrhées, statistiquement, aucun lien entre le parasitisme intestinaux et les signes cliniques n'est observés (Tableau 31).

Tableau 31: Fréquences des signes cliniques chez les immunodéprimés et leur corrélation avec l'infestation parasitaire.

Symptômes cliniques	Nombre de patients	Fréquence(%)	p-value
Douleurs abdominales	09	(36,00)	0,155
Diarrhée	06	(24,00)	0,095
Douleurs +Diarrhée	10	(40,00)	0,152

Giardia intestinalis (36%) est le parasite le plus fréquent chez les immunodéprimés suivi par *Entamoeba histolytica/dispar* (28%) et *Cryptosporidium* spp (24%) (Tableau 32).

Tableau 32: Fréquence des espèces parasites retrouvées chez les immunodéprimés

Parasites	Nombre de patients	Fréquence(%)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	07	(28,00)
<i>Giardia intestinalis</i>	09	(36,00)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	06	(24,00)
<i>Cryptosporidium</i> spp+	01	(04,00)
<i>Entameba histolytica/dispar</i>		
<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i> + <i>Giardia intestinalis</i>	02	(08,00)

3.5. Modalité d'association des parasites

Parmi les 759 sujets positifs, certains sont porteurs d'une seule espèce de parasite (monoparasitisme), d'autres hébergent plusieurs espèces en même temps (polyparasitisme).

Le monoparasitisme a concerné 85,8% des sujets parasités (soit 651 cas), le polyparasitisme a été enregistré dans 14,2% des cas positives (soit 108 cas) dont 12,38% pour les associations double (soit 94 cas), 1,71% pour les associations triples (soit 13 cas), et un seul cas de quatre associations (0,13%) (Figure 59), ainsi durant cette étude on a observé les associations seulement entre les espèces de protozoaires, aucune association n'a été observée entre les helminthes ou entre les protozoaires et les helminthes. Les espèces recensées dans le polyparasitisme sont représentées dans le tableau 33.

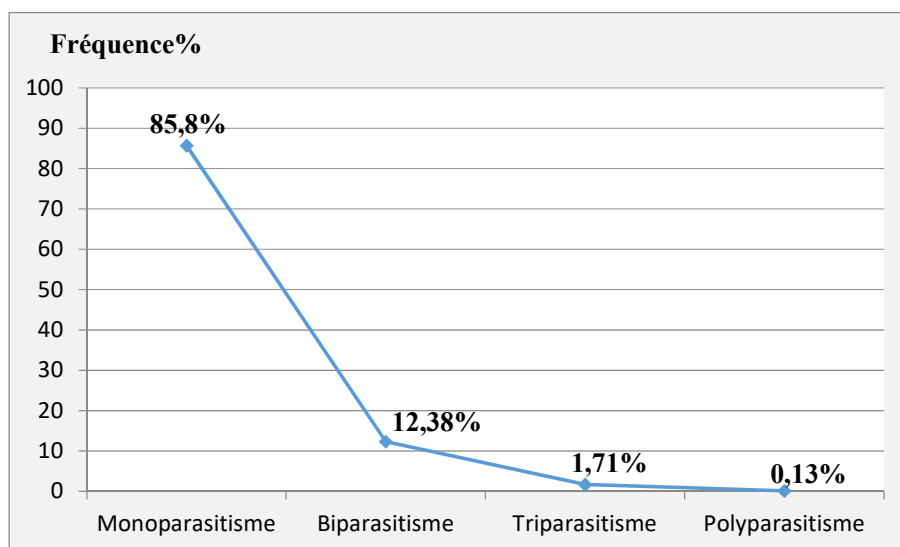


Figure 59: Répartition des associations parasitaires observées.

D'après le tableau 33, l'analyse révèle que les associations doubles les plus fréquentes observées sont celle de *Blastocystis* spp+ *E.histolytica/dispar* 18,5% (20/108cas), *Blastocystis* spp+ *E.coli* 16,7% (18/108cas), *E.histolytica/dispar*+ *E.coli* 13% (14/108cas) et *E.histolytica/dispar*+ *Giardia intestinalis* 12% (13/108cas). Nous avons ainsi observés des cas de Triparasitisme dont la plus fréquente était celle d'*E.histolytica/dispar*+ *E.coli*+ *Giardia intestinalis* 3,7% (4/108cas). En revanche un seul cas de Polyparasitisme ; une association de quatre espèces a été observée *Blastocystis* spp+ *E.histolytica/dispar*+ *E.coli*+ *E.nana* 0,93% (1/108cas).

Tableau 33: Fréquence des associations parasitaires.

Associations parasitaires		Nombre des cas	Fréquence (%)
Monoparasitisme		651	(85,8)
Biparasitisme	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E. histolytica/dispar</i>	20	(18,5)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E.coli</i>	18	(16,7)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>Giardia intestinalis</i>	07	(06,5)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>Cryptosporidium</i> spp	02	(01,9)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E. nana</i>	04	(03,7)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>Trichomonas intestinalis</i>	01	(0,93)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>Cryptosporidium</i> spp	01	(0,93)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i>	14	(13)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.nana</i>	03	(02,8)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>Giardia intestinalis</i>	13	(12)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>Trichomonas intestinalis</i>	01	(0,93)
	<i>Giardia intestinalis</i> + <i>Trichomonas intestinalis</i>	01	(0,93)
	<i>E.coli</i> + <i>Trichomonas intestinalis</i>	02	(01,9)
	<i>E.coli</i> + <i>E. nana</i>	06	(05,6)
	<i>E.coli</i> + <i>Giardia intestinalis</i>	01	(0,93)
Triparasitisme	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i>	03	(02,8)
	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E. histolytica/dispar</i> + <i>Giardia intestinalis</i>	02	(01,9)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i> + <i>E.nana</i>	02	(01,9)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i> + <i>Giardia intestinalis</i>	04	(03,7)
	<i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i> + <i>Trichomonas intestinalis</i>	02	(01,9)
Poly-parasitisme	<i>Blastocystis</i> spp+ <i>E. histolytica/dispar</i> + <i>E.coli</i> + <i>E.nana</i>	01	(0,93)

4. DISCUSSION

4.1. Prévalence des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat

Les parasites intestinaux constituent un vrai problème clinique, ils sont responsables de la morbidité et de la mortalité chez de nombreuses personnes dans le monde. Au cours de ces dernières années, plusieurs recherches ont été menées dans différentes villes du nord de l'Algérie afin d'évaluer l'état de la prévalence des parasitoses intestinales (BENOUI, 2012 ; AIT-SALEM, 2014 ; BELKESSA, 2014 ; SEGHIRE et OURAIBA, 2014 ; KASMI et SAIDOUNI, 2016 ; ZEKRI et MERROUCHE, 2018). Le manque de données épidémiologiques des parasitoses intestinales dans la région des hauts plateaux à solliciter notre intérêt. A cet effet et afin de combler ces lacune, nous avons réalisées une étude descriptive et analytique portées sur 2277 patients hospitalisés et externe au niveau de deux laboratoires d'analyses médicale de la ville de Laghouat, sur une période de 3ans. Les résultats de ce travail nous a permis de constater plusieurs faits qui méritent une attention particulière puisqu'ils touchent directement la santé publique. Les résultats obtenus sont évalué à partir d'un seul bilan parasitologique des selles, qui généralement, ne montre qu'une proportion faible des parasitoses intestinales (BROOKE et MELVIN, 2001), ceci s'explique par les particularités liées a l'émission discontinue des éléments parasitaire surtout les formes kystiques et à la fragilité des formes végétatives de certains parasites (ROUSSET, 1993 ; BOURABTINE et al. 2000).

Au terme de notre étude, il en ressort que parmi les 2277 patients examinés, 759 héberges un ou plusieurs parasites soit un taux de prévalence de 33,3%, supérieur à ceux enregistré par BACHTA et al. (1990) dans l'Algérois (26,76%), BENOUI (2012) à Oran (19,96%), légèrement inférieur à celle de SEGHIRE et OURAIBA (2014) à Tlemcen (43,8%) et comparable avec les résultats obtenues par KASMI et SAIDOUNI (2016) à Tlemcen (35,06%), et par HADJ MOHAMMED et MOHAMMEDI (2017) à Constantine (30,8%) et au Maroc (39,17) par MOSTAFI et al. (2011), en Mauritanie une étude portée sur 1308 enfants scolarisés a enregistré une prévalence de 33,4% (BABA et al. 2012). Ainsi ce taux de prévalence est largement supérieur à ceux enregistré dans différentes pays d'Afrique du Nord, en Tunisie la prévalence est de l'ordre de 26,6% (CHEIKHOUROU et al. 2009) et 28,6% (BOURABTINE et al. 2000), Au Maroc est de l'ordre de 14,15% (EL GUAMRI et al. 2009) et 27,8% (EL-FADELI et al. 2015), et nettement plus inférieur aux résultats enregistrés au Maroc avec des taux 68,1% (EL QAJ et al. 2009), 61,7% (TAGAJDID et al. 2012) et 57,1% (TLIGUI et AGOUMI, 2006). Par ailleurs, la prévalence observée dans notre étude est largement supérieur à celle rapporté dans certains pays européens comme l'Italie (11,1%)

(MASUCCI et al. 2011) et l'Espagne (13,7%) (GONZALEZ-MORENO et al. 2011). Cette inégalité des taux peut être attribuée aux différences régionales, à la taille de l'échantillon, et aux méthodes utilisées pour la collecte des données (EL FADELI et al. 2015). En outre, les conditions environnementales, la promiscuité accrue, le déficit de l'hygiène individuelle (NDIAYE, 2006) et les conditions socio-économiques des pays en voie de développement peuvent influencer sur la prolifération et la transmission des parasitoses intestinales.

En ce qui concerne la typologie parasitaire, Les protozoaires présentent 97,96% des parasites recensés et près de 37,94 % des EPS effectués (864 cas de protozoaires) alors que les helminthes constituent 2,04% des parasites recensés et près de 0,79% des EPS effectués. Dans le centre hospitalo-universitaire de Sfax (Tunisie) et au centre hospitalier provincial El Idrissi (Kénitra, Maroc) (AYADI et al. 1991 ; EL GUAMRI et al. 2009), les auteurs ont signalé un parasitisme à protozoaires quatre à cinq fois plus fréquent que les helminthes, par contre au centre hospitalier de la Martinique (MAGNAVAL, 1998) les nématodes à transmission transcutanée (anguillulose et ankylostomias) étaient majoritaires (321/610 soit 52,6 %).

Blastocystis spp. représente le parasite le plus fréquemment retrouvé avec une prévalence totale de 17,74% et une fréquence parasitaire de 53,22%, ce parasite sera discuté et détaillé selon son profil épidémiologique, clinique et moléculaire dans la deuxième partie de la thèse.

Les amibes représentent 44% des parasites intestinaux trouvés ; *Entamoeba histolytica/dispar* (200 cas), *Entamoeba coli* (94 cas) et *Endolimax nana* (40 cas). *Entamoeba histolytica/dispar* dont la forme végétative est responsable de la dysenterie amibienne, est la deuxième espèce la plus fréquente après *Blastocystis* spp. dans notre étude avec un taux de 26,35% de la population infectée et 8,78% de la population totale, suivi par *Entamoeba coli* en quatrième position avec un taux de 12,38% de la population infectée et 4,13% de la population totale, ensuite *Endolimax nana* en cinquième position avec un taux de 5,27% de la population infectée et 1,56% de la population totale. La fréquence d'*Entamoeba histolytica/dispar* est supérieure à celles trouvées à Oran avec un taux de 4,83% (BENOUIS, 2012), à Tlemcen avec des taux 5,60% et 1,67% (KASMI et SAIDOUNI, 2016 ; SEGHIRE et OURAIBA, 2014), à Constantine avec un taux de 5,70% (HADJ MOHAMMED et MOHAMMEDI, 2017), au Maroc avec des taux de 16,42% et 10,5% (MOSTAFI et al. 2011 ; TAGAJDID et al. 2012), en Tunisie avec un taux de 2,2% (CHEIKHOUROU et al. 2009), comparable à celles trouvées dans l'Algérois avec un taux de 24,76% (BACHTA et al. 1990) et au Maroc dans la région de Kénitra avec un taux de 24,31% (EL GUAMRI et al. 2009), et largement inférieur à celle trouvée au Mali avec un taux de 76,6% (MACINANKE, 2010).

Concernant les amibes non pathogènes, nos résultats se différencient de celles de Tlemcen qui se trouve que la fréquence d'*Endolimax nana* (18,33%) est supérieure à celle d'*Entamoeba coli* (5%) (SEGHIRE et OURAIBA, 2014). Ces résultats sont comparables à ceux observés par BENOUIS (2012) à Oran avec *Entamoeba coli* (18,95%) et *Endolimax nana* (5,24%) et par MOSTAFI et al. (2011) au Maroc avec *Entamoeba coli* (17,91%) et *Endolimax nana* (1,49%). En fait, la fréquence de ces parasitoses se différencie d'une zone à l'autre au sein d'un même pays en fonction de plusieurs paramètres, climatiques, sanitaires, hygiéniques (TAGAJDID et al. 2012). Elles sont considérées comme des indicatrices de la pollution fécale et des bas niveaux d'hygiène (MOSTAFI et al. 2011). Une étude faite en Martinique (1988-1995), l'absence d'*Entamoeba histolytica/dispar* a été rapportée au bon niveau sanitaire et à la réussite du programme de lutte contre les parasitoses qui ont été mis en place (GARDIEN et al. 1997).

Deux espèces de flagellées sont observées ; *Giardia intestinalis* et *Trichomonas intestinalis*. La Giardiose est la troisième parasitose la plus fréquente dans notre série avec une fréquence de 12,65% de la population infectée et 4,22% de la population totale, ce taux est comparable avec les résultats retrouvés à Oran 15,32% (BENOUIS, 2012), au Maroc dans la région de Salé (11,8%) et Marrakech (15,6%) (TAGAJDID et al. 2012 ; EL-FADELI et al. 2015), en Tunisie (10%) (SIALA et al. 2015) et en Mali (10,6%) (MACINANKE, 2010), et nettement inférieur à ceux observés dans l'Algérois (32,56%), en Tunisie (46,2%) et au Guadeloupe (60%), (BACHTA et al. 1990 ; BOURATBINE et al. 2000 ; NICOLAS et al. 2006). La dissémination de la Giardiose est liée à la résistance de ses kystes qui par leur double paroi peuvent demeurer vivants pendant au moins deux mois dans des conditions favorables de température et d'humidité (DECOCK, 2002). La deuxième espèce de flagellée *Trichomonas intestinalis*, est retrouvée avec une fréquence de 3,03% de la population infectée et 1,01% de la population totale, ce taux corrobore les résultats obtenus dans différents pays du monde ; Mali (2,65%), Kénitra (Maroc) (5,49%), Marrakech (Maroc) (0,3%), Pikine (Sénégal) (0,50%), Tunisie (0,41%) et Madagascar (0,50%) (MACINANKE, 2010 ; EL GUAMRI et al. 2009 ; BELHAMRI, 2015 ; NDIAYE, 2006 ; SIALA et al. 2015 ; BUCHY, 2002). Ce faible taux de prévalence enregistré peut être dû au fait que les formes végétatives responsables de l'infestation sont très fragiles. Ce qui fait que les résultats obtenus peuvent être sous-estimés.

Cryptosporidium spp. est l'espèce la moins fréquente des protozoaires retrouvés dans le présent travail avec un taux de 0,92% de la population infectée et 0,31% de la population totale, comparable à celle trouvée à Oran avec un taux de 0,40% (BENOUIS, 2012), et largement inférieur à celles trouvées à Guadeloupe (26%), en Haïti (10,3%), au Mali

(25,71%), et au Sénégal (10,38%) (NICOLAS *et al.* 2006 ; RACCURT *et al.* 2006 ; MINTA *et al.* 2007 ; KA *et al.* 2011), les *Cryptosporidium* spp. sont responsables de diarrhées bénignes spontanément résolutive chez les sujets immunocompétents, et de diarrhées sévères, menaçant gravement le pronostic vital chez les patients immunodéprimés. Signalons d'emblé que les sujets trouvés porteur de *Cryptosporidium* spp. (07 sujets) dans le présent travail sont des patients diarrhéiques et immunodéprimés, ce constat est également signalé dans d'autres pays où la fréquence d'isolement des cryptosporidies varie de 10 à 76% chez les sujets diarrhéiques (ESSID *et al.* 2008) contre 0 à 37% chez les non diarrhéiques (SOARES, 2003). Ceci laisse penser que c'est surtout les individus malades qui constituent la principale source de parasites dans le milieu environnant sans oublier également l'action des porteurs sains dans la dissémination des oocystes (BELKESSA, 2014).

Les helminthes sont retrouvés chez 2,04% des porteurs de parasites dans notre population d'étude, représentées par deux espèces de nématodes et une espèce de cestode. Ces résultats montrent que l'Oxyure, *Enterobius vermicularis* est l'helminthiase la plus fréquente avec un taux de 1,71% parmi les parasites rencontrés et avec un taux de 72% dans le portage des helminthes. L'oxyurose est généralement la parasitose la plus répandue de l'être humain, la prévalence la plus élevée est observée chez les enfants d'âge scolaire (cinq à dix ans) vivant dans des conditions de surpeuplement (GEFFROY, 2014), le taux de fréquence observée dans le présent travail est identique à celui observé dans la région de Sfax (Tunisie) 1,7% (CHEIKHOUROU *et al.* 2009), et inférieur à celui trouvé à Oran (2,82%) (BENOUIS, 2012), dans l'Algérois (7,21%) (BACHTA *et al.* 1990) en Constantine (5,70%) (HADJ MOHAMMED et MOHAMMEDI, 2017), et à celui enregistré par EL GUAMRI *et al.* (2009) au Maroc (2,08%), et beaucoup plus faible à ceux enregistrés au Maroc (10,45%) (Mostafi *et al.* 2010) et (22,4%) (TAGAJDID *et al.* 2012). Une étude faite à Tlemcen sur les enfants scolarisés a enregistré un taux de 50% (SEGHIRE et OURAIBA, 2014).

Les téniasis venaient en seconde position parmi les helminthiases avec *Teania saginata* qui avait une fréquence de 0,53%. Cette fréquence faible des téniasis observée dans notre série est comparable à celle observée dans différents pays dans le monde : au Maroc (0,73%), Côte d'Ivoire (0,2%), Madagascar (0,75%), en Haïti (0,3%) et en Algérie dans la ville d'Oran (0,4%) (EL GUAMRI *et al.* 2009 ; MENAN *et al.* 1997 ; BUCHY, 2002 ; CHAMPETIER *et al.* 2005 ; BENOUIS, 2012), et inférieur à celle trouvée dans l'Algérois avec un taux de 4,2% ou encore à celle trouvée en Côte d'Ivoire avec un taux de 6,9% (BACHTA *et al.* 1990 ; PENALI *et al.* 1989). Le faible taux observé dans notre série est probablement en relation avec les habitudes culinaires algérienne de bien cuire la viande.

La Trichocéphale, est une maladie cosmopolite transmise par des œufs embryonnés dans lesquels se trouvent les larves de stade trois (DELTOUR, 2000). Ces œufs sont très résistants dans le milieu extérieur où ils peuvent rester dans le sol pendant plus de 5 ans (LE BAILLY, 2005). Dans le présent travail nous avons trouvé un seul cas de Trichocéphale chez un enfant âgé de 10ans qui souffre d'une sévère douleur abdominale avec une fréquence de 0,13% de la population parasitée, ce taux est comparable avec celui trouvé par BACHTA et *al.* (1990) avec une fréquence de 0,4%, et inférieur par rapport aux résultats trouvés au Maroc (5,63%), en Côte d'Ivoire (5,3%), au Mali (2,85%), à Madagascar (2,5%) et à Haïti (7,3%) (EL GUAMRI et *al.* 2009 ; MENAN et *al.* 1997 ; MACINANKE, 2010 ; BUCHY, 2002 ; CHAMPETIER et *al.* 2005). La faible fréquence des Helminthes observées durant notre étude est due probablement au climat aride, au taux d'humidité des sols et de température ambiante et en absence d'un environnement aquatique où se trouvent des hôtes intermédiaires tels que des escargots, des poissons ou des plantes aquatiques qui sont nécessaires pour le développement des stades infestants des formes larvaires de ces parasites (BENOUIS, 2012), ainsi les helminthes à transmission oro-fécale ont été proposées comme un excellent indice du développement économique et sanitaire d'un pays (GARDIEN et *al.* 1997).

4.2. Profil épidémiologiques des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat

D'après les données analysées, nous notons que les patients externes (97%) sont plus nombreux que les patients hospitalisés (3%), ainsi parmi les services hospitaliers, le service de pédiatrie enregistre le taux le plus élevé (54,6%). Ces constats sont expliqués par le fait que les parasitoses intestinales ne sont pas des cas nécessitant une hospitalisation (BENOUIS, 2012). Les enfants sont les plus exposés au parasitisme intestinal et les plus fragiles du point de vue immunitaire. De ce fait, ils sont plus sensibles aux parasitoses intestinales et présentent précocement des signes cliniques plus bruyants, par contre, les adultes sont plus résistants sauf les immunodéprimés (LACHASSINE, 1996).

Dans notre série la fréquence parasitaire est plus élevée chez le sexe masculin (57,58%) par rapport au sexe féminin (42,42%), nous notons que le sexe n'a aucune influence significative sur le portage parasitaire ($p > 0,05$), ceci est en contradiction avec les travaux d'EL GUAMRI et *al.* (2009) au centre hospitalier Kénitra (Maroc), dont les patients de sexe féminin (15,68%) étaient plus parasités que le sexe masculin (12,76%), et les travaux de KIM et *al.* (2003) au Philippines dont les femmes étaient plus infestées (72,5%), que les hommes (56%). Cependant d'après la littérature, il n'a jamais été établi que le sexe joue un rôle dans l'acquisition des parasitoses digestives (EL FADELI et *al.* 2015 ; MOSTAFI et *al.* 2011 ; TAGAJDID et *al.* 2012). Cependant, les résultats sur la fréquence des infestations parasitaires

en fonction du sexe restent controversés, BENOUIS (2012) a rapporté une égalité de taux d'infestation parasitaires chez les deux sexes (50%), ceci a été expliqué par le fait que les patients d'âge équivalent, sont soumis aux mêmes conditions d'hygiène de l'environnement et subissent les mêmes risques d'infestation quelque soit leur sexe (BENOUIS, 2012). La répartition des espèces parasites en fonction du sexe a montré une association significative pour les espèces *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Endolimax nana* et *Trichomonas intestinalis*, ceci concorde avec les résultats trouvés par EL GUAMRI et al. (2009) au centre hospitalier de Kénitra (Maroc), et diffère avec les travaux de BENOUIS (2012) au C.H.U. d'Oran qui n'a trouvé aucune association significative entre les espèces parasites et le sexe des patients.

Selon l'âge, le taux d'infection le plus élevée (64,57%) a été trouvé dans le groupe d'âge 0-9ans. Statistiquement il ya une association significative entre l'âge et le portage parasitaire ($p= 0,001$). En effet plusieurs travaux à travers le monde ont constaté que le taux de parasitisme est élevé dès le bas âge (MOSTAFI et al. 2011 ; EL QAJ et al. 2009 ; TAGAJDID et al. 2012 ; MACINANKE, 2010), ceci pourrait s'expliquer par le fait que les enfants d'âge scolaire présentent des habitudes d'hygiènes précaires et une mauvaise éducation sanitaire, en plus de la promiscuité accrue, la vie en collectivité et le contact avec la terre favorisent la contamination entre les enfants. Par contre MENAN et al. (1997) à Abidjan (Cote d'Ivoire) ont constaté que les taux d'infestations les plus élevés sont enregistrés dans les tranches d'âge 15-19ans (28,3%) et de cinquante ans et plus (23,9%), ce fait est expliquer que le sujet en grandissant devient de plus en plus autonome et adopte une alimentation dont les sources sont de plus en plus inconnues et variées, ce qui augmente le risque de contamination parasitaire (MACINANKE, 2010). La répartition des fréquences parasitaires en fonction des tranches d'âges a montré une association significative pour les espèces *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Trichomonas intestinalis*, *Cryptosporidium* spp, et *Enterobius vermicularis*, ces résultats concordent avec ceux de la ville d'Oran (Algérie) pour l'espèce *Entamoeba coli* (BENOUIS, 2012).

Notre étude n'a montré aucune différence significative entre le lieu de résidence et le portage parasitaire ($p>0,05$), néanmoins la fréquence parasitaire est plus élevé en milieu rurale (53%) par rapport au milieu urbain (47%), ainsi la moitié des patients examinés dans les commune de Sidi Makhlouf et Hassi Delaa sont trouvés parasités. Ce constat est en accord avec les résultats trouvés par BENZALIM (2010) et LAAMRANI EL IDRISSE et al. (1999) au Maroc, CHAMPETIER et al. (2002) à Haïti, et SOMDA (1999) au Burkina Faso qui rapportent une infestation parasitaire plus importante en milieu rurale qu'en milieu urbain.

Cette différence entre les deux zones est expliquée par les conditions de vie précaire en milieu rural par rapport au milieu urbain ; la pauvreté, les réseaux d'assainissement inadaptés, le contact étroit avec les animaux d'élevage et les soins insuffisants favorisent le développement des parasitoses (SOMDA, 1999).

En ce qui concerne le critère d'eau potable, la répartition de la fréquence parasitaire était significative ($p=0,015$) entre les sujets consommant l'eau de robinet (58%) et ceux consommant de l'eau minérale/eau de source (42%), cette constatation est en contradiction avec les travaux observés à Ouagadougou (KIENTEGA, 2015), au Burkina Faso (SOMDA, 1999 et ZONGO, 2002) et à Niamey (Niger) (ALAROU et al. 1989) qui n'ont pas trouvé une corrélation significative entre le mode de consommation d'eau et le parasitisme intestinal, cela pourrait s'expliquer par une contamination secondaire de l'eau lors des usages domestiques. La répartition des fréquences parasitaires en fonction des sources d'eaux a révélé une corrélation significative pour les espèces ; *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. Cependant notre observation concorde avec celle observée par OUATTARA et al. (2008) dans une zone rurale de la région de Man en Côte d'Ivoire qui ont trouvé que la consommation des affluents d'eau secondaire sont significativement liés à des espèces de protozoaires (*Entamoeba histolytica/dispar* et *Giardia intestinalis*). A ce jour, les parasites responsables de maladies hydriques (*Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp) ont fait l'objet de nombreuses études cherchant à identifier les parasites dans l'eau de consommation (EROGLU et KOLTAS, 2010 ; BOUZID et al. 2008 ; BALDURSSON et KARANIS, 2011). Au cours de la dernière décennie, plus de 160 épidémies de giardiose et de cryptosporidiose d'origine hydrique ont été rapportées, où la documentation la plus abondante étant répertoriée aux États-Unis, au Canada, au Japon et au Royaume-Uni (ROSE, 1997 ; SMITH et ROSE, 1998). Le plus grand d'entre eux a eu lieu à Milwaukee (USA) dans le printemps 1993 lorsque 403 000 cas ont été signalés en raison de la contamination de la source d'alimentation du lac Michigan par les oocystes de *Cryptosporidium* d'origine humaine (MAC KENZIE et al. 1994). Ainsi le développement d'analyses moléculaires et génétiques de parasites protozoaires d'origine hydrique, offre un grand potentiel de détection des sources de contamination (SLIFKO et al. 2000). Les étapes les plus importantes pour prévenir l'infection par ces protozoaires sont l'hygiène personnelle, des infrastructures sanitaires adéquates et un traitement approprié de l'eau potable.

La distribution du taux de parasitisme des patients qui sont en contact avec les animaux est significativement plus élevée (66%) par rapport aux patients qui ne le sont pas (34%)

($p=0,003$). Cinq espèces de parasites ont montré une association significative *Blastocystis* spp, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp, *Enterobius vermicularis* et *Teania saginata* ($p<0,05$). Les maladies parasitaires animales transmissibles aux humains, ou inversement, sont extrêmement variées et ont été rapportées dans plusieurs travaux. En Colombie-Britannique, une épidémie de giardiose d'origine hydrique était imputable à des castors infectés qui se trouvaient dans des lodges situés à proximité de sources d'eau, les études moléculaires de typage (analyse des isoenzymes par électrophorèse sur gel en champ pulsé) ont indiqué que *Giardia* isolé chez les individus touchés par le foyer présentait les mêmes zymodèmes et caryotypes que *Giardia* isolé à partir des castors (ISAAC-RENTON et al. 1993 ; SARAFIS et ISAAC-RENTON, 1993). En Ethiopie, WEGAYEHU et al. (2013) ont trouvé que la prévalence de *Giardia* était significativement plus élevée chez les enfants qui sont en contact étroit avec les bétails par rapport à ceux qui sont pas en contact. Ainsi en Inde TRAUB et al. (2004) ont analysés le gène triosephosphate isomérase (tpi) de *Giardia intestinalis* à partir des isolats provenant des chiens et des humains (Assemblage A et B), ils ont trouvés que tous les isolats de *Giardia* récupérés à partir de chiens appartiennent aux mêmes groupes génétiques que ceux hébergés par l'homme. En effet l'impact des zoonoses parasitaires sur l'homme pourra par ailleurs varier grandement en fonction de la fréquence, de sa gravité, de ses conséquences économiques en rapport avec le coût des méthodes de lutte entreprises tant chez les animaux que chez les humains.

Le nombre des examens effectués et la fréquence parasitaire varie d'une année à l'autre avec un minimum en 2015 (17%) et un maximum en 2016 (35%). Ceci a diminué progressivement durant les années 2017 et 2018. La variation du parasitisme intestinale selon les années est significative ($p= 0,001$), en effet nos résultats sont en accord avec ceux observé au centre hospitalier provincial (Kénitra, Maroc) entre 1996 et 2005 (EL GUAMRI et al. 2009), en Tunisie entre 1996-2012 (SIALA et al. 2015), dans les laboratoires publics de Martinique entre 1988 et 1995 (GARDIEN et al. 1997), et au C.H.U. de Guadeloupe entre 1991 et 2003 (NICOLAS et al. 2006), qui rapportent une diminution progressive de la fréquence parasitaires au cours des années d'étude, cette différence est expliqué par l'amélioration des conditions sanitaires et sociales et l'apparition des antihelminthiques efficaces contre ces parasitoses (EL GUAMRI et al. 2009 ; NICOLAS et al. 2006). Cependant nos résultats obtenus durant trois ans ne reflètent pas l'état réel de la fréquence parasitaire de la Wilaya de Laghouat.

L'évolution saisonnière de la fréquence parasitaire est statistiquement très hautement significative ($p< 0,0001$), les taux les plus élevés sont enregistrés pendant le printemps et

l'automne, et les taux les plus bas sont enregistrés pendant l'hiver et l'été. Ainsi le maximum des cas positifs est enregistré durant le mois d'Octobre (96 cas) et Avril (94 cas), et le minimum des cas positifs est enregistré durant le mois d'Aout (35 cas) et Décembre (38 cas). D'autres études ont ressorti une morbidité intestinale à recrudescence estivo-automnale (OMAR, 2002 ; EL GUAMRI et al. 2009 ; BENOUIS, 2012). L'analyse de corrélation des espèces parasitaires a montré que *Endolimax nana* et *Cryptosporidium* spp ont une tendance d'évolution en hiver, les autres espèces, sauf le cas de trichocéphale ont une tendance d'évolution au printemps. Ces différences du taux de parasitisme selon les mois et les saisons dépendent de la situation géographique, aux changements des habitudes alimentaires avec une augmentation de la consommation de l'eau et des aliments crus pendant les saisons chaudes et à la variation des conditions climatiques qui favorisent la maturation et l'émergence des parasites dans le milieu extérieur (EL GUAMRI et al. 2009).

En ce qui concerne l'aspect des selles, nous avons constaté que les espèces *Entamoeba coli* et *Endolimax nana* sont corrélés avec les selles d'aspect dures et moulées, cela est justifié par le rôle non pathogène de ces amibes, ainsi *Entamoeba histolytica/dispar* est corrélée avec les selles d'aspect liquide et molles, en outre les patients infectés par *Cryptosporidium* spp ont tous présenté des selles liquides et le reste des espèces parasites sont tous bien corrélées avec les selles d'aspect molle, cette répartition de la fréquence parasitaire selon la consistance des selles est très hautement significative ($p < 0,0001$). Plusieurs études ont porté sur l'effet des parasites intestinaux sur la flore microbienne (HAYES et al. 2012 ; KREISINGER et al. 2015 ; CANTACESSI et al. 2019). Cependant la consistance des selles dépend de plusieurs causes ; la nature de l'alimentation, la prise des médicaments, l'équilibre de la flore intestinale, la charge parasitaire en cause, la présence d'autres agents pathogènes (virus, bactéries et champignons) et l'état immunitaire.

4.3. Profil cliniques des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat

Les patients symptomatiques (67%) représentaient significativement le taux le plus élevé par rapport aux patients asymptomatiques (33%). Chez les immunocompétents, la moitié des patients symptomatiques présentaient des douleurs abdominales (53,7%), suivi par les diarrhées (17,4%). Cette fréquence des douleurs abdominales est inférieure à celle enregistrée à Tlemcen (66%) par MOHAMMED et MOHAMMEDI (2017) et (72,6%) par KASMI et SAIDOUNI (2016), au Maroc (68,18%) par EL GUAMRI et al. (2009), en Côte d'Ivoire (82%) par PENALI et al. (1988) et au Mali (63,15%) par MACINANKE (2010), comparable à celle de SEGHIRE et OURAIBA (2014) à Tlemcen avec un taux de 58,7%, et supérieure à celle enregistré à Constantine avec une fréquence de 21,52% (ZEKRI et MERROUCHE,

2018). En outre, l'analyse de la répartition des signes cliniques par rapport à la présence ou l'absence d'une infection parasitaire a révélé une différence très hautement significative ($p < 0,0001$). Dans notre série seulement cinq signes cliniques se sont significativement associées avec le parasitisme intestinale ; les douleurs abdominales, les diarrhées, la fièvre, les prurits anales et l'association entre les douleurs abdominales avec les diarrhées ($p < 0,05$). Ceci est expliqué que les signes cliniques ne sont pas toujours en relation avec les sujets infestés par les parasites intestinaux (SEGHIRE et OURAIBA, 2014).

Les situations cliniques justifiant une recherche de parasites intestinaux sont souvent un syndrome diarrhéique ou des troubles digestifs vagues. Les diarrhées sont le plus souvent causées par des protozoaires. Les helminthes intestinaux, lorsqu'ils sont symptomatiques, se manifestent souvent par des troubles digestifs aspécifiques (EL GUAMRI et al. 2009). En raison de la grande variété des agents parasitaires, les mécanismes précis de leur pathogénie sont très variables et peuvent être différents d'un génotype à l'autre au sein d'une même espèce (YERA et al. 2015). La prolifération intracellulaire d'un protozoaire peut désorganiser le métabolisme de cette cellule (la multiplication des cryptosporidies à l'apex des entérocytes entraîne une diarrhée par perturbation des échanges membranaires), voire même la prolifération d'un parasite au contact d'un épithélium ce qui peut entraîner leur destruction (dysenterie amibienne, kératite amibienne) ou la formation d'abcès (abcès amibienne). Ainsi le contact intime de la ventouse de *Giardia intestinalis* avec l'entérocytes peut endommager les microvillosités et le revêtement duveteux et réduire l'activité des enzymes de la bordure en brosse (OMS, 1981 ; YERA et al. 2015). Les helminthes intestinaux doivent leur nom au fait que leur cycle biologique comporte une période de séjour obligatoire dans les voies digestives de l'homme ou au fait qu'ils déterminent des altérations anatomo-pathologiques à ce niveau ; les infections massives, par plusieurs centaines de Trichocéphale adultes, entraînent la nécrose des cellules muqueuses autour du parasite, une infiltration cellulaire intense et une réaction inflammatoire de la muqueuse. Le prurit anal, accompagné de grattage peut entraîner une dermatite eczémateuse, des saignements, des douleurs abdominales et des infections bactériennes secondaires dont les symptômes les plus courants de l'oxyurose (OMS, 1988). Le téniasis à *T. saginata* est une maladie bénigne, le plus souvent asymptomatique, ou très insidieuse et peu spécifique (OMS, 1988). Les éventuels signes digestifs, les plus souvent présents lors de la phase de maturation du ver, sont les troubles de l'appétit (boulimie et anorexie), nausées, vomissements, amaigrissement, crampes abdominales, alternance de diarrhée et de constipation. Ces troubles tendent à s'atténuer lors de l'émission par l'anus des premiers anneaux, lorsque le ver est arrivé à maturité (OMS, 1988). Signalons d'emblée

qu'aucune association significative n'a été retrouvée entre les signes cliniques et le parasitisme intestinal chez les immunodéprimés ($p > 0,05$). Cela est expliqué par le fait que l'état clinique des patients immunodéprimés est la cause de ces signes et l'état immunitaire affaibli voir inexistante, les rend susceptibles à l'infection parasitaires.

Dans notre série, le polyparasitisme est observé dans 14,2% des cas positifs dont 12,38% pour les associations double, 1,71% pour les associations triples, et un seul cas de quatre associations (0,13%), aucun cas d'association entre les protozoaires et les helminthes n'est observé. En outre nos résultats sont supérieurs à ceux d'EL GUAMRI et *al.* (2009) avec 9,73% pour le biparasitisme et 0,50% pour le triparasitisme, et à ceux d'EL FADELI et *al.* (2015) qui rapportent un taux de 2,2% pour les associations parasitaires. Par contre nos résultats sont comparables à ceux enregistrés à Oran avec 15,40% (BENOUIS, 2012), en Tunisie avec 16,58% (SIALA et *al.* 2015), et inférieurs à ceux observés à Bamako avec 26,66% (MACINANKE, 2010). L'étude qualitative de polyparasitisme montre que l'association la plus fréquente est de type double entre *Blastocystis* spp+ *Entamoeba histolytica/dispar* (18,5%), suivi par *Blastocystis* spp+ *Entamoeba coli* (16,7%), les associations triples sont moins fréquentes dont la plus élevée est celle de *Entamoeba histolytica/dispar*+ *Entamoeba coli*+ *Giardia intestinalis* (3,7%) et un seul cas de quatre associations a été observé *Blastocystis* spp+ *E.histolytica/dispar*+ *E.coli*+ *E.nana* (0,93%). Plusieurs auteurs expliquent ce type d'association par le fait que les protozoaires partagent entre eux le même mode de contamination (SIALA et *al.* 2015 ; EL GUAMRI et *al.* 2009 ; EL FADELI et *al.* 2015), le taux élevé de polyparasitisme indique le niveau d'hygiène, sanitaire, et alimentaire défavorables (BENOUIS, 2012 ; EL GUAMRI et *al.* 2009).

5. CONCLUSION

Les parasitoses intestinales humaines demeurent un problème de santé non négligeable, en particulier chez les enfants. L'accroissement permanent de ce type de parasitisme chez la population mondiale et l'absence des données dans la région de Laghouat nous a sollicités à rechercher et identifier ces affections parasitaires.

L'objectif principal de cette étude est donc d'évaluer la fréquence des parasitoses intestinales dans la wilaya de Laghouat et de déterminer toute sorte de corrélation entre la fréquence parasitaire et les paramètres épidémiologiques et cliniques retenus.

Cette étude menée dans deux laboratoires d'analyses médicales sur une période de trois ans dans la wilaya de Laghouat, montre que le tiers (33,33%) de la population examinée est infecté par une ou plusieurs espèces de parasites ce qui est loin d'être négligeable. Les protozoaires (97,96%) sont les plus fréquemment retrouvés par rapport aux helminthes (2,04%), les enfants d'âge scolaire présentent la fréquence parasitaire la plus élevée (26%), ainsi la distribution des parasites en milieu rural (53%) est plus importante qu'en milieu urbain (47%). La consommation de l'eau de robinet et le contact avec les animaux augmentent le risque d'acquérir l'infection et finalement les douleurs abdominales sont les signes cliniques les plus signalés chez les patients symptomatiques avec un taux de 53,7%. Tous ces paramètres font appel à des mesures de prévention collective et individuelle. Des règles d'hygiène applicables aux risques liés à l'eau et aux aliments, doivent toujours être entretenues pour lutter contre ces parasitoses.

Les résultats de cette étude témoignent, en premier lieu, d'importants problèmes d'hygiène auxquels il apparaît essentiel d'opposer rapidement les principales mesures de prévention aux maladies d'origine fécale que recommande l'OMS (éducation relative aux mesures d'hygiène individuelle et collective, mise en place de réseaux de distribution d'eau potable et de traitement des eaux usées).

Deuxième partie expérimentale :

**Identification moléculaire des sous-
types de *Blastocystis* issue des souches
humaines dans la région de Laghouat**

Deuxième partie expérimentale: Identification moléculaire des sous-types de *Blastocystis* issues des souches humaines dans la région de Laghouat

1. INTRODUCTION

L'apparition des maladies émergentes causées par certains eucaryotes pathogènes comme les protozoaires, constitue actuellement un des grands enjeux de santé publique (EL SAFADI, 2014). *Blastocystis* spp. considéré comme un protozoaire parasite émergent, est retrouvé dans le tractus intestinal de l'homme mais aussi dans celui de divers animaux. Il est responsable d'infections cosmopolites fréquentes (ROUSSEL, 2011). Son principal mode de transmission est la voie féco-orale et sa prévalence peut atteindre 100% dans les pays en voie de développement (EL SAFADI et al. 2014). Il présente une très grande diversité génétique avec 17 sous-types (STs) identifiés à ce jour dont 9 d'entre eux (ST1-ST9) sont capables d'infecter l'homme (STENSVOLD et al. 2007a). Son pouvoir pathogène est longtemps resté controversé mais un large faisceau de données récentes suggère que l'infection à *Blastocystis* spp. est associée à une variété de troubles gastro-intestinaux et de l'urticaire (CIAN, 2016). D'autre part, ce parasite pourrait être fréquemment retrouvé chez les patients immunodéprimés faisant de lui un parasite opportuniste de tout premier plan (DOGRUMAN-AL et al. 2009a).

En effet, son cycle biologique, sa diversité génétique et son rôle pathogène font l'objet de nombreux travaux et de nombreuses controverses à travers le monde. Trois études ont été réalisées au niveau de la région du Maghreb concernant la distribution des sous-types de *Blastocystis* spp. Tunisie (BEN ABDA et al. 2017) et celles de la Libye (ABDULSALAM et al. 2013 ; ALFELLANI et al. 2013c). Aucune étude n'a été faite concernant l'identification moléculaire des souches humaines de *Blastocystis* spp. en Algérie. De ce fait, au vu de l'impact potentiel de ce parasite et du manque de données moléculaires le concernant au niveau de la région du Maghreb, nous avons alors réalisé ce qui est à notre connaissance la première étude épidémiologique et moléculaire de *Blastocystis* spp. issue des souches humaines en Algérie. La prévalence du parasite a été déterminée dans une population de 287 patients dont 30 (25 patients symptomatiques et 5 patients asymptomatiques) font l'objet d'un sous-typage par la PCR conventionnelle. En parallèle, les données cliniques obtenues pour chaque patient ont été analysées afin de rechercher une éventuelle corrélation entre les STs de *Blastocystis* spp. et la présence de symptômes gastro-intestinaux.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Type, lieu et population d'étude

Cette étude transversale a concerné l'ensemble de 287 patients symptomatiques et asymptomatiques âgés de 1 à 78 ans ($24,42 \pm 18,36$) adressés par les médecins de libre pratique au niveau du laboratoire privé du docteur Debagha de la ville de Laghouat durant la période d'octobre 2017 à mars 2018. Tous les patients inclus dans cette étude ont été adressés suite au développement d'une gastro-entérite ou autres pathologies accompagnées de diarrhée et éventuellement d'autres symptômes digestifs.

Une fiche d'enquête préalablement établie en fonction des objectifs nous a permis de réaliser le travail de façon pratique. Ainsi, les renseignements sur chaque patient ont été fournis et un questionnaire standard résumant certaines informations comme l'âge, le sexe, l'origine géographique (urbaine ou rurale), la nature de l'eau consommée, la présence de troubles digestifs, le statut immunitaire, et le contact éventuel avec des animaux ont été complétées pour chaque patient (annexe 01).

2.2. Méthodologie de travail

Cette deuxième partie de la thèse a pour objectifs de réaliser le diagnostic moléculaire de l'espèce *Blastocystis* spp. issue des souches humaines par la PCR conventionnelle, de déterminer la distribution des sous-types de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat en tenant compte les paramètres épidémiologiques et cliniques retenus et d'évaluer la sensibilité et la spécificité des différentes techniques utiliser dans cette partie. Pour cela, plusieurs techniques sont utilisées:

- Examen microscopique direct à l'état frais (eau physiologique et Lugol).
- Examen microscopique après coloration des frottis des selles (coloration de Ziehl-Neelsen Modifiée).
- La mise en culture xénique (milieu de Boeck and Drbohlav et milieu de Jones).
- Diagnostic moléculaire par la PCR conventionnelle suivi par le sous-typage des souches.

2.2.1. Examen parasitologique des selles (EPS)

2.2.1.1. Examen microscopique direct à l'état frais (DLM) et après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (MZN)

Les échantillons de selles sont recueillis dans des récipients stériles et contrôlés macroscopiquement pour détecter la présence de mucus, de sang et de vers. L'aspect des selles a été mentionné en considérant qu'une selle diarrhéique est définie comme étant une

selle liquide émise au moins trois fois par jour. Ensuite chaque échantillon a fait l'objet d'un examen microscopique direct à l'état frais en eau physiologique et après coloration au lugol (DLM), suivi par la fixation des frottis fécaux par le méthanol et coloré par la coloration classique de Ziehl-Neelsen modifiée par HENRIKSEN et POHLENZ (1981) (MZN). *Blastocystis* spp. apparaissent comme des sphérules bien arrondies bleu verdâtre sur un fond bleuté. Pour les critères quantitatifs, *Blastocystis* est signalé comme étant abondant lorsque ont détecte un nombre ≥ 5 / champ microscopique (grossissement X400).

2.2.1.2. Mise en culture xénique (XIVC)

Même procédure de culture in vitro motionnée dans la première partie dans le paragraphe (Par.2.3.1.5) a été réalisée d'une façon systématique sur tous les prélèvements.

Ensuite 30 cultures positives de *Blastocystis* spp. sélectionnées au hasard sont transportées vers l'Université de Çukurova, école de médecine, département de parasitologie, Adana, Turquie, pour extraction de l'ADN et le sous-typage des souches de *Blastocystis*.

2.2.2. Analyse moléculaire de *Blastocystis* spp.

2.2.2.1. Extraction de l'ADN

L'ADN génomique a été extrait à partir de 30 échantillons de cultures positives de *Blastocystis* spp. en utilisant le kit QIAamp® DNA Stool Mini (Qiagen, Hilden, Allemagne), et selon les instructions du fabricant (annexe 04). Ce kit d'extraction est tout d'abord testé suivant le protocole recommandé par Qiagen® avec une première étape de lyse de la paroi du parasite qui est réalisée à 95°C, cette température est recommandée pour la lyse des parasites et de certaines bactéries dont la paroi est plus résistante.

Le protocole d'extraction de l'ADN dans notre étude, est le suivant:

<p style="text-align: center;">1. Lyse de la paroi de <i>Blastocystis</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ajout de 1,4 mL de tampon ASI à 200µl de suspension de culture dans un tube de 2 mL. - Agitation au vortex 1 minute puis incubation 5 minutes à 95°C. - Agitation au vortex 15 secondes puis centrifugation 20000 tr, 1 minute.
<p style="text-align: center;">2. Adsorption des inhibiteurs</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dépôt de 1,2 ml de surnageant dans un nouveau tube de 2 ml, ajout de la résine InhibitEX® - Agitation au vortex 1 minute. Incubation 1 minute à 15-25°C.

<p>Suite : 2. Adsorption des inhibiteurs</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Centrifugation 20000 tr, 3 minutes. - Transfert du surnageant dans un tube de 1,5 mL. - Centrifugation 20 000 tr, 3 minutes.
<p>3. Digestion des protéines</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dépôt de 15 µl de protéinase K dans un nouveau tube de 1,5 mL. - Ajout de 200 µl de surnageant avec 200µl de tampon Al. - Agitation au vortex 15 secondes puis incubation 10 minutes à 70°C.
<p>4. Purification de l'ADN sur colonne</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Ajout de 200 µl d'éthanol absolu et agitation au vortex. - Dépôt sur une mini-colonne QIAamp et centrifugation 20 000 tr, 1 minute. - Récupération de la colonne et dépôt de 500µl de tampon AW1. Centrifugation 20 000 tr, 1 minute. - Récupération de la colonne et dépôt de 500 µl de tampon AW2. Centrifugation 20 000 tr, 3 minutes. - Récupération de la colonne dans un tube de 1,5 ml et élution de l'ADN: dépôt de 200 µl de tampon AE, incubation 5 minutes à 15-25°C, puis centrifugation 20 000g, 1 minute. Stockage de l'extrait jusqu'à utilisation.

2.2.2.2. Amplification en chaine par polymérase PCR

➤ Choix des amorces

La PCR est réalisée en utilisant les amorces spécifiques au sous-type de *Blastocystis* : SB83 (ST1), SB155 (ST2), SB227 (ST3), SB332 (ST4), SB340 (ST5), SB336 (ST6) et SB337 (ST7) comme décrit par YOSHIKAWA et al. (2004d). Les séquences d'amorces de *Blastocystis* sont illustrées dans le tableau 34.

Tableau 34: Séquences d'amorces utilisées pour le sous-typage de *Blastocystis* spp.

Sous-types	Amorces STs	Taille (bp)	Séquences de forward (F) et sens inverse (R) (5'-3')	GenBank accession no.
1	SB83	351	F GAAGGACTCTCTGACGATGA R GTCCAAATGAAAGGCAGC	AF166086
2	SB155	650	F ATCAGCCTACAATCTCCTC R ATCGCCACTTCTCCAAT	AF166087
3	SB227	526	F TAGGATTTGGTGTGGAGA R TTAGAAGTGAAGGAGATGGAAG	AF166088
4	SB332	338	F GCATCCAGACTACTATCAACATT R CCATTTTCAGACAACCACTTA	AF166091
5	SB340	704	F TGTTCTTGTGTCTTCTCAGCTC R TTCTTTCACACTCCCGTCAT	AY048752
6	SB336	317	F GTGGGTAGAGGAAGGAAAACA R AGAACAAGTCGATGAAGTGAGAT	AY048751
7	SB337	487	F GTCTTTCCTGTCTATTCTGCA R AATTCGGTCTGCTTCTTCTG	AY048750

➤ Préparation du Mix

Il est préparé à chaque lancement de PCR et utilisé aussitôt. Le volume à préparer est en fonction du nombre d'échantillons à tester, les témoins positifs et négatifs inclus. Le volume à préparer étant trop juste, il faut rajouter un volume supplémentaire pour 2 à 3 tubes afin de compenser les éventuelles pertes de pipetage. Les mélanges de réaction PCR (25 µl du volume total) consistent en un tampon PCR 1X [Tris-HCl 10 mM, pH 8,8 et KCl 50 mM], 1,5 mM de MgCl₂, 2,5 U / µl d'ADN polymérase Taq (Fermantas, SB38), 1,25 µM de chaque dNTP (Fermantas, RO191), 0,5 pmol de chaque amorce et 5 µl d'échantillon d'ADN.

➤ Amplification

Il s'agit d'amplifier l'ADN de *Blastocystis* extrait à partir de milieu de culture dans un thermocycleur de marque SensoQuest (annexe 04), suivant un programme bien défini. Il faut vortexer à vitesse modérée avant de placer les micro-tubes dans l'appareil. L'amplification se fait grâce aux variations de température programmées dans le thermocycleur. Ces variations correspondent à :

- Phase de dénaturation initiale à 94°C, 5min
- 40 cycles composés de trois étapes
 - Dénaturation du double brin d'ADN: 94°C, 30 secondes.
 - Hybridation des amorces avec l'ADN cible: 57°C, 30 secondes.
 - Elongation du brin complémentaire: 72°C, 60 secondes.
- Elongation terminale des brins d'ADN: 72°C, 5 minutes.

➤ **Révélation des produits amplifiés**

Les produits de PCR sont soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 2%. Nous l'avons préparé dans un flacon de 250 ml en ajoutant 2g d'agarose poudre dans 100ml de tampon TBE. Le mélange est chauffé au four micro-onde jusqu'à dissolution complète de l'agarose et nous ajoutons ensuite 2-3ul de bromure d'éthidium pour faciliter la visualisation.

Le dépôt des échantillons s'effectue dans l'ordre suivant: 10µl du marqueur de poids moléculaire dans le puits N°1 (marqueurs d'ADN de 100 à 1000 pb, BioBasic), 10µl des témoins négatif et positif dans les puits 2 et 3 respectivement, et 10µl de chaque échantillon dans les puits suivant et dans l'ordre de numérotation, en fin de distribution des échantillons branchée à un générateur réglé sur 150 volts et laisser migrer pendant une durée d'une heure. Les visualisations ont été faites en fin de migration à l'aide du trans-illuminateur (annexe 05). L'interprétation se fait en comparant la taille des bandes de différents échantillons à celle des bandes du marqueur de poids moléculaire et des témoins positif et négatif.

2.3. Analyse statistique

Nous avons employé le logiciel XLStat (2018) pour explorer l'association entre les facteurs de risque et l'infection à *Blastocystis* spp. Les données obtenues sont analysées statistiquement en utilisant le test exact du Khi-2 et celui de l'A.F.C. Les valeurs seront considérés significatifs à $P < 0,05$ avec un risque d'erreur $\alpha = 5\%$ pour un intervalle de confiance IC à 95%. Le coefficient de Kappa (K) est utilisé pour calculer la concordance entre les différentes méthodes utilisées dans cette étude avec $K < 0$ indiquant un désaccord, 0,0 à 0,20 un très faible accord, 0,21 à 0,40 un faible accord, 0,41 à 0,60 un accord modéré, 0,61 à 0,80 un accord fort et 0,81 à 1,00 un accord presque parfait (LANDIS et KOCH, 1977; DOGAN et al. 2017). Les intervalles de confiance à 95% (IC) pour la sensibilité, la spécificité, l'efficacité, la valeur prédictive positive (VPP), la valeur prédictive négative (VPN) et la prévalence de l'infection sont calculés à l'aide du site web Medcalc : https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php.

3. RESULTATS

3.1. Caractéristiques épidémiologiques et démographiques de la population d'étude

Durant cette étude, 287 patients ont été inclus dont 153 hommes (53%) contre 134 femmes (47%) avec un sexe ratio de 1,14 en faveur du sexe masculin, cette répartition n'était pas statistiquement significative ($p > 0,05$). La majeure partie de notre population examinée était constituée par les tranches d'âge 0-9ans (25,45%) et 10-19ans (26,48%), en revanche, les tranches d'âge 50-59ans et plus de 60ans constituait la plus faible population examinée (6,27 %) dans notre série, la répartition des sujets examinés en fonction de classe d'âge a montré une corrélation significative ($X^2 = 7,286$; $p = 0,007$). Cependant plus de la moitié des patients inclus dans l'étude étaient symptomatiques (56%), avec un ou plusieurs symptômes gastro-intestinaux, ainsi 26% des patients avait été en contact étroit avec les animaux, cette répartition des cas examinés était statistiquement très significative ($p < 0,05$). En outre 59% de la population proviennent du milieu rural et 71% de population d'étude consomme l'eau du robinet. La répartition de ces derniers n'est pas statistiquement significative ($p > 0,05$).

Tableau 35: Caractéristiques générales des patients participant à l'étude.

Caractéristiques		Patients examinés	Fréquences(%)	p-value
Sexe	Masculins	153	(53,00)	$X^2 = 0,134$; $p = 0,715$
	Féminins	134	(47,00)	
Classe d'âge (en année)	0-9	73	(25,45)	$X^2 = 7,286$; $p = 0,007$
	10-19	76	(26,48)	
	20-29	42	(14,63)	
	30-39	28	(09,75)	
	40-49	32	(11,15)	
	50-59	18	(06,27)	
	60 +	18	(06,27)	
Provenance	Urbaines	118	(41,00)	$X^2 = 3,552$; $p = 0,059$
	Rurales	169	(59,00)	
Symptômes cliniques	Symptomatiques	161	(56,00)	$X^2 = 36,567$; $p < 0,0001$
	Asymptomatiques	126	(44,00)	
Source d'eau consommée	Eau de robinet	203	(71,00)	$X^2 = 2,622$; $p = 0,105$
	Eau minérale/eau de source	84	(29,00)	
Contacte avec les animaux	Oui	76	(26,00)	$X^2 = 9,180$; $p = 0,002$
	Non	211	(74,00)	

3.2. Analyse épidémiologique de l'infection par *Blastocystis* spp.

3.2.1. Prévalence de l'infection à *Blastocystis* spp.

La prévalence globale de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat est 32.1% (92/287; 95% CI: 26.7% -37.8%).

3.2.2. Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction du sexe

En divisant l'ensemble des échantillons infectés par *Blastocystis* spp. en fonction du sexe (Tableau 36), l'analyse a révélé une fréquence totale de 53 patients soit 57,6% du sexe masculin contre 39 soit 42,4% du sexe féminin, les différences de fréquence n'étant pas statistiquement significatives ($X^2= 7,201$; $P= 0,126$), c'est-à-dire que ce protozoaire semble infester tous les sujets quelque soit leur sexe avec le même degré (Tableau 36).

Tableau 36: Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction du sexe.

		Patients positifs sur (n°92)	Fréquence (%)	95% CI	X^2	p-value
Sexe	Masculins	53	(57,60)	47.5-67.7	$X^2=7,201$	$p= 0,126$
	Féminins	39	(42,40)	32,3-52,5		

3.2.3. Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âges

La moyenne d'âge des patients infectés par *Blastocystis* spp. est de 20 (2 ± 72 ans). Les patients porteurs de *Blastocystis* spp. étaient significativement moins âgés que les patients non porteurs ($20,27 \pm 15,98$ vs $26,79 \pm 19,28$ respectivement). Le taux d'infection le plus élevé (37%) est observé chez la tranche d'âge 0-9ans. Ce taux diminue progressivement avec l'âge ($X^2 = 216.5$; $p < 0.001$). D'après le tableau 37 et la figure 60, la majorité des patients sont situés dans la tranche d'âge 0-29ans soit 78,4% de la population parasitée (soit 72 patients).

Tableau 37: Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âge.

		Patients positifs sur (n° 92)	Fréquence (%)	95% CI	X^2	p-value
Tranche d'âge (années)	0-9	34	(37,00)	27,1-46,8	216,501	$p < 0,001$
	10-19	27	(29,40)	20-38,7		
	20-29	11	(12,00)	5.3-18,6		
	30-39	06	(06,50)	1.5-11,6		
	40-49	09	(09,80)	3.7-15,9		
	50-59	04	(04,40)	0.2-8,5		
	60 et plus	01	(01,10)	0-3,2		

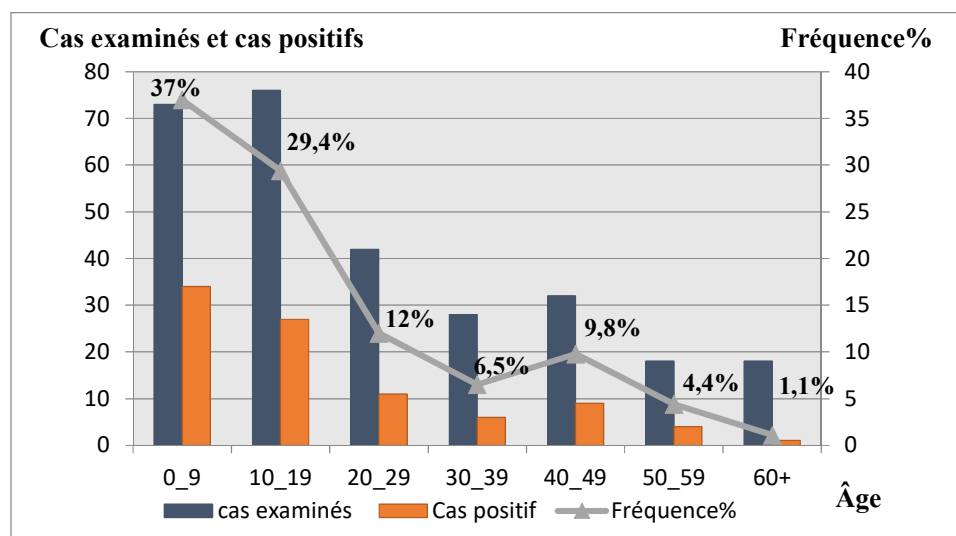


Figure 60: Prévalence de *Blastocystis* selon les tranches d'âge.

3.2.4. Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. selon le lieu d'habitation

Les données épidémiologiques analysées montrent que la fréquence de l'infection par *Blastocystis* spp. est plus élevée en milieu rural qu'en milieu urbain (66,3% vs 33,7%), ainsi la commune de Sidi Makhlouf a enregistré la fréquence la plus élevée (40%). Statistiquement Il n'existe pas un lien significatif entre le lieu d'habitation et l'infestation par *Blastocystis* spp. ($\chi^2 = 4,054$; $P=0,399$) (Tableau 38).

Tableau 38: Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. selon le lieu d'habitation.

Provenances	Nombre de patients examinés	Nombre de patients positifs (n°=92)	Fréquence (%)	χ^2	p -value
Urbaines	Laghouat	69	20 (28,99)	4,054	$P=0,399$
	Ksar El Hirane	49	11 (22,45)		
Rurales	Kheng	42	15 (35,71)		
	Sidi Makhlouf	35	14 (40,00)		
	Tadjmout	52	18 (34,62)		
	Hassi Delaa	40	14 (35,00)		

3.2.5. Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction de la source d'eau consommée et du contact avec les animaux

L'analyse multivariée de l'association entre les facteurs de risque et l'infection par *Blastocystis* spp. a montré que les patients qui consommaient l'eau du robinet avait un risque plus élevé d'être infectés à *Blastocystis* spp. (77,2%), ainsi plus du tiers de la population est en contact étroit avec les animaux (37%). Statistiquement aucune corrélation significative n'est observée $p > 0,05$.

Tableau 39: Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction de la source d'eau consommé et le contact avec les animaux.

Caractéristiques		Patients positifs n°=92	Fréquence (%)	95% CI	X^2	p-value
Source d'eau consommée	Eau de robinet	71	(77,20)	68,6-85,7	4,411	0,353
	Eau minérale/ source	21	(22,80)	14,3-31,4		
Contacte avec les animaux	Oui	34	(37,00)	27,1-46,8	1,228	0,873
	Non	58	(63,00)	53,2-72,9		

3.2.6. Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction des symptômes cliniques

La prévalence de *Blastocystis* spp. est significativement plus élevée chez les patients symptomatiques que chez les patients asymptomatiques (80,4% vs 19,6% ; $X^2 = 90,093$; $p = 0,007$) (Tableau 40). Concernant la symptomatologie clinique, 59 patients (80%) sont symptomatiques lorsque *Blastocystis* spp. est seul contre 15 patients (20%) sont symptomatiques lorsque *Blastocystis* spp. est associé avec un autre parasite. Les signes cliniques les plus souvent observés sont les douleurs abdominales (39,1%), diarrhée (6,5%), vomissement (6,5%), nausée (3,3%), flatulence/constipation (2,08%), prurit anal (1,09%), et des associations entre douleurs abdominales plus des diarrhée (18,5%) et entre douleurs abdominales plus des vomissement (3,3%). L'association entre les manifestations cliniques et l'infection par *Blastocystis* spp. est très hautement significative ($X^2 = 53,154$; $p < 0,0001$).

Tableau 40: Variation de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction des symptômes cliniques.

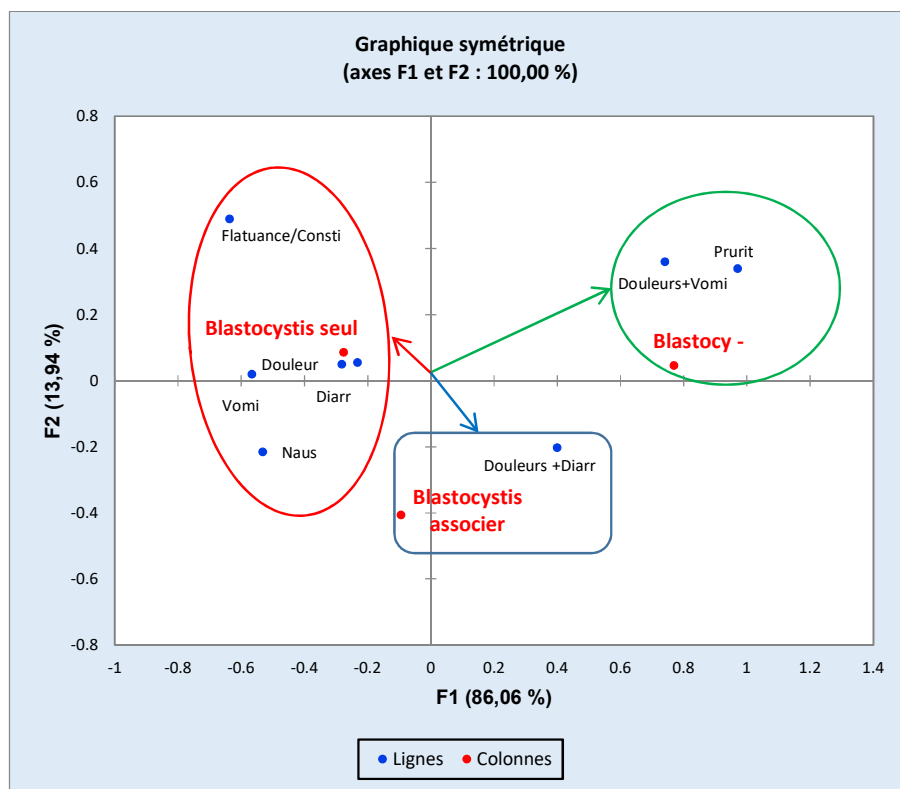
	Patients positifs (n°92)	Fréquence (%)	95% CI	X ²	p-value	
Asymptomatiques	18	(19,60)	11,5-27,7	90,093	p=0,007	
Symptomatiques	74	(80,40)	72,3-88,5			
Symptômes	Douleurs abdominales	36	(39,10)	29,2-49,1	53,154	P<0,001
	Diarrhée	06	(06,50)	1,45-11,6		
	Vomissement	06	(06,50)	1,48-11,6		
	Nausée	03	(03,30)	0,18-8,52		
	Flatulence/Constipation	02	(02,08)	00-3,21		
	Prurit anal	01	(01,09)	00-3,21		
	Douleurs abdominales+					
	Diarrhée	17	(18,50)	10,5-26,4		
	Douleurs abdominales					
	+ Vomissement	03	(03,30)	00-6,89		

D'après le Tableau 41 et la figure 61, la présence de *Blastocystis* spp. seul est corrélée avec la présence de Diarrhées, de douleurs abdominales, des vomissements, des nausées et des flatulence/constipation, tandis que la présence de *Blastocystis* spp. associé avec d'autres parasites est corrélée avec l'association entre douleurs abdominales plus diarrhée, alors que les autres symptômes ne présentent pas une corrélation significative avec la présence du *Blastocystis* spp.

Tableau 41: Association entre les signes cliniques et la présence et l'absence de *Blastocystis*.

Signes cliniques	<i>Blastocystis</i> seul		<i>Blastocystis</i> associé		<i>Blastocystis</i> (-)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Douleurs abdominales	30	(73,00)	06	(15,00)	05	(12,00)
Diarrhée	05	(71,40)	01	(14,30)	01	(14,30)
Vomissement	05	(83,00)	01	(17,00)	00	(00)
Nausée	02	(67,00)	01	(33,00)	00	(00)
Flatulence/Constipation	02	(100)	00	(00)	00	(00)
Prurit anal	01	(33,00)	00	(00)	02	(67,00)
Douleurs abdominales+ Diarrhée	11	(39,30)	06	(21,40)	11	(39,30)
Douleurs abdominales+ Vomissement	03	(43,00)	00	(00)	04	(57,00)

(N) : Nombre de patients examinés, (-) : absence d'infection par *Blastocystis*.



Légende : Vomi : vomissement, Naus : nausée, Diarr : diarrhée, (-) : absence d'infection par *Blastocystis*.

Figure 61: Association entre la présence de *Blastocystis* et les signes cliniques.

3.2.7. Relation entre la charge parasitaire et les symptômes clinique au portage de *Blastocystis* spp.

En divisant notre échantillon positif pour *Blastocystis* spp. en trois groupes en fonction de la charge parasitaire

- Charge forte (≥ 5 formes de *Blastocystis*/champ x400).
- Charge moyenne (entre 3-4 formes de *Blastocystis*/champ x400).
- Charge faible (≤ 2 forme de *Blastocystis*/champ x400).

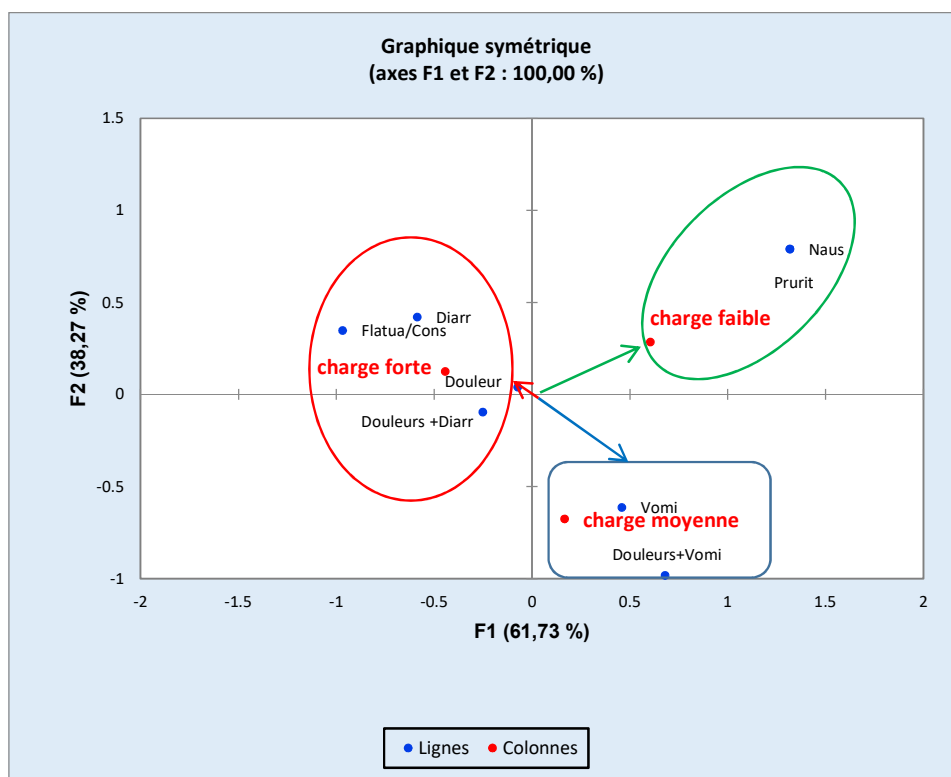
Parmi les 74 patients symptomatiques, 37 patients sont fortement parasités par *Blastocystis* contre 16 patients avec une charge moyenne de *Blastocystis* et 21 patients sont faiblement parasités par *Blastocystis*. D'après le tableau 42, la distribution des signes cliniques en fonction de la charge parasitaire est statistiquement très hautement significative ($X^2=16,329$; $p=0,0001$).

Tableau 42: Association entre la charge en *Blastocystis* spp. et les signes cliniques.

Symptômes cliniques	Charge forte		Charge moyenne		Charge faible	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Douleurs abdominales	19	(53,00)	07	(03,00)	10	(44,00)
Diarrhée	05	(83,00)	00	(00)	01	(17,00)
Vomissement	01	(17,00)	03	(50,00)	02	(33,00)
Nausée	00	(00)	00	(00)	03	(100)
Flatulence/Constipation	02	(100)	00	(00)	00	(00)
Prurit anal	00	(00)	00	(00)	01	(100)
Douleurs abdominales+ Diarrhée	10	(59,00)	04	(24,00)	03	(17,00)
Douleurs abdominales+ Vomissement	00	(00)	02	(67,00)	01	(33,00)
p- value	$X^2= 16,329$; $p=0,0001$					

(N) : Nombre de patients positifs.

D'après la figure 62, nous remarquons que la forte charge en *Blastocystis*/champ est corrélée avec l'apparition des symptômes suivante : douleurs abdominales, diarrhée, flatulence/constipation, et l'association entre les douleurs abdominales plus des diarrhées, alors que la charge moyenne en *Blastocystis*/champ est corrélée avec les vomissements et l'association entre douleurs abdominales plus des vomissement, et finalement la charge faible en *Blastocystis*/champ est corrélée avec les nausées et les prurits anales.



Légende : Vomi : vomissement, Naus : nausée, Diarr : diarrhée.

Figure 62: corrélation entre la charge en *Blastocystis* et les signes cliniques.

3.2.8. Répartition de *Blastocystis* spp. en fonction de la consistance des selles

Le tableau suivant, montre la fréquence d'apparition de *Blastocystis* spp. en fonction d'aspect des selles. La présence de *Blastocystis* spp. seul ou associé avec d'autres protozoaires a montré une forte fréquence des selles d'aspect molle et liquide. En revanche l'absence de *Blastocystis* spp. mais présence d'autres parasites a révélé des fréquences similaire au niveau de l'aspect des selles.

Tableau 43: Distribution de la fréquence de *Blastocystis* spp. en fonction de l'aspect des selles.

Consistance des selles	<i>Blastocystis</i> seul		<i>Blastocystis</i> associé		<i>Blastocystis</i> (-)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Glaireux	07	(50,00)	04	(29,00)	03	(21,00)
Liquide	18	(69,00)	06	(23,00)	02	(08,00)
Molle	33	(80,00)	05	(02,00)	03	(18,00)
Moulée	06	(55,00)	03	(27,00)	02	(18,00)
Solide	10	(77,00)	00	(00)	03	(23,00)

(N) : Nombre de patients examiné, (-) : absence d'infection par *Blastocystis*.

D'après la figure 63, l'analyse de l'association entre la présence de *Blastocystis* spp. en fonction de la consistance des selles a montré que la présence de *Blastocystis* spp. est plus corrélée avec les selles molle et liquide et à degrés moindre avec les selles moulée et glaireuse, tandis que sa présence est faiblement corrélée avec les selles solide.

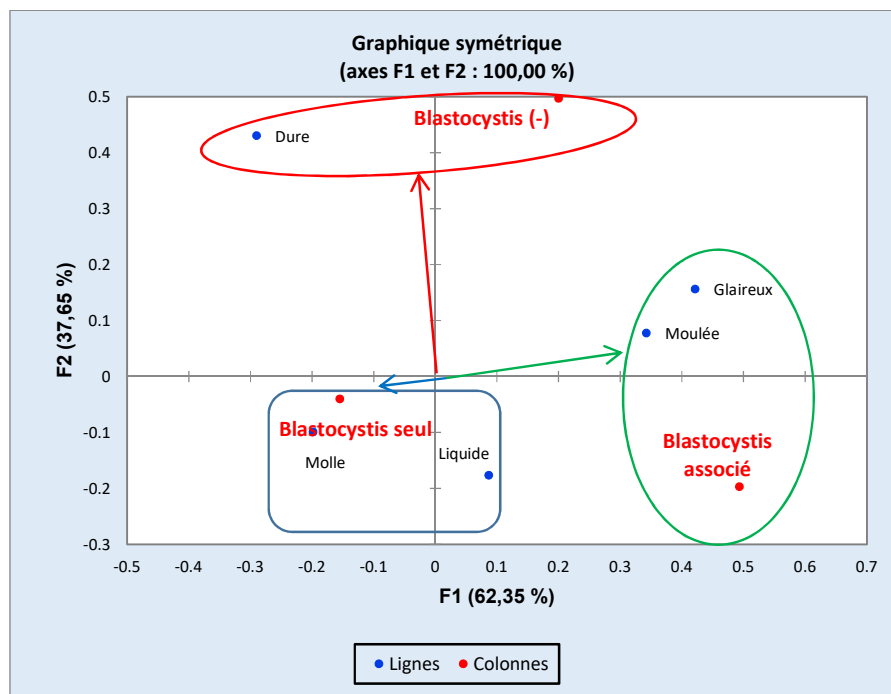


Figure 63: Association entre la présence de *Blastocystis* et la consistance des selles.

3.3. Association de *Blastocystis* spp. avec les autres parasites

D'après l'examen microscopique direct à l'état frais, suivi par la mise en culture xénique sur deux milieux (Milieu de Boeck and Drbohlav et milieu de Jones) et éventuellement d'une coloration au Ziehl-Nielsen modifié, 36,6% des patients (105/287), est infectés par au moins un parasite intestinal ce qui confirme la forte prévalence de ces parasitoses en Algérie. Nous avons constaté que la quasi-totalité de ces infections sont causées par des protozoaires puisque deux cas d'infection par les Oxyures sont rapportés. Toujours, d'après ces observations microscopiques, *Blastocystis* spp. est le parasite intestinal le plus fréquent 32,1% (92/287), suivi par *Entamoeba histolytica/dispar* 6,97% (20/287), *Entamoeba coli* 2,44% (7/287), *Giardia intestinalis* 0,69% (2/287), *Enterobius vermicularis* 0,69 (2/287) et *Trichomonas intestinalis* 0,35% (1/287).

Pour ce qui est de la fréquence de l'association entre *Blastocystis* spp. et les autres espèces de protozoaires ; 18,48% (17/92) *Blastocystis* spp. est associé avec d'autres protozoaires contre 80,43% (74/92) où il est retrouvé seul.

D'après le tableau 44, nous constatons que durant cette période d'étude, *Blastocystis* spp. est associé avec quatre espèces de protozoaires dont l'association avec *Entamoeba histolytica/dispar* enregistre le score le plus élevée avec 8 cas d'associations, soit 8,7% des patients infectés par *Blastocystis* spp.

Tableau 44: Répartition des infestations mixtes entre *Blastocystis* spp. et les autres espèces de protozoaires.

Associations de <i>Blastocystis</i> avec les autres protozoaires	Nombre de patients positifs	Fréquence (%) sur (n° 92)
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	08	(08,70)
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Entamoeba coli</i>	06	(06,52)
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Giardia intestinalis</i>	02	(02,17)
<i>Blastocystis</i> spp + <i>Trichomonas intestinalis</i>	01	(01,09)

3.4. Comparaison entre les différentes méthodes utilisées

3.4.1. Sensibilité et spécificité de différentes méthodes utilisées

La comparaison de la sensibilité et de la spécificité de différentes techniques utilisées dans cette étude a montré que la culture in vitro est plus sensible que l'examen direct à l'état frais (DLM) et à la coloration de Ziehl-Nielsen modifié (MZN). Le milieu de culture Boeck and Drbohlav Locke-egg (LE) a identifié tous les cas positifs d'infection à *Blastocystis* spp. et le milieu de Jones n'a pu détecter que 30% des cas positifs soit 86/287cas, alors que le taux de détection de l'examen direct à l'état frais est de 11,1% soit 32/287cas, et la coloration de MZN est de 12,2% des cas soit 35/287cas (Tableau 45).

Tableau 45: Vrais et faux cas diagnostiqués par chaque méthode utilisée.

	Milieu LE	Milieu Jones	DLM	MZN
Positif	92	86	32	35
Négatif	195	201	255	252
Vrais positif	92	86	32	35
Vrais négatif	195	195	195	195
Faux négatif	00	06	60	57

DLM : examen à l'état frais, MZN : coloration de Ziehl Neelsen modifiée.

En utilisant le milieu de culture LE comme le Gold Standard, la sensibilité de DLM, MZN et milieu de Jones est respectivement : 34,8%, 38% et 93,5% et la spécificité est de 100% pour tous. L'analyse statistique a montré qu'il existe un accord parfait entre le milieu

LE et le milieu de Jones ($K = 0,95$; $p < 0,0001$), et un accord modéré entre le milieu LE et DLM ($K = 0,42$; $p < 0,0001$) et aussi un accord modéré entre le milieu LE et la coloration de MZN ($K = 0,46$; $p < 0,0001$) (Tableau 46).

Tableau 46: Sensibilité et spécificité de différentes méthodes utilisées et leur accord avec le milieu de Boeck et Drbohlav (LE).

	DLM	MZN	Milieu de Jones
Sensibilité% (95% CI)	34,8 (25,2-45,4)	38 (28,1-48,8)	93.5 (86,3-97,6)
Spécificité% (95% CI)	100 (98,1- 100)	100 (98,1- 100)	100 (98,1-100)
NPV% (95% CI)	76,5 (73,7-79,1)	77,4 (74,5-80)	97 (93,8-98,6)
PPV%	100	100	100
Efficacité% (95% CI)	79,1 (73,9-83,7)	80,1 (75,1-84,6)	97,9 (95,5-99,2)
K	K= 0.42	K= 0,46	K= 0,95

3.4.2. Comparaison entre les techniques utilisées concernant les détails morphologiques

La comparaison entre les trois techniques utilisées concernant les détails morphologiques a révélé que l'examen direct à l'état frais en eau physiologique et après coloration au Lugol à identifié les formes vacuolaires, granulaires et kystiques (Figure 64).

La coloration de MZN à identifié uniquement les formes vacuolaires et kystiques (Figure 65), tandis que la culture *in vitro* à identifié presque toutes les formes de *Blastocystis* spp ; les formes vacuolaires, granulaires, kystiques et amiboïdes (Figure 66), ainsi les divisions cellulaires ont été observées dans la culture *in vitro* (Figure 67).

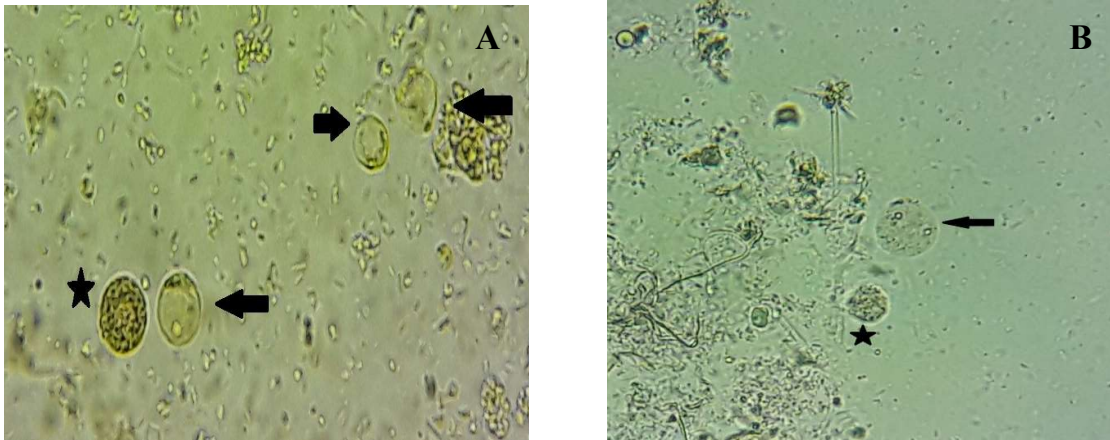


Figure 64: (A) Examen à l'état frais après coloration au Lugol montre la forme granulaire (étoile) et les formes vacuolaires (flèches) de *Blastocystis* spp. (X400). (B) Examen à l'état frais en eau physiologique montre la forme kystique (étoile) et la forme vacuaire de *Blastocystis* spp. (flèche) (X400) (Photos personnelle 2018).

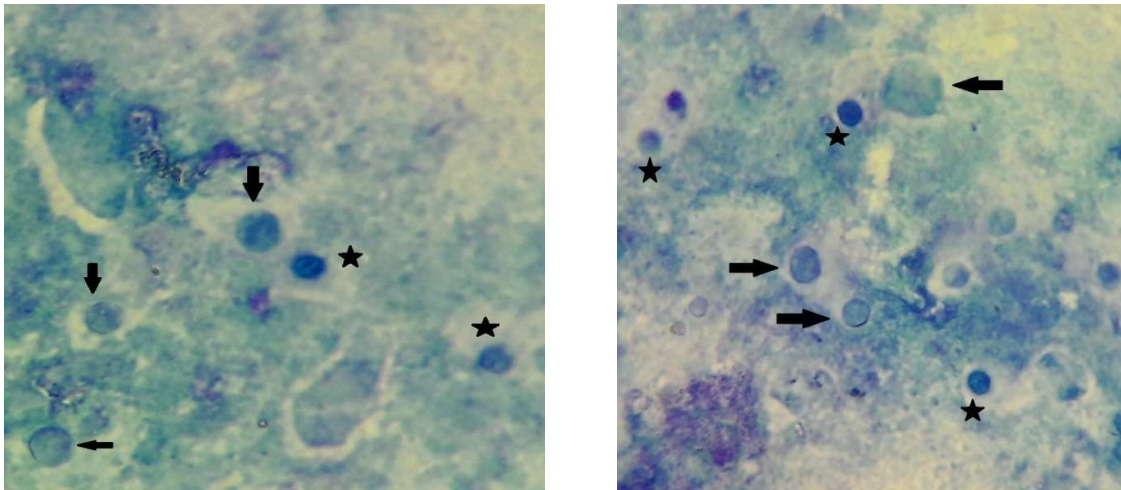


Figure 65: Frottis fécaux colorés au MZN montrant plusieurs formes vacuolaires (flèches) et plusieurs formes kystiques (étoile) de *Blastocystis* spp. (X1000) (Photos personnelle 2018).

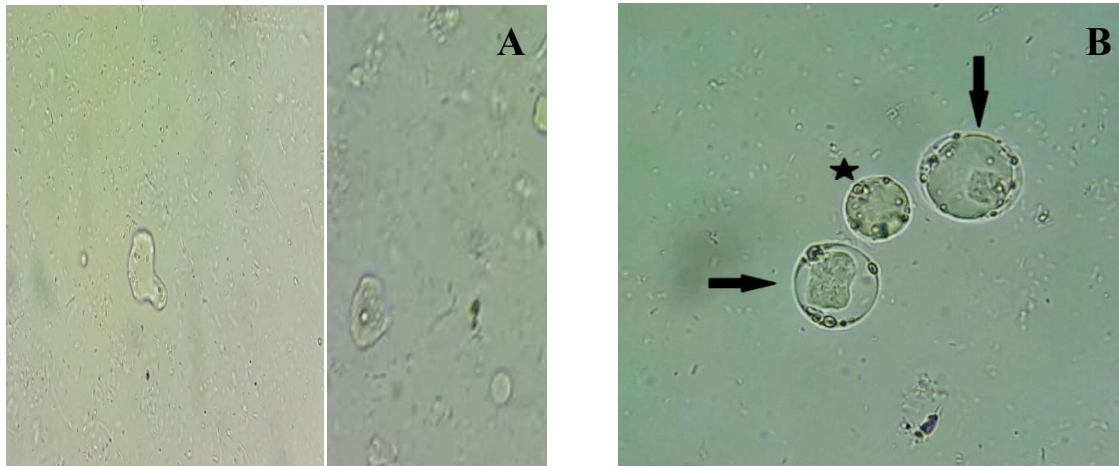


Figure 66: Culture in vitro montrant : (A) Les formes amiboïdes de *Blastocystis* spp. (B) les formes vacuolaires (flèche) et la forme kystique (étoile) de *Blastocystis* spp. (X400). (Photos personnelle 2018).

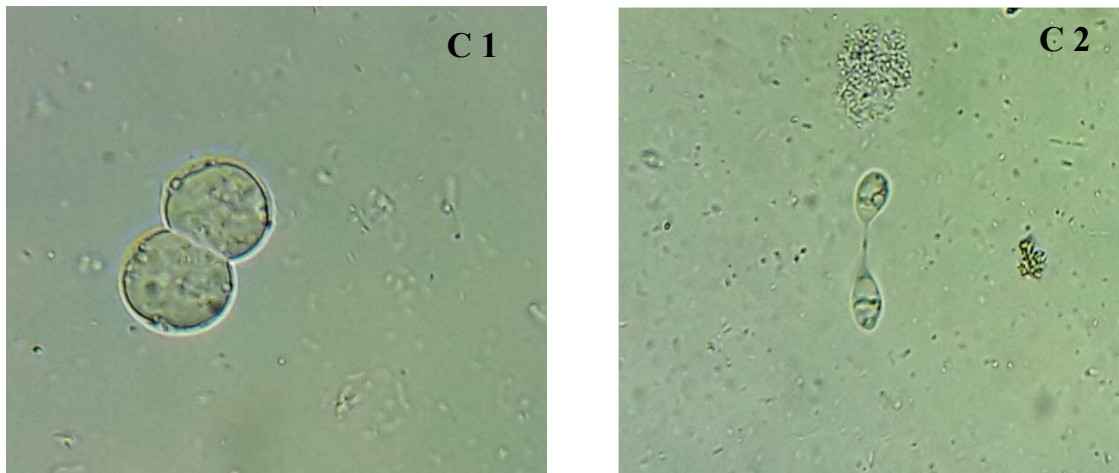


Figure 67: Culture in vitro montrant : (C1, C2) les divisions cellulaires de *Blastocystis* spp. (X400) (Photos personnelle 2018).

3.5. Identification moléculaire de *Blastocystis* spp.

Le sous-typage de *Blastocystis* est effectué avec succès sur 30/92 (25 patients symptomatique et 5 patients asymptomatique) de culture in vitro trouvés positifs par *Blastocystis* spp. en utilisant la PCR (Figure 68), l'analyse de sous-typage a révélé la présence de 6 sous-types de *Blastocystis*, la prévalence la plus forte revient à ST1 (63,3%), suivi par ST4 (23,3%), ST2 (13,3%), ST7 (13,3%), ST3 (10%), et finalement ST5 (6,7%). En outre, neuf échantillons (30%) sont des sous-types mixtes, y compris ST1 / ST2 dans 2/30 (6,7%), ST1 / ST4 dans 2/30 (6,7%), ST1 / ST3 dans 1/30 (3,3%), ST1 / ST5 dans 1/30 (3,3%), ST2 / ST4 dans 1/30 (3,3%), ST2 / ST7 dans 1/30 (3,3%) et ST4 / ST5 dans 1/30 (3,3%).

Les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de cette cohorte sont présentées dans l'annexe 05.

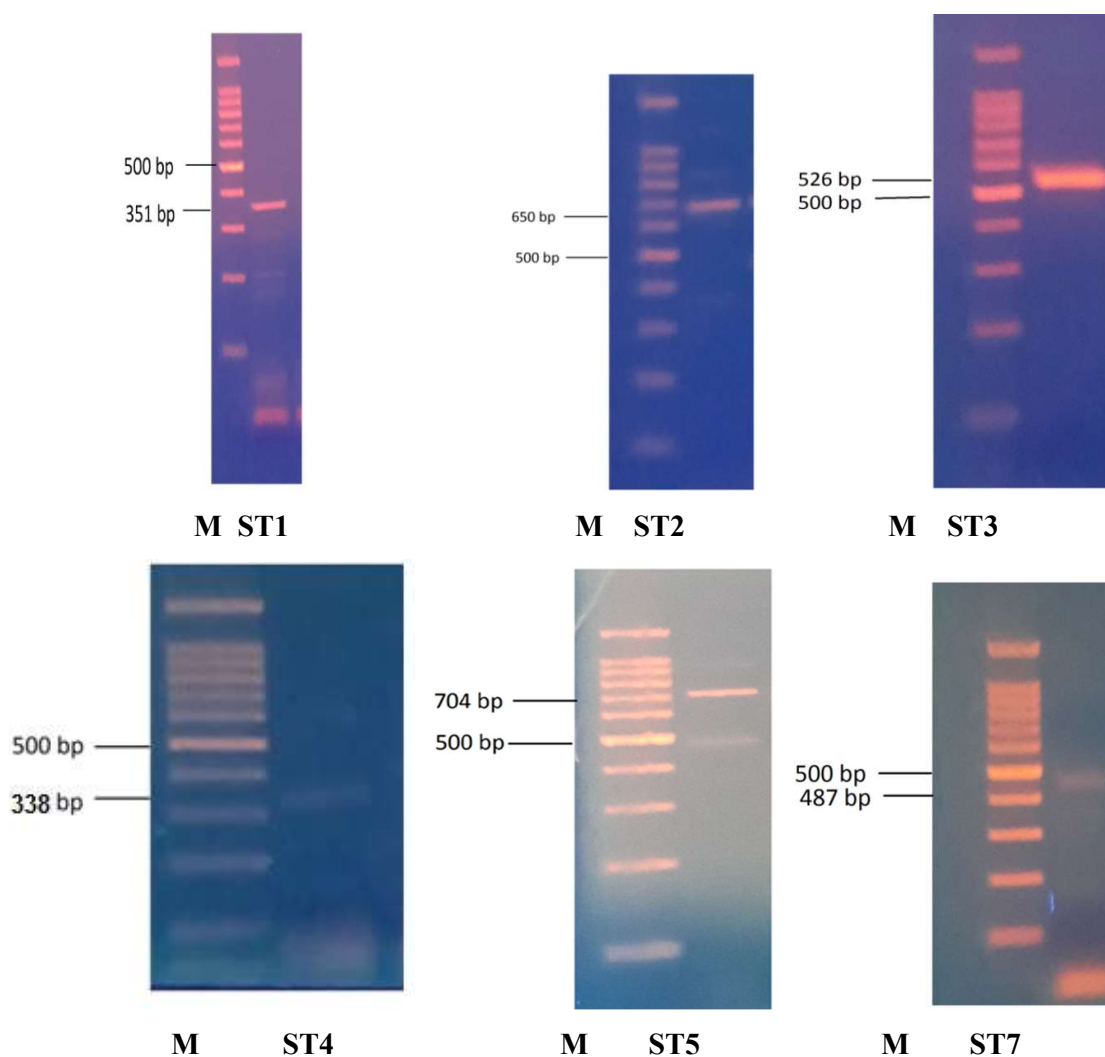


Figure 68: Électrophorèse sur gel d'agarose de produits de PCR conformément aux amorces STS. M : Marqueur d'ADN de 100 pb (Biobasic) (Photos personnelle 2018).

3.5.1. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. selon le sexe des patients

D'après le tableau 47, la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction du sexe des patients n'est pas statistiquement significative ($X^2= 11,624, p=0,393$).

Tableau 47: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. selon le sexe des patients.

Sous-types		ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST7	Sts mixtes	p-value
		n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	
Sexe	Mas	13(68)	02(50)	3(100)	03(43)	01(50)	01(25)	05(56)	$X^2= 11,624, p=0,393$
	Fém	06(32)	02(50)	00(0)	04(57)	01(50)	03(75)	04(44)	

NB : Les sous-types impliqués dans les STs mixtes ont été ajoutés à la distribution (30 cas de distribution de sous-types + 9 cas de sous-types mixtes).

Nous constatons que le ST7 et ST4 sont plus identifiés chez le sexe féminin alors que les Sts mixtes, ST1 et ST3 sont plus identifiés chez le sexe masculin alors que le ST5 et le ST2 présentent une égalité de distribution chez les deux sexes (Figure 69).

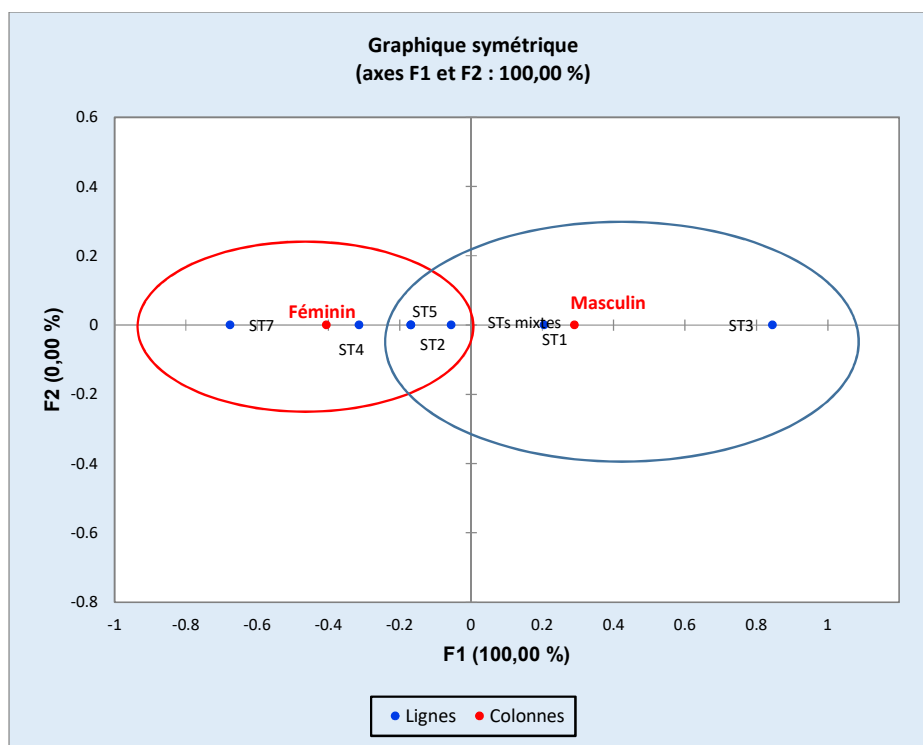


Figure 69: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* selon le sexe des patients.

3.5.2. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âge des patients

La répartition des sous-types simple et mixte de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âge a révélé une corrélation très hautement significative (Tableau 48).

Tableau 48: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âge des patients.

Sous-types	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST7	Sts	p-value
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	mixtes n(%)	
0-9	09 (47)	02 (50)	02 (67)	04 (57)	00 (00)	01 (25)	04 (44)	X ² = 235,51 ; p=0,009
10-19	02 (11)	00 (00)	00 (00)	00 (00)	01 (50)	02 (50)	01 (11)	
20-29	03 (16)	00 (00)	00 (00)	01 (14)	00 (00)	00 (00)	00 (00)	
30-39	02 (11)	00 (00)	01 (33)	01 (14)	01 (50)	00 (00)	02 (22)	
40-49	03 (16)	01 (25)	00 (00)	01 (14)	00 (00)	00 (00)	01 (11)	
50-59	00 (00)	01 (25)	00 (00)	00 (00)	00 (00)	01 (25)	01 (11)	

D'après la figure 70, les tranches d'âge 0-9, 20-29, et 40-49ans sont corrélées avec ST4 et ST1, la tranche d'âge 10-19ans est corrélée avec ST5 et ST7, la tranche d'âge 30-39ans est corrélée avec ST3 et STs mixtes, tandis que la tranche d'âge 50-59ans est faiblement corrélé avec ST2 et ST7.

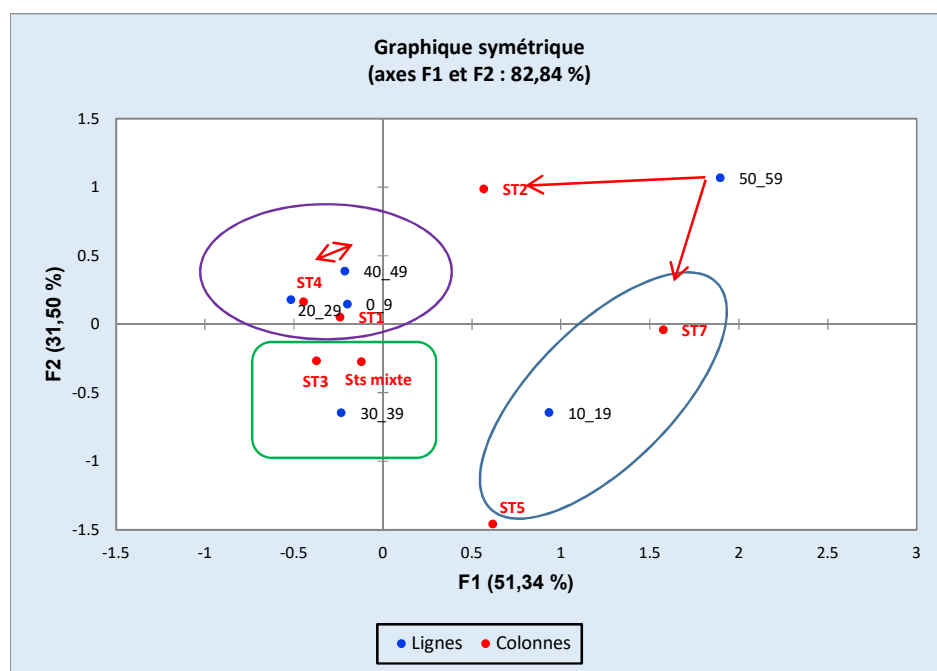


Figure 70: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction des tranches d'âge.

3.5.3. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de lieu d'habitation

D'après le tableau 49, nous constatons que la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* est fortement présente pour la plupart des sous-types en milieu rural (Sidi makhoulouf + Hassi Delaa) qu'en milieu urbain (Laghouat). Statistiquement, ST1, ST4 et les STs mixtes sont corrélés avec les lieux d'habitations ($p < 0,05$).

Tableau 49: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction du lieu d'habitation.

Sous- types	Urbaine		Rurales				p-value
	Laghouat		Sidi Makhoulouf		Hassi Delaa		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
ST1	08	(42,00)	04	(21,00)	07	(37,00)	0,003*
ST2	01	(25,00)	02	(50,00)	01	(25,00)	0,621
ST3	01	(33,30)	01	(33,30)	01	(33,30)	0,941
ST4	01	(14,30)	04	(57,00)	02	(28,70)	0,004*
ST5	00	(00)	01	(50,00)	01	(50,00)	0,649
ST7	01	(25,00)	02	(50,00)	01	(25,00)	0,782
Sts mixtes	04	(44,00)	03	(33,00)	02	(23,00)	0,023*
p-value	$\chi^2 = 22,914 ; p < 0,0001$						

NB : (*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

L'analyse de la figure 71 révèle que Laghouat est bien corrélé avec le ST1 et les Sts mixtes, Sidi Makhoulouf est bien corrélé avec le ST7 et le ST2, alors que Hassi Delaa est bien corrélé avec le ST5 et le ST4. Néanmoins le ST3 présente une égalité de distribution dans les trois communes.

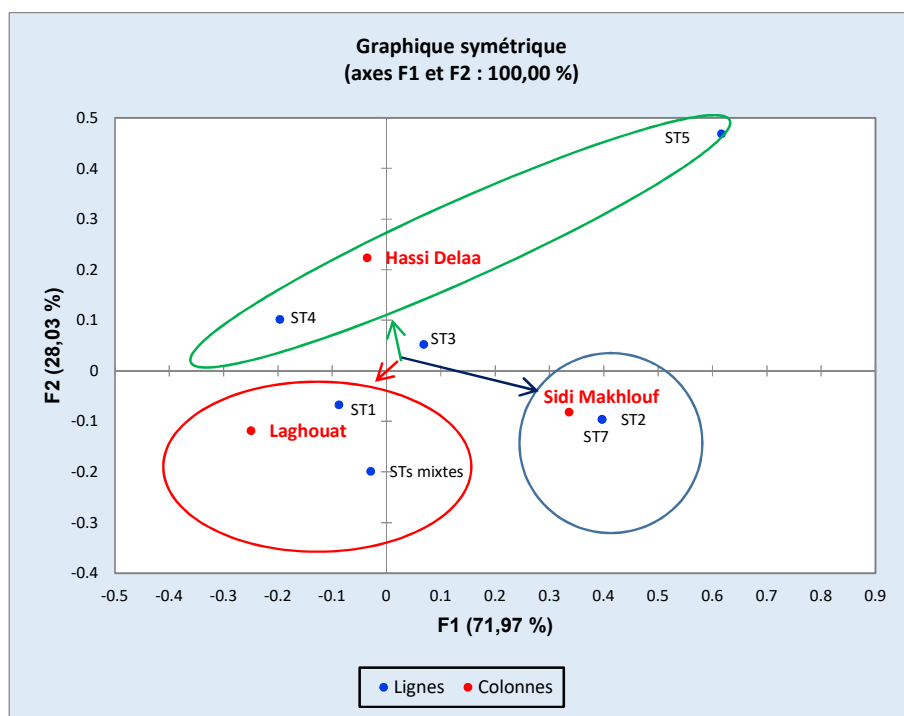


Figure 71: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction du lieu d'habitation.

3.5.4. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de la source d'eau consommée

L'analyse du tableau 50, nous indique que la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. est très hautement significative en fonction de la source d'eau consommée ($p < 0,0001$). ST1, ST4 et les STs mixtes présentent des fortes fréquences au niveau de la consommation de l'eau de robinet, tandis que ST5 présente une égalité de fréquence entre les deux sources de consommation d'eau. Statistiquement, il ya une corrélation significative entre les ST1, ST2, ST4, ST7 et les STs mixtes et la nature d'eau consommée ($p < 0,05$).

Tableau 50: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de la source d'eau consommée.

Sous-types	Eau de Robinet		Eau minérale/Eau de source		p-value
	N	(%)	N	(%)	
ST1	17	(89,50)	02	(10,50)	0,002*
ST2	03	(75,00)	01	(25,00)	0,021*
ST3	02	(66,70)	01	(33,30)	0,836
ST4	05	(71,40)	02	(28,60)	0,032*
ST5	01	(50,00)	01	(50,00)	0,521
ST7	03	(75,00)	01	(25,00)	0,021*
Sts mixtes	07	(77,80)	02	(22,20)	0,004*
p-value	$\chi^2 = 30,211 ; p < 0,0001$				

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

En outre, l'analyse de corrélation de la distribution des sous-types a révélé que la consommation de l'eau minérale/eau de source est corrélée seulement avec le ST5, alors que les autres STs, sont corrélés avec le mode de consommation de l'eau de robinet (Figure 72).

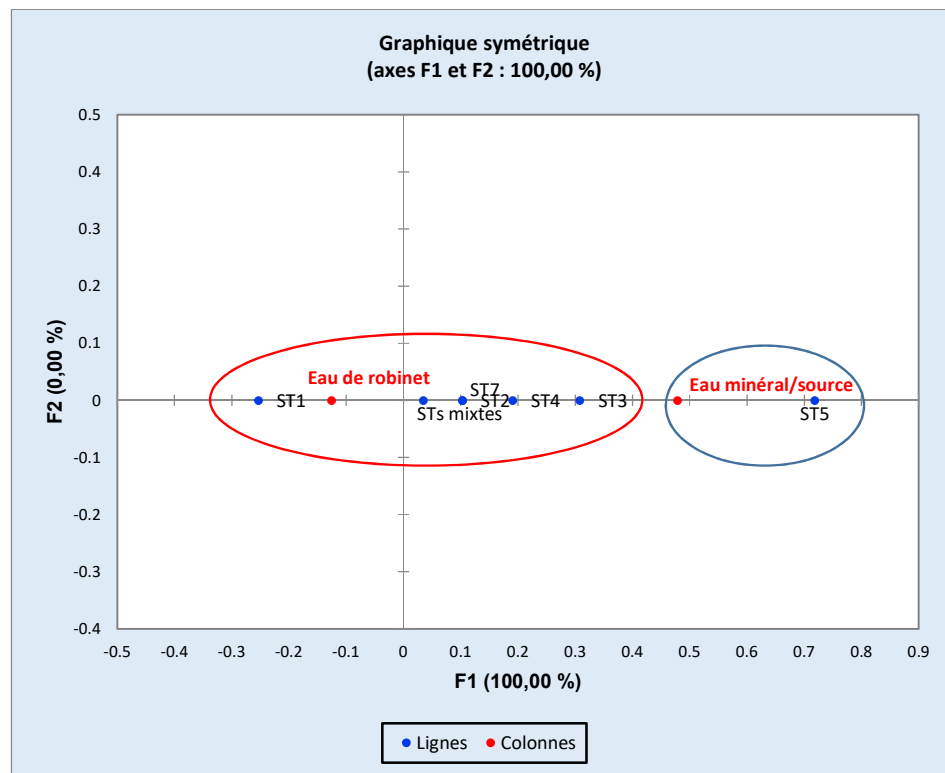


Figure 72: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction de la source d'eau consommée.

3.5.5. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de la présence ou de l'absence de contact avec les animaux

Les patients qui sont en contact avec les animaux présentent une fréquence plus élevée de distribution des sous-types mixtes et simples de *Blastocystis* spp. par rapport aux patients qui ne sont pas en contact avec les animaux, cette différence est très hautement significative ($p < 0,0001$) (Tableau 51). Les sous-types ST1, ST2, ST4 et STs mixtes sont statistiquement associées en fonction du contact avec les animaux ($p < 0,05$).

Tableau 51: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction du contact avec les animaux.

Sous-types	Contact avec les animaux « oui »		Contact avec les animaux « non »		p-value
	N	(%)	N	(%)	
ST1	11	(57,90)	08	(42,10)	0,026*
ST2	03	(75,00)	01	(25,00)	0,005*
ST3	03	(100)	00	(00)	0,969
ST4	05	(71,40)	02	(28,60)	0,026*
ST5	01	(50,00)	01	(50,00)	0,741
ST7	02	(50,00)	02	(50,00)	0,641
Sts mixtes	06	(66,70)	03	(33,30)	0,006*
p-value	$\chi^2 = 22,717 ; p < 0,0001$				

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

L'analyse de corrélation a confirmé cette association entre : ST1, ST2, ST3, ST4 et les Sts mixtes avec la présence du contact avec les animaux, alors que les sous-types ST5 et ST7 sont associées avec l'absence de contact avec les animaux (Figure 73).

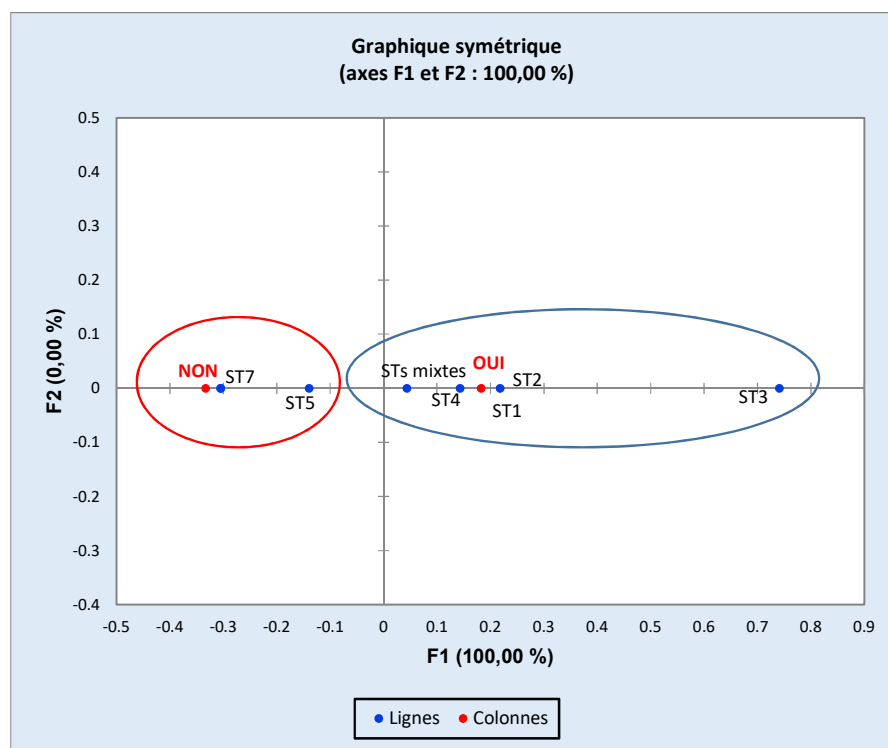


Figure 73: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction du contact avec les animaux.

3.5.6. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction des symptômes cliniques

D'après le tableau 52, la distribution des sous-types simple et mixte en fonction du statut clinique a révélé une association significative ($p < 0,0001$). Nous remarquons que certains isolats ont été identifiés chez les patients symptomatiques et asymptomatiques avec des fréquences variables comme le ST1, ST2, ST4 et Sts mixtes, tandis que ST3, ST5 et ST7 ont été identifiés seulement chez les patients symptomatiques. Le ST1 est significativement associé avec les patients symptomatiques ($p = 0,006$).

Tableau 52: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction des symptômes cliniques.

Sous-types	Symptomatiques		Asymptomatiques		p-value
	N	(%)	N	(%)	
ST1	15	(78,90)	04	(21,10)	0,006*
ST2	03	(75,00)	01	(25,00)	0,651
ST3	03	(100)	00	(00)	0,389
ST4	06	(85,70)	01	(14,30)	0,989
ST5	02	(100)	00	(00)	0,686
ST7	04	(100)	00	(00)	0,346
Sts mixtes	08	(88,90)	01	(11,10)	0,782
p-value	$X^2= 19,714 ; p < 0,0001$				

(*) : Résultats significative. (N) : Nombre de patients positifs.

L'analyse de corrélation de la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction des signes cliniques révèle que le ST1 et STs mixtes sont corrélées avec les douleurs abdominales, ST2 est corrélé avec l'association de douleurs abdominales +diarrhée, ST3 est corrélé avec les vomissements et flatulence, ST4 est corrélé avec l'association de douleurs abdominales+ vomissement, ST5 est corrélé avec la constipation et finalement ST7 est corrélé avec la diarrhée (Figure 74).

Les caractéristiques cliniques de distribution des sous-types simples et mixtes en fonction des signes cliniques sont présentées dans l'annexe 05.

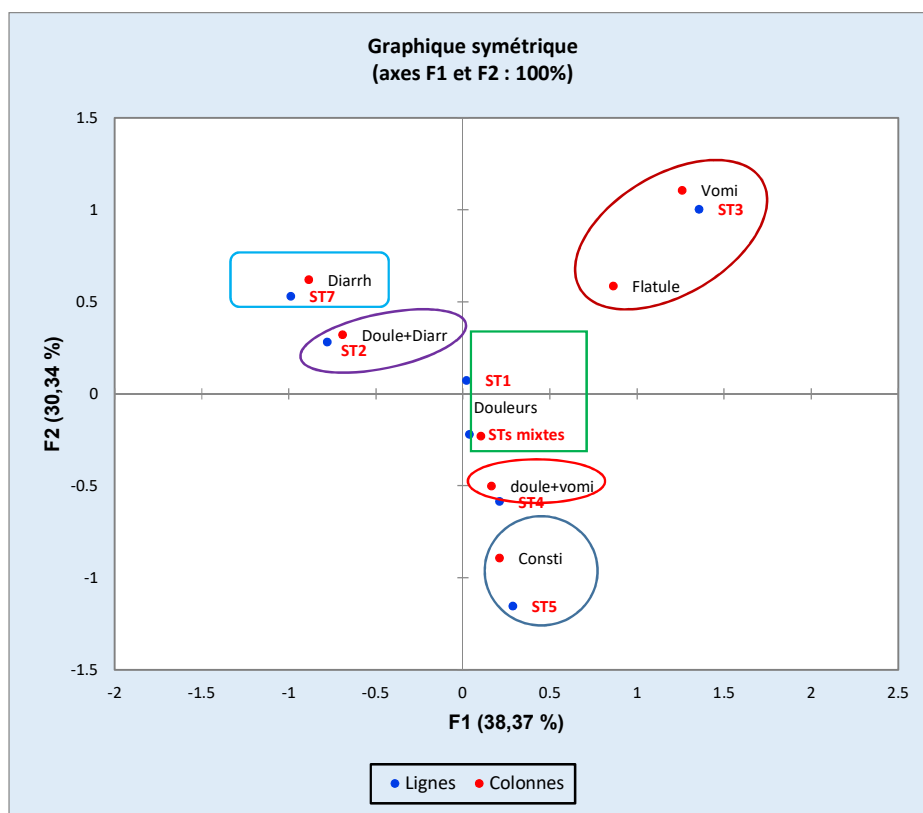


Figure 74: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction des signes cliniques.

3.5.7. Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de la charge parasitaire

Le nombre de *Blastocystis* ≥ 5 / champ a été retrouvé chez 19 (76%) des 25 patients présentant des symptômes gastro-intestinaux. En revanche, 6 patients symptomatiques et 5 patients asymptomatiques ont une intensité < 5 organisme / champ (grossissement x 400). L'analyse statistique a montré qu'il existe une forte association entre l'intensité de l'infection et les troubles gastro-intestinaux ($X^2 = 10,364$; $p = 0,001$) (annexe 05).

En ce qui concerne la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de l'intensité de l'infection par *Blastocystis* spp. n'est pas statistiquement significative ($X^2 = 8,026$; $p = 0,626$) (tableau 53).

Tableau 53: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction de la charge parasitaire.

	Charge forte		Charge moyenne		Charge faible	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
ST1	12	(63,00)	00	(00)	07	(37,00)
ST2	03	(75,00)	00	(00)	01	(25,00)
ST3	01	(33,30)	01	(33,30)	01	(33,30)
ST4	05	(71,00)	00	(00)	02	(29,00)
ST5	00	(00)	00	(00)	02	(100)
ST7	03	(75,00)	01	(25,00)	00	(00)
STs mixtes	05	(56,00)	00	(00)	04	(44,00)
P value	$X^2 = 8,026; p = 0,626$					

(N) : Nombre de patients positifs.

D'après la figure 75, la distribution des STs en fonction de la charge en *Blastocystis* spp. sont comme suit : la charge forte est corrélée avec les STs mixtes, ST1, ST2, ST4 et ST7. La charge moyenne est bien corrélée avec ST3 et faiblement corrélée avec ST7, alors que la charge faible est bien corrélée avec ST5.

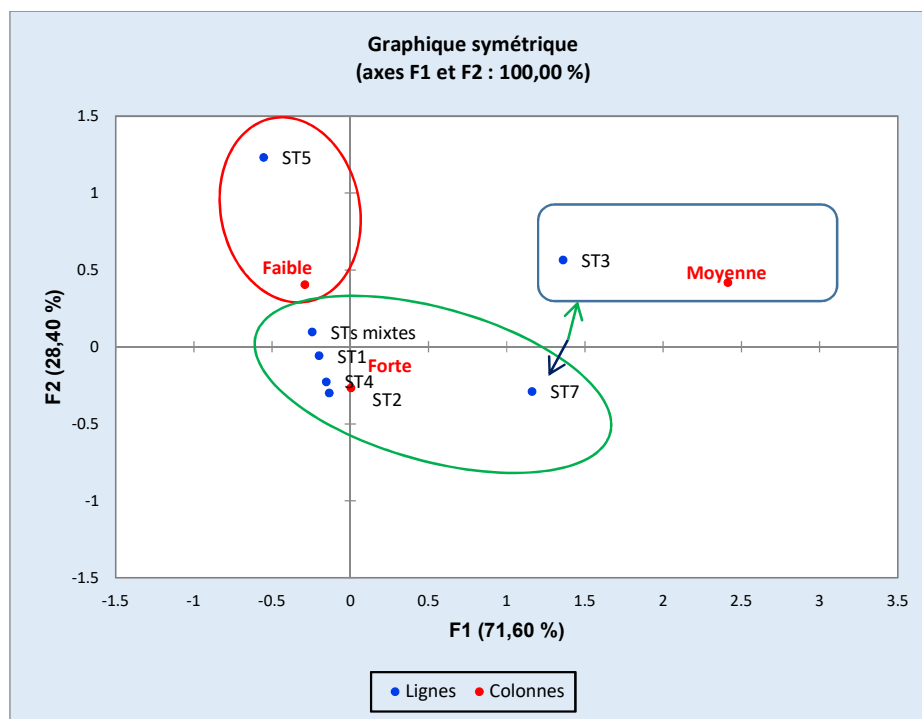


Figure 75: Distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction de la charge parasitaire.

1. DISCUSSION

Blastocystis spp. est un protozoaire anaérobie trouvé dans le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il est à ce jour le parasite intestinal le plus fréquemment retrouvé dans les selles humaines (EL SAFADI, 2014). L'infection est principalement transmise par la voie oro-fécale et l'épidémiologie de la blastocystose peut impliquer des voies de transmission directes (humain à humain) et indirectes (zoonotiques et hydriques) (YOSHIKAWA et al. 2004c). Cependant, l'importance relative de ces voies de transmission dans l'épidémiologie de la blastocystose n'est pas tout à fait claire, en grande partie parce que les outils de diagnostic traditionnels ne permettent pas de différencier les sources de parasites. Néanmoins, des études basées sur l'épidémiologie moléculaire amélioreraient considérablement notre compréhension de la transmission de *Blastocystis* chez l'homme et l'animal et fourniraient des informations essentielles sur la spécificité de l'hôte et la signification clinique de *Blastocystis* (STENSVOLD et al. 2009 ; LEELAYOOVA et al. 2008 ; EROGLU et KOLTAS, 2010 ; ALFELLANI et al. 2013a). Dans la présente étude, des méthodes de diagnostic classiques (culture et microscopie) associées à des techniques moléculaires (PCR conventionnelle) ont été appliquées pour étudier l'épidémiologie et la distribution des sous-types de *Blastocystis* issue des souches humaines pour la première fois en Algérie dans la wilaya de Laghouat.

4.1. Prévalence de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat

Au terme de notre étude, 287 patients ciblant ce que l'on appelle un groupe de patients symptomatiques et asymptomatiques suivis pour diverses pathologies, ont montré que 32,1% (92/287) patients étaient infectés par *Blastocystis* spp. En effet l'examen microscopique direct a détecté 32cas/287cas soit une prévalence de 11,1%, la coloration de MZN a détecté 35/287cas soit une prévalence de 12,2%, tandis que la culture in vitro a détecté 86cas pour le milieu de Jones et 92cas pour le milieu Boeck and Drbohlav soit une prévalence de 30% et 32,1% respectivement. Cependant l'examen microscopique direct, qui est le plus répandu en routine dans les laboratoires du fait de son faible coût, est également connu pour être moins sensible que la culture in vitro et les méthodes moléculaires du fait de la difficulté à identifier, en particulier, la forme kystique du parasite. En utilisant le milieu Boeck and Drbohlav comme le Gold standard, la prévalence de *Blastocystis* spp. est de 32,1% par une sensibilité et spécificité élevée, comparée avec les autres méthodes de diagnostic utilisée dans la présente étude, de nombreuses études ont montré que la culture in vitro est plus sensible que l'examen microscopique direct et les méthodes de concentration (LEELAYOOVA et al. 2002; SURESH et SMITH, 2004 ; SANTOS et RIVERA, 2013 ; FORSELL et al. 2016).

Nous avons constaté dans les deux parties de la thèse, que *Blastocystis* spp. est le parasite le plus fréquemment retrouvé, la fréquence enregistrée durant la première partie est de l'ordre de 53,22%, où nous avons appliqué les mêmes méthodes de diagnostics dans la deuxième partie, cette différence de fréquence (32,1% vs 53,22%) dans les deux parties de la thèse, peut être attribuée à la durée et à la taille de l'échantillon. Cette prédominance de fréquence de *Blastocystis* spp. par rapport aux autres parasites intestinaux a été enregistrée par plusieurs auteurs en Algérie : à Tlemcen par KASMI et SAIDOUNI (2016) avec une fréquence de 74,60%, et par HADJ MOHAMMED et MOHAMMEDI (2017) avec une fréquence de 43,4%, à Oran par BENOUIS (2012) avec un taux de 47,17%, à Constantine par ZEKRI et MERROUCHE (2018) avec un taux de 55%, et à Alger par BELKESSA (2014) avec un taux de 57,21% et par AIT-SALEM (2014) avec un taux de 56,24%. D'après cette synthèse on remarque que la fréquence de *Blastocystis* spp. est importante en Algérie et prédomine les parasites intestinaux, ceci serait du probablement à la réticence des médecins à traiter l'infection, comme son pouvoir pathogène a été longtemps controversé et que ses symptômes sont spontanément résolutifs.

Dans une énorme majorité de pays, il est aujourd'hui le protiste le plus fréquemment retrouvé dans les selles humaines loin devant d'autres protistes parasites à transmission hydrique comme *Giardia*, *Entamoeba* et *Cryptosporidium* (EL SAFADI, 2014). De plus, la prévalence de *Blastocystis* spp. est généralement plus importante dans les pays en voie de développement que dans les pays développés. Cela peut facilement s'expliquer par des conditions d'hygiène plus précaires et le contact étroit avec les animaux réservoirs du parasite dans les pays en développement (TAN, 2008).

La fréquence de *Blastocystis* spp. varie considérablement d'un pays à l'autre et même au sein d'un même pays. En Afrique, et tout d'abord en Afrique du Nord, la fréquence est de l'ordre de 13% en Tunisie (BEN ABDA et al. 2017), au Maroc la fréquence est comprise entre 13,39% et 28,95% (CHABAA et al. 2000 ; TLIGUI et al. 2002), En Libye la fréquence est comprise entre 18,5% et 28% (ALFELLANI et al. 2005; ALFELLANI et al. 2007; ALFELLANI et al. 2013a), en Egypte la fréquence est comprise entre 42,3% et 67,4% chez les immunocompétents et 54,5% chez les immunodéprimés (EASSA et al. 2016 ; FARGHALY et al. 2017). En Afrique de l'Est, précisément en Tanzanie (Zanzibar) la fréquence est de l'ordre de 20% par microscopie et atteint 61% par la PCR pour la même cohorte d'individus (FORSSEL et al. 2016). En Afrique de l'Ouest, la fréquence du parasite est de 20,4% en Côte d'Ivoire (BECKER et al. 2011), mais elle grimpe à 70% au Libéria et entre 49% et 84% au Nigeria par des approches moléculaires (ALFELLANI et al. 2013a ;

POULSEN et al. 2016). Au Sénégal une étude menée sur une population d'une centaine d'enfants vivant dans 3 villages du district de Podor au Sénégal par PCR en temps réel a montré une prévalence de 100% (EL SAFADI et al. 2014), confirmant ainsi l'impact majeur de ce parasite en Afrique.

Au Moyen Orient les fréquences sont extrêmement variables même au sein d'un même pays ; en Iran la fréquence varie entre 2,2% et 35% (HAGHIGHI et al. 2009 ; YAKOOB et al. 2010b ; KHOSHNOOD et al. 2015 ; SALEHI et al. 2017). Au Qatar, cette prévalence par microscopie ne dépasse pas les 6,9% (ABU-MADI et al. 2010 ; ABU-MADI et al. 2015), en Jordanie la fréquence est de l'ordre de 25% (NIMRI et BATCHOUN 1994), au Liban la fréquence varie entre 19% et 63% (EL SAFADI et al. 2013 ; OSMAN et al. 2016), en Arabie Saoudite en utilisant toujours la même méthode de détection par microscopie la fréquence varie entre 2,3% et 78,9% (AHMED et al. 2015 ; HASSEN AMER et al. 2016 ; MOHAMED et al. 2017). En utilisant des méthodes d'identification moléculaires, la prévalence du parasite atteint 44,4% aux Emirats Arabes Unis (ABUODEH et al. 2016) et 71,1% au Qatar (ABU-MADI et al. 2015) alors qu'elle ne dépasse pas les 6,9% par microscopie dans ce dernier pays.

En Asie, la prévalence de *Blastocystis* spp. est comprise entre 1,3% à 3,5% au Japon (YOSHIKAWA et al. 2004d) et de 3,3% à Singapour (WONG et al. 2008), deux pays très urbanisés. Par contre, dans des régions d'Asie plus rurales, cette prévalence peut atteindre 60% comme chez des enfants en Indonésie (PEGELow et al. 1997) et 25% dans une communauté des Philippines (SANTOS et RIVERA, 2013). En Inde, une étude réalisée sur deux cohortes de patients a montré une fréquence par PCR de 33,3% chez les patients atteints de syndrome de l'intestin irritable et une fréquence de 15% chez les patients contrôlés. Pour ce qui est de la Chine, on peut cependant citer celles de WANG et al. (2002) indiquant une prévalence comprise entre 1 et 6% selon les cohortes d'individus étudiés dans la province d'Anhui, de LI et al. (2007a) avec une prévalence déterminée par PCR de 32,6% dans un village de la province du Yunnan et de LI et al. (2007b), toujours par PCR, et une prévalence comprise entre 1,9 et 32,6% selon les 4 régions chinoises étudiées. Ces différences de valeurs sont encore plus significatives en Malaisie. En effet, la prévalence de *Blastocystis* spp. est de 52,3% (NOOR AZIAN et al. 2007), de 3,9% (SINNIAH et al. 2012) et 25,7% (ABDULSALAM et al. 2012) dans différentes populations autochtones Malaisiennes. En Thaïlande la fréquence est comprise entre 13,3% et 32,8% (YOSHIKAWA et al. 2004d ; SANPRASERT et al. 2016). En Turquie, plusieurs études ont été menées dans différentes régions, sur des populations totales ou des cohortes d'écoliers, la fréquence varie entre 0,55%

et 38% (DOGRUMAN-AL et al. 2009a ; DAGCI et al. 2014 ; BEYHAN et al. 2015 ; DOGRUMAN-AL et al. 2015 ; COSKUN et al. 2016 ; DOGAN et al. 2017). Cette différence de fréquence observée en Turquie comme dans plusieurs pays et parfois en utilisant la même méthode de détection reste difficilement explicable. DOGRUMAN-AL et al. (2009a) ont trouvé une fréquence de *Blastocystis* spp. de 5,9% par l'examen direct et 32,5% par la culture *in vitro* pour la même cohorte d'individus. Il est donc plus que probable que l'expérience de l'observateur soit la cause principale de ces variations.

En Europe, plusieurs études sont disponibles avec des fréquences variables, en France, la fréquence est de l'ordre de 6,1% après examen microscopique dans une cohorte de 9700 d'individus dans la région parisienne (BOUREE, 2007), une autre étude réalisée à Clermont-Ferrand sur une cohorte composée, de moitié, de sujets immunocompétents et de moitié, de sujets immunodéprimés atteints de cancers hématologiques montre une prévalence globale de *Blastocystis* spp. de 14,5% en utilisant la PCR en temps réel (POIRIER et al. 2011). Une étude multicentrique regroupant 11 centres hospitaliers répartis sur l'ensemble du territoire français a été réalisée et englobant 788 patients a montré une fréquence de 18,1% par PCR en temps réel (EL SAFADI et al. 2016). Aux Pays-Bas, la prévalence globale est de l'ordre de 24,2% dans la population totale à Amsterdam (BART et al. 2013), et de l'ordre de 43% chez les enfants (MAAS et al. 2014). Elle serait de 51,5% dans la région de Catalogne en Espagne (GONZALEZ- MORENO et al. 2011) et approcherait ou dépasserait les 10% en Italie (MASUCCI et al. 2011 ; CALDERARO et al. 2014). Au Danemark, la fréquence est de l'ordre 23% (STENSVOLD et al. 2007b). Au Royaume-Uni la fréquence est 6,9% utilisant l'examen microscopique (WINDSOR et al. 2002). Et en Allemagne la fréquence varie entre 17,9% et 39,8% (YOSHIKAWA et al. 2004d ; HERBINGER et al. 2011).

En Amérique du Nord, très peu d'études ont été publiées et indiquent une fréquence d'environ de 7% à 20% aux USA (AMIN, 2002 ; AMIN, 2006 ; SCANLAN et al. 2016). Par contre, les données sont plus nombreuses en Amérique du Sud, en Colombie la fréquence varie entre 36,4% chez la population totale (LONDOÑO et al. 2009) et 57,5 % chez des enfants (LONDONO-FRANCO et al. 2014). En Argentine la fréquence est de l'ordre de 43% dans une cohorte d'enfants de Buenos Aires (ORDEN et al. 2014). Au Venezuela, la fréquence chez les enfants de la Communauté indigène de Merida est de 47% (VELASCO et al. 2011), et de 38,5% chez des enfants à Cuba (CANETE et al. 2012). Au Brésil, la prévalence est variable selon les cohortes d'individus étudiées : 38% chez des écoliers du district de Sao Paulo (AMATO NETO et al. 2004), seulement 4,6% dans ce même district dans la population totale (MINE et ROSA, 2008).

En Océanie, les seules données concernant l'Australie dans la région de Sydney montre une fréquence de l'ordre de 19% (ROBERTS et *al.* 2013).

D'après la synthèse présentée ci-dessus, la différence de la fréquence de *Blastocystis* spp. au sein d'un même pays, comme par exemple en Tanzanie (20% à 61%), en Iran (2,2% à 35%), en Arabie Saoudite (2,3% à 78,9%), en Malaisie (3,9% à 52,3%), en Turquie (0,55% à 38%) et au Brésil (4,6% à 38%). Ces fluctuations peuvent alors refléter de réelles distinctions entre régions géographiques pour lesquelles le climat, les habitudes alimentaires ou le tissu socio-économique ou industriel, peuvent être très différents. Cependant, l'approche choisie pour l'identification du parasite couplée à l'expertise de l'investigateur est très probablement fortement liée à ces variations. Un autre facteur important pouvant expliquer ces oscillations est la composition des cohortes étudiées selon qu'elles comprennent majoritairement des adultes ou des enfants, des migrants, des voyageurs ou des sédentaires, des individus symptomatiques ou asymptomatiques ou des sujets immunocompétents ou immunodéprimés (CIAN, 2016).

4.2. Distribution des sous-types de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat

Il existe une grande diversité génétique parmi les isolats de *Blastocystis* et sur la base du gène SSU ARNr, neuf sous-types (ST1-ST9) ont été identifiés chez l'homme. Récemment le ST12 a été identifié pour la première fois chez l'homme en Bolivie par RAMIREZ et *al.* (2016). Dans la présente étude, le sous-typage a été effectué avec succès sur 30 échantillons de culture *in vitro* trouvés positifs par *Blastocystis*. L'analyse de sous-typage a révélé la présence de 6 sous-types de *Blastocystis*, la prévalence la plus forte était celle de ST1 (63,3%), suivi par ST4 (23,3%), ST2 (13,3%), ST7 (13,3%), ST3 (10%), et finalement ST5 (6,7%). Nous ajoutons les sous-types impliqués dans l'infection mixte dans la distribution des sous-types simples. En outre, neuf échantillons (30%) ont des sous-types mixte, y compris ST1 / ST2 (6,7%), ST1 / ST4 (6,7%), ST1 / ST3 (3,3%), ST1 / ST5 (3,3%), ST2 / ST4 (3,3%), ST2 / ST7 (3,3%) et ST4 / ST5 (3,3%). Cependant la prédominance de ST1 a été aussi observée dans plusieurs pays, en Libye (50%-51,1%) (ALFELLANI et *al.* 2013a ; ABDULSALAM et *al.* 2013), Nigeria (40%-45,5%) (ALFELLANI et *al.* 2013a ; POULSEN et *al.* 2016), Tanzanie (34%) (FORSELL et *al.* 2016), Côte d'ivoire (50%) (D'ALFONSO et *al.* 2017), Brésil (44,4%) (MALHEIROS et *al.* 2011), Iran (40%) (MOTAZEDIAN et *al.* 2008) et Thaïlande (90,2%) (THATHAISONG et *al.* 2003). Cependant le sous-type 1 a pu être identifié à la fois chez l'homme et chez un très large éventail d'animaux (des porcs, des chevaux, des singes, des chiens, du bétail) (YOSHIKAWA et *al.* 2004c; NOËL et *al.* 2005 ; ALFELLANI et *al.* 2013c), cela montre que le ST1 n'est pas spécifique à l'homme et qu'il

existe de nombreux réservoirs d'animaux pour les infections humaines. La forte fréquence de ST1 dans la présente étude pourrait être liée à la transmission zoonotique. En contraire, de nombreuses études en Afrique ont rapportées que le ST3 est le plus dominant, en Tunisie (51%) (BEN ABDA et al. 2017), Angola (36%) (DACAL et al. 2018), Libéria (32%) (ALFELLANI et al. 2013a), Sénégal (49,5%) (EL SAFADI et al. 2014) et en Egypte (54,5%) (HUSSEIN et al. 2008). En conséquence, étant donné que ST3 est rarement trouvé chez les animaux, une transmission interhumaine à grande échelle pourrait probablement expliquer la prédominance de cette ST dans les pays africains, ainsi que dans le reste du monde (EL SAFADI, 2014).

Récemment, ALFELLANI et al. (2013a) ont synthétisé toutes les données de sous-typage disponibles dans la littérature à la date de soumission de leur revue et ce pour un nombre important de pays. Ainsi, un total de 3171 isolats de *Blastocystis* ont été sous-typé depuis 1997, les ST1 (27,8%), ST2 (10,8%), ST3 (44,2%) et ST4 (10,0%) représentaient à eux quatre, plus de 90% des STs identifiés, même ces 4 STs peuvent aussi être retrouvés chez les animaux, leur prédominance dans la population humaine peut très probablement s'expliquer par une très large transmission interhumaine qu'elle soit directe par contact avec des patients infectés ou indirecte par ingestion d'eau ou de nourriture contaminées par des matières fécales humaines contenant le parasite. Les ST5 (0,3%), ST6 (2,8%), ST7 (3,7%), ST8 (0,3%) et ST9 (0,1%) sont minoritaires et sont considérés comme des STs d'origine animale. Aussi, leur présence dans la population humaine serait probablement le résultat d'une transmission zoonotique. Dans la présente étude le ST4 (23,3%) est le deuxième ST le plus fréquent après le ST1, curieusement ce ST est très fréquent en Europe, alors qu'il est rare voire absent sur les autres continents, (ALFELLANI et al. 2013a) suggérant une émergence récente de ce ST dans la population européenne, comme au Danemark (76%) (STENSVOLD et al. 2011), en Espagne (94,1%) (DOMINGUEZ-MARQUEZ et al. 2009), en France (63%) (POIRIER et al. 2011) et au Royaume-Uni (31%) (ALFELLANI et al. 2013a). En Afrique ce ST est identifié mais avec des fréquences faibles comme celles enregistrés en Tunisie (1,6%) (BEN ABDA et al. 2017), Sénégal (1,9%) (EL SAFADI et al. 2014), Nigéria (13,6%), Libéria (12%) (ALFELLANI et al. 2013a), et en Egypte (18,2%) (HUSSEIN et al. 2008). Cependant, les raisons de la répartition géographique hétérogène de ST4 restent inconnues et ses hôtes réservoirs doivent être clarifiés. Le ST4 a été également identifié chez les rongeurs et les marsupiaux (ALFELLANI et al. 2013c), la forte fréquence de ce ST dans la présente étude est du probablement à une transmission zoonotique due aux rongeurs qui sont fréquemment retrouvées dans la steppe algérienne. Les proportions des autres sous-types diffèrent

clairement d'un lieu à l'autre, par exemple le ST2 est généralement trouvé en second position en Italie (21%) (MELONI *et al.* 2012), Brésil (37%) (MALHEIROS *et al.* 2011), Libéria (28%) (ALFELLANI *et al.* 2013a) et en Turquie (23%) (DOGRUMAN-AL *et al.* 2008). Le ST7 a été présenté avec la même proportion que ST2 (13,3%) dans le présent travail. Contrairement au ST4, le ST6 et ST7 sont plus fréquents en Afrique et en Asie qu'en Europe (ABDULSALAM *et al.* 2013), ces STs sont généralement hébergés par des oiseaux (appelés ST aviaires) et colonisent rarement les mammifères, y compris l'homme (ALFELLANI *et al.* 2013a ; ALFELLANI *et al.* 2013c). Un seul isolat appartenant à ST7 a également été identifié en Libye (ALFELLANI *et al.* 2013a) en Tunisie (BEN ABDA *et al.* 2017) en Angola (DECAL *et al.* 2018) et au Nigéria (POULSEN *et al.* 2016) alors que ST6 et ST7 ont été trouvés de manière inattendue dans une étude égyptienne (FOUAD *et al.* 2011). Notons ainsi que dans le présent travail nous n'avons identifiés aucun cas de ST6. Finalement le sous-type 5 a rarement été signalé chez l'homme, cependant la présente étude est la deuxième étude qui identifie le ST5 en Afrique après celle d'Angola (DACAL *et al.* 2018), en outre en Europe seulement deux cas ont été identifiés en Royaume-Uni (0,7%) (ALFELLANI *et al.* 2013c) et en Allemagne (16,7%) (YOSHIKAWA *et al.* 2004d), en Asie ce ST a été identifié en Pakistan (4%) (YAKOOB *et al.* 2010a) et en Iran (8%-13,6%) (KHOSHNOOD *et al.* 2015 ; KHADEM VATAN *et al.* 2018). Par contre en Russie, des données surprenantes ont été observées dans une cohorte de patients de Saint-Petersbourg puisque les auteurs montrent une prédominance des ST5 et ST6 qui sont généralement rares chez l'homme (SIGIDAEV *et al.* 2013). Cependant le ST5 a été identifié chez les Artiodactyles (ex : porcs, moutons, cerfs, bovins et chameaux) (ALFELLANI *et al.* 2013c). Ces résultats suggèrent que les infections à ST5 et ST7 détectées ici pourraient être le résultat d'une transmission zoonotique, bien que cette possibilité devrait être confirmée par des études supplémentaires sur un très grand nombre d'échantillons. Cependant il a été rapporté que divers facteurs épidémiologiques et démographiques, tels que les facteurs climatiques, la position géographique, les habitudes culturelles, l'exposition aux réservoirs et le mode de transmission, influent sur la prévalence des sous-types isolés chez l'homme (ALFELLANI *et al.* 2013a).

Les infections mixtes de deux sous-types sont identifiées chez 30% des échantillons sous-typés. La présence de plusieurs sous-types peut indiquer l'existence simultanée de différentes sources d'infection ou d'une source contenant plusieurs sous-types. En outre, l'utilisation de

Tableau 54: Répartition des sous-types de *Blastocystis* spp. dans les pays africains.

Pays	Méthode de sous-typage	Nombre d'échantillons	Distribution des sous-types (%)										Référence
			ST1 (%)	ST2 (%)	ST3 (%)	ST4 (%)	ST5 (%)	ST6 (%)	ST7 (%)	ST8 (%)	ST9 (%)	STs mixtes (%)	
Tunisie	Séquençage	168	(30)	(16)	(51)	(1,6)	(00)	(00)	(1,6)	(00)	(00)	(00)	[44]
Libye	Séquençage	45	(51,1)	(24,4)	(17,8)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(6,7 ^(a))	[4]
Libye	Séquençage	38	(50)	(7,9)	(39,5)	(00)	(00)	(00)	(2,6)	(00)	(00)	(00)	[21]
Egypte	STS primers	110	(13,6)	(00)	(44,5)	(00)	(00)	(30)	(11,8)	(00)	(00)	(9,1 ^(a))	[125]
Egypte	Séquençage	21	(19,05)	(19,05)	(61,9)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(4,7 ^(a))	[291]
Egypte	STS primers	44	(18,2)	(9,1)	(54,5)	(18,2)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	[149]
Egypte	STS primers	36	(16,7)	(00)	(83,3)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	[103]
Libéria	Séquençage	25	(28)	(28)	(32)	(12)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(20 ^(b))	[21]
Nigéria	Séquençage	22	(45,5)	(00)	(40,9)	(13,6)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(4,5 ^(b))	[21]
Nigéria	Séquençage	127	(40)	(33)	(26)	(00)	(00)	(00)	(0,79)	(00)	(00)	(00)	[150]
Tanzanie	Séquençage	6	(16,6)	(50)	(33,3)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	[245]

Tanzanie	Séquençage	92	(39,1)	(30,4)	(29,3)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	[124]
Sénégal	Séquençage	93	(31,2)	(22,6)	(54,8)	(2,16)	(00)	(00)	(00)	(00)	(00)	(8,6 ^(a))	[110]
Angola	Séquençage	75	(30,7)	(30,7)	(36)	(00)	(1,3)	(00)	(1,3)	(00)	(00)	(00)	[82]
Algérie	STS primers	30	(63,3)	(13,3)	(10)	(23,3)	(6,7)	(00)	(13,3)	(00)	(00)	(30 ^(a))	Présente étude

^(a) Les sous-types impliqués dans des infections mixtes ont été ajoutés à la distribution.

^(b) Les sous-types impliqués dans des infections mixtes n'ont pas été ajoutés à la distribution.

la culture in vitro avant la PCR peut également être une source de sous-estimation des infections mixtes, car cette méthode peut favoriser la croissance préférentielle de certains sous-types par rapport aux autres (ABDULSALAM et al. 2013).

4.3. Profil épidémiologique de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat

Dans la littérature récente, la question d'une augmentation significative de la prévalence de ce parasite parmi l'un des deux sexes ou chez les enfants ou chez des patients atteints de troubles digestifs reste encore assez contradictoire. Dans notre série, la fréquence de *Blastocystis* spp. est plus élevée chez le sexe masculin (57,6%) par rapport au sexe féminin (42,4%), statistiquement le sexe n'a aucune influence significative sur le portage de *Blastocystis* spp. ($p < 0,05$). Le même constat est observé par plusieurs auteurs (BENOUIS, 2012 ; BART et al. 2013 ; NITHYAMATHI et al. 2016), ceci est expliqué par le fait que les patients d'âge équivalents, sont soumis aux mêmes conditions d'hygiène de l'environnement et subissent les mêmes risques d'infestation quelque soit leur sexe (BENOUIS, 2012).

La distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. en fonction du sexe des patients n'est pas statistiquement significative. Nous constatons ainsi que la distribution de ST7 et ST4 est bien corrélées chez le sexe féminin, les Sts mixtes, ST1 et ST3 sont bien corrélées avec le sexe masculin alors que le ST5 et le ST2 présentent une égalité de distribution chez les deux sexes. En Turquie, plusieurs études n'ont trouvé aucune association significative entre le sexe et les sous-types de *Blastocystis* spp. (DOGRUMAN-AL et al. 2008 ; OZYURT et al. 2008). Par contre une étude menée en Libye par ABDULSALAM et al. (2013), montre que le ST1 est significativement associé au sexe féminin. Les différences dans les proportions relatives des sous-types entre les deux sexes pourraient indiquer des modes de transmission distincts ou des expositions différentes aux sources de transmission (LI et al. 2007a). Comme notre étude portait sur un petit échantillon, une identification plus poussée dans un plus grand nombre de sous-types est nécessaire pour confirmer l'association entre les sous-types de *Blastocystis* spp. par rapport aux caractéristiques démographiques et socio-économiques de la population humaine, nous montrons ainsi dans cette étude que le sexe des patients n'est pas un facteur de risque pour l'infestation à *Blastocystis* spp.

D'après les données analysées, les patients porteurs de *Blastocystis* spp. sont significativement moins âgés que les patients non porteurs (20,27 vs 26,79). Le taux d'infection le plus élevé est observé chez la tranche d'âge 0-9ans (37%) et qui diminue progressivement avec l'âge ($p < 0.001$). Dans plusieurs pays, la prévalence de *Blastocystis* spp. décrite chez les enfants par des méthodes microscopiques ou moléculaires est très importante par rapport aux adultes comme en Thaïlande, la prévalence dans la population

globale est de l'ordre 13,3% (YOSHIKAWA et al. 2004d), mais dépasse les 32% chez les enfants (SANPRASERT et al. 2016). De même, en Colombie, la prévalence de *Blastocystis* spp. atteint les 60% chez les enfants (LONDONO-FRANCO et al. 2014) alors qu'elle avoisine les 40% dans la population totale (LONDONO et al. 2009 ; RAMIREZ et al. 2016). Et aux Pays-Bas, la prévalence globale de la population est de l'ordre de 24,4% (BART et al. 2013) et atteint les 43% chez les enfants (MAAS et al. 2014). Ainsi plusieurs études à travers le monde, réalisées sur des enfants ont montré des fréquences très élevées, comme par exemple : au Nigeria (84%) (POULSEN et al. 2016), en Indonésie (52,5%) (SARI et al. 2017), au Brésil (86,7%) (REBOLLA et al. 2016), en Argentine (68,9%) (DIB et al. 2015), au Liban (63%) (OSMAN et al. 2016), et au Sénégal avec une fréquence de 100%, où tous les enfants examinés sont trouvés porteurs de *Blastocystis* spp. (EL SAFADI et al. 2014). Par contre, dans d'autres pays, les données montrent une fréquence plus élevée chez les adultes que chez les enfants, comme celle de BENOUIS (2012) en Algérie (Oran), AMIN (2006) aux Etats-Unis, ABU-MADI et al. (2010) au Qatar, CALDERARO et al. (2014) en Italie, FORSELL et al. (2012) en Suède et EL SAFADI et al. (2016) en France. Ainsi certaines études proposent même une corrélation entre l'augmentation de l'âge et le risque d'infection à *Blastocystis* spp. (ABU-MADI et al. 2010 ; BENOUIS, 2012 ; CALDERARO et al. 2014).

D'après nos résultats, la répartition des sous-types simple et mixte de *Blastocystis* spp. en fonction des tranches d'âge a révélé une corrélation très hautement significative, en outre les tranches d'âge 0-9, 20-29, et 40-49ans sont corrélées avec ST4 et ST1, la tranche d'âge 10-19ans est corrélée avec ST5 et ST7, la tranche d'âge 30-39ans est corrélée avec ST3 et STs mixtes, tandis que la tranche d'âge 50-59ans est faiblement corrélé avec ST2 et ST7. Une étude réalisée en Irak a montré que la tranche d'âge 41-60ans est corrélée avec le ST1 et la tranche d'âge 61-80ans est corrélée avec le ST3 (HAMMOOD et al. 2016). Cette différence de prévalence et de répartition des sous-types de *Blastocystis* spp. entre la population générale et les enfants peut simplement s'expliquer par le fait que les enfants constituent une population plus vulnérable face aux infections par des parasites intestinaux du fait essentiellement de mauvaises habitudes sanitaires et alimentaires, d'activités en extérieur dans des zones à risque et de la promiscuité entre enfants dans des structures de garde ou d'enseignement, des carences alimentaires nuisant au développement du système immunitaire, et surtout un faible niveau hygiénique de ceux-ci facilitant la transmission du parasite (EL SAFADI, 2014 ; CIAN, 2016). Ainsi cette fréquence élevée observée chez les adultes, peut être expliquée par le fait que cette gamme d'âge pourrait aussi être celle qui voyage le plus, augmentant ainsi leur risque d'acquérir l'infection (CIAN, 2016), et le sujet en grandissant devient de plus en plus

autonome et adopte une alimentation dont les sources sont de plus en plus inconnues et variées, ce qui augmente le risque de contamination parasitaire.

D'après les données recueillies, la fréquence de l'infection par *Blastocystis* spp. est plus élevée en milieu rural qu'en milieu urbain (66,3% vs 33,7%), mais statistiquement il n'existe pas un lien significatif entre le lieu d'habitation et l'infestation par *Blastocystis* la fréquence élevée de ce parasite en milieu rural est observée par plusieurs auteurs ; en Chine (WANG et al. 2002 ; LI et al. 2007a), au Népal (LEE et al. 2012a), en Turquie (EROGLU et KOLTAS 2016) et en Malaisie (ABDULSALAM et al. 2012). Ils expliquent ces résultats par les conditions d'hygiène précaires dans les régions rurales où l'accès au système sanitaire adéquat et l'approvisionnement en eau potable est difficile, ainsi la consommation locale d'eau et de nourriture, correspondent aux facteurs de risque connus pour la transmission féco-orale de maladies parasitaires, notamment de *Blastocystis* spp. D'après nos résultats, nous ne constatons que la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. est fortement présente pour la plupart des sous-types en milieu rural (Commune de Sidi Makhoulouf et commune de Hassi Delaa) qu'en milieu urbain (la ville de Laghouat). Le sous-type ST5 est détecté deux fois en milieu rural, le ST1 est présent dans 42,1% des cas en milieu urbain, ST4, ST2 et ST7 sont fortement détectés en milieu rural, et le ST3 a été signalé une fois dans chaque commune. Cette distribution des sous-types détectés en milieu rural concorde avec la distribution présentée en Turquie par EROGLU et KOLTAS (2016) pour les sous-types ST4, ST5 et ST7, au Népal par LEE et al. (2012b) pour les sous-types ST1, ST4 et STs mixtes, au Sénégal par EL SAFADI et al. (2014) avec les sous-types ST1, ST2, ST3 et ST4. La forte présence de ST2, ST4, ST5 et ST7 en milieu rural est liée probablement avec la transmission zoonotique aisée de ces sous-types dans les deux communes où l'élevage pastorale et le contact avec les animaux de compagnie est fréquent dans les deux communes, ainsi la fréquence de ST1 et ST3 en milieu urbain est expliquée par le potentiel de cycle anthroponotique de ces sous-types en milieu urbain (SOUPPART et al. 2010 ; ROBERT et al. 2014). Cependant, cette possibilité de distribution des sous-types de *Blastocystis* spp. en milieu rural ou en milieu urbain dans la wilaya de Laghouat, devrait être davantage confirmée par des études ciblant à la fois la population humaine, les animaux de compagnies et les animaux d'élevage.

4.4. Profil clinique de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat

La pathogénie de *Blastocystis* spp. est restée très longtemps controversée, les études menées s'opposent sur son implication ou non dans des désordres gastro-intestinaux. La présence de porteurs asymptomatiques a longtemps fait penser qu'il s'agissait d'un microorganisme commensal. Pourtant, l'accumulation d'études épidémiologiques, des tests *in vitro* et *in vivo* laissent suggérer que *Blastocystis* est pathogène (WAWRZY尼亚K, 2012).

La prévalence de *Blastocystis* dans la présente étude est significativement plus élevée chez les patients symptomatiques que chez les patients asymptomatiques (80.4% vs 19.6%, $p = 0,007$), les signes cliniques les plus souvent observés sont marqués par des douleurs abdominales (39,1%), des diarrhée (6,5%), des vomissement (6,5%), des nausée (3,3%), des flatulences/constipation (2,08%), des prurit anal (1,09%), et des associations entre douleurs abdominales plus des diarrhée (18,5%) et entre douleurs abdominales plus des vomissement (3,3%). En outre l'association entre les manifestations cliniques et l'infection par *Blastocystis* est très hautement significative ($p < 0,0001$). Ainsi, la présente étude montre que la distribution des signes cliniques en fonction de la charge parasitaire est statistiquement très hautement significative, la forte charge (≥ 5 formes de *Blastocystis*/champ x400) est corrélée avec l'apparition des symptômes suivants : douleurs abdominales, diarrhée, flatulence/constipation, et association entre les douleurs abdominales et diarrhées, cette constatation concorde avec celle de STENZEL et BOREHAM (1996), qui ont trouvé une corrélation entre les symptômes cliniques et la charge parasitaire (≥ 5 formes de *Blastocystis*/champ x400), tandis que LEDER *et al.* (2005) n'ont trouvé aucune corrélation. Cependant plusieurs études à travers le monde ont trouvé des associations entre le portage de *Blastocystis* et divers signes cliniques, tel que les douleurs abdominales, les diarrhées, les nausées, les vomissements et les flatulences (ALFELLANI *et al.* 2007 ; TAN, 2008 ; VASSALOS *et al.* 2010 ; EL SAFADI *et al.* 2013 ; BEYHAN *et al.* 2015 ; HAMMOOD *et al.* 2016).

Outre ces désordres gastro-intestinaux, *Blastocystis* jouerait également un rôle significatif dans des maladies inflammatoires de l'intestin comme l'IBS (Syndrome de l'intestin irritable) et l'IBD (Maladie inflammatoire de l'intestin) (DOGRUMAN-AL *et al.* 2009b ; JONES *et al.* 2009 ; YAKOOB *et al.* 2010a ; YAKOOB *et al.* 2010b), dans des colites ulcéreuses (TAI *et al.* 2011; COSKUN *et al.* 2016), chez les patients immunodéprimés tel que les patients cancéreux ou atteints du Sida (STENSVOLD *et al.* 2011 ; AGHOLI *et al.* 2013 ; RIVERO-RODRIGUEZ *et al.* 2013 ; TASOVA *et al.* 2000 ; TAN *et al.* 2009 ; KUMARASAMY *et al.* 2014), d'hémopathies (TASOVA *et al.* 2000 ; POIRIER *et al.* 2011), chez des transplantés

rénaux ou hépatiques (BATISTA et al. 2011) et chez des malades dialysés (KARADAG et al. 2013). Il est ainsi associé avec les patients souffrant d'anémie ferriprive (EL DEEB et KHODEER 2013). Dans le cadre d'un cas clinique, FREALLE et al. (2014) ont signalé une association entre le parasite et le développement d'une appendicite purulente et d'une péritonite chez une fillette de 9 ans de retour du Maroc. Seul *Blastocystis* (ST2 et ST3) a été détecté dans les selles, l'appendice, le liquide péritonéal et le cul-de-sac de Douglas de cette patiente. Une gastro-entérite s'est de plus déclarée simultanément chez 26 membres de la famille de l'enfant suggérant une épidémie qui pourrait trouver son origine dans la consommation commune d'une eau contaminée, confirmant ainsi son pouvoir pathogène (FREALLE et al. 2014).

Blastocystis est également associé à la présence de troubles non gastro-intestinaux. Les plus importants sont les lésions cutanées et l'urticaire (GUPTA et PARSI, 2006; VOGELBERG et al. 2010; HAMEED et al. 2010 ; HAMEED et HASSANIN, 2011). Il a été suggéré que la forme amiboïde du parasite adhère efficacement à l'épithélium intestinal, affectant l'homéostasie immunitaire intestinale et provoquant une réponse inflammatoire contre le parasite, provoquant ainsi l'urticaire (ADAO et RIVERA 2018). Cependant, plusieurs études n'ont montré aucune corrélation entre l'infection par *Blastocystis* et les troubles gastro-intestinaux (ROSSEN et al. 2015; COSKUN et al. 2016; DOGAN et al. 2017; KHADEM VATAN et al. 2018).

La corrélation éventuelle entre ST de *Blastocystis* et le pouvoir pathogène du parasite est depuis plusieurs années une hypothèse de travail majeure. D'après nos résultats, la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* en fonction du statut clinique a révélé une association significative ($p < 0,0001$). Nous remarquons que certains isolats sont identifiés chez les patients symptomatiques et asymptomatiques avec des fréquences variables comme le ST1, ST2, ST4 et Sts mixtes, tandis que ST3, ST5 et ST7 sont identifiés seulement chez les patients symptomatiques. En outre seulement le ST1 est significativement associé avec les patients symptomatiques ($p = 0,006$). Concernant la répartition des STs en fonction des signes cliniques, le ST1 et Sts mixtes sont corrélées avec les douleurs abdominales, ST2 est corrélé avec l'association de douleurs abdominales plus des diarrhées, ST3 est corrélé avec les vomissements et des flatulences, ST4 est corrélé avec l'association de douleurs abdominales plus des vomissements, ST5 est corrélé avec la constipation et finalement ST7 est corrélé avec la diarrhée. En outre plusieurs études ont montré le lien probable entre la présence des signes cliniques avec les sous-types de *Blastocystis* en Chine (YAN et al. 2006), Turquie (EROGLU et al. 2009), Iran (MOOSAVI et al. 2012), Egypte (HUSSEIN et al. 2008)

et au Liban (EL SAFADI et al. 2013), et ont trouvé que le ST1 est le plus fréquemment retrouvé chez les patients symptomatiques, même certains ont trouvés un lien significative entre le ST1 et les troubles gastro-intestinaux (EL SAFADI et al. 2013). De plus le ST1 est le sous-type le plus prévalent chez les patients atteints du IBS (YAKOOB et al. 2010a), alors que TAN et al. (2008) indiquait que ST1 n'est détecté que parmi les isolats des groupes asymptomatiques. Depuis plusieurs années, la question de l'existence de STs plus « pathogènes » que d'autres, reste posée et discutée mais les résultats obtenus dans le cadre de nombreuses études épidémiologiques restent contradictoires. Néanmoins en Libye ABDULSALAM et al. (2013), ont trouvé une association entre le ST3 et la présence des diarrhées, plusieurs rapports ont trouvé que le ST3 est prédominant chez les patients atteints de maladies gastro-intestinales dans plusieurs pays, dont la Malaisie (TAN et al. 2006) et en Egypte (SOUPPART et al. 2010). D'autre part, il a été suggéré que ST2 est un génotype non pathogène de *Blastocystis* (EROGLU et al. 2009), bien que plusieurs rapports ont révélé que ST2 était associé à des troubles gastro-intestinaux et des urticaires (STENSVOLD et al. 2009 ; VOGELBERG et al. 2010). Des données récentes suggèrent que les sous-types 1, 4 et 7 sont pathogènes alors que les sous-types 2, 3 et 6 ne le sont pas (STENSVOLD et al. 2012 ; TAN et al. 2010). Cette contradiction des résultats entre la corrélation des sous-types de *Blastocystis* et les signes clinique peuvent être dus au fait que l'issue clinique de l'infection à *Blastocystis* est multifactorielle et implique des facteurs de l'hôte (état immunitaire, présence d'autres étiologies infectieuses, âge) ou des facteurs du parasites (génotype, virulence et potentiels zoonotique) ou une combinaison des deux. Comme limite pour cette étude, les patients ont fait l'objet d'un seul prélèvement, ceci pourrait influencer sur le taux de détection d'autres parasites intestinaux, ainsi les données bactériologiques et virologiques n'ayant pas pu être obtenues pour ces patients, ces agents infectieux peuvent être à l'origine de troubles digestifs similaires à ceux de la blastocystose.

4.5. Transmission de *Blastocystis* spp. d'origine hydrique et zoonotique dans le monde

Un autre facteur de risque majeur de transmission de *Blastocystis* spp. à l'homme est en lien avec le potentiel zoonotique et hydrique du parasite. Il en ressort que notre étude a montré que les patients qui consomment l'eau du robinet (77,2%) ont un risque plus élevé d'acquérir l'infection à *Blastocystis* spp. ainsi plus que le tiers de la population sont en contact étroit avec les animaux (37%). Les informations apportées dans le mode de contamination par *Blastocystis* spp. qui serait de type oro-fécale (YOSHIKAWA et al. 2004b), couplé au caractère résistant de la forme kystique dans l'eau (MOE et al. 1996), ont conduit certaines équipes de recherche à prendre en considération l'hypothèse selon laquelle la prévalence

observée pour certaines populations ou certains pays, pourrait être liée à la consommation d'eau contaminée, ou à la proximité avec des animaux. À ce jour, quelques études cherchant à identifier le parasite dans l'eau de consommation ont été réalisées (TAAMASRI et al. 2000; KHALIFA et al. 2001 ; LEELAYOOVA et al. 2008; SURESH et al. 2005 ; HAKIM et al. 2007 ; LI et al. 2007b ; LEELAYOOVA et al. 2008 ; EROGLU et KOLTAS, 2010 ; BANATICLA et RIVERA 2011 ; ITHOI et al. 2011 ; ABDULSALAM et al. 2012 ; LEE et al. 2012b ; ANUAR et al. 2013 ; EL SAFADI, 2014 ; KOLOREN et al. 2018) qui ont tous détecté le parasite dans des sources d'eaux utilisées par les populations humaines et animales pour leurs besoins. Par contre, seuls LEELAYOOVA et al. (2008), EROGLU ET KOLTAS (2010), LEE et al. (2012b), ABDULSALAM (2013), EL SAFADI (2014) et KOLOREN et al. (2018) ont sous-typé des échantillons environnementaux et proposé une transmission hydrique par comparaison des STs observés dans ces mêmes échantillons et ceux identifiés dans la population humaine consommant cette eau. En outre on observe dans notre série une corrélation très hautement significative entre la distribution des sous-types simples et mixtes de *Blastocystis* spp. et la source d'eau consommée, ainsi le ST1, ST2, ST4, ST7 et les STs mixtes sont bien corrélés avec la consommation d'eau du robinet ($p < 0,05$). Cette constatation concorde avec une étude réalisée à partir d'une population composée de soldats de l'armée thaïlandaise et de leur famille, TAAMASRI et collaborateurs (2000) constatent que *Blastocystis* spp. est le parasite le plus fréquemment rencontré dans les selles de ces personnes, avec une prévalence supérieure à 20% (TAAMASRI et al. 2000). De manière significative, les auteurs relient cette forte prévalence avec la consommation d'eau non filtrée ou non stérilisée, potentiellement contaminée par des kystes de *Blastocystis* spp.

Ainsi dans une analyse réalisée dans la région de Çukurova en Turquie, EROGLU et KOLTAS (2010) ont identifié *Blastocystis* spp. par PCR chez 25 individus, leurs animaux de compagnie, et dans l'eau de robinet, où ils ont retrouvés la présence de ST1 chez les trois échantillons. Ces résultats révèlent que l'infection à *Blastocystis* spp. pourrait provenir d'une source zoonotique et hydrique. Cette observation est aussi confirmée par EL SAFADI (2014) dans une partie de sa thèse réalisée dans le district d'Akkar au Nord-Liban, où 68% des échantillons d'eau étaient contaminés par le parasite tout comme 30% des échantillons humains et 80% des échantillons prélevés chez les bovins. Les quatre sous-types retrouvés (ST1, ST2, ST3 et ST4) dans les échantillons d'eau, sont identiques à ceux observés pour les échantillons humains, confirmant ainsi la transmission aisée du parasite par la voie hydrique (EL SAFADI, 2014).

Une récente étude réalisée sur 268 échantillons d'eau prélevés dans les provinces de Samsun, Amasya et Sinop de la mer Noire en Turquie, a trouvé une fréquence de *Blastocystis* de 4% dans les rivières de Samsun, 5% dans les rivières de Amasya et 2% dans les échantillons d'eau de mer de Sinop, avec l'identification de ST1 et ST3 dans les trois sources d'eau analysées (KOLOREN et al. 2018). Ainsi, dans le cadre d'une analyse coprologique réalisée sur une population d'enfants au Chili (sur la cote de la province de Valdivia), *Blastocystis* spp. est le protozoaire intestinal le plus représenté (29,4%). Cette forte prévalence est intimement liée au caractère oro-fécal de la contamination. En effet, l'environnement dans lequel vivent ces enfants est totalement dépourvu de structures sanitaires, et comporte un péril fécal important du fait de la contamination fécale de la rivière Valdivia (NAVARRETE et TORRES, 1994).

Dans une étude réalisée en Malaisie, *Blastocystis* spp. a été signalé dans différentes sources d'eau potable (eau de robinet, rivière, eaux de pluie collectée dans des réservoirs et des puits) collectées dans les écoles ainsi que dans les villages de Malay chez les écoliers autochtones des districts de Lipis et Raub, dans l'État de Pahang (Malaisie). Sur les 65 échantillons d'eau recueillis, *Blastocystis* spp. a été détecté dans 60 échantillons en culture in vitro (92,3%). Celles-ci étaient 32,3% dans l'eau de rivière, 27,7% d'eau du robinet, 16,9% de réservoirs (eau de pluie) et 15,4% de puits. Parmi les sous-types de *Blastocystis* spp. détectés dans les échantillons d'eau, ST4 était le plus prédominant (80,4%), suivi de ST1 (19,6%). L'étude du gène de l'ARN ribosomal de petite sous-unité (SSU) a montré une identité de séquence nucléotidique à 100% de ST1 trouvé chez les écoliers et dans les échantillons d'eau, confirmant ainsi une transmission hydrique de ce parasite dans la population aborigène (ABDULSALAM, 2013). Ainsi SURESH et al. (2005) ont analysé des eaux usées avant et après traitement en Grande-Bretagne et en Malaisie et montré d'une manière surprenante que 50% des affluents et 28% des effluents contenaient des kystes viables de *Blastocystis* spp. c'est à dire des formes cultivables. Ces données démontrent d'abord l'inefficacité des traitements classiques des eaux usées et la résistance des kystes aux méthodes classiques de traitement des eaux par chlorination et ozonation (MOË et al. 1996). Une étude similaire a été réalisée aux Philippines dans laquelle 23% des affluents et 7% des effluents étaient positifs pour *Blastocystis* spp. (BANATICLA et RIVERA 2011). Les isolats identifiés dans ces derniers échantillons appartenaient aux ST1 et ST2. Or, il faut rappeler que ces mêmes STs sont prédominants dans la population humaine de ce pays (RIVERA et TAN 2005). Il est donc évident que l'absence ou une efficacité limitée des structures de traitement des eaux usées apparait comme une cause majeure de contamination des populations par *Blastocystis*.

Néanmoins, l'incidence ultime des infections parasitaires par des protozoaires d'origine hydrique se produirait dans les pays en développement, en Amérique latine, en Asie et en Afrique, environ 600 millions de personnes vivent dans des habitations non conformes aux normes, 1,1 milliard de personnes n'ont pas accès à de meilleures sources d'approvisionnement en eau et 2,6 milliards de personnes n'ont pas d'accès à des assainissements adéquats (BALDURSSON et KARANIS, 2011). On peut donc s'attendre à des taux de prévalence élevés de maladies infectieuses d'origine hydrique dans les pays en développement, où l'approvisionnement en eau et l'élimination des déchets sont inadéquats (BALDURSSON et KARANIS, 2011). En outre les kystes de *Blastocystis* spp. sont capables de survivre dans l'eau jusqu'à 19 jours à une température normale (MOE et al. 1996), et résistent au chlore utilisé dans le traitement de l'eau de boisson, faisant de l'eau non traitée une source possible de ce parasite (ABDULSALAM et al. 2012). Ainsi, il est important de noter qu'en 2006, *Blastocystis* spp. a été ajouté par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans les protocoles de recherche de parasites pour la vérification de la qualité de l'eau de boisson (WAWRZYNIAK et al. 2013), montrant l'intérêt croissant pour ce parasite vis-à-vis des problèmes de santé publique qui pourraient apparaître. Cependant la faible spécificité d'hôte et la résistance des kystes de *Blastocystis* spp. dans l'eau, ont contribué à la forte prévalence de *Blastocystis* spp. dans certaine région, surtout dans les pays en développement (EL SAFADI et al. 2014).

Dans notre série, la fréquence de *Blastocystis* spp. est significativement plus élevée chez les patients qui sont en contact avec les animaux et les sous-types ST1, ST2, ST3, ST4 et les STs mixtes sont bien corrélées avec la présence de contact avec les animaux. L'exposition aux animaux est une autre cause majeure de contamination des populations. *Blastocystis* spp. se révèle comme un parasite très commun au sein du règne animal. Il a été rapporté chez les mammifères, les oiseaux, les reptiles, les amphibiens et les arthropodes (ABE et al. 2002 ; TAN, 2004 ; STENSVOLD et al. 2009 ; ALFELLANI et al. 2013c). La prévalence du parasite chez ces groupes d'animaux est extrêmement variable selon les enquêtes réalisées, ainsi au cours de ces dernières années, de larges enquêtes épidémiologiques ont été conduites principalement dans des zoos, des parcs naturels ou des élevages afin de clarifier la prévalence et la distribution des différents STs de *Blastocystis* spp. qui peut atteindre des valeurs spectaculaires, comme par exemple, au Japon, elle est de 57,7% (YAMADA et al. 1987) ou de 85% (ABE et al. 2002) dans des groupes de singes, de 100% dans une population d'oiseaux (YAMADA et al. 1987), de 71% chez des bovins, de 95% chez des cochons (ABE et al. 2002) et de 84,6% à 100% selon les espèces d'amphibiens (grenouilles ou crapauds)

(YOSHIKAWA *et al.* 2004a) et de 30,9% des chèvres en Malaisie (TAN *et al.* 2013). Il en est de même pour les animaux domestiques où une prévalence a été observée de 67,3% chez le chat et de 70,8% chez le chien en Australie (DUDA *et al.* 1998), c'est le cas aussi pour 36% des chiens et 37% des chats au Chili (LOPEZ *et al.* 2006) et 28% des chiens errants en Iran (DARYANI *et al.* 2008).

La contamination zoonotique due à la proximité d'animaux a largement été démontrée, et confirmée par des analyses phylogénétiques désignant ainsi la blastocystose comme une zoonose (YOSHIKAWA *et al.* 2004c; NOEL *et al.* 2005). Une étude de prévalence sur les animaux et leurs gardiens, menée au parc zoologique de Perth en Australie, a ainsi mis en évidence une forte contamination des gardiens (63%) en comparaison avec une population contrôle où l'on retrouve seulement 9% de positifs (PARKAR *et al.* 2010). De même, des enfants Népalais étaient infectés par les mêmes isolats de ST2 que ceux des singes vivant à proximité de leurs habitations dans une région où l'eau et les aliments pouvaient être facilement contaminés par les excréments de ces animaux (YOSHIKAWA *et al.* 2009). D'autre part une étude danoise similaire sur des animaux de zoo et leurs gardiens, montre une infection des gardiens par le sous-type 8 (25% positifs), sous-type habituellement rare chez l'homme, et retrouvé dans cette étude chez 21% des primates non humains (STENSVOLD *et al.* 2009). ALFELLANI *et al.* (2013c), ont compilé la plupart des sous-types disponibles et ont constaté que ST1, ST2, ST3 et ST8 sont les plus identifiés chez les primates non humaines et les carnivores comme les chiens et les chats, ST4 chez les rongeurs et les marsupiaux, ST5 chez les Artiodactyles (ex : porcs, moutons, cerfs, bovins et chameaux), ST6 et ST7 sont le plus souvent identifiés chez les oiseaux et le ST9 uniquement identifié chez l'Homme. Tandis que TAN *et al.* (2013) ont identifié le ST1 en prédominance chez les caprins, et ALFELLANI *et al.* (2013c) ont retrouvé le ST5 chez 20 de 47 chameaux en Libye. Ainsi BOUTELLIS *et al.* (2018) en Algérie, ont retrouvés le ST2 chez un chat et ST7 chez une poule. On analyse nos résultats, la présence des sous-types ST1 et ST5 est du probablement à l'activité de l'élevage pastorale qui est très fréquent dans la wilaya de Laghouat, le ST2 est du probablement au contact avec les animaux de compagnie comme les chiens, le ST3 qui est désormais le ST spécifique pour l'Homme est probablement due à une contamination interhumaine, le ST4 et ST7 sont probablement présents suite à une contamination par les rongeurs et les oiseaux. Notons aussi que les sous-types ST1, ST2, ST3 et ST4 sont très fréquemment retrouvés chez l'homme. Une hypothèse de transmission zoonotique reste donc à confirmer par des études moléculaires supplémentaires sur ces groupes d'animaux.

2. CONCLUSION

Blastocystis spp. apparaît aujourd'hui de plus en plus comme un pathogène émergent. En effet, l'apparition de nouvelles méthodes de diagnostic a mis en évidence une forte prévalence de *Blastocystis* spp. dans les populations humaines. L'existence d'isolats résistants aux traitements thérapeutiques, son mode de contamination (oro-fécale) et son potentiel zoonotique facilitent grandement sa dissémination.

A notre connaissance, cette étude est la première du genre en Algérie visant à identifier et déterminer les sous-types de *Blastocystis* spp. ainsi que les facteurs de risque de transmission de *Blastocystis* spp. chez la population humaine. A cet effet 287 patients ont fait l'objet d'une étude transversale dans le but d'identifier *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat, pour cela chaque échantillon a fait l'objet d'un examen microscopique direct, d'une concentration, d'une coloration, et d'une culture in vitro sur deux milieux xéniques. Sur 287 échantillons de selle testés, 92 se sont avérés positifs par *Blastocystis* spp. soit une prévalence de 32,1% ce qui est loin d'être négligeable. Cette prévalence est plus forte dans le groupe d'âge 0-29ans (78,4%), chez les individus vivant en milieu rural (66,3%) et chez les patients consommant l'eau du robinet (77,2%), ainsi plus du tiers de la population porteurs de *Blastocystis* spp. sont en contact étroit avec les animaux (37%).

Les signes cliniques digestifs principalement associé au portage de *Blastocystis* spp. sont les douleurs abdominales, diarrhées et vomissements et sont significativement associé avec la charge parasitaire. Pour ce qui est de la distribution des STs, on note globalement une prédominance du ST1 suivi par ST4, ST2, ST7, ST3 et ST5. En outre, neuf échantillons (30%) ont des sous-types mixtes. La répartition des STs simple et mixte a montré des corrélations significatives entre les STs de *Blastocystis* spp. et le milieu rural, la consommation de l'eau du robinet, le contact avec les animaux et les signes cliniques.

La présente étude suggère également que *Blastocystis* spp. est pathogène au moins dans certaines circonstances et devrait être considéré comme une cause de maladie en l'absence d'autre étiologie. Le milieu rural, la consommation de l'eau du robinet et le contact avec les animaux sont des facteurs de risque à l'infection de *Blastocystis* spp. dans la wilaya de Laghouat. Des mesures d'assainissement plus appropriées et une éducation relative aux mesures d'hygiène individuelle et collective doivent être prises en considération par les autorités sanitaires et la population humaine.

**CONCLUSION
GENERALE ET
PERSPECTIVES**

Les parasitoses intestinales sont largement répandues à travers le monde notamment dans les pays en voie de développement. Elles occasionnent d'énormes problèmes de santé publique, raisons pour lesquelles plusieurs études ont été initiées dans le sens d'une plus grande maîtrise de ces parasitoses, voire même les éradiquer. En effet, l'absence des données sur ces affections dans la région de Laghouat nous a sollicités notre intérêt à étudier d'une part la fréquence des parasitoses intestinales qui interviennent dans l'étiologie des maladies intestinales ainsi d'évaluer toute sorte de corrélation entre la fréquence parasitaire et les paramètres épidémiologiques et cliniques retenus et d'une autre part d'identifier pour la première fois les sous-types de *Blastocystis* spp. issues des souches humaines et déterminer une éventuelle corrélation entre les STs de *Blastocystis* spp. et les facteurs épidémiologiques et cliniques des patients inclus dans cette étude.

Ce travail a concerné l'ensemble de 2277 patients hospitalisés et patients externes représentatifs des deux milieux urbain et rural sur une période de trois ans allant du 03 Mars 2015 au 31 juillet 2018 dans la ville de Laghouat. Chaque échantillon a fait l'objet d'un examen microscopique direct, d'un enrichissement (techniques de Richie et Willis), d'une coloration (MZN) et d'une culture *in vitro* sur deux milieux xénique (Milieu LE et milieu de Jones). Par la suite, 30 échantillons de culture positifs de *Blastocystis* spp. ont été sous-typés.

Des résultats obtenus, il ressort que 33,33% des sujets examinés sont porteurs de un ou plusieurs parasites. C'est essentiellement un parasitisme à protozoaires (97,96%) tandis que les helminthes ne représentent que (2,04%). *Blastocystis* spp. est le parasite le plus fréquemment retrouvé (53,22%), suivi par *Entamoeba histolytica/dispar* (26,35%), *Giardia intestinalis* (12,65%), *Entamoeba coli* (12,38%), *Endolimax nana* (5,27%), *Trichomonas intestinalis* (3,03%), *Enterobius vermicularis* (1,71%), *Cryptosporidium* spp. (0,92%), *Teania saginata* (0,53%) et *Trichuris trichuira* (0,13%). Le monoparasitisme a concerné 85,8% des sujets parasités et le polyparasitisme a été enregistré dans 14,2% des cas parasités.

La fréquence parasitaire est plus fréquente chez le sexe masculin (57,58%) par rapport au sexe féminin (42,42%). Cependant, les adultes se sont apparues beaucoup plus infestés que les enfants (58% vs 42%) et le taux d'infection le plus élevé à été retrouvé dans le groupe d'âge 0-9ans (26%) et qui a diminué progressivement avec l'âge ($p < 0,001$). La distribution de la fréquence des espèces parasitaires est plus observée en milieu rural (53%) qu'en milieu urbain (47%), cette distribution des espèces parasitaires n'a montré aucune association significative entre la fréquence des parasites et le lieu d'habitation ($p > 0,05$). En outre les patients qui consomment l'eau de robinet (58%) et qui sont en contact étroit avec les animaux (66%)

avaient un risque significativement plus élevé d'acquérir l'infection par les parasites intestinaux.

Concernant la biologie moléculaire de *Blastocystis*, le sous-typage de 30 échantillons indiquait une forte fréquence de ST1 (63,3%), suivi par ST4 (23,3%), ST2 (13,3%), ST7 (13,3%), ST3 (10%) et ST5 (6,7%). En outre, neuf échantillons (30%) ont des sous-types mixte, y compris ST1 / ST2 (6,7%), ST1 / ST4 (6,7%), ST1 / ST3 (3,3%), ST1 / ST5 (3,3%), ST2 / ST4 (3,3%), ST2 / ST7 (3,3%) et ST4 / ST5 (3,3%). La répartition des STs simple et mixtes en fonction de profil épidémiologique indique que le ST2, ST4, ST5 et ST7 sont plus identifiés en milieu rural, ST1, ST2, ST3, ST4 et les STs mixtes sont plus identifiés chez les patients qui sont en contact avec les animaux, tandis que tous les STs sauf le ST5 sont plus identifiés chez les patients qui consomment l'eau de robinet.

La symptomatologie clinique a été observée chez 80,4% des sujets parasités et la charge parasitaire (≥ 5 formes de *Blastocystis*/champ x400) est significativement corrélée avec les signes cliniques ($p=0,0001$). Ainsi le ST1 est significativement associé au symptôme clinique. Les douleurs abdominales (39,1%), les diarrhées (6,5%) et les vomissements (6,5%) sont les symptômes les plus fréquemment enregistré.

Les résultats de cette étude mettent en lumière l'importance du péril fécal et suggèrent que *Blastocystis* est un parasite commun chez la population humaine en Algérie, avec des cycles de transmission zoonotiques, hydrique et anthroponotique susceptibles de se produire. Malgré la prévalence importante et l'impact potentiel majeur de *Blastocystis* dans les populations humaine et animale et sa classification par l'OMS dans la liste des parasites d'origine hydrique, la circulation, la biologie moléculaire et l'impact direct sur la santé publique restent encore mal connues en Algérie. A cet effet et comme suite à cette étude, plusieurs pistes de travail peuvent être envisagées comme perspectives :

- Elargissement du champ d'investigation dans d'autres villes en Algérie tout en augmentant le nombre d'échantillons et également une plus grande information sur les facteurs socio-économiques et environnementaux des patients est nécessaire afin d'améliorer notre compréhension sur l'épidémiologie de ce parasite.
- Des études supplémentaires sur des isolats d'animaux sont nécessaires pour une meilleure compréhension du rôle zoonotique du parasite.
- Des études moléculaire sur les sources d'eau potable, sont nécessaires afin de déterminer l'importance de *Blastocystis* en tant que pathogène d'origine hydrique.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. ABDEL-HAFEEZ E.H., AHMAD A.K., ABDELGELIL N.H., ABDELLATIF M.Z.M., KAMAL A.M., HASSANIN K.M.A., ABDEL-RAZIK A.R., ABDEL-RAHEEM E.M (2016). Immunopathological assessments of human *Blastocystis* spp. in experimentally infected immunocompetent and immunosuppressed mice. *Parasitol Res.* 115(5): 2061-2071.
2. ABDULSALAM AM (2013). Molecular epidemiology of *Blastocystis* isolated from Malaysia and Libya. Faculty of medicine University of Malaya Kuala Lumpur. pp. 87-147.
3. ABDULSALAM A, ITHOI I, AL-MEKHLAFI H, AHMED A, SURIN J, MAK J (2012). Drinking water is a significant predictor of *Blastocystis* infection among rural Malaysian primary schoolchildren. *Parasitology.* 139: 1014-1020.
4. ABDULSALAM AM, ITHOI I, AL-MEKHLAFI HM, AL-MEKHLAFI AM, AHMED A, SURIN J (2013) Subtype distribution of *Blastocystis* isolates in Sebha, Libya. *PLoS One* 8 (12): e84372.
5. ABE N, NAGOSHI M, TAKAMI K, SAWANO Y, YOSHIKAWA H (2002). A survey of *Blastocystis* sp. in livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Vet Parasitol.* 106:203–212.
6. ABU-MADI M, BEHNKE JM, DOIPHODE SH (2010). Changing trends in intestinal parasitic infections among long-term-residents and settled immigrants in Qatar. *Parasit Vectors.* 3:98.
7. ABU-MADI M, ALY M, BEHNKE JM, GRAHAM CLARK C, BALKHY H (2015). The distribution of *Blastocystis* subtypes in isolates from Qatar. *Parasites & Vectors* : 8:465.
8. ABUODEH R, EZZEDINE S, SAMIE A, STENSVOLD CR, ELBAKRI A. (2016). Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* in healthy individuals in Sharjah, United Arab Emirates. *Infect Genet Evol.* 37: 158–162.
9. ADAO DEV, RIVERA WL (2018). Recent advances in *Blastocystis* sp. *research. Philippine Science Letters.* 11(1) :39-60.
10. ADOU-BRYN D., KOUASSI M., BROU J., OUHON J., ASSOUMOU A (2001). Prévalence Globale des parasitoses à transmission orale chez les enfants à Toumodi (Cote d'Ivoire). *Médecine Afrique Noire*, 48(10) : 395-397.
11. AGHOLI M, HATAM GR, MOTAZEDIAN MH (2013). HIV/AIDS-associated opportunistic protozoal diarrhea. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 29:35-41.

12. AHMED MA, ALAM-ELDIN YH, ELTAWHEEL NA, ELMORSY S (2015). Intestinal parasites detected during pre-employment stool examination at tertiary health care center in makkah, kingdom of Saudi Arabia. *J Egypt Soc Parasitol.* 45(2): 367–373.
13. AÏT SALEM E H (2014) Place des Amibes et *Blastocystis* spp. chez la population adulte et infantile dans la région Ouest d’Alger. Université ziane achour-Djelfa. pp : 35-67.
14. AJJAMPUR SSR, et TAN KSW (2016). Pathogenic mechanisms in *Blastocystis* spp. interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitology International.* 65: 772–779.
15. AJJAMPUR S.S.R., PNG C.W., CHIA W.N., ZHANG Y., TAN K.S.W (2016). *Ex Vivo* and *In Vivo* Mice Models to Study *Blastocystis* spp. Adhesion, Colonization and Pathology: Closer to Proving Koch’s Postulates. *PloS ONE.* 11(8): e0160458.
16. ALAROU A., BOUREIMA S.D., WELOUSE M (1989). Les parasitoses intestinales de l'enfant à Niamey (Niger). *Annales pédiatr(Paris)* ; 36 (10) : 622-70.
17. ALEXEIEFF A (1910). Sur les kystes de *Trichomonas intestinalis* dans l’intestin des batraciens. *Bull sci France Belg.* 44: 333-356.
18. ALEXEIEFF A (1911). Sur la nature des formations dites kystes de *Trichomonas intestinalis*. *C R Soc Biol.* 71: 296-298.
19. ALFELLANI MA, ABDULRAHMAN DM, KHAN AH, ABOUSAIF AA (2005). Prevalence of intestinal parasites in Sebha, Libya. *Garyounis Med J;* 22:16-21.
20. ALFELLANI MA, KHAN AH, AL-GAZOUI RM, ZAID MK, AL-FERJANI MA (2007). Prevalence and clinical features of *Blastocystis hominis* infection among patients in Sebha, Libya. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 7(1):35–40.
21. ALFELLANI MA, STENSVOLD CR, VIDAL-LAPIEDRA A, ONUOHA ESU, FAGBENRO-BEYIOKU AF, CLARK CG (2013a) Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. *Acta Tropica* 126: 11-18.
22. ALFELLANI MA, JACOB AS, PEREA NO, KRECEK RC, TANER-MULLA D, VERWEIJ JJ, LEVECKE B, TANNICH E, CLARK CG, STENSVOLD CR (2013b). Diversity and distribution of *Blastocystis* sp. subtypes in non-human primates. *Parasitology.* 140 (8): 966–971.
23. ALFELLANI MA, TANER-MULLA D, JACOB AS, IMEEDE CA, YOSHIKAWA H, STENSVOLD CR, CLARK CG (2013c). Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. *Protist.* 164(4):497–509.

24. AMATO NETO V, RODRIGUEZ ALARCON RS, GAKIYA E, FERREIRA CS, BEZERRA RC, DOS SANTOS AG (2004). *Blastocystosis*: a high proportion of cases found in schoolchildren of São Paulo, State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 37(4):354-356.
25. AMIN O (2002). Seasonal prevalence of intestinal parasites in the United States during 2000. *Am J Trop Med Hyg* ; 66:799-803.
26. AMIN O (2006). Epidemiology of *Blastocystis hominis* in the United States. *Res J Parasitol* ; 1:1–10.
27. AMIOUR (2016). Nématodes digestives. pp. 25-29.
28. ANOFEL (2014). Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Parasitologie médicale. Généralités et définitions. UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone. pp. 3-16.
29. ANOFEL (2016). Campus de Parasitologie-Mycologie - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Taeniasis et Cysticercose. pp. 1-3.
30. ANUAR TS, GHANI MK, AZREEN SN, SALLEH FM, MOKTAR N (2013). *Blastocystis* infection in Malaysia: Evidence of waterborne and human-to-human transmissions among the Proto- Malay, Negrito and Senoi tribes of Orang Asli. *Parasit Vectors.* 6:40.
31. ARISUE N, HASHIMOTO T, YOSHIKAWA H (2003). Sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA genes among *Blastocystis* isolates. *Parasitology.* 126:1–9.
32. AYADI A., MAHFOUDH A., MAHJOUR F (1991). Parasitoses intestinales chez l'enfant : Bilan de 2 ans dans le Centre Hospitalo-Universitaire de Sfax. *Médecine d'Afrique Noire* ; 38 : 557-60.
33. BABA O.A.S.C., AMINETOU B.M, BA O., MOUHAMEDOU K., ELHDI D., SAMBAD H., OULD ABDALLAHI M. (2012). Prévalence des parasitoses intestinales chez les écoliers dans les Wilayas du Gorgol, Guidimagha et Brakna (Mauritanie). *Rev Fr Lab*; 2012 :75-78.
34. BACHTA E., ZENAÏDI N., BELKAÏD M., TABET DERRAZ O., BOUDHANE L. (1990). Bilan des parasitoses intestinales rencontrées dans l'Algérois (années 1984-1988). *Bulletin de la société de pathologie exotique et de ses filiales* 83 (4) : 510-516.
35. BAGGIOLINI, M., LOETSCHER, P., MOSER, B (1995). Interleukin-8 and the chemokine family. *Int J Immunopharmacol.* 17: 103-108.

36. BALDURSSON S., et KARANIS P (2011). Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks An update 2004-2010. *Water research* 45; 6603-6614.
37. BANATICLA JE, RIVERA WL (2011). Detection and subtype identification of *Blastocystis* isolates from wastewater samples in the Philippines. *J Water Health*. 9: 128-137.
38. BARRET HP (1921). A method for the cultivation of *Blastocystis*. *Ann Trop Med Parasitol*. 15: 113-116.
39. BART A, WENTINK-BONNEMA EMS, GILIS H, VERHAAR N, WASSENAAR CJ, VUGT M, GOORHUIS A, VAN GOOL T (2013). Diagnosis and subtype analysis of *Blastocystis* sp. in 442 patients in a hospital setting in the Netherlands. *BMC Infect Dis*. 13: 389.
40. BATISTA MW, PIERROTTI LC, ABDALA E, CLEMENTE WT, GIRAO ES, ROSA DRT, IANHEZ LE, BONAZZI PR, LIMA AS, FERNANDES PFCBC, PADUA-NETO MV, BACCHELLA T, OLIVEIRA APP, VIANA CFG, FERREIRA MS, SHIKANAI-YASUDA MA (2011). Endemic and opportunistic infections in Brazilian solid organ transplant recipients. *Trop Med Int Health*. 16:1134–1142.
41. BECKER SL, LOHOURIGNON LK, SPEICH B, RINALDI L, KNOPP S, N'GORAN EK, CRINGOLI G, UTZINGER J. (2011). Comparison of the Flotac-400 dual technique and the formalin-ether concentration technique for diagnosis of human intestinal protozoon infection. *J Clin Microbiol*. 49:2183–2190.
42. BELHAMRI N (2015). Profil épidémiologique des parasitoses intestinales au service de Parasitologie Mycologie à l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. Université Cadi Ayyadi, Marrakech. pp. 8-35.
43. BELKESSA S (2014) Place de *Giardia intestinalis* et de *Cryptosporidium* sp. Parmi les protozoaires intestinaux retrouvés chez l'enfant et l'adulte au CHU Beni-Messous d'Alger. Université ziane achour-Djelfa. pp : 71-95.
44. BEN ABDA I, MAATOUG N, BEN ROMDHANE R, BOUHELMI N, ZALLEGUA N, AOUN K, VISCOGLIOSI E, BOURATBINE A (2017) Prevalence and Subtype Identification of *Blastocystis* sp. in Healthy Individuals in the Tunis Area, Tunisia. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 96 (1): 202-204.
45. BENOUIS A (2012). Etude épidémiologique des parasitoses intestinales humaines dans la région d'Oran. Apport de techniques complémentaires à l'examen

- coprologique direct pour la confirmation du diagnostic. Université d'Oran. Faculté des sciences. pp. 3-48.
46. BENZALIM M (2010). Dépistage des parasites intestinaux chez les enfants consultant a l'hôpital de jour de pédiatrie au CHU MED VI à Marrakech. Université de Cadi Ayyad, Marrakech ; 62 : 9-45.
47. BEYHAN YE, YILMAZ H, CENGIZ ZT, EKICI A (2015). Clinical significance and prevalence of *Blastocystis hominis* in Van, Turkey. *Saudi Med J*; 36 (9) :1118-1121.
48. BEYLES N (2011). Diagnostic sérologique de l'amibiase à *Entamoeba histolytica* : validation d'un nouveau test ELISA au CHU de Grenoble. Université Joseph Fourier Faculté De Pharmacie De Grenoble. pp. 15-30.
49. BOECK WC, DRBOHLAV J (1925). The cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 11: 235-238.
50. BOREHAM PF, STENZEL DJ (1993). *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology, and epizootiology. *Adv Parasitol*. 32: 1-70.
51. BORIES J (2014). *Blastocystis Sp.* Dans L'espece Canine. Université Claude-Bernard - Lyon I. pp : 12-55.
52. BOURATBINE A., AOUN K., SIALA E., CHAHED M.K., BEN HASSINE L., MEHERZI A (2000). Pour une meilleure estimation de la prévalence du parasitisme intestinal dans la région de Tunis. *Bull Soc Pathol Exot*, 93 (5): 353-355.
53. BOUREE P (2007). *Blastocystis* : commensal ou pathogène? Étude de 590 cas et revue de la littérature. *Antibiotiques*. 9:20-24.
54. BOURDAIS-MASSNET D (2008). Étude de la prévalence de la Cryptosporidiose en élevage canin. École Nationale Vétérinaire D'alfort. pp. 13-15.
55. BOUTELLIS A, BELALOU LL, BENMOUHOUH H, AISSI M, HARHOURA K, KERNIF T, DRALI R (2018). First Characterisation of *Blastocystis* Subtypes in Different Animal Stool Samples in Algeria. 1st International conference on food, agriculture and animal sciences ICOFAAS. pp. 180.
56. BOUZID M., STEVERDING D., TYLER K.M (2008). Detection and surveillance of waterborne protozoan parasites. *Curr Opin Biotechnol*. doi:10.1016/j.copbio.2008.05.002.
57. BROOKE M.M., et MELVIN D. M (2001). Morphology of Diagnostic stages of Intestinal parasites of humans. Division of Laboratory Training and Consultation Laboratory Program Office. (CDC) 89-8116.

58. BRUCE A, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P (2009). *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science.
59. BUCHY P (2002). Les parasitoses digestives dans la région de Mahajanga, côte Ouest de Madagascar. *Santé publique* ; 2455.
60. CALDERARO A, MONTECCHINI S, ROSSI S, GORRINI C, DE CONTO F, MEDICI MC, CHEZZI C, ARCANGELETTI MC (2014). Intestinal parasitoses in a tertiary-care hospital located in a nonendemic setting during 2006-2010. *BMC Infect Dis*. 14: 264.
61. CANETE R, DIAZ M, AVALOS GARCIA R, LAUD MARTINEZ P, MANUEL PONCE F (2012). Intestinal parasites in children from a day care centre in Matanzas City, Cuba. *PLoS One*. 7: e51394.
62. CANTACESSI C., GIACOMIN P., CROESE J., ZAKRZEWSKI M., SOTILLO J., MCCANN L., NOLAN M.J., MITREVA M., KRAUSE L., LOUKAS A (2019). Impact of Experimental Hookworm Infection on the Human Gut Microbiota. *The Journal of Infectious Diseases*; 210:1431–4.
63. CARBAJAL JA, DEL CASTILLO L, LANUZA MD, VILLAR J, BORRAS R (1997). Karyotypic diversity among *Blastocystis hominis* isolates. *Int J Parasitol*. 27: 941–945.
64. CASSIDY MF, STENZEL DJ, BOREHAM PFL (1994). Electron microscopy of surface structures of *Blastocystis* sp. from different hosts. *Parasitol Res*. 80:505–511.
65. CAVALIER-SMITH T (1986). The kingdoms Chromista: origin and systematics. *Progress in Physiological Research*. *Biopress Ltd*. 4: 366-369.
66. CAVALIER-SMITH T (1987) Eukaryotes with no mitochondria. *Nature* 326: 332-333.
67. CENTENO-LIMA S, ROSADO-MARQUES V, FERREIRA F, RODRIGUES R, INDEQUE B, CAMARÁ I, SOUSA BD, AGUIAR P, NUNES B, FERRINHO P (2013). *Giardia Duodenalis* and Chronic Malnutrition in Children under Five from a Rural Area of Guinea-Bissau. *Acta Med Port*. 26(6):721-724.
68. CERTAD G (2008). De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive. Université de Droit et Santé de Lille 2, pp. 19-35.

69. CHABAA L, TLIGUI H, KHALLOUFI A, ALAOUI AS, AGOUMI A (2000). *Blastocystis hominis* : étude de la prévalence dans des populations marocaines. *Maroc Médical* : 22(3).
70. CHAMPETIER G.D.R., FLINÉ M., DESORMEAUX A.M., EYMA E., MONTAGUT P., CHAMPAGNE C., PIERRE J., PAPE J.W., RACCURT C.P (2005). Helminthoses intestinales en milieu scolaire en Haïti en 2002. *Bull Soc Pathol Exot*, 98, 2, 127-132.
71. CHEIKHROUHOU F., TRABELSI H., SELLAMI H., MAKNI F., AYADI A (2009). Parasitoses intestinales dans la région de sfax (sud tunisien) : étude rétrospective digestive parasites in Sfax (South of Tunisia) : a retrospective study. *Rev Tun Infectiol*; 3 :14-18.
72. CHEN XQ, SINGH M, HO LC, MOE KT, TAN SW, YAP EH (1997). A survey of *Blastocystis* sp. in rodents. *Lab Anim Sci*. 47:91–94.
73. CHOUDHURI G, RANGAN M (2012). Amebic infection in humans. *Indian J Gastroenterol* ; 31:153–62.
74. CIAN A (2016). Epidémiologie, circulation, colonisation du parasite entérique unicellulaire *Blastocystis* sp.. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II. pp : 4-23.
75. CLARK CG (1997). Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol Biochem Parasitol*. 87:79–83.
76. CLARK CG, ZAKI M, ALI IKM (2002). Genetic diversity in *Entamoeba histolytica*; *J. Biosci.* (3) 27 603–607.
77. COMBES C (1995). Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme. Ed. Masson, Paris.
78. COSKUN A, MALATYALI E, ERTABAKLAR H, YASAR MB, KARAOGLU AO, ERTUG S (2016). *Blastocystis* in ulcerative colitis patients: Genetic diversity and analysis of laboratory findings. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 9(9): 916–919.
79. COUDERT P, DREYFUSS G (2010). Biologie et cycles parasitaires. *Actualités Pharmaceutiques*. 49: 18-22.
80. COYLE CM, VARUGHESE J, WEISS LM, TANOWITZ HB (2012). *Blastocystis*: to treat or not to treat. *Clin Infect Dis*. 54: 105-10.

81. CRUZ LICEA V, PLANCARTE CRESPO A, MORAN ÁLVAREZ C, VALENCIA ROJAS S, RODRIGUEZ SASNCHEZ G, VEGA FRANCO L (2003). *Blastocystis hominis* among food vendors in xochimilco markets. *Rev Latinoam Microbiol.* 45:12–5.
82. DACAL E, SAUGAR JM, DE LUCIO A, HERNÁNDEZ-DE-MINGO M, ROBINSON E, KÖSTER PC, AZNAR-RUIZ-DE-ALEGRÍA ML, ESPASA M, NINDA A, GANDASEGUI J, SULLEIRO E, MORENO M, SALVADOR F, MOLINA I, RODRÍGUEZ E, CARMENA D (2018) Prevalence and molecular characterization of *Strongyloides stercoralis*, *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Blastocystis* spp. isolates in school children in Cubal, Western Angola. *Parasites & Vectors* 11: 67.
83. DAGCI H, KURT Ö, DEMIREL M, MANDIRACIOGLU A, AYDEMIR S, SAZ U, BART A, VAN GOOL T (2014). Epidemiological and Diagnostic Features of *Blastocystis* Infection in Symptomatic Patients in Izmir Province, Turkey. *Iranian J Parasitol.* 9(4): 519-529.
84. DECOCK C (2002). Essai de traitement de la Giardiose canine par le Febantel, le Fenbendazole, L'Oxfendazole et le Metronidazole. TOU 3 – 4177. pp. 16-19.
85. D'ALFONSO R, SANTORO M, ESSI D, MONSIA A, KABORE Y, GLE C, DI CAVE D, SORGE RP, DI CRISTANZIANO V, BERRILLI F (2017). *Blastocystis* in Côte d'Ivoire: molecular identification and epidemiological data. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 36:2243-2250.
86. DARYANI A, SHARIF M, AMOUEI A (2008). *Blastocystis* sp. a neglected zoonotic protozoan. *Proc.ASEAN Congr.Trop.Med.Parasitol.* 3:59-62.
87. DELTOUR A. P (2000). Etude du parasitisme digestif des bovins et du porc dans le Guangxi, Chine. Ecole national vétérinaire, d'Alfort. pp. 11-15.
88. DIB JR, FERNANDEZ-ZENOFF MV, OQUILLA J, LAZARTE S, GONZALEZ SN (2015). Prevalence of intestinal parasitic infection among children from a shanty town in Tucuman, Argentina. *Trop Biomed.* 32(2): 210–215.
89. Direction de la Planification et de L'aménagement du Territoire D.P.A.T. (2010). Monographie De la wilaya de Djelfa Année 2010.
90. Direction de Programmation et Suivi du Budget D.P.S.B. (2012). Monographie de la wilaya de Laghouat Edition 2011.

91. DOGAN N, AYDIN M, TUZEMEN NU, DINLEYICI EC, OGUZ I, DOGRUMAN-AL F (2017). Subtype distribution of *Blastocystis* spp. isolated from children in Eskisehir, Turkey. *Parasitology International* 66 ; 948–951.
92. DOGRUMAN-AL F, DAGCI H, YOSHIKAWA H, KURT O, DEMIREL M (2008). A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 103: 685-689.
93. DOGRUMAN-AL F, YOSHIKAWA H, KUSTIMUR S, BALABAN N (2009a) PCR-based subtyping of *Blastocystis* isolates from symptomatic and asymptomatic individuals in a major hospital in Ankara, Turkey. *Parasitol Res* 106:263-268.
94. DOGRUMAN-AL F, KUSTIMUR S, YOSHIKAWA H, TUNCER C, SIMSEK Z, TANYUKSEL M, ARAZ E, BOOROM K (2009b) *Blastocystis* subtypes in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in Ankara, Turkey. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104:724–727.
95. DOGRUMAN-AL F, TURK S, ADIYAMAN-KORKMAZ G, HANANEL A, LEVI L, KOPELOWITZ J, BABAI O, GROSS S, GREENBERG Z, HERSCHKOVITZ Y, MUMCUOGLU I (2015). A novel ELISA test for laboratory diagnosis of *Blastocystis* spp. in human stool specimens. *Parasitol Res.* 114:495–500.
96. DOMINGUEZ-MARQUEZ MV, GUNA R, MUÑOZ C, GOMEZ-MUÑOZ MT, BORRAS R (2009). High prevalence of subtype 4 among isolates of *Blastocystis hominis* from symptomatic patients of a health district of Valencia (Spain). *Parasitol Res.* 105:949-955.
97. DUDA A, STENZEL DJ, BOREHAM PF (1998). Detection of *Blastocystis* sp. in domestic dogs and cats. *Vet Parasitol.* 76:9–17.
98. DUNN LA, BOREHAM PFL, STENZEL DJ (1989). Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *Int J Parasitol.* 19:43–56.
100. DUPOUY-CAMET J (2000). Classification et mode de transmission des parasites. EMC- Maladie infectieuse, 8-000-D-10: 5.
101. DURAND F. PINCHART B. PELOUX H (2004). Parasitoses digestives : lambliaze, taeniasis, ascaridiose, oxyurose, amibiases et hydatidoses. Campus médical Grenoble. pp. 13.
102. EASSA SM, ALI HS, EL MASRY SA, ABD EL-FATTAH AH (2016). *Blastocystis hominis* among Immunocompromised and Immunocompetent Children in Alexandria, Egypt. *Annals of Clinical and Laboratory Research* ; 4(2) :92.

103. EL DEEB HK, KHODEER S (2013) *Blastocystis* spp.: Frequency and subtype distribution in iron deficiency anemic versus non-anemic subjects from Egypt. *J Parasitol* 99:599-602.
104. EL-FADELI S., BOUHOUCHE R., LAHROUNI M., CHABAA L., ASMAMA S., FDIL N., ROOTZ A., ABOUSAAD A., ZIMMERMANN M., SEDKI A (2015). La prévalence des parasites intestinaux chez les enfants d'âge scolaire dans une région rurale de Marrakech-Maroc. *International Journal of Innovation and Scientific Research*; 19(2): 229-234.
105. EL GUAMRI Y, BELGHYTI D, ACHICHA A, TIABI M, AUJJAR N, BARKIA A, EL-FELLAHI E., MOUSAHEL R., BOUACHRA H., LAKHAL A (2009). Enquête épidémiologique rétrospective sur les parasitoses intestinales au Centre hospitalier provincial El Idrissi (Kénitra, Maroc) : bilan de 10 ans (1996-2005). *Ann Biol Clin* ; 67(2) : 191-202.
106. EL-MARHOUMY SM, EL-NOUBY KA, SHOHEIB ZS, SALAMA AM (2015). Prevalence and diagnostic approach for a neglected protozoon *Blastocystis hominis*. *Asian Pac J Trop Dis*. 5(1): 51-59.
107. EL QAJ M., BELGHYTI D., AHAMI A., LOUTFI H., ELKHARRIM K., TABOZ Y (2009). Prévalence des parasitoses intestinales chez les écoliers en milieu rural Kenitra – Maroc. *World J Biol Res* ; 2: 1-6.
108. EL SAFADI D, MELONI D, POIRIER P, OSMAN M, CIAN A, GAAYEB L, WAWRZYNIAK I, DELBAC F, EL ALAOUI H, DELHAES L, DEI-CAS E, MALLAT H, DABBOUSSI F, HAMZE M, VISCOGLIOSI E (2013). Short Report: Molecular Epidemiology of *Blastocystis* in Lebanon and Correlation between Subtype 1 and Gastrointestinal Symptoms. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 88(6): 1203–1206.
109. EL SAFADI D (2014). Epidémiologie moléculaire, facteurs de risque de transmission et pathogénicité du protiste parasite *Blastocystis* sp. Université du Droit et de la Santé - Lille II. pp : 03-40.
110. EL SAFADI D, GAYEEB L, MELONI D, CIAN A, POIRIER P, WAWRZYNIAK I, DELBAC F, DABBOUSSI F, DELHAES L, SECK M, HAMZE M, RIVEAU G, VISCOGLIOSI E (2014) Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed Worldwide. *BMC Infect. Dis* 14: 164.

111. EL SAFADI D, CIAN A, NOURRISSON C, PEREIRA B, MORELLE C, BASTIEN P, BELLANGER AP, BOTTEREL B, CANDOLFI E, DESOUBEAUX G, LACHAUD L, MORIO F, POMARES C, RABODONIRINA M, WAWRZYNIAK I, DELBAC F, GANTOIS N, CERTAD G, DELHAES L, POIRIER P, VISCOGLIOSI E (2016). Prevalence, risk factors for infection and subtype distribution of the intestinal parasite *Blastocystis* from a large-scale multicenter study in France. *BMC Infect Dis* 16(1):451.
112. EL-TAHIRI F (2008). Oxyurose et hyper éosinophilie chez l'enfant hospitalisé à l'hôpital d'enfants de CHU de Rabat. pp. 6-13.
113. ELWAKIL HS, HEWEDI IH (2010). Pathogenic potential of *Blastocystis hominis* in laboratory mice. *Parasitol Res.* 107: 685-689.
114. ERLANDSEN SL, MACECHKO PT, VAN KEULEN H, JARROLL EL (1996). Formation of the Giardia cyst wall: studies on extracellular assembly using immunogold labeling and high resolution field emission SEM. *J Eukaryot Microbiol.* 43(5):416-29.
115. EROGLU F, GENÇ A, ELGÜN G, KOLTAS IS (2009). Identification of *Blastocystis hominis* isolates from asymptomatic and symptomatic patients by PCR. *Parasitol Res.* 105:1589–1592.
116. EROGLU F, KOLTAS IS (2010). Evaluation of the transmission mode of *B. hominis* by using PCR method. *Parasitol Res.* 107: 841-845.
117. ESSID R., MOUSLI M., AOUN K., ABDELMALEK R., MELLOULI F., KANOUN F., DEROUIN F., BOURTBINE A (2008). Identification of Cryptosporidiosis species infecting humans in Tunisia, *Am.J.trop.med.hyg.* 79(5), 702-705.
118. FABIAN, I., KLETTER, Y., MOR, S., GELLER-BERNSTEIN, C., BEN-YAAKOV, M., VOLOVITZ, B., GOLDE, D.W (1992). Activation of human eosinophil and neutrophil functions by haematopoietic growth factors: comparisons of IL-1, IL-3, IL-5 and GM-CSF. *Br J Haematol* 80, 137-143.
119. FARGHALY A, HAMZA RS, ABD EL-AAL NF, METWALLY S, FARAG SM (2017). Prevalence, risk factors and comparative diagnostic Study between immunofluorescence assay and Ordinary staining techniques in detection of *Blastocystis hominis* in fecal samples. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* (JESP). 47(3): 701–708.

- 120.FAYE O, N'DIR O, GAYE O, DIENG TH, BAH IB (1997). Giardiasis among child: Morbidity risk factors in Dakar urban environment. *Med Afr Noire* ; 44:531–535.
- 121.FAYER R (1997). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokio. In Certad G (2008). De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive. Université de Droit et Santé de Lille 2, pp. 19-35.
- 122.FAYER R, SANTIN M, MACARISIN D (2012). Detection of concurrent infection of dairy cattle with *Blastocystis*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Enterocytozoon* by molecular and microscopic methods. *Parasitol Res.* 111: 1349–1355.
- 123.FENG Y, ET XIAO L (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, 24, 110-40.
- 124.FORSELL J, GRANLUND M, SAMUELSSON L, KOSKINIEMI S, EDEBRO H, EVENGÅRD B (2016). High occurrence of *Blastocystis* sp. Subtypes 1–3 and *Giardia intestinalis* assemblage B among patients in Zanzibar, Tanzania. *Parasites & Vectors* 9: 370.
- 125.FOUAD SA, BASYONI MM, FAHMY RA, KOBASI MH (2011). The pathogenic role of different *Blastocystis hominis* genotypes isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Arab J Gastroenterol* 12:194-200.
- 126.FRÉALLE E, EL SAFADI D, CIAN A, AUBRY E, CERTAD G, OSMAN M, WACRENIER A, DUTOIT E, CREUSY C, DUBOS F, VISCOGLIOSI E (2014). *Blastocystis* infection in Casablanca (Morocco) resulting in gastroenteritis and suppurative appendicitis with peritonitis in a 9-year-old child. *Emerging Infectious Disease.* 21: 91-94.
- 127.GAUDIOT C (2000). Contamination parasitaire chez l'homme par l'alimentation. Université Henry Poincaré - Nancy 1. pp. 31-40.
- 128.GARDIEN E., SCHLEGEL L., DESBOIS N., CHOUT R (1997). Prévalence des parasitoses intestinales dans les laboratoires publics de Martinique : évolution de 1988 à 1995. *Parasitologie* : 1819.
- 129.GEFFROY CA (2014). L'Oxyurose : des animaux de compagnie à l'homme?. Enquête auprès des 103 familles de la région de Rhône-Alpes. Université Claude Bernard- Lyon. pp. 30-47.
- 130.GOLVAN YJ (1987). *Éléments de Parasitologie médicale* 2^e édition Paris, Masson, pp. 273.

131. GONZÁLEZ-MORENO O., DOMINGO L., TEIXIDOR J., GRACENEA M (2011). Prevalence and associated factors of intestinal parasitisation: a cross-sectional study among outpatients with gastrointestinal symptoms in Catalonia, Spain. *Parasitol Res*; 108:87-93.
132. GOSLING PJ (2005). Dictionary of parasitology. Ed Taylor & Francis, London. pp. 394.
133. GUPTA R AND PARSI K (2006). Chronic urticaria due to *Blastocystis hominis*. *Australas J Dermatol*. 47: 117-119.
134. GUILLAUME V (2007). Parasitologie, fiches pratiques (Autoévaluation et Manipulation). Edition de boeck et Laciers. pp. 188.
135. HADJ MOHAMMED Z., et MOHAMMEDI A (2017). Etude de la prévalence des parasitoses intestinales chez l'enfant diagnostique au sein du laboratoire de parasitologie-Mycologie Médicales Du CHU De Tlemcen. Département de pharmacie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. pp. 4-117.
136. HAGHIGHI A, SALIMI A, NAZEMALHOSSEINI M, KAZEMI B, ROSTAMI NEJAD M, RASTI S (2009). Frequency of enteric protozoan parasites among patients with gastrointestinal complaints in medical centers of Zahedan, Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 103: 452–454.
137. HAKIM L, GAN C, MALKIT K, NOOR AZIAN M, CHONG C, SHAARI N, ZAINUDDIN W, CHIN CN, SARA Y, LYE MS (2007). Parasitic infections among Orang Asli (Aborigine) in the Cameron Hilands, Malaysia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38 (3), 415-419.
138. HAMEED DM et HASSANIN OM (2011). Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitol Res*. 108:553–560.
139. HAMEED DM, HASSANIN OM, ZUEL-FAKKA, NM (2010). Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitol Res*. 108: 553-560.
140. HAMMOOD AM, AHMED BA, SALMAN YJ (2016). *Blastocystis hominis* Detection among Gastrointestinal Disorders' Patients in Kirkuk Province Using Three Different Laboratory Methods. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 5(7): 883-901.
141. HASSEN AMER O, ASHANKYTY IM, HAOUAS NAS (2016). Prevalence of intestinal parasite infections among patients in local public hospitals of Hail, Northwestern Saudi Arabia. *Asian Pac J Trop Med*. 9(1): 44–48.

- 142.HAYES K.S., BANCROFT A.J., GOLDRICK M., PORTSMOUTH C., ROBERTS I.S., GRENCIS R.K (2012). Exploitation of the Intestinal Microflora by the Parasitic Nematode *Trichuris muris*. *Europe PMC Funders Group*; 328(5984): 1391–1394.
- 143.HENRIKSEN S. A. ET POHLENZ J. F. L (1981). Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique, *Acta. Vet. Scand.* Vol. 22: 594-596.
- 144.HERBINGER KH, FLEISCHMANN E, WEBER C, PERONA P, LOSCHER T, BRETZEL G (2011). Epidemiological, clinical, and diagnostic data on intestinal infections with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* among returning travelers. *Infection.* 39:527–535.
- 145.HERZOG S (2002). Etude épidémiologique de la Giardiose en élevage canin essai de traitement au fenbendazole. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. pp.11-19.
- 146.HERMINEAUD B (2011). Developpement D'une Per Conventionnelle Pour Le Genotypage De *Blastocystis* Spp. Dans Les Selles : Approche Epidemiologique Et Clinico-Biologique Par Une Etude Prospective Au Chu De Bordeaux. Faculté de pharmacie, Université de Limonge. pp. 47-49.
- 147.HO LC, JEYASEELAN K, SINGH M (2001). Use of the elongation factor-1 α gene in a polymerase chain reaction-based restriction-fragment-length polymorphism analysis of genetic heterogeneity among *Blastocystis* species. *Mol Biochem Parasitol.* 112:287–291.
- 148.HO LC, SINGH M, SURESH G, NG GC, YAP EH (1993). Axenic culture of *Blastocystis hominis* in Iscove's modified Dulbecco's medium. *Parasitol Res.* 79: 614-616.
- 149.HUSSEIN EM, HUSSEIN AM, EIDA MM, ATWA MM (2008). Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol Res.* 102: 853-860.
- 150.IGUCHI A, EBISU A, NAGATA S, SAITOU Y, YOSHIKAWA H, IWATANI S, KIMATA I (2007). Infectivity of different genotypes of human *Blastocystis hominis* isolates in chickens and rats. *Parasitol Int.* 56: 107-112.
- 151.INIT I, MAK JW, LOKMAN HAKIM S, YONG HS (1999). Strain differences in *Blastocystis* isolates as detected by a single set of polymerase chain reaction primers. *Parasitol Res.* 85: 131-134.

- 152.INIT I, FOEAD AL, FONG MY, YAMAZAKI H, ROHELA M, YONG HS, MAK JW (2007). Restriction enzyme digestion analysis of PCR-amplified DNA of *Blastocystis hominis* isolates. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 38:991-997.
- 153.ISAAC-RENTON J.L., CORDEIRO C., SARAFIS K., SHAHRIARI H (1993). Characterisation of *Giardia duodenalis* isolates from a waterborne outbreak. *J Infect Dis*; 167:431-440.
- 154.ITHOI I, JALI A, MAK JW, WAN SULAIMAN WY, MAHMUD R (2011). Occurrence of *Blastocystis* in water of two rivers from recreational areas in Malaysia. *J Parasitol Res*. 2011:123916.
- 155.JANTERMTOR S, PINLAOR P, SAWADPANICH K, PINLAOR S, SANGKA A, WILAILUCKANA C, WONGSENA W, YOSHIKAWA H (2013). Subtype identification of *Blastocystis* spp. isolated from patients in a major hospital in Northeastern Thailand. *Parasitol Res*. 112: 1781-1786.
- 156.JOHNSON AM, THANOU A, BOREHAM PF, BAVERSTOCK PR (1989). *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. *Exp Parasitol*. 68: 283-288.
- 157.JONES WR (1946). The experimental infection of rats with *Entamoeba histolytica* with a method for evaluating the anti-amoebic properties of new compounds. *Ann Trop Med Parasitol*. 40: 130–140.
- 158.JONES M, 2ND, GANAC R, HISER G, HUDSON N, LE A, WHIPPS C (2008). Detection of *Blastocystis* from stool samples using real-time PCR. *Parasitol Res*. 103: 551-557.
- 159.JONES MS, WHIPPS CM, GANAC RD, HUDSON NR, BOOROM K (2009). Association of *Blastocystis* subtype 3 and 1 with patients from an Oregon community presenting with chronic gastrointestinal illness. *Parasitol Res*. 104:341-345.
- 160.KA R., DIA N.M., DIA M.L., TINE D., DIAGNE R.D., DIOP S.A., DIENG Y., SOW A.I (2011). Etiologies bactériennes et parasitaires de diarrhées chez les personnes vivants avec le VIH/SIDA au cHNU de Fann (Sénégal). Parasitic and bacterial etiologies of diarrhoea among people living with HIV/SIDA in Fann hospital (Senegal). *Mali Médicale* ; 1(26) : 7-11.
- 161.KANEDA Y, HORIKI N, CHENG XJ, TACHIBANA H, TSUTSUMI Y (2000). Serologic Response to *Blastocystis hominis* Infection in Asymptomatic Individuals. *Tokai J Exp Clin Med*. 25(2): 51-56.

- 162.KARADAG G, TAMER GS, DERVISOGLU E (2013). Investigation of intestinal parasites in dialysis patients. *Saudi Med J.* 34:714-718.
- 163.KASMI H., et SAIDOUNI A (2016). Etude de la prévalence des protozooses intestinales diagnostiquées au sein du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Tlemcen. Département de pharmacie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. pp. 3-73.
- 164.KHADEM VATAN S, MASJEDIZADEH R, YOUSEFI-RAZIN E, MAHBODFAR H, RAHIM F, YOUSEFI E, FOROUTAN M (2018). PCR-based molecular characterization of *Blastocystis hominis* subtypes in southwest of Iran. *Journal of Infection and Public Health.* 11: 43–47.
- 165.KHALIFA AM, EL TEMSAHY MM, ABOU EL NAGA IF (2001). Effect of ozone on the viability of some protozoa in drinking water. *J Egypt Soc Parasitol.* 31: 603–616.
- 166.KHOSHNOOD S, RAFIEI A, SAKI J, ALIZADEH K (2015). Prevalence and Genotype Characterization of *Blastocystis hominis* Among the Baghmalek People in Southwestern Iran in 2013 - 2014. *Jundishapur J Microbiol.* 8(10): e23930.
- 167.KIENTEGA T (2015). Parasitoses intestinales en milieu scolaire et détection de *Giardia intestinalis* par PCR en temps Réel au Burkina Faso (BF). Université de Ouagadougou, unité de formation et de recherche science de la vie et de la terre. pp. 4-46.
- 168.KIM B.J., OCK M.S., CHUNG O.I., YOUNG T.S., LEE K.J (2003). The intestinal parasite infection status of inhabitants in the Roxas city, the Philippines. *Korean J Parasitol. Jun;* 41(2) 113-5.
- 169.KOLOREN Z, GULABI BB, KARANIS P (2018). Molecular identification of *Blastocystis* sp. subtypes in water samples collected from Black sea, Turkey. *Acta Tropica* 180 :58–68.
- 170.KÖNIG G, MÜLLER HE (1997). *Blastocystis hominis* in animals: incidence of four serogroups. *Zbl. Bakt.* 286, 435–440.
- 171.KOSTOINGUE B, TIDJANI MT, MBAIDEJI F, ALIO HM (2002). Prevalence of intestinal parasitosis in children from 0 to 5 years old in N'Djamena Town. *Med Afr Noire.* 49:533–536.
- 172.KRAJAEJUN T, SATHAPATAYAVONGS B, PRACHARKTAM R, NITIYANANT P, LEELACHAIKUL P, WANACHIWANAWIN W (2006). Clinical

- and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. *Clin Infect Dis.* 43:569-76.
- 173.KREISINGER J., BASTIEN G., HAUFFE H.C., MARCHESI J., PERKINS S.E (2015). Interactions between multiple helminthes and the gut microbiota in wild rodents. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140295.
- 174.KUMARASAMY V, ROSLANI AC, RANI KU, KUMAR GOVIND S (2014). Advantage of using colonic washouts for *Blastocystis* detection in colorectal cancer patients. *Parasit Vectors.* 3(7):162.
- 175.LAAMRANI EL IDRISSE A., LYAGOUBI M., BARKIA A., AYUJIL M., MAHJOUR J (1999). Prévalence des parasitoses intestinales au niveau de trois provinces au Maroc. *La revue de la santé de la méditerranée orientale* ; 5(1) : 86-102.
- 176.LACHASSINE E (1996). Parasitoses intestinales cosmopolites de l'enfant. *Pédiatrie au Quotidien.* Maloine, 2è édition : 67-70.
- 177.LANUZA MD, CARBAJAL JA, BORRAS R (1996). Identification of surface coat carbohydrates in *Blastocystis hominis* by lectin probes. *Int J Parasitol.* 26:527–532.
- 178.LANUZA MD, CARBAJAL JA, VILLAR J, BORRAS R (1997). Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenization. *Parasitol Res.* 83:60–63.
- 179.LE-BAILLY M (2005). Evolution de la relation hôte/parasite dans les systèmes lacustres nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de *Protozoa*. Université de Reims Champagne-Ardenne. pp. 88-89.
- 180.LEDER K, HELLARD ME, SINCLAIR MI, FAIRLEY CK, WOLFE R (2005). No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 20:1390–1394.
- 181.LEE IL, TAN TC, TAN PC, NANTHINEY DR, BIRAJ MK, SURENDRA KM, SURESH KG (2012a). Predominance of *Blastocystis* sp. subtype 4 in rural communities, Nepal. *Parasitol Res.* 110:1553–1562.
- 182.LEE IL, CHYE TT, KARMACHARYA BM, GOVIND SK (2012b). *Blastocystis* sp.: waterborne zoonotic organism, a possibility? *Parasit Vectors.* 5:130.
- 183.LEELAYOOVA S, TAAMASRI P, RANGSIN R, NAAGLOR T, THATHAISONG U, MUNGTHIN M (2002). In-vitro cultivation: a sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. *Ann Trop Med Parasitol.* 96: 803-807.

- 184.LEELAYOOVA S, SIRIPATTANAPIPONG S, THATHAISONG U, NAAGLOR T, TAAMASRI P, PIYARAJ P, MUNGTHIN M (2008). Drinking water: a possible source of *Blastocystis* spp. subtype 1 infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 79(3): 401–406.
- 185.LEJEUNE A (1991). La défonabilité de la cellule cible: un facteur déterminant du mode de phagocytose d'*Entamoeba histolytica*, souche Laredo. Université du Québec à Trois-Rivières. pp. 1-12.
- 186.LI LH, ZHOU XN, DU ZW, WANG XZ, WANG LB, JIANG JY, YOSHIKAWA H, STEINMANN P, UTZINGER J, WU Z, CHEN JX, CHEN SH, ZHANG L (2007a). Molecular epidemiology of human *Blastocystis* in a village in Yunnan province, China. *Parasitol Int.* 56: 281-286.
- 187.LI LH, ZHANG XP, LV S, ZHANG L, YOSHIKAWA H, WU Z, STEINMANN P, UTZINGER J, TONG XM, CHEN SH, ZHOU X N (2007b). Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China. *Parasitol Res.* 102(1), 83–90.
- 188.LI J, DENG T, LI X, CAO G, LI X, YAN Y (2013). A rat model to study *Blastocystis* subtype 1 infections. *Parasitol Res.* 112:3537-3541.
- 189.LONDOÑO AL, MEJIA S, GOMEZ-MARIN JE (2009). Prevalence and risk factors associated with intestinal parasitism in preschool children from the urban area of Calarcá, Colombia. *Rev Salud Publica (Bogota).* 11:72-81.
- 190.LONDOÑO-FRANCO AL, LOAIZA-HERRERA J, LORA-SUAREZ FM, GOMEZ-MARIN JE (2014). *Blastocystis* sp. frequency and sources among children from 0 to 5 years of age attending public day care centers in Calarcá, Colombia. *Biomedica.* 34:218-227.
- 191.LONG H, HANDSCHACK A, KONIG W, AMBROSCH A (2001). *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res.* 87: 1029-1030.
- 192.LOPEZ J, KATIA ABARCA V, PATRICIO PAREDES M, ELISA INZUNZA T (2006). Intestinal parasites in dogs and cats with gastrointestinal symptoms in Santiago, Chile. *Rev Med Chil.* 134:193-200.
- 193.MAAS L, DORIGO-ZETSMA JW, DE GROOT CJ, BOUTER S, PLOTZ FB, VAN EWIJK BE (2014). Detection of intestinal protozoa in paediatric patients with gastrointestinal symptoms by multiplex real-time PCR. *Clin Microbiol Infect* 20: 545-550.

194. MAC KENZIE W.R., HOXIE N.J., PROCTOR M.E., GRADUS M.S., BLAIR K.A., PETERSON D.E., KAZMIERCZAK J.J., ADDISS D.G., FOX K.R., ROSE J.B (1994). A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply. *The New England Journal of Medicine*. 331 (3): 161–7.
195. MACINANKE M.F (2010). Etude des résultats d'examens parasitologique des selles a l'institut nationale de recherche en sante publique (INRSP) de Bamako sur 10 ans (1980-1989). Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Université de Bamako, Mali. pp. 6-64.
196. MAGNAVAL J.F (1998). Données complémentaires sur l'évolution de la prévalence des parasitoses intestinales à la Martinique. Courte note n° 1907, « parasitologie ».
197. MALHEIROS AF, STENSVOLD CR, CLARK CG, BRAGA GB, SHAW JJ (2011). Molecular characterization of *Blastocystis* obtained from members of the indigenous Tapirapé ethnic group from the Brazilian Amazon region, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 85: 1050–1053.
198. MARTINY D, BART A, VANDENBERG O, VERHAAR N, WENTINK-BONNEMA E, MOENS C, VAN GOOL T (2014). Subtype determination of *Blastocystis* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 33:529-536.
199. MASUCCI L., GRAFFEO R., BANI S., BUGLI F, BOCCIA S., NICOLOTTI N., FIORI B., FADDA G., SPANU T (2011). Intestinal parasites isolated in a large teaching hospital, Italy. *Euro Surveill*; 16:19891.
200. MEHLHORN H (2008). Springer Encyclopedia of Parasitology. 3rd edition, 2: 1592.
201. MELHORN, H (1988). *Blastocystis hominis*, Brumpt 1912 are there different stages or species. *Parasitol Res*. 74: 393–395.
202. MELONI D, POIRIER P, MANTINI C, NOEL C, GANTOIS N, WAWRZYNIAK I, DELBAC F, CHABE M, DELHAES L, DEI-CAS E, FIORI PL, EL ALAOUI H, VISCOGLIOSI E (2012). Mixed human intra- and inter-subtype infections with the parasite *Blastocystis* sp. *Parasitol Int*. 61:719–722.
203. MENAN E.I.H., ROUAMBA E., OUHON J., NEBAVI N.G.F., ADJETEY T.A.K., BARRO-KIKI P.C.M.K., PENALI K.L., KONE M (1997). Helminthiases intestinales : résultats de cinq années de coprologie parasitaire à l'institut pasteur de Cocody (Abidjan - cote d'ivoire). *Médecine d'Afrique Noire* ; 44 (7) : 415-419.

204. MICHELOUD D, JENSEN J, FERNANDEZ-CRUZ E, CARBONE J (2007). Chronic angioedema and *Blastocystis hominis* infection. *Rev Gastroenterol Peru.* 27:191–193.
205. MINE JC, ROSA JA (2008). Frequency of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in stool samples examined at the Parasitology Laboratory of the School of Pharmaceutical Sciences at the São Paulo State University, Araraquara. *Rev Soc Bras Med Trop.* 41:565-569.
206. MINENO T, AVERY MA (2003). Giardiasis: recent progress in chemotherapy and drug development. *Curr Pharm Design.* 9:841–855.
207. MINTA D.K., DEMBELE M., DOLO A., SIDIBE A.T., DIARRA A.S., KONATE A., DIARRA M., DIAKITE A., SIDIBE A.F., TRAORE A.K., MAIGA M.Y., PICHARD E., TRAORE H.A., DOUMBO O (2007). Les parasitoses digestives chez les patients infectés par le VIH/SIDA dans les services de médecine interne et de maladies infectieuses à l'Hôpital du Point « G » Bamako – Mali. *Mali médicale ;* 1(22) : 33-36.
208. MIRZA H, WU Z, KIDWAI F, TAN FSW (2011). A metronidazole-resistant isolate of *Blastocystis* spp. is susceptible to nitric oxide and downregulates intestinal epithelial inducible nitric oxide synthase by a novel parasite survival mechanism. *Infect immun.* 79:5019-5026.
209. MOE KT, SINGH M, HOWE J, HO LC, TAN SW, NG GC, CHEN XQ, YAP EH (1996). Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res.* 82: 439–444.
210. MOE KT, SINGH M, HOWE J, HO LC, TAN SW, CHEN XQ, NG GC, YAP EH (1997). Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitol Res.* 83:319–325.
211. MOE KT, SINGH M, GOPALAKRISHNAKONE P, HO LC, TAN SW, CHEN XQ, YAP EH (1998). Cytopathic effect of *Blastocystis hominis* after intramuscular inoculation into laboratory mice. *Parasitol Res.* 84:450–454.
212. MOHAMED RT, EL-BALI MA, MOHAMED AA, ABDEL-FATAH MA, EL-MALKY MA, MOWAFY N M, ZAGHLOOL DA, BAKRI RA, AL-HARTHI AS (2017). Subtyping of *Blastocystis* sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Makkah, Saudi Arabia. *Parasites & Vectors ;* 10:174.

213. MOOSAVI A, HAGHIGHI A, MOJARAD EN, ZAYERI F, ALEBOUYEH M, KHAZAN H, KAZEMI B, ZALI MR (2012). Genetic variability of *Blastocystis* sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Iran. *Parasitol Res.* 111:2311–2315.
214. MOSTAFI J., BELGHYTI D., EL KOSTALI M., FATIMI N., OULKHEIR S., TABOZ Y., AROUYA K (2011). Prévalence des parasitoses intestinales chez les enfants adressés pour coprologie parasitaire à l'hôpital Moulay Abdellah de Salé (Maroc). *World Journal of Biological Research* 004 (1): 1-5.
215. MOTAZEDIAN H, GHASEMI H, SADJJADI SM (2008). Genomic diversity of *Blastocystis hominis* from patients in southern Iran. *Ann Trop Med Parasitol.* 102:85–88.
216. NAGEL R, CUTTELL L, STENSVOLD C, MILLS P, BIELEFELDT-OHMANN H, TRAUB R (2012). *Blastocystis* subtypes in symptomatic and asymptomatic family members and pets and response to therapy. *Intern Med J.* 42: 1187-1195.
217. NAVARRETE N, TORRES P (1994). Prevalence of infection by intestinal helminths and protozoa in school children from a coastal locality in the province of Valdivia Chile. *Boletin Chileno de Parastologia*, 49, 79-80.
218. NDIAYE A (2006). Contribution à l'étude des Parasitoses Intestinales à l'institut De Pédiatrie Sociale De Pikine- Guediawaye. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie. pp. 13-46.
219. NDIAYE B, Diagne-Guèye NM, Soko TO, Ndiaye AR, Klotz F (2017). Amœbose intestinale. Elsevier Masson SAS. EMC - Gastro-entérologie. pp. 1-10.
220. NGEIYWA MM, ET ODITYO GA (2016). Risk factors for the prevalence of *Entamoeba histolytica* in children aged under five years in a slum settlement in Nairobi, Kenya. *Merit Research Journal of Microbiology and Biological Sciences.* 4(5); 068-073.
221. NG GC, TAN KSW (1999). Colony growth as a step towards axenization of *Blastocystis* isolates. *Parasitol Res.* 85:678–679.
222. NICOLAS X., CHEVALIER B., SIMON F., KLOTZ F (2001). Traitement des parasitoses intestinales (amibiase et mycose exclues). *Encycl. Méd. Chir.* (Elsevier, Paris), 9-062-A-60, pp. 1-13.
223. NICOLAS X, CHEVALIER B, SIMON F, KLOTZ F (2002). Traitement des parasitoses intestinales (amibiase et mycoses exclues). *Encycl Méd Chir* (Editions

- Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Gastro-entérologie, 9-062-A-60, Maladies infectieuses, 8 518-A-15. pp. 14.
- 224.NICOLAS M., PEREZ J.M., CARME B (2006). Diagnostic des parasitoses intestinales au CHU de la Guadeloupe : évolution de 1991 à 2003. *Santé publique ;* 2829.
- 225.NIMRI L, BATCHOUN R (1994). Intestinal colonization of symptomatic and asymptomatic schoolchildren with *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol.* 32 : 2865-2866.
- 226.NITHYAMATHI K, CHANDRAMATHI S, SURESH K (2016). Predominance of *Blastocystis* sp. Infection among School Children in Peninsular Malaysia. *PLoS ONE* 11(2): e0136709.
- 227.NOËL C, PEYRONNET C, GERBOD D, EDGCOMB VP, DELGADO-VISCOGLIOSI P, SOGIN ML, CAPRON M, VISCOGLIOSI E, ZENNER L (2003). Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from different hosts based on the comparison of small-subunit rRNA gene sequences. *Mol Biochem Parasitol.* 126:119–123.
- 228.NOËL C, DUFRERNEZ F, GERBOD D, EDGCOMB VP, DELGADO-VISCOGLIOSI P, HO LC, SINGH M, WINTJENS R, SOGIN ML, CAPRON M, PIERCE R, ZENNER L, VISCOGLIOSI E (2005). Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol.* 43: 348-355.
- 229.NOOR AZIAN MY, SAN YM, GAN CC, YUSRI MY, NURULSYAMZAWATY Y, ZUHAIZAM AH, MASLAWATY MN, NORPARINA I, VYTHILINGAM I (2007). Prevalence of intestinal protozoa in an aborigine community in Pahang, Malaysia. *Trop Biomed.* 24: 55–62.
- 230.OLLAGNIER C (2007). Recensement des parasites digestifs des petits camelides (Genre Llama) en France. Ecole national vétérinaire, Lyon. N° 46 : 13-40.
- 231.OMAR M.A (2002). Seasonal prevalence of intestinal parasites in the united states during 2000. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66(6) : 799–803.
- 232.ORDEN AB, APEZTEGUIA MC, CIARMELA ML, MOLINA NB, PEZZANI BC, ROSA D, MINVIELLE MC (2014). Nutritional status in parasitized and nonparasitized children from two districts of Buenos Aires, Argentina. *Am J Hum Biol.* 26:73-79.

- 233.ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (1981). Diarrhées d'origine parasitaire. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Sante ; 59 (2): 175-187.
- 234.ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (1988). Importance des parasitoses intestinales en sante publique. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Sante ; 66 (1): 23-34.
- 235.ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. Statistiques sanitaires mondiales (2014). Suisse : édition OMS, 2014 : 33-4.
- 236.OUERMI D (2006). Prévalence des infections à Rotavirus, Adénovirus et Parasites Entériques chez les enfants VIH-séropositifs et VIH-séronégatifs de 0 à 5ans au Centre Médical Saint Camille. Université d'Ouagadougou. Unité de Formation et de Recherches. Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT). pp. 18-22.
- 237.OUATTARA M., SILUE K.D., N'GUESSAN N.A., YAPI A., BARBARA M., RASO G., UTZINGER J., N'GORAN E (2008). Prévalences et polyparasitisme des protozoaires intestinaux et répartition spatiale d'*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* et *Giardia intestinalis* chez des élèves en zone rurale de la région de Man en Côte-D'ivoire. Cahiers Santé ; 18(4) : 215-222.
- 238.OSMAN M, EL SAFADI D, CIAN A, BENAMROUZ S, NOURRISSON C, POIRIER P, PEREIRA B, RAZAKANDRAINIBE R, PINON A, LAMBERT C, WAWRZYNIAK I, DABBOUSSI F, DELBAC F, FAVENNEC L, HAMZE M, VISCOGLIOSI E, CERTAD G (2016). Prevalence and Risk Factors for Intestinal Protozoan Infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among Schoolchildren in Tripoli, Lebanon. PLoS Negl Trop Dis : 14;10(3).
- 239.ÖZYURT M, KURT Ö, MOLBAK K, NIELSEN HV, HAZNEDAROGLU T, STENSVOLD CR (2008).Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitol Int* 57: 300-306.
- 240.PARKAR U, TRAUB RJ, VITALI S, ELLIOT A, LEVECKE B, ROBERTSON I, GEURDEN T, STEELE J, DRAKE B, THOMPSON RC (2010). Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Vet Parasitol*. 169:8–17.
- 241.PEGELOW K, GROSS R, PIETRZIK K, LUKITO W, RICHARDS AL, FRYAUFF DJ (1997). Parasitological and nutritional situation of school children in the Sukaraja district, West Java, Indonesia. *Southeast Asia J Trop Med Public Health*. 28:173–190.

242. PELETZ R, MAHIN T, ELLIOTT M, MONTGOMERY M, CLASENA T (2013). Preventing cryptosporidiosis: the need for safe drinking water. *Bull World Health Organ*; 91:238–238A.
243. PENALI K, ADJE E, KONE M, BA YERE D (1989). Parasitoses intestinales dans la région de Bondoukou. *Méd Afr Noire* ; 35 : 69-71.
244. PETITHORY JC, ARDOIN-GUIDON F, CHAUMEIL C (1998). Amibes et flagellés intestinaux, Amibes oculaires, leur diagnostic microscopique. Cahier de formation biologie médicale. *Bioforma*, 11 : 39-162.
245. PETRASOVA J, UZLIKOVA M, KOSTKA M, PETRZELKOVA KJ, HUFFMAN MA, MODRÝ D (2011) Diversity and host specificity of *Blastocystis* in syntopic primates on Rubondo Island, Tanzania. *Int J Parasitol* 41: 1113-20.
246. PEREZ-CORDON G, ROSALES MJ, MAR GAVIRA G, VALDEZ RA, VARGAS F, CORDOVA O (2007). Finding of *Blastocystis* sp. in bivalves of the genus *Donax*. *Rev Peru Biol*. 14(2): 301-302.
247. PHILIPPIN G (2010). Caractérisation de l'infection naturelle à *Cryptosporidium* spp. chez le chien et le chat vus en établissement vétérinaire. Université de Montréal. pp. 3-18.
248. POIRIER, P., WAWRZYNIAK, I., ALBERT, A., EL ALAOU, H., DELBAC, F., LIVRELLI, V (2011). Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of *Blastocystis* in human stool samples: a prospective study in patients with hematological malignancies. *J Clin Microbiol*. 49:975–983.
249. POIRIER P (2014). Le parasite intestinal *Blastocystis* : épidémiologie et importance clinique. *Blastocystis intestinal parasite: epidemiology and clinical relevance*. La Lettre de l'Infectiologue Tome XXIX. 2 : 72-76.
250. POULSEN CS, EFUNSHILE AM, NELSON JA, STENSVOLD CR (2016). Epidemiological Aspects of *Blastocystis* Colonization in Children in Ilero, Nigeria. *Am J Trop Med Hyg*. 95(1): 175-179.
251. PRIEUR D (2013). Usage des anthelminthiques en vente libre. Faculté mixte de médecine et de pharmacie de Rouen. pp. 21-37.
252. PUTHIA MK, VAITHILINGAM A, LU J, TAN KS (2005). Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. *Parasitol Res*. 97: 386-389.

- 253.PUTHIA MK, LU J, TAN KS (2008). *Blastocystis ratti* contains cysteine proteases that mediate interleukin-8 response from human intestinal epithelial cells in an NF-KappaB-dependent manner. *Eukaryot Cell*. 7:435–443.
- 254.RACCURT PC, BRASSEUR P, VERDIER RI, LI X, EYMA E, STOCKMAN CP (2006). Cryptosporidiose humaine et espèces en cause en Haïti. *Tropical Medicine and International Health*. 6: 929-34.
- 255.RAJAMANIKAM A, GOVIND SK (2013). Amoebic forms of *Blastocystis* spp.-evidence for a pathogenic role. *Parasit vectors*. 6:295.
- 256.RAMIREZ JD, SANCHEZ A, HERNANDEZ C, FLOREZ C, BERNAL MC, GIRALDO JC, REYES P, LOPEZ MC, GARCIA L, COOPER PJ, VICUNA Y, MONGI F, CASERO RD (2016). Geographic distribution of human *Blastocystis* subtypes in South America. *Infect Genet Evol*. 41: 32–35.
- 257.RASO G, UTZINGER J, SILUÉ KD, OUATTARA M, YAPI A, TOTY A (2005). Disparities in parasitic infections, perceived ill health and access to health care among poorer and less poor schoolchildren of rural Côte d’Ivoire. *Trop Med Int Health*. 10: 42-57.
- 258.RASOAMAMPIONONA SO (2015). Dysenteries infectieuses vues a l’usfr de maladies infectieuses du chu joseph raseta befelatanana. Université D’Antananarivo Faculté De Médecine. pp. 2-13.
- 259.REBOLLA MF, SILVA EM, GOMES JF, FALCÃO AX, REBOLLA MVF, FRANCO RMB (2016). High prevalence of *Blastocystis* spp. infection in children and staff members attending public urban schools in são paulo state, brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 58: 31.
- 260.REY P., ANDRIAMANANTENA D., BREDIN C., KLOTZ F (2005). Colites parasitaires”, *Encycl. Méd. Chir.* (Elsevier, Paris), 9-062-A-45, pp. 1-9.
- 261.RIABI TR, MIRJALALI H, HAGHIGHI A, NEJAD MR, POURHOSEINGHOLI MA, POIRIER P, DELBAC F, WAWRZYNIAK I, ZALI MR (2018). Genetic diversity analysis of *Blastocystis* subtypes from both symptomatic and asymptomatic subjects using a barcoding region from the 18S rRNA gene. *Infection, Genetics and Evolution*. 61: 119–126.
- 262.RIVERA WL, TAN MA (2005). Molecular characterization of *Blastocystis* isolates in the Philippines by riboprinting. *Parasitol Res*. 96: 253-257.
- 263.RIVERO-RODRÍGUEZ Z, HERNÁNDEZ A, BRACHO Á, SALAZAR S, VILLALOBOS R (2013). Prevalence of intestinal microsporidia and other intestinal

- parasites in HIV positive patients from Maracaibo, Venezuela. *Biomedica*. 33:538-545.
- 264.ROBERTS T, STARK D, HARKNESS J, ELLIS J (2013). Subtype distribution of *Blastocystis* isolates identified in a Sydney population and pathogenic potential of *Blastocystis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 32:335–343.
- 265.ROBERTS T, STARK D, HARKNESS J, ELLIS J (2014). Update on the pathogenic potential and treatment options for *Blastocystis* sp. *Gut Pathog*. 6: 17.
- 266.ROCQUES HCM (2006). La Cryptosporidiose du chevreau, données bibliographiques et essai thérapeutique de la Nitazoxanide. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. pp. 11-16.
- 267.ROUSSEL M (2011). Séquençage du génome du parasite intestinal *Blastocystis* sp. (ST7) : vers une meilleure compréhension des capacités métaboliques d'organites apparentés aux mitochondries chez ce microorganisme anaérobie. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. pp : 06-33.
- 268.ROUSSET J.J (1993). Coprologie pratique. Intérêt et méthodologie sur les parasites du tube digestif. *ESTEM*: 50-100.
- 269.ROSE JB (1997). Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. *Annu Rev Public Health*;18:135-161.
- 270.ROSSEN NG, BART A, VERHAAR N, VAN NOOD E, KOOTTE R, DE GROOT PF, D'HAENS GR, PONSIOEN CY, VAN GOOL T (2015). Low prevalence of *Blastocystis* sp. in active ulcerative colitis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 34(5): 1039–1044.
- 271.SAGHROUNI F (2008). Flagellés intestinales. Laboratoire de parasitologie, CHU F. Hached Sousse. pp. 81.
- 272.SALEHI1 R, HAGHIGHI A, RUNE STENSVOLD C, KHEIRANDISH F, AZARGASHB E, RAEGHI S, KOHANSAL C, BAHRAMI F (2017). Prevalence and subtype identification of *Blastocystis* isolated from humans in Ahvaz, Southwestern Iran. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* ; 10(3):235-241.
- 273.SALMAN YJ (2015). Detection of *Blastocystis hominis* among Peoples in Kirkuk Province Using ELISA and Direct Microscopy. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 4(10): 686-695.
- 274.SANPRASERT V, SRICHAIPON N, BUNKASEM U, SRIRUNGRUANG S, NUCHPRAYOON S (2016). Prevalence of intestinal protozoan infections among

- children in thailand: a large-scale screening and comparative study of three standard detection methods. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* ; 47(6) :1123-1133.
- 275.SANTOS HJ, RIVERA WL (2013). Comparison of direct fecal smear microscopy, culture, and polymerase chain reaction for the detection of *Blastocystis* sp. in human stool samples. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 780-784.
- 276.SARAFIS K.,ET ISAAC-RENTON J (1993). Pulsed-field gel electrophoresis as a method of biotyping of *Giardia duodenalis*. *Am J Trop Med Hyg*; 48:134-144.
- 277.SARI IP, BENUNG MR, WAHDINI S, KURNIAWAN A (2017). Diagnosis and Identification of *Blastocystis* Subtypes in Primary School Children in Jakarta. *Journal of Tropical Pediatrics* : 1-7.
- 278.SCANLAN P D, KNIGHT R, JIN SS, GAIL A, COTTER PD (2016). Prevalence and genetic diversity of *Blastocystis* in family units living in the United States. doi: 10.1016/j.meegid.2016.08.018.
- 279.SEGHIRE N., et OURAIBA I (2014). Evaluation de la fréquence des parasitoses intestinales chez les enfants scolarisés. Département de pharmacie. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen. pp. 3-89.
- 280.SIGIDAEV AS, KOZLOV SS, TARASOVA EA, SUVOROVA MA (2013). Investigation of the genetic profile of *Blastocystis* species in Saint Petersburg residents with gastrointestinal tract diseases in different age groups. *Med Parazitol (Mosk)* ; 4:19-23.
- 281.SIALA E., TOUMI I., BETTAIEB J., BOULEHMI N., ZALLEGA N., AOUN K., BOURATBINE A (2015). Évolution de la prévalence des parasitoses digestives dans la région de Tunis de 1996 à 2012. *La Tunisie médicale*. 93 (11) : 687-691.
- 282.SILBERMAN JD, SOGIN ML, LEIPE DD, CLARK CG (1996). Human parasite finds taxonomic home. *Nature*. 380:398.
- 283.SIMSEK Z, ZEYREK FY, KURCER MA (2004). Effect of *Giardia* infection on growth and psychomotor development of children aged 0–5 years. *J Trop Pediatr*. 50:90–93.
- 284.SINGH M, HO LC, YAP ALL, NG GC, TAN SW, MOE KT, YAP EH (1996). Axenic culture of reptilian *Blastocystis* isolates in monophasic medium and speciation by karyotypic typing. *Parasitol Res*. 82: 165–169.

- 285.SINNIAH B, SABARIDAH I, SOE MM, SABITHA P, AWANG IP, ONG GP, HASSAN AK (2012). Determining the prevalence of intestinal parasites in three Orang Asli (Aborigines) communities in Perak, Malaysia. 29:200-206.
- 286.SLIFKO T.R., SMITH H.V., ROSE J.B (2000). Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology* 30: 1379-1393.
- 287.SMITH HV, ROSE JB (1988). Waterborne cryptosporidiosis: current status. *Parasitol Today*;14:14-22.
- 288.SOARES A.J (2003). Epidémiologie des épidémies alimentaires à *Cryptosporidium parvum*. Thèse de Doctorat en vétérinaire, Ecole Nationale de Vétérinaire, Lyon, France. pp. 130.
- 289.SOHAIL M.R.; FISCHER P.R. (2005). *Blastocystis hominis* and travelers. *Travel Medicine and Infection Disease*. 3: 33-38.
- 290.SOMDA M.J (1999). Les parasitoses intestinales chez l'adulte dans le Département de Dissin (BURKINA FASO). Faculté des Sciences de la Santé (F.S.S). Université d'OUAGADOUGOU. pp. 36-56.
- 291.SOUPPART L, MOUSSA H, CIAN A, SANCIU G, POIRIER P, EL ALAOUI H, DELBAC F, BOOROM K, DELHAES L, DEI-CAS E, VISCOGLIOSI E (2010) Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitol Res* 106:505-11.
- 292.STENZEL DJ, BOREHAM PFL (1996). *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev*. 9:563–584.
- 293.STENSVOLD R, BRILLOWSKA-DABROWSKA A, NIELSEN HV, ARENDRUP MC (2006). Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. *J Parasitol*. 92: 1081-1087.
- 294.STENSVOLD CR, SURESH GK, TAN KS, THOMPSON RC, TRAUB RJ, VISCOGLIOSI E, YOSHIKAWA H, CLARK CG (2007a). Terminology for *Blastocystis* subtypes a consensus. *Trends Parasitol*. 23: 93-96.
- 295.STENSVOLD CR, ARENDRUP MC, JESPERSGAARD C, MOLBAK K, NIELSEN HV (2007b). Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 59: 303-307.
- 296.STENSVOLD, CR, ALFELLANI MA, NORSKOV-LAURITSEN S, PRIP K, VICTORY EL, MADDOX C, NIELSEN HV, CLARK CG (2009). Subtype

- distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. *Int J Parasitol.* 39: 473–479.
297. STENSVOLD CR, CHRISTIANSEN DB, OLSEN KE, NIELSEN HV (2011). *Blastocystis* sp. subtype 4 is common in Danish *Blastocystis*-positive patients presenting with acute diarrhea. *Am J Trop Med Hyg.* 84:883-885.
298. STENSVOLD CR, AHMED UN, ANDERSEN LO, NIELSEN HV (2012). Development and evaluation of a genus-specific, probe-based, internal-process-controlled real-time PCR assay for sensitive and specific detection of *Blastocystis* spp. *Journal of Clinical Microbiology.* 50: 1847–1851.
299. SURESH K, NG GC, RAMACHANDRAN NP, HO LC, YAP EH, SINGH M (1993). In vitro encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 79: 456-460.
300. SURESH K, MAK JW, CHUONG LS, RAGUNATHAN T, INIT I (1997). Sac-like pouches in *Blastocystis* from the house lizard *Cosymbotus platyurus*. *Parasitol Res.* 83:523–552.
301. SURESH K, SMITH H (2004). Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis: Off Pub Eur Soc Clin Microbiol.* 23:509–511.
302. SURESH K, SMITH HV, TAN TC (2005). Viable *Blastocystis* cysts in Scottish and Malaysian sewage samples. *Appl Environ Microbiol.* 71: 5619– 5620.
303. SUZUKI C.T, GOMES J.F, FALCAO A.X, PAPA J.P, HOSHINO-SHIMIZU S (2013). Automatic Segmentation and Classification of Human Intestinal Parasites From Microscopy Images. *IEEE transbiomed Eng.* 60 (3), pp. 803-812.
304. TAAMASRI P, MUNGTHIN M, RANGSIN R, TONGUPPRAKARN B, AREEKUL W, LEELAYOOVA S (2000). Transmission of intestinal blastocystosis related to the quality of drinking water. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health.* 31 (1), 112-117.
305. TAGAJDID R., LEMKHENTE Z., ERRAMI M., EL MELLOUKI W., LMIMOUNI B (2012). Portage parasitaire intestinal chez l'enfant scolarisé à Salé, Maroc. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 105:40-45.
306. TAN K.S.W, SINGH M., HO L.C., HOWE J., MOE K.T., CHEN X.Q., NG G.C., YAP E.H. (1997) Survival of *Blastocystis hominis* clones after exposure to a cytotoxic monoclonal antibody. *Int J Parasitol* 27: 947-954.

307. TAN K.S.W, HOWE, J., YAP, E.H., SINGH, M (2001). Do *Blastocystis hominis* colony forms undergo programmed cell death? *Parasitol Res* 87, 362-367.
308. TAN K.S.W (2004). *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. *Vet Parasitol.* 126:121–144.
309. TAN T.C, SURESH KG (2006). Amoeboid form of *Blastocystis hominis*-a detailed ultrastructural insight. *Parasitol Res.* 99:737–742.
310. TAN T.C, SURESH KG, THONG KL, SMITH HV (2006). PCR fingerprinting of *Blastocystis* isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. *Parasitol Res.* 99:459–465.
311. TAN K.S.W (2008). New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.* 21:639–665.
312. TAN T.C, ONG SC, SURESH KG (2009). Genetic variability of *Blastocystis* sp. isolates obtained from cancer and HIV/AIDS patients. *Parasitol Res.* 105:1283-1286.
313. TAN K.S.W, MIRZA H, TEO JDW, WU B, MACARY PA (2010). Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Curr Infect Dis Rep.* 12:28–35.
314. TAN TC, TAN PC, SHARMA R, SUGNASEELAN S, SURESH KG (2013). Genetic diversity of caprine *Blastocystis* from Peninsular Malaysia. *Parasitol Res.* 112:85–89.
315. TAI WP, HU PJ, WU J, LIN XC (2011). Six ulcerative colitis patients with refractory symptoms co-infective with *Blastocystis hominis* in China. *Parasitol Res.* 108:1207–1210.
316. TAŞOVA Y, SAHIN B, KOLTAŞ S, PAYDAŞ S (2000). Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama;* 54:133–136.
317. TEO JD, MACARY PA, TAN KS (2014). Pleiotropic effects of *Blastocystis* spp. Subtypes 4 and 7 on ligand-specific toll-like receptor signaling and NF-κB activation in a human monocyte cell line. *PLoS One.* 14;9: e89036.
318. TEOW WL, ZAMAN V, NG GC, CHAN YC, YAP EH, HOWE J, GOPALAKRISHNAKONE P, SINGH M, (1991). A *Blastocystis* species from the sea-snake *Lapemis hardwickii* (Serpentes: Hydrophiidae). *Int J Parasitol.* 21: 723–726.
319. TERMMATHURAPOJ S, LEELAYOOVA S, AIMPUN P, THATHAISONG U, NIMMANON T, TAAMASRI P, MUNGTHIN M (2004). The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. *Parasitol Res.* 93: 445-447.

320. THATHAISONG U, SIRIPATTANAPIPONG S, MUNGTHIN M, PIPATSATITPONG D, TAN-ARIYA P, NAAGLOR T, LEELAYOOVA S (2013). Identification of *Blastocystis* subtype 1 variants in the home for girls, Bangkok, Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 88: 352-358.
321. TLIGUI H, OUDGHIRI M, BAHJI M, AGOUMI A (2002). Données épidémiologique et pathologiques sur *Blastocystis hominis*. *Revue Marocaine de Biologie-Infectiologie.* 10 : 13-18.
322. TLIGUI H., ET AGOUMI A (2006). Prévalence du portage parasitaire intestinal chez l'enfant scolarisé à Tiflet (Maroc). *Rev Fr Lab.* 2006; 65-68.
323. TRAUB R.J., MONIS P.T., ROBERTSON I., IRWIN P., MENCKE N., THOMPSON R.C (2004). Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology* 128, 253–262.
324. UPCROFT JA, DUNN LA, DOMMETT LS, HEALEY A, UPCROFT P, BOREHAM PFL (1989). Chromosomes of *Blastocystis hominis*. *Int J Parasitol.* 19: 879–883.
325. VALIGUROVA A. JIRKU M. KOUDELA B. GELNAR M. MODRY D. SLAPETA J (2008). Cryptosporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane. *Int J Parasitol* 38, 913-922.
326. VASSALOS CM, SPANAKOS G, VASSALOU E, PAPADOPOULOU C, VAKALIS N (2010). Differences in clinical significance and morphologic features of *Blastocystis* sp subtype 3. *Am J Clin Pathol.* 133: 251–258.
327. VELASCO J, GONZALEZ F, DIAZ T, PENA-GUILLEN J, ARAQUE M (2011). Profiles of enteropathogens in asymptomatic children from indigenous communities of Merida, Venezuela. *J Infect Dev Ctries.* 5:276–285.
328. VOGELBERG C, STENSVOLD CR, MONECKE S, DITZEN A, STOPSACK K, HEINRICH-GRAFE U, AND POHLMANN C (2010). *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitol Int* 59: 469-471.
329. WANG KX, LI CP, WANG J, CUI YB (2002). Epidemiological survey of *Blastocystis hominis* in Huainan City, Anhui Province, China. *World J Gastroentero.* 18:928-932.

330. WAWRZYNIAK I (2012). Génomique et post-génomique du parasite intestinal *Blastocystis* sp. sous-type 7. Evaluation de son pouvoir pathogène. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. pp : 07-31.
331. WAWRZYNIAK I, POIRIER P, VISCOGLIOSI E, MELONI D, TEXIER C, DELBAC F, EL ALAOUI H (2013). *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Ther Adv Infect Dis*. 5:167-178.
332. WEGAYEHU T., ADAMU H., PETROS B (2013). Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* species infections among children and cattle in North Shewa Zone, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*; 13:419.
333. WHO (2008). Guidelines for Drinking-water Quality, 3rd ed. Incorporating the first and second addenda. Geneva: 514.
334. WHO (2015). Estimation de l'OMS sur la charge mondiale de morbidité imputable aux maladies d'origine alimentaire. WHO.FOS/15.02.
335. WINDSOR JJ, MACFARLANE L, HUGHES-THAPA G, JONES SK, WHITESIDE TM (2002). Incidence of *Blastocystis hominis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. *Br J Biomed Sci* 59:154–157.
336. WONG KHS, NG GC, LIN RTP, YOSHIKAWA H, TAYLOR MB, TAN KSW (2008). Predominance of subtype 3 among *Blastocystis* isolates from a major hospital in Singapore. *Parasitology Research*. 102: 663–670.
337. WU Z, MIRZA H, TEO JD, TAN KS (2014). Strain-dependent induction of human enterocyte apoptosis by *Blastocystis* disrupts epithelial barrier and ZO-1 organization in a caspase 3- and 9-dependent manner. *Biomed Res Int*. 2014:209163.
338. YADOLLAHIE M, ROSHANIPOOR M, MOTALLEBIPOOR SAR, HABIBZADEH F (2002). Giardiasis in a 16-day-old neonate. *East Mediterr Health J*. 8: 189–191.
339. YAKOOB J, JAFRI W, JAFRI N, KHAN R, ISLAM M, BEG MA, Zaman V (2004). Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg*. 70: 383- 385.
340. YAKOOB J, JAFRI W, BEG MA, ABBAS Z, NAZ S, ISLAM M, KHAN R (2010a). Irritable bowel syndrome: is it associated with genotypes of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res*. 106: 1033-1038.
341. YAKOOB J, JAFRI W, BEG MA, ABBAS Z, NAZ S, ISLAM M, KHAN R (2010b). *Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitol Res*. 107:679-684.

342. YAMADA M, YOSHIKAWA H, TEGOSHI T, MATSUMOTO Y, YOSHIKAWA T, SHIOTA T, YOSHIDA Y (1987). Light microscopical study of *Blastocystis* spp. in monkeys and fowls. *Parasitol Res.* 73:527–531.
343. YAN Y, SU S, LAI R, LIAO H, YE J, LI X, LUO X, CHEN G (2006). Genetic variability of *Blastocystis hominis* isolates in China. *Parasitol Res.* 99: 597-601.
344. YERA H, POIRIER P, DUPOUY-CAMET J (2015). Classification et mode de transmission des parasites. *EMC Maladie infectieuse.* 12(3): 1-12.
345. YOSHIKAWA, H., KUWAYAMA, N., ENOSE, Y (1995a). Histochemical detection of carbohydrates of *Blastocystis hominis*. *J Eukaryot Microbiol* 42, 70-74.
346. YOSHIKAWA, H., SATOH, J., ENOSE, Y (1995b). Light and electron microscopic localization of lipids in *Blastocystis hominis*. *J Electron Microsc (Tokyo)* 44, 100-103.
347. YOSHIKAWA H, NAGONO I, YAP EH, SINGH M, TAKAHASHI Y (1996). DNA polymorphism revealed by arbitrary primers polymerase chain reaction among *Blastocystis* strains isolated from humans, a chicken, and a reptile. *J Eukaryot Microbiol.* 43: 127-130.
348. YOSHIKAWA H, NAGANO I, WU Z, YAP EH, SINGH M, TAKAHASHI Y (1998). Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype- specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes.* 12: 153-159.
349. YOSHIKAWA H, ABE N, IWASAWA M, KITANO S, NAGANO I, WU Z, TAKAHASHI Y (2000). Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *J Clin Microbiol.* 38:1324–1330.
350. YOSHIKAWA H, MORIMOTO K, NAGASHIMA M, MIYAMOTO N (2004a). A survey of *Blastocystis* infection in anuran and urodele amphibians. *Vet Parasitol.* 122:91-102.
351. YOSHIKAWA H, YOSHIDA K, NAKAJIMA A, YAMANARI K, IWATANI S, KIMATA I (2004b). Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res.* 94: 391-396.
352. YOSHIKAWA H, ABE N, WU Z (2004c). PCR-based identification of zoonotic isolates of *Blastocystis* from mammals and birds. *Microbiology.* 150:1147-1151.
353. YOSHIKAWA H, WU Z, KIMATA I, ISEKI M, ALI IK, HOSSAIN MB, ZAMAN V, HAQUE R, TAKAHASHI Y (2004d). Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res.* 92:22–29.

354. YOSHIKAWA H, WU Z, HOWE J, HASHIMOTO T, GEOK-CHOO NG, TAN KSW (2007). Ultrastructural and phylogenetic studies on *Blastocystis* isolates from cockroaches. *J Eukaryot Microbiol.* 54:33–37.
355. YOSHIKAWA H, WU Z, PANDEY K, PANDEY BD, SHERCHAND JB, YANAGI T, KANBARA H (2009). Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from children and rhesus monkeys in Kathmandu, Nepal. *Vet Parasitol.* 160:295–300.
356. ZEKRI A., et MERROUCHE K (2018). Les protozooses intestinales diagnostiquées au laboratoire de l'établissement hospitalier Didouche Mourad. Département de biologie appliqué. Université des frères Mentouri, Constantine. pp. 3-55.
357. ZHANG X, ZHANG S, QIAO J, WU X, ZHAO L, LIU Y, FAN X (2012). Ultrastructural insights into morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 110:1165–1172.
358. ZIERDT CH, TAN HK (1976). Ultrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. *Z Parasitenkd.* 50:277–283.
359. ZIERDT, C.H (1986). Cytochrome-free mitochondria of an anaerobic protozoan--*Blastocystis hominis*. *J Protozool* 33, 67-69.
360. ZIERDT CH, ZIERDT WS, NAGY B (1995) Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to *Blastocystis hominis* in symptomatic infections, *J. Parasitol.* 81: 127-129.
361. ZIERDT CH, RUDE WS, BULL BS (1997) Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am. J. Clin. Pathol.* 48 : 495–501.
362. ZIERDT CH (1991). *Blastocystis hominis*-past and future. *Clin Microbiol Rev.* 4:61–79.
363. ZONGO I (2002). Parasitoses intestinales en milieu scolaire dans la ville de bobodioulasso (Burkina Faso): Aspects cliniques et épidémiologiques. Université D'Ouagadougou. Unité de formation et de recherche en sciences de la santé (Ufr / Sds) Section Médecine. pp. 4-24.
364. ZONGO WA (2015). Diagnostic et différenciation de *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* par PCR en temps réel. Université D'Ouagadougou. Unité de formation et de recherche en sciences de la santé (Ufr / SVT). pp. 3-18.

ANNEXES

Annexe 01 : Fiche de renseignement standardisé à la recherche des parasites.

Date : N° d'Ordre :

Nom et prénom..... Sexe :

Age : Lieu de résidence.....

Le patient est-il en contact avec des animaux (de compagnie ou de ferme): Oui Non

Nature de l'eau consommée : Eau minérale/Eau de source Eau de robinet

Statut immunitaire : Immunocompétent Immunodéprimé

Si vous êtes immunodéprimé quelle est la cause ?

Symptômes cliniques.....

Examen Parasitologique

Examen macroscopique

Glaireux Liquide Molle Moulée Solide

Examen microscopique

Examen direct :

Examen après concentration :

Examen après culture :

Examen après coloration :

Cette étude est dans le cadre d'une recherche scientifique (thèse de Doctorat) et les participants dans cette étude ont approuvés leurs participations.

Signature du participant

Annexe 02 : Préparation des milieux de culture.

A. Milieu de Boeck and Drbohlav Loock egg

Solution :

8g de Chlorure de sodium NaCl

0.2g de Chlorure de calcium CaCl₂

0.2g de Chlorure de potassium KCl

0.01g de Chlorure de magnésium MgCl₂ +1Litre d'eau distillé

2g de Phosphate de sodium dibasique

0.4g de bicarbonate de sodium

0.3g de phosphate de potassium monobasique

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

Préparer le milieu aux œufs inclinés

- Ajouter 6ml de la solution de Loock -Mettre 5ml de quantité d'œuf émulsifié à des tubes de culture standard de 16x125 mm.
- Autoclaver à 100° pendant 10min en position inclinée.
- Ouvrir après refroidissement à température ambiante.
- 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.
- Autoclaver à 121° pendant 15min, Pression : 15 lbs. - Après refroidissement à température ambiante, serrer les bouchons et conserver au frigo pendant 6 mois.
- Avant l'utilisation, ajouter 10% de sérum de cheval (inactivé par la chaleur à 56 ° C pendant 30 min).

B. Milieu de Jones

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 :

- Mélanger 93,8 ml de Na₂HPO₄ avec 31,3 ml de KH₂HPO₄ et 562,5 ml de NaCl.
- Dans la solution tamponnée, ajouter l'extrait de levure (Oxoid) à 0,1%.
- Autoclaver à 15 lb- pendant 15 min.
- 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-cultures tous les 3-4 jours.



PEOPLES DEMOCRATIC REPUBLIC OF ALGERIA
MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
UNIVERSITY OF DJELFA

Faculty: Science of nature and life
Laboratory: Exploitation and Valorization of Steppe Ecosystems
Ref: AT04/E.V.E.S/2017

ETHICAL APPROVAL

PhD student: SEBAA Soumia (University of Djelfa-Algeria)
Laboratory address: Private laboratory of medical analyzes DEBAGHA- Laghouat (Algeria)
Objective of the study: Prevalence and distribution of *Blastocystis* subtype

Certificate

We, the undersigned, hereby agree to conduct the study in accordance with the 1964 Helsinki declaration. The nature of this study is descriptive analytic study, which does not involve any physical testing on patients. Patient data were collected anonymously no need for identity, and informed consent was obtained from all participating adults and from parents or legal guardians for minors.

This study respects the integrity, privacy, and confidentiality of personal information.



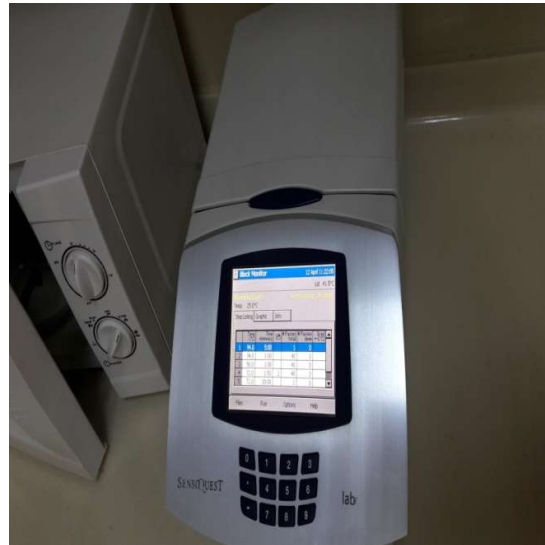
Annexe 03 : L'Approbation éthique de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Djelfa dans le cadre de recherche de *Blastocystis*.



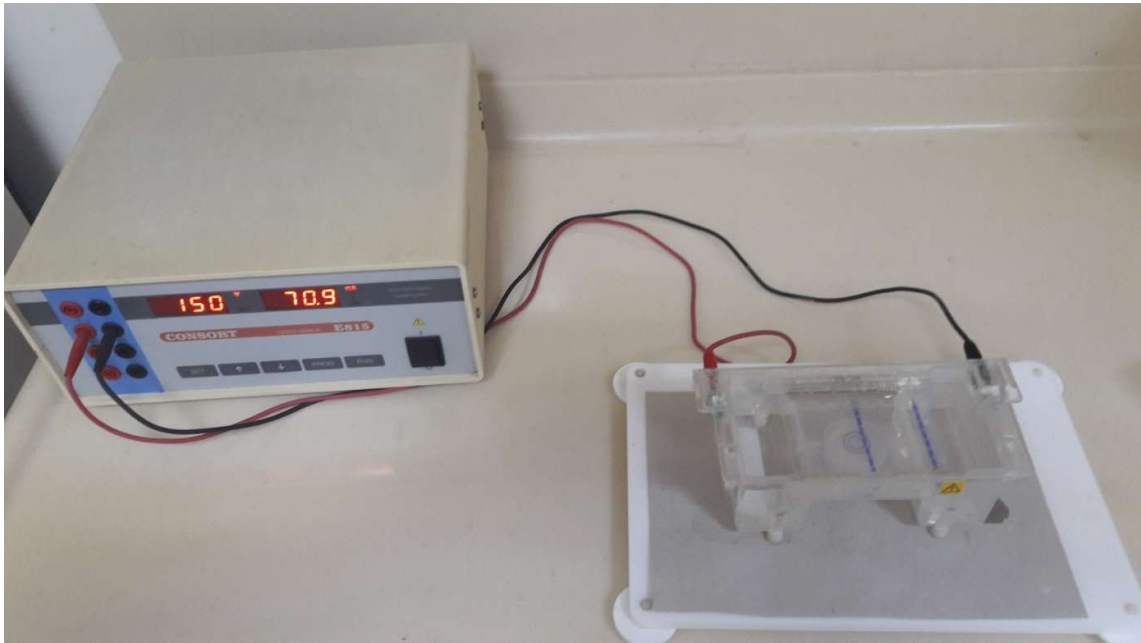
Kit QIAamp® DNA Stool Mini



Extraction de l'ADN



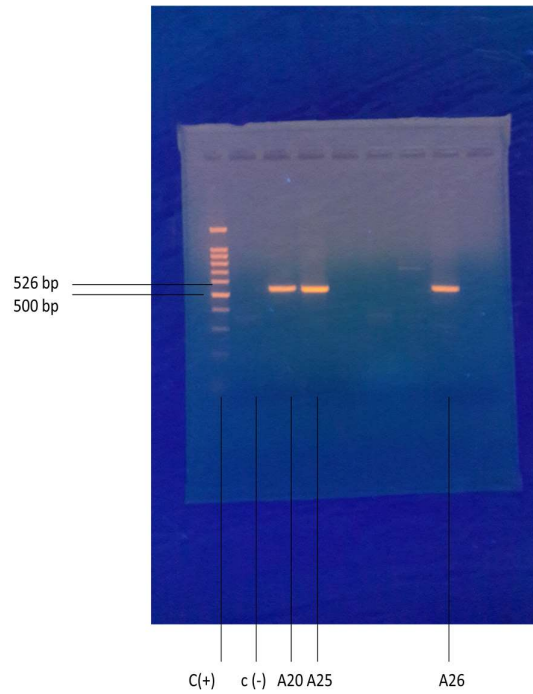
Amplification de l'ADN.



Révélation des produits amplifiés via l'électrophorèse sur gel d'agarose.



Trans-illuminateur



Résultat positif de sous-type (ST3).

Annexe 04 : Analyse moléculaire de *Blastocystis* spp. dans l'université de Cukurova-Adana –
Turquie.

Annexe 05 : Résultats des données épidémiologiques et cliniques de sous-typage de *Blastocystis* spp. des patients symptomatiques et asymptomatique de la wilaya de Laghouat.

Code	Sous-types	Âge	Sexe	manifestation clinique	Contacte avec les animaux	Région	Source d'eau	No. <i>Blastocystis</i> / champ (x400)
A1	ST1	23	F	Douleur abdominale	Non	Urbaine	Eau min/sou	8
A2	ST2/ST7	54	F	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	5
A3	ST1/ST2	8	M	Asymptomatique	Oui	Rurale	Eau de robinet	2
A4	ST1/ST2	7	M	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Urbaine	Eau de robinet	7
A5	ST1/ST5	11	M	Constipation	Non	Rurale	Eau de robinet	1
A6	ST1/ST4	4	M	Diarrhée+ Douleur abdominale	Non	Urbaine	Eau de robinet	6
A7	ST1	26	M	Douleur abdominale	Non	Rurale	Eau de robinet	5
A8	ST1	49	M	Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau min/sou	8
A9	ST7	18	F	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Urbaine	Eau de robinet	5
A10	ST4	4	M	Asymptomatique	Oui	Urbaine	Eau de robinet	2
A11	ST7	9	M	Douleur abdominale	Non	Rurale	Eau min/sou	3
A12	ST1	49	F	Asymptomatique	Oui	Urbaine	Eau de robinet	1
A13	ST1	7	F	Douleur abdominale+ Vomissement	Non	Rurale	Eau de robinet	5
A14	ST1/ST4	9	F	Douleur abdominale	Oui	Urbaine	Eau de robinet	5
A15	ST2/ST4	47	F	Douleur abdominale	Non	Rurale	Eau min/sou	6
A16	ST1	8	M	Douleur abdominale	Oui	Urbaine	Eau de robinet	5
A17	ST4/ST5	30	F	Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau min/sou	1
A18	ST1	25	M	Diarrhée	Non	Rurale	Eau de robinet	5
A19	ST1	8	M	Vomissement	Non	Rurale	Eau de robinet	1
A20	ST1/ST3	32	M	Flatulence	Oui	Urbaine	Eau de robinet	2
A21	ST1	8	F	Asymptomatique	Non	Urbaine	Eau de robinet	1
A22	ST1	7	M	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	7

A23	ST1	19	F	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	6
A24	ST1	31	M	Asymptomatique	Oui	Rurale	Eau de robinet	1
A25	ST3	3	M	Vomissement	Oui	Rurale	Eau de robinet	3
A26	ST3	8	M	Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau min/sou	5
A27	ST4	28	M	Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	6
A28	ST7	19	F	Diarrhée	Non	Rurale	Eau de robinet	5
A29	ST1	49	M	Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	7
A30	ST4	8	F	Diarrhée+ Douleur abdominale	Oui	Rurale	Eau de robinet	5

ملخص

المساهمة في دراسة اثر الطفيليات الأولية في مسببات التهاب الأمعاء لدى السكان في الوسط الاستشفاء و غير الاستشفاء في المنطقتين الحضرية و الريفية عبر المصادر الحيوانية.

اجريت دراسة و صفية و تحليلية للطفيليات المعوية البشرية من اجل تحديد نسبة انتشار انواع الطفيليات المختلفة و لتحديد لأول مرة الأنواع الفرعية من المتبرعمة الكيسية على 2277 مريضا من بيئتين, الحضرية و الريفية في منطقة السهوب الجزائرية على مدى فترة ثلاث سنوات في ولاية الاغواط.

تعرضت كل عينة للفحص المجهرى المباشر و للفحص المكمل و للتلوين و للزرع في المختبر. في وقت لاحق 30 عينة زرع ايجابية لداء المتبرعمة الكيسية تمت دراسة انواعها الفرعية عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل. من النتائج التي تم الحصول عليها, يبدو ان 33.33% من الاشخاص الذين تم فحصهم هم حاملون للطفيليات.

Blastocystis spp (53.22%) هو الطفيلي الأكثر شيوعا يليه *Entamoeba histolytica/dispar* (26,35%), *Endolimax nana* (5,27%), *Entamoeba coli* (12,38%), *Giardia intestinalis* (12,65%), *Cryptosporidium spp*, *Enterobius vermicularis* (1,71%), *Trichomonas intestinalis* (3,03%) (0,92%), *Trichuris trichuira* (0,13%) *Teania saginata* (0,53%), اشارت الأنواع الفرعية من المتبرعمة الكيسية إلى ارتفاع وتيرة (63.3%) ST1 تليها (23,3%) ST4, (13,3%) ST2, (13,3%) ST7, (10%) ST3 و ST5 (6,7%) و ايضا تم تحديد انواع فرعية مختلطة في (9/30) 30% من العينات التي تم تحليلها. و قد لوحظت الأعراض السريرية في 80.4% من الاشخاص الحاملون للطفيليات و قد ارتبط الحمل الطفيلي بشكل كبير مع العلامات السريرية. يشير التحليل متعدد المتغيرات إلى ارتباطات كبيرة بين ST1, ST4 و مكان الإقامة و بين ST1, ST2, ST4, ST7 و المرضى الذين يستهلكون ماء الصنوبر و بين ST1, ST2, ST4 و المرضى الذين هم على اتصال مع الحيوانات. على حد علمنا هذا هو التقرير الاول على الأنواع الفرعية من المتبرعمة الكيسية من السلالات البشرية في الجزائر.

الكلمات الرئيسية: الطفيليات المعوية, *Blastocystis spp*, الأنواع الفرعية, تفاعل البلمرة المتسلسل, الاغواط, الجزائر.

Résumé : Contribution à l'étude de la place des parasites protozoaires dans l'étiologie des entérites chez la population humaine en milieu hospitalier et non hospitalier issues des zones urbaines et rurales via les sources animales.

Dans le but de déterminer la fréquence des différentes espèces parasitaires et identifier pour la première fois les sous-types de *Blastocystis* spp. dans la région steppique algérienne, une étude descriptive et analytique des parasitoses intestinales humaines portée sur l'ensemble de 2277 patients, représentatifs des deux milieux urbain et rural sur une période de trois ans a été réalisée dans la wilaya de Laghouat. Chaque échantillon a fait l'objet d'un examen microscopique direct, d'un enrichissement, d'une coloration et d'une culture *in vitro* sur deux milieux xéniques. Par la suite, 30 échantillons de culture positifs de *Blastocystis* ont été sous-typés par la PCR. Des résultats obtenus, il ressort que 33,33% des sujets examinés sont porteurs de parasites, *Blastocystis* spp est le parasite le plus fréquemment retrouvé (53,22%), suivi par *Entamoeba histolytica/dispar* (26,35%), *Giardia intestinalis* (12,65%), *Entamoeba coli* (12,38%), *Endolimax nana* (5,27%), *Trichomonas intestinalis* (3,03%), *Enterobius vermicularis* (1,71%), *Cryptosporidium* spp (0,92%), *Teania saginata* (0,53%) et *Trichuris trichuira* (0,13%). Le sous-typage de *Blastocystis* spp. indiquait une forte fréquence de ST1 (63,3%), suivi par ST4 (23,3%), ST2 (13,3%), ST7 (13,3%), ST3 (10%) et ST5 (6,7%). Des sous-types mixtes ont été identifiés dans 30% (9/30) d'échantillons analysés. La symptomatologie clinique a été observée chez 80,4% des sujets parasités et la charge parasitaire est significativement corrélée avec les signes cliniques. L'analyse multivariée indique des associations significatives entre le ST1, ST4 et les lieux d'habitations, entre ST1, ST2, ST4, ST7 les patients qui consomment l'eau de robinet et entre ST1, ST2, ST4 et les patients qui sont en contact avec des animaux. À notre connaissance, il s'agit du premier rapport sur le sous-typage de *Blastocystis* issue des souches humaines en Algérie.

Mots clé : Parasites intestinaux, *Blastocystis* spp, Sous-types, PCR, Laghouat, Algérie.

Abstract: Contribution to the study of the place of protozoan parasites in the etiology of enteritis in the human population in hospitals and non-hospitals from urban and rural areas via animal sources.

In order to determine the frequency of different parasitic species and to identify for the first time the subtypes of *Blastocystis* spp. in the Algerian steppe area, a descriptive and analytical study of human intestinal parasitosis carried out on the set of 2277 patients, representative of urban and rural areas over a period of three years was realized in the wilaya of Laghouat. Each sample was subjected to direct microscopic examination, an enrichment, and *in vitro* culture on two xenic mediums. Subsequently 30 samples of *Blastocystis* positive culture were subtyped by PCR using sequence-tagged site (STS) primers. Results indicated that the overall infection rate was 33,33%. *Blastocystis* spp is the most frequently found parasite (52,22%), followed by *Entamoeba histolytica/dispar* (26,35%), *Giardia intestinalis* (12,65%), *Entamoeba coli* (12,38%), *Endolimax nana* (5,27%), *Trichomonas intestinalis* (3,03%), *Enterobius vermicularis* (1,71%), *Cryptosporidium* spp (0,92%), *Teania saginata* (0,53%) and *Trichuris trichuira* (0,13%). Subtyping of *Blastocystis* spp indicated a high frequency of ST1 (63.3%), followed by ST4 (23.3%), ST2 (13.3%), ST7 (13.3%), ST3 (10%) and ST5 (6.7%). Mixed subtypes were identified in 30% (9/30) of analyzed samples. Clinical symptomatology is observed in 80,4% of the parasitized subjects and the parasite intensity were significantly correlated with the clinical signs. Multivariate analysis indicates significant associations between ST1, ST4 and residential places, between ST1, ST2, ST4, ST7 and patients who consume tap water and between ST1, ST2, ST4 and patients who are in contact with animals. To the best of our knowledge, this is the first report on subtyping of *Blastocystis* in Algeria.

Keywords: Intestinal parasites, *Blastocystis* spp, Subtypes, PCR, Laghouat, Algeria.