

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



جامعة البليدة 1

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire

De fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme De Master en Biologie

Option : Parasitologie

Thème

**Contribution à l'étude des parasitoses digestives chez les
enfants immunodéprimés dans la région Blida, Tipaza et
Alger–Cas de la Cryptosporidiose**

Soutenue le : 06 Septembre 2020

Présenté par :

Mlle ABDELLI Ferial

Mlle BOUFAS Kenza

Devant le jury composé de :

Dr. BENDJOUDI, D.

Président

MCA /USDBlida 1

Dr. ZIAM, H.

Examineur

MCA/USD,Blida 1

Dr. DJELLOULI, N.

Promotrice

MCB/ENP, Alger

Dr. BENDJABELLAH, A

Co-Promotrice

Méd. Parasitologue, EPH Tipaza

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de nous avoir donné force, le courage, et la patience nécessaires pour accomplir ce modeste travail, sans oublier nos parents qui ont veillé sur nous durant toute notre vie.

Nos remerciements vont en premier pour le **Dr. Bendjoudi. D**, Maître de Conférences à l'université Saad Dahleb de Blida, pour avoir accepté de présider notre jury de thèse.

Nous remercions également le **Dr. Ziam. H**, Maître de Conférences à l'université Saad Dahleb de Blida pour avoir accepté d'examiner et participer à notre jury de thèse. Merci encore d'avoir accepté d'examiner notre travail !

Ensuite, nous tenons à remercier notre Co-promotrice le **Dr. Bendjabellah. A**, Médecin-Parasitologue au Laboratoire de Parasitologie de l'EPH Hadjout à Tipaza pour son accueil, son sérieux et pour ses judicieux conseils pour la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier infiniment notre promotrice le **Dr, Djellouli. N.** pour le privilège qu'elle nous a fait en acceptant de diriger ce travail. Sa gentillesse, sa disponibilité, sa modestie, ses précieux conseils, sa riche expérience et l'accueil cordial qu'elle nous a toujours réservé nous a inspiré une grande admiration à son égard.

Nous vifs remerciements vont au **Dr. Amrani** ainsi que le **Dr. Durbani**, qui nous ont beaucoup aidées tout au long de notre travail expérimental.

Enfin, et non pas des moindres, nous remercions nos très **cher(e)s camarades** et **nos ami(e)s** pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble. Et à tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail surtout dans les conditions exceptionnelles liées à la pandémie du Corona Virus. À vous tous Merci du fond du cœur!

Dédicace de Feriel :

Je dédie ce travail à :

- *A la source de la tendresse, ma mère.*
- *A mon très cher père, pour m'avoir soutenue moralement et matériellement jusqu'à ce jour. Pour son amour, et ses encouragements.*

Que ce travail, soit pour toi, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

- *Mes frères et Mes sœurs :*

Mohamed Nadir et Nesrine et La petite Maria Lyna

- *Mes amies : Amina, Rania, Chaïma et Chahinez.*
- *Sans oublier de dédier ce travail à ma très chère binôme Kenza pour qui souhaite bonheur et succès dans sa vie.*
- *A toute la promo de Parasitologie 2019|2020 que j'aime tant, un par un !*
- *En fin je dédie ce travail à tous ceux que je connais de près ou de loin.*

Feriel

Dédicace de Kenza

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

- *A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espairs. À la source d'amour inconditionnel et inépuisable. à celle qui m'a bénie par ces prières ... Ma mère.*
- *A mon support dans la vie. Celui qui m'a appris, m'a supportée et m'a dirigée vers la gloire ... mon père*
- *A mes très chers frères Mouhamed et Walid, ainsi que mes belles-sœurs Amina et Nawel*
 - *A toute ma famille maternelle et paternelle.*
 - *A ma très chère amie d'enfance, Nihad, à qui je porte beaucoup d'estime.*
- *A ma chère amie, Amina, avec qui j'ai partagé de belles années de complicité et d'études.*
 - *A ma chère amie Duaa. Merci pour ton aide et ton soutien à tout moment.*
 - *A ma chère amie Zineb. Je te remercie pour ton amitié tant chère à mon cœur.*
- *A mon adorable binôme Feriel, je te remercie pour ton amitié chère à mon cœur, et je te souhaite tout le bonheur du monde. Toute mon affection pour ton admirable famille, que je remercie beaucoup !*
- *Pour mes très chères amies et toute la promotion de Master Parasitologie 2019|2020*
- *A tous ceux et celles qui m'ont aidée et encouragée de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

Kenza

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre	Page N°
Figure 01	Les oocystes de <i>Cryptosporidies</i> colorés en rouge de façon non homogène.	8
Figure 02	Cycle biologique de <i>Cryptosporidium spp.</i>	9
Figure 03	Matériel de prélèvement donné pour chaque enfant.	<i>Annexe 2</i>
Figure 04	Le matériel non biologique à l'établissement hospitalier Beni-Messous, Alger.	<i>Annexe 2</i>
Figure 05	Les réactifs utilisés au laboratoire de parasitologie-mycologie <i>CHU Beni-Messous</i> pour la copro-parasitologie des selles.	<i>Annexe 2</i>
Figure 06	Les réactifs utilisés au laboratoire de parasitologie-mycologie à l' <i>EPH de Hadjout</i> pour la copro-parasitologie des selles.	<i>Annexe 2</i>
Figure 07	Les étapes de l'examen direct à l'état frais.	<i>Annexe 2</i>
Figure 08	Les étapes de l'examen après coloration au Lugol.	<i>Annexe 2</i>
Figure 09	Les étapes de la technique de Ritchie.	<i>Annexe 2</i>
Figure 10	Les étapes de la Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.	<i>Annexe 2</i>
Figure 11	Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau des trois établissements	34
Figure 12	Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau de l'EPH Hadjout	34
Figure 13	Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau de CHU -Beni Messous	35
Figure 14	Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau de TOT Blida	35
Figure 15	œuf <i>Trichuris Trichura Gx40</i>	36
Figure 16	Œufs d' <i>Enterobius vermicularis Gx40</i>	36
Figure 17	<i>Entamoeba Coli. Gx40</i>	36
Figure 18	La coloration au Ziehl-Neelsen modifiée montrant deux oocystes de <i>Cryptospridium Spp. Gx40</i>	37
Figure 19	Kyste de <i>Blastocystis Hominis Gx40</i>	37
Figure 20	Kyste de <i>G. Intestinalis Gx40.</i>	37
Figure 21	Prévalence d'isolement des différents protozoaires chez les enfants par rapport aux examens positifs	38
Figure 22	Prévalence d'isolement des différents métazoaires chez les enfants par rapport aux examens positifs	39
Figure 23	Répartition des protozoaires et des métazoaires chez le total des enfants sur l'échantillon positif	39

Figure 24 : Prévalence de l'infestation par le <i>Cryptosporidium spp</i> par rapport aux examens positifs	40
Figure 25 : : Prévalence des enfants parasités par rapport aux examens positifs en fonction du sexe	41
Figure 26 : Prévalence des enfants parasités par rapport aux examens positifs en fonction de la tranche d'âge	41
Figure 27 : Prévalence des enfants immunocompétents et immunodéprimés par rapport aux examens positifs	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page N°
Tableau 1	Les espèces de <i>Cryptosporidium</i> et leurs hôtes principaux	<i>Annexe I</i>
Tableau 2	Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global au niveau des trois établissements hospitaliers.	31
Tableau 3	Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global pour l'EPH de Hadjout :	32
Tableau 4	Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global à CHU. Beni Messous.	32
Tableau 5	Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global du centre à (TOT) de Blida :	33

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Définition du terme
CD4	Cluster de Différenciation 4
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
DMI	Dose Minimale
EHS	Etablissement Hospitalier Spécialisé
EPH	Établissement Public Hospitalier
EPS	Examen Parasitologique des Selles
ELISA	Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay
VIH	Virus de l'immunodéficience Humaine
FasL	Fas Ligand
GROα	Growth-Regulated Oncogene α
IgG	Immunoglobulines G
L'IL-8	L'Inter Leukine 8
MASP-1	Mannose-binding protein-Associated Serine Protease 1
MASP-2	Mannose-binding protein-Associated Serine Protease 2
MBL	Mannose-Binding Lectine
NK	Natural Killer
NTZ	Nitazoxanide
PCR	Polymerase Chain Reaction
SIDA	Syndrome d'ImmunoDéficience Acquise
SRO	Soluté de Réhydratation Orale
TNF	Tumor Necrosis Factor
IPS	Indice Parasitaire Simple

• Résumé

La cryptosporidiose est une parasitose intestinale causée par un parasite du genre *Cryptosporidium*, responsable de diarrhées chroniques graves, en particulier chez les enfants immunodéprimés. L'incidence de cette maladie est loin d'être connue en Algérie, notamment chez les immunodéprimés. C'est dans ce sens que nous avons réalisé cette étude prospective qui a duré du 20 février au 17 mars 2020, sur un échantillon comprenant 70 enfants âgés de 2 mois à 15ans répartis sur trois structures hospitalières : au laboratoire de Parasitologie Mycologie du CHU de Beni Messous, à l'EPH de Hadjout et au centre de Transplantation des Organes et Tissus mous TOT à Blida. Chaque prélèvement de selles d'enfants a subi un examen parasitologique rigoureux et de routine, comportant un examen microscopique direct à l'état frais et après concentration par la technique de Ritchie. Le *Cryptosporidium* est recherché en utilisant la technique de Ziehl Neelsen modifiée. Sur le total des 70 échantillons d'enfants analysés, un seul cas positif pour le *Cryptosporidium spp* a été isolé chez un enfant immunodéprimé âgé de 3 ans, de sexe masculin au niveau du laboratoire du Centre de TOT à Blida, donnant ainsi un taux de positivité de 6,25 % au *Cryptosporidium*. Ce faible pourcentage enregistré, est expliqué par le faible nombre des échantillons recueillis ainsi qu'au fait que notre étude s'était brusquement interrompue à cause de la situation épidémiologique vécue, liée au Covid 19.

Mots-clés : Parasitoses intestinales ; *Cryptosporidium spp* ; Enfants immunodéprimés ; Prévalence ; Alger ; Tipaza ; Blida.

- **Abstract**

Cryptosporidiosis is an intestinal parasitosis caused by a parasite of the genus *Cryptosporidium*, responsible for serious chronic diarrheas, especially in immunocompromised people. The incidence of this disease is far from being known in Algeria, particularly among immunocompromised. It is in this sense that we carried out this prospective study which lasted from the 20 February to the 17 March 2020, on a sample including 70 children aged from 2 to 15 years, spreaded in three hospital structures : the laboratory of Parasitology-Mycology of the PHI of Hadjout in la wilaya de Tipaza, the University Hospital of Beni Messous in Algiers and the Organ and Tissues Transplantation Center in Blida.. Each collection of children's stools underwent a rigorous and routine parasitological examination, including a direct microscopic examination in the fresh state and after concentration by the Ritchie technique. *Cryptosporidium* is searched using the modified Ziehl Neelsen technique. Out of the 70 samples of children analysed, only one positive case for *Cryptosporidium spp* was isolated in a 3-year-old immunocompromised male child at the laboratory of the OTT Centre in Blida, giving thus a positivity rate of 6,25 % to *Cryptosporidium*. This small percentage recorded, is explained by the small number of samples collected and the fact that our study was abruptly interrupted due to the epidemiological situation, related to Covid 19.

Keywords : Intestinal parasitosis; *Cryptosporidium spp*; Immunocompromised statue ; Children; Prevalence; Algiers; Tipaza; Blida.

• الملخص

داء الكريبتوسبورديوم هو مرض يصيب الأمعاء بسبب طفيلي من نوع الكريبتوسبورديوم الذي يسبب الإسهال المزمن الحاد لدى الأطفال الذين يعانون من نقص المناعة والإصابة بهذا المرض غير معروف في الجزائر خاصة بين الذين يعانون من نقص المناعة. لذلك اجرينا هذه الدراسة الوصفية في الفترة الممتدة بين 20 فيفري 2020 و 17 مارس 2020, لمدة اشهر في مختبر علم الطفيليات و الفطريات ل 70 طفلا تتراوح أعمارهم بين شهرين و 15 سنة بمستشفى بني مسوس بالجزائر العاصمة و مستشفى كوييلي محمد رابط بولاية تيبازة و بمركز زراعة الأعضاء و الأنسجة بمستشفى البلدية, قمنا بفحص براز كل طفل عن طريق الفحص المجهرى المباشر ثم قمنا بعمل تركيز عن طريق تقنية الرينتشي بعد ذلك فحصنا الكريبتوسبورديوم بواسطة تقنية زيهل نيلسن, في جميع العينات ، تم اكتشاف حالة إيجابية واحدة للكريبتوسبورديوم في مختبر علم الطفيليات لطفل من جنس يبلغ من العمر ثلاث سنوات بمستشفى البلدية بمعدل إيجابي يقدر ب 6,25% , نفسر هذه النتيجة الضعيفة بقلة عدد العينات المدروسة وحقبة الأمر أن دراستنا أجريت خلال فترة قصيرة جدًا بسبب الوضع الوبائي المرتبط بالكوفيد 19.

كلمات مفتاحية: الطفيليات المعوية ; الكريبتوسبورديوم ; الأطفال ; نقص المناعة ; معدل ; الجزائر ; تيبازة :البلدية

Table des matières

Introduction :	2
Étude bibliographique	3
CHAPITRE 1: La bibliographie	4
1. Définition de la cryptosporidiose :	4
2. Taxonomie	4
3. Les modalités de transmission.....	5
3.1. Dans le cas d'une transmission zoonotique	5
3.2. Transmission non zoonotique.....	6
3. 2.1. Transmission par voie d'eau.....	6
3. 2.2. Transmission par les aliments	6
3.3. Autres modalités de transmission	6
4. Facteurs de risque de la Cryptosporidiose	7
4.1. Facteurs de risque de contamination	7
4.2. Facteurs de risque pour les formes graves	7
5. La résistance de l'oocyste	7
6. Cycle biologique	8
7. Manifestation clinique selon le statut immunitaire	10
7.1. Chez les patients immunocompétents.....	10
7.2. Manifestations chez les patients immunodéprimés	10
7.3. Personnes atteintes du virus de l'immunodéficience non humaine	11
8. Diagnostic biologique	11
8.1. Diagnostic parasitologique	12
8.1.1. Prélèvement parasitologique	12
8.1.2. Détection microscopique	12
8.2. Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée	13
8.2.1 Technique de Heine	13
8.3. Méthodes immunologiques	13
8.3.1 Immunofluorescence directe :.....	13
8.3.2. Détection des antigènes de cryptosporidies par ELISA :.....	13
8.4. Diagnostic anatomopathologique.....	14
8.5. La sérologie	14
9. Le traitement	14

9.1 Traitement symptomatique	15
9.2 traitement spécifique	15
10. Prévention de la cryptosporidiose	15
10.1. la prévention individuelle	15
10.2 la prévention collective	16
11. l'immunité	16
11.1. Réponse immunitaire à l'infection par <i>Cryptosporidium parvum</i>	16
11 .1.1. Réponse immunitaire innée	17
11 1.1.1. Résistance à l'infection	17
11 .1.2. La réponse immunitaire acquise	18
11.1.2.1. La réponse humorale :	18
11.2. L'apoptose dans la cryptosporidiose.....	18
Chapitre 2 :Matériels et Méthodes.....	21
1. Zone et période d'étude	22
1.1. Présentation de zone d'étude.....	22
2. Echantillonnage	23
2.1 Population étudiée.....	23
2.2. Prélèvements des patients immunodéprimés	25
2.3. Prélèvements des patients immunocompétent.....	24
2.4. Précautions à prendre avant le recueil des selles	24
2.5. La conservation des selles	25
2.6. prélèvement et matériels biologiques	25
2.7. Matériels non biologique.....	26
2.7.1. Verrerie et appareillages.....	26
2.7.2. Les réactifs	26
3. Diagnostique coprologique	27
3. 1. L'examen macroscopique	27
3. 2. L'examen microscopique	27
3.2.1. Examen microscopique après concentration	28
3.2.3. Méthode physico-chimique ou diphasique	28
3.2. 4. Technique de coloration	29
3.2.4.1. La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.....	29
Chapitre 3 : Résultats	31
1. Le taux global de positivité des échantillons	31
1.1. Dans les trois établissements hospitaliers	31

1.2. Dans l'Établissement Hospitalier Public de Hadjout-Tipaza :	31
1.3. Dans le centre Hospitalier Issad Hassani, a Béni Messous-Alger :	32
1.4.. Dans l'établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, à Blida	33
2. Résultats des examens parasitaires chez les enfants en fonction de leur provenance	33
2.1. Le taux global de positivité des échantillons chez les enfants en fonction de leur provenance au niveau des trois établissements.....	34
2.2. Dans l'Établissement Hospitalier Public de Hadjout-Tipaza	34
2.3. Dans le centre Hospitalier Issad Hassani, à Béni Messous-Alger	35
2.4. Dans l'Établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, à Blida	35
3. Les différentes formes parasitaires diagnostiquées durant notre période de stage.....	36
4. Résultats globaux des infestations parasitaires par les protozoaires et les métazoaires au niveau des trois Etablissements Hospitaliers publics	38
4.1. Par les protozoaires.....	38
4.2. Par les métazoaires.....	39
4.3. Fréquence globale selon les groupes parasitaires	39
4.4. Résultat global de l'infestation par <i>Cryptosporidium spp</i>	40
5. Résultats globaux des examens parasitaires en fonction du sexe, de l'âge et du statut immunitaire des enfants	40
5.1. En fonction du sexe	40
5.2. En fonction de la tranche d'âge	41
5.3. En fonction du statut immunitaire.....	42
Chapitre 4 : Discussion des résultats	43
Conclusion et Perspectives	46
Les références	49
Les annexes	

Introduction

Introduction :

Les parasitoses intestinales sont des maladies dues à la présence d'un parasite dans le tube digestif. Les mesures d'hygiène individuelle et collective limitent leur propagation. Certaines d'entre elles sont encore très fréquentes même dans les pays développés. Ces parasitoses ont existé depuis l'antiquité, cependant, et avec l'évolution des civilisations, des changements de comportement, des conditions socio-économiques et aussi l'amélioration des techniques de laboratoire, des parasites, encore inconnus chez l'homme ont été mis en évidence ces dernières années comme les parasites intestinaux (**Aajaouj, 2015**).

Les parasitoses intestinales constituent un problème de santé publique majeur dans le monde entier, en particulier dans les pays du tiers monde, où les mauvaises normes d'hygiène et d'assainissement ainsi que le manque de soins médicaux facilitent la propagation des infections d'origine alimentaire et hydrique. Les parasitoses digestives tuent encore autant d'humains que les conflits armés dans certaines parties du monde (**Korzeniewski, 2016**). Les enfants sont les plus touchés avec les parasitoses intestinales, avec une diminution du développement physique et mental (**Juarez et Rajal, 2013**).

La cryptosporidiose est une zoonose cosmopolite, mais elle est plus fréquente dans les régions où l'assainissement et l'hygiène sont insuffisants. Les parasites de *Cryptosporidium spp* sont résistants à de nombreux désinfectants courants, dont le chlore, ce qui peut rendre l'infection difficile à éradiquer (**Desai, 2020**). Le *Cryptosporidium parvum* est responsable de courts épisodes de diarrhée chez les patients immunocompétents et de diarrhée prolongée, parfois cholériforme, résistante à tout traitement chez les patients immunodéprimés et surtout les patients infectés par le VIH (**Aajaouj, 2015**).

Notre but est de dresser un état des lieux des infections au *Cryptosporidium spp* chez les enfants immunodéprimés du service de pédiatrie et d'identifier les parasites intestinaux les plus fréquents au niveau du laboratoire de Parasitologie-Mycologie de CHU de Beni-Messous, l'EPH de Hadjout et au centre de Transplantation des Organes et Tissus mous TOT à Blida.

Au vu de la situation épidémiologique liée au Coronavirus (**Covid-19**) nous avons été obligées de raccourcir notre durée de stage pratique qui n'a duré au final que 20 jours.

Etude bibliographique

Chapitre 1 : La bibliographie

1. Définition de la cryptosporidiose :

La cryptosporidiose est une zoonose opportuniste cosmopolite causée par diverses espèces appartenant au genre *Cryptosporidium spp.* Un Apicomplexa qui se multiplie dans les cellules épithéliales du tractus gastro-intestinal et du système respiratoire d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme (**Chalmers and Katzer, 2013 ; Ryan, Fayer, and Xiao, 2014**).

La première description du genre *Cryptosporidium spp* a été réalisée par TYZZER Ernest en 1907. Trois ans plus tard, TYZZER a isolé ce protozoaire à partir de la glande gastrique d'une souris de laboratoire et il l'a nommé *Cryptosporidium muris* (**Tyzzler, 1910**).

Le Cryptosporidium spp appartient à l'embranchement des Apicomplexa qui comprend des eucaryotes parasites, classe des coccidies et à l'ordre des Eucoccidiorida. Classé parmi les coccidies, les études phylogénétiques montrent que les cryptosporidies sont plus proches des grégarines (**Razakandrainibe et al., 2014**).

Le Cryptosporidium spp cause une diarrhée auto-limitée chez les individus immunocompétents, mais l'infection peut être chronique et peut mettre en danger la vie de ceux qui sont immunodéprimés (**Cacciò, et Widmer., 2013**).

Son cycle comporte une multiplication asexuée (schizogonie) et une multiplication sexuée (gamogonie) conduisant à la formation d'oocystes éliminés avec les selles dans le milieu extérieur. Ces oocystes sont directement infectants dès leur émission (**Guyot et al., 2012**).

Chez les enfants, spécialement ceux victimes de malnutrition, la cryptosporidiose est plus sévère et se manifeste par une importante perte de poids, un retard de croissance et une déshydratation (**Rousseau, 2018**).

2. Taxonomie

Le Cryptosporidium spp est un protozoaire de l'embranchement des Apicomplexa. La classification historique apparente les cryptosporidies aux coccidies, parasites importants en médecine humaine et vétérinaire, en raison des nombreuses similitudes de leur cycle

biologique. Les données de la biologie moléculaire laissent penser que *Cryptosporidium* serait davantage apparenté aux grégarines (**Fayer, 2004**).

Le Cryptosporidium spp a été signalé dans une grande variété d'hôtes vertébrés, y compris les mammifères, les oiseaux, les reptiles, les rongeurs et les poissons (**Appelbee et al., 2005**). Actuellement, 14 espèces de *Cryptosporidium spp* sont répertoriées. Elles figurent, ainsi que leurs hôtes principaux, dans le tableau **1 dans l'annexe**.

3. Les modalités de transmission

La cryptosporidiose est une maladie à transmission féco-orale. L'ingestion d'une quantité relativement faible d'oocystes est infectante : la dose minimale infectante (DMI) chez des sujets immunocompétents (volontaires sains) est de 132 oocystes en moyenne et on estime qu'elle est inférieure à 10 oocystes chez les patients immunodéprimés (**Guyot et al., 2012**).

Le risque de contracter une infection à *Cryptosporidium* varie selon la réceptivité de l'individu qui est fonction de :

- Son âge
- L'état de son système immunitaire
- Des antécédents d'exposition et d'autres facteurs génétiques et environnementaux.
- Les oocystes sont directement infectants dès leur émission, et sont extrêmement résistants dans l'environnement. En conséquence, la Cryptosporidiose est une parasitose non seulement à transmission directe (contact avec un sujet ou un animal infecté), mais aussi à transmission indirecte, via l'eau et les aliments souillés par des oocystes d'origine humaine ou animale (**Guyot et al., 2012**).

3.1. Dans le cas d'une transmission zoonotique

Ce sont essentiellement des cryptosporidies d'origine bovine et ovine, qui sont à l'origine de la pollution : les souches zoonotiques de *C. parvum* représentent plus de 65 % des parasites isolés chez l'Homme (**Euzéby, 2002**). Les excréments d'animaux et le lavage inapproprié des mains sont considérés comme des facteurs responsables de la transmission zoonotique (**Vanathy et al., 2017**).

3.2. Transmission non zoonotique

3.2.1. Transmission par voie d'eau :

L'eau est sans conteste le principal véhicule de la contamination, qu'il s'agisse d'eau de surface (lac, rivière), d'eau d'arrosage, d'eau de loisir (piscine) ou d'eau destinée à la consommation humaine (Guyot et al., 2012). Ces eaux sont contaminées par les excréments humains et animaux utilisés comme fumier pour les cultures, ainsi que les eaux usées contaminées qui entrent dans le réseau de distribution d'eau (Vanathy et al., 2017).

3.2.2. Transmission par les aliments

Les aliments et les produits alimentaires sont également une source d'infection. Des épidémies d'origine alimentaire viennent essentiellement d'aliments tels que : le cidre de pomme, la salade de poulet, le lait, les fruits de mer tel que les huîtres emballées commercialement et les légumes ne crus pas ou mal lavés (Vanathy et al., 2017).

3.3. Autres modalités de transmission

La transmission peut se faire également par le personnel hospitalier, les garderies, le transport mécanique par le sol, et les insectes tels que les cafards et les mouches domestiques. L'oocyste a également été détecté dans les crachats et les aspirateurs bronchiques. Il peut aussi provoquer la diarrhée du voyageur (Vanathy et al., 2017). Pour l'espèce *Cryptosporidium hominis*, l'homme est le seul réservoir de parasites et la transmission inter-humaine constitue un fort risque de contaminations familiales et de dissémination au sein des collectivités (crèche notamment) (Guyot et al., 2012).

Pour *Cryptosporidium parvum* et les autres espèces animales, la contamination de l'homme peut s'effectuer au contact d'un animal infecté, comme cela a été prouvé dans plusieurs cas de contamination d'enfants à la suite de visites dans des fermes pédagogiques (Guyot et al., 2012).

4. Facteurs de risque de la Cryptosporidiose

4.1. Facteurs de risque de contamination

- La consommation d'eau non traitée.
- Les voyages dans une zone à bas niveau d'hygiène.
- Le contact avec des animaux pouvant être infectés (jeunes veaux, en particulier).
- La vie en collectivité (enfants en crèche, principalement).
- La baignade dans une eau potentiellement contaminée.
- Des Facteurs de risque de la cryptosporidiose sont définis et les enfants les plus à risque sont ceux de moins de 5 ans, en âge de porter des couches (**Gargala et al., 2017**).
- Voyager à l'étranger et être en contact avec une personne diarrhéique (changement des couches-culottes chez le jeune enfant) représente un facteur de risque associé à l'infection par *C. hominis* (**Guyot et al., 2012**).

4.2. Facteurs de risque pour les formes graves

L'infection à VIH/SIDA (taux de lymphocytes CD4 < 200/mm³) : La susceptibilité à l'infection par *Cryptosporidium* étant croissante avec la diminution du taux de lymphocytes CD4 sanguins, le risque chez les patients immunodéprimés est multiplié par 2 pour un taux de 500 à 1 000 lymphocytes CD4/mm³, ce risque est multiplié par 3,6 par 3,6 pour un taux de 100 à 200 et par 6 pour un taux < 100 (10) (**Guyot et al., 2012**).

Il existe d'autres déficits immunitaires qui sont également des facteurs de haut risque pour la Cryptosporidiose tels que les : hémopathies, et la transplantation d'organes (**Guyot et al., 2012**).

5. La résistance de l'oocyste

Chez le *Cryptosporidium spp*, l'oocyste (**figure 01**) présente plusieurs particularités biologiques qui concourent à faciliter la transmission de la maladie :

- Sporulé dès son élimination fécale, il est d'emblée contaminant, sans qu'un délai de maturation soit nécessaire

- La faible taille (5 μm) des oocystes qui leur permet de prendre en défaut certains dispositifs de filtration.
- La résistance de l'oocyste à la plupart des désinfectants usuels, et spécifiquement au chlore qui est utilisé dans le traitement des eaux.
- Il résiste également dans l'environnement extérieur ; on peut ainsi obtenir le développement en culture *in vitro* de parasites viables, à partir d'oocystes isolés des eaux d'environnement.
- Un nombre limité d'oocystes suffit à provoquer une Cryptosporidiose chez l'homme immunocompétent, sans contact antérieur avec le parasite (**Bonnin et al., 2001**).

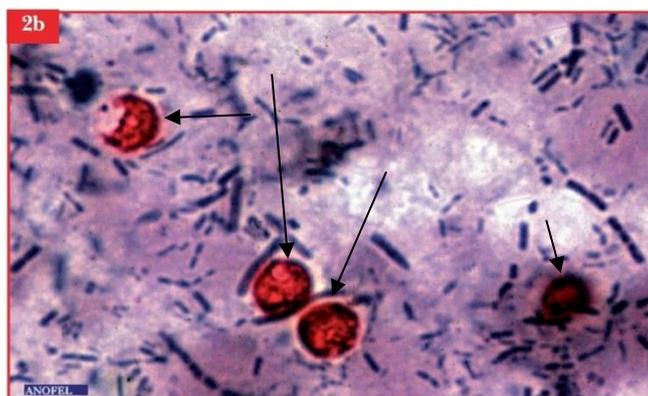


Figure 1 : Les oocystes de Cryptosporidies colorés en rouge de façon non homogène (**Guyot et al., 2012**).

6. Cycle biologique

Les parasites du genre *Cryptosporidium spp* sont de parasites monoxènes, c'est-à-dire à un seul hôte. La forme de résistance et de dissémination est l'oocyste, excrété avec les fèces des sujets infectés. Pour que le cycle parasitaire (**Figure 2**) soit initié, l'hôte doit ingérer des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes (**Certad, 2008**).

Une fois les sporozoïtes libérés dans la lumière intestinale, ceux-ci pénètrent les cellules épithéliales. Leur premier contact a lieu tout d'abord avec la couche muqueuse recouvrant l'épithélium intestinal. Cependant, le mécanisme par lequel ils franchissent cette barrière n'est pas encore clarifié. Il pourrait être dû à des protéases sécrétées par *Cryptosporidium* ou, plus simplement, à un phénomène mécanique. Toutefois, leur attachement aux cellules épithéliales dépend d'une variété de molécules exprimées à leur surface qui peuvent se lier au(x) récepteur(s) des cellules hôtes ou aux structures de surface. Les sporozoïtes sont ensuite

intériorisés dans une structure bimembranaire, la vacuole parasitophore. Cette structure a une localisation unique au niveau apical de la cellule hôte et est considérée comme intramembranaire mais extra cytoplasmique. À l'intérieur de la vacuole parasitophore, le sporozoïte se développe en trophozoïte. Ce dernier entre dans une reproduction asexuée pour former un méronte de type I dont la division génère des cellules filles, appelées mérozoïtes, chacun entouré de sa propre membrane. Les mérontes de type I libèrent ainsi huit mérozoïtes envahissant ensuite les cellules épithéliales voisines.

Les mérozoïtes de type I peuvent aussi se développer en un autre méronte de type I en subissant une division asexuée (mérogonie) ou peuvent continuer à se développer pour former des mérontes de type II. Les mérontes de type II produisent quatre mérozoïtes qui se fixent à nouveau aux cellules épithéliales. Par des mécanismes encore inconnus, ces mérozoïtes sont programmés pour se différencier en microgamétocytes ou en macrogamétocytes. Jusqu'à seize microgamètes peuvent être individualisés dans un microgamétocyte (**Benamrouz et al., 2020**).

Ces microgamètes finissent par féconder un macrogamétocyte pour former un zygote diploïde qui subit un processus similaire à la méiose (sporogonie), donnant alors naissance à quatre sporozoïtes haploïdes dans un oocyste (oocyste sporulé). Les oocystes résultants ont une paroi fine ou épaisse et sont libérés dans la lumière intestinale puis excrétés dans l'environnement pour infecter d'autres hôtes (**Benamrouz et al., 2020**).

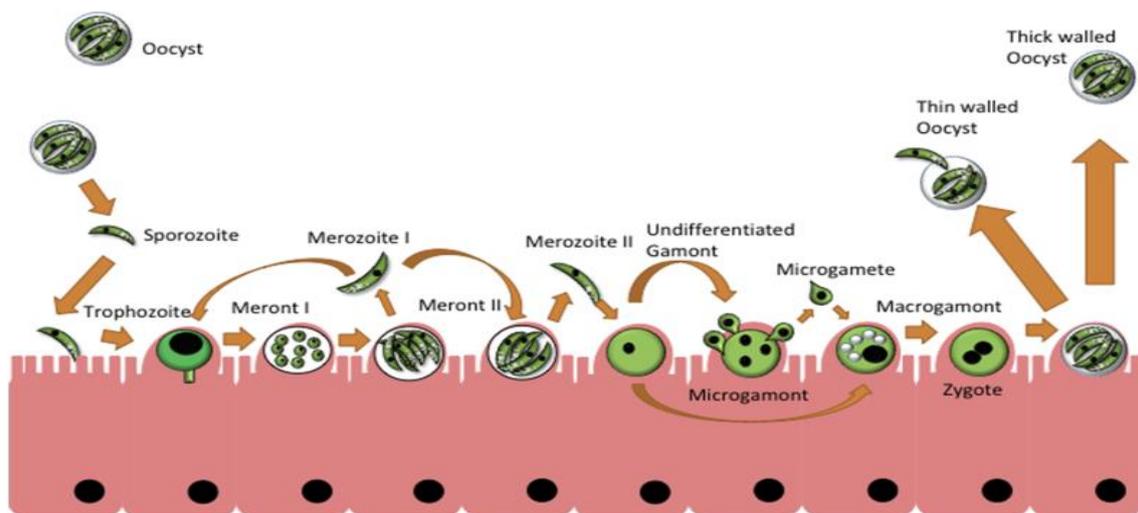


Figure 2 : Cycle biologique de *Cryptosporidium spp* (**Bones et al., 2019**)

7. Manifestation clinique selon le statut immunitaire

La gravité de la maladie dépend généralement du statut immunitaire de l'individu. Elle peut varier d'une maladie asymptomatique à une maladie grave.

7.1. Chez les patients immunocompétents

• Chez l'adulte

La cryptosporidiose fait partie des étiologies de la diarrhée du voyageur, souvent asymptomatique ou sous forme de gastro-entérite banale. Typiquement, après une incubation de 3 à 12 jours apparaît une diarrhée hydrique profuse, accompagnée ou non de douleurs abdominales, vomissements, fièvre, céphalées, myalgies, asthénie, anorexie ou sueurs (Aajaouj, 2015). Une présentation asymptomatique est observée chez les personnes immunocompétentes et immunodéprimées. Elle se limite d'elle-même chez les patients dont le statut immunitaire est sain. Elle peut se présenter sous la forme de 5 à 10 épisodes de diarrhée aqueuse par jour avec des taches de mucus. D'autres manifestations rares sont les nausées, les crampes abdominales, une fièvre légère et l'anorexie (Vanathy et al., 2017).

Les manifestations, en règle résolutive en 3 à 15 jours, peuvent persister plus de 2 semaines, mais beaucoup de patients cliniquement convalescents éliminent le parasite de façon prolongée (jusqu'à 21 jours après la guérison clinique).

Un portage asymptomatique de *Cryptosporidium parvum* est possible. La possibilité de co-infections avec d'autres parasites intestinaux pourrait s'expliquer par la transmission simultanée de micro-organismes aux modalités épidémiologiques proches (Aajaouj, 2015).

• Chez l'enfant et le nourrisson

Un retard de croissance est observé chez les nourrissons atteints de cryptosporidiose chronique ; un retard de croissance et une atteinte des voies respiratoires sont également observés chez les enfants mal nourris (Vanathy et al., 2017).

7.2. Manifestations chez les patients immunodéprimés

Chez l'immunodéprimé VIH+ ou non, la cryptosporidiose fait partie des infections opportunistes qui résistent aux agents anti-infectieux habituels. Elle se manifeste par une diarrhée qui se caractérise par :

- ✓ Sa chronicité pouvant évoluer jusqu'à la mort du malade.
- ✓ Le nombre élevé des éliminations fécales.
- ✓ Son retentissement général peut causer de sérieux troubles hydro-électrolytiques, de malnutrition, déshydratation, l'insuffisance rénale fonctionnelle et l'acidose métabolique contribuant à l'issue fatale des immunodéprimés hébergeant ce parasite.
- ✓ Une extension de l'infection aux voies biliaires : cholangite sclérosante, cholécystite, sténose papillaire ; Plus rarement localisation sinusienne, hépatique, pancréatique, gastrique, œsophagienne ou appendiculaire.
- ✓ **D'autres signes digestifs :**
 - une anorexie,
 - des nausées,
 - une flatulence,
 - des vomissements,
 - des douleurs abdominales généralement diffuses à type de crampes peu intenses,
 - un malaise,
 - des céphalées,
 - une fébricule parfois une fièvre prolongée pouvant atteindre 38,9 °C (Aajaouj, 2015).

7.3. Personnes atteintes du virus de l'immunodéficience non humaine

D'autres patients, tels que les greffés, les personnes atteintes de tumeurs malignes, d'immunodéficience primaire et celles qui prennent des stéroïdes à long terme, présentent également une diarrhée aqueuse abondante, une anorexie et une perte de poids. On peut également observer des atteintes extra-intestinales telles que les voies respiratoires (Vanathy et al., 2017).

8. Diagnostic biologique

La cryptosporidiose ne présente pas de syndrome spécifique permettant son identification sans le recours au laboratoire de parasitologie. Le diagnostic repose sur la recherche et identification des oocystes dans les matières fécales ou encore sur des coupes histologiques par le biais de biopsie intestinale ou liquide d'aspiration duodénale (Alaoui, 2010).

8.1. Diagnostic parasitologique

Le diagnostic repose sur la mise en évidence du parasite dans les selles (Alaoui, 2010).

8.1.1. Prélèvement parasitologique

Le recueil des selles fraîches se fait dans des récipients propres, l'analyse doit se faire 3 heures au maximum après la défécation. Le caractère souvent intermittent de leur élimination peut justifier des examens répétés et l'utilisation de méthodes de concentration. Les échantillons fécaux renfermant des oocystes de cryptosporidies peuvent être conservés au froid à 4°C soit dans le bichromate de potassium à 2,5 % ($K_2 Cr_2 O_7$) soit dans le formol (Alaoui, 2010).

8.1.2. Détection microscopique

Il peut être possible la recherche du parasite au microscope de distinguer certaines structures internes. La recherche a lieu sur un frottis de selles, réalisé après concentration ou non, les oocystes de *Cryptosporidium* se présentent sous forme sphérique ou ovale et mesurent 5 μm . L'examen sans coloration spécifique ne permet cependant pas de distinguer avec suffisamment de précision les oocystes de *Cryptosporidium* des autres micro-organismes pouvant être présents dans les selles, par exemple des levures, possédant une morphologie assez proche après coloration au Giemsa (Molkhou, 2014).

8.2. Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée

La technique de Ziehl-Neelsen modifiée représente la technique de référence. Elle est particulièrement recommandée pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium spp* (Alaoui, 2010). Un frottis de selles est fixé au méthanol pendant 5 minutes, coloré dans un bain de fuchsine pendant une heure, décoloré à l'acide sulfurique puis recoloré au vert de malachite. Les oocystes se teintent en rouge sur un fond vert constitué par les différents éléments fécaux. Une zone plus claire est observée au milieu d'oocyste (Molkhou, 2014). Cette technique est détaillée dans la partie expérimentale et en annexe également.

8.2.1. Coloration à l'auramine phénol

Cette technique est réalisée grâce à un microscope à fluorescence et confère une fluorescence jaune-verte aux oocystes de *Cryptosporidium* sous effet des rayons ultra-violet, en laissant le fond noir. Les oocystes se présentent sous forme d'anneaux (**Khurana et al., 2012**).

8.2.2. Technique de Heine

Décrite par le Dr Heine en 1982, elle consiste à mélanger à parts égales de la carbol fuchsine de Ziehl à un échantillon de selles. L'observation se fait au microscope à contraste de phase. La paroi des oocystes apparaissant très réfringente, les structures internes, plus ou moins colorées en rouge, légèrement foncées (**Potters et al., 2010**), dans les 15 minutes suivant la coloration. Sa sensibilité est évaluée, par une étude vétérinaire, à 77 %, augmentant en cas de fort parasitisme, et sa spécificité est à 91 % (**Chartier et al., 2013**).

8.3. Méthodes immunologiques

Des techniques immunologiques ont aussi été développées pour le diagnostic de *Cryptosporidium*. Une capture de copro-antigènes est possible par la technique ELISA ainsi qu'un marquage des cryptosporidies par un anticorps spécifique couplé à un fluorochrome (**Benamrouz-Vanneste et al., 2020**).

8.3.1. Immunofluorescence directe :

Cette technique de sérologie utilise un anticorps monoclonal dirigé contre des épitopes spécifiques de la paroi des oocystes de *Cryptosporidium*. L'anticorps est marqué par un fluorochrome : la fluorescéine le plus souvent. Cette technique est à la fois très sensible (entre 98,5 et 100%) et très spécifique (entre 96 et 100%) (**Jex et al., 2008**).

8.3.2. Détection des antigènes de cryptosporidies par ELISA :

Avec la technique ELISA, la présence d'antigènes de cryptosporidies est recherchée dans les fèces (copro-antigènes). Selon la trousse de diagnostic commercialisée, les copro-antigènes de cryptosporidies sont détectés et révélés par un mélange d'anticorps monoclonaux et

polyclonaux. À l'exception d'une lecture automatique, les trousse de détection de copro-antigènes n'offrent pas une sensibilité accrue par rapport aux méthodes décrites (Alaoui, 2010).

8.4. Diagnostic anatomopathologique

La muqueuse intestinale parasitée est le siège d'une réaction inflammatoire non spécifique ou parfois altérations plus importantes : atrophie villositaire ou/ et, allongement des cryptes. Les cryptosporidies apparaissent comme des organismes arrondis de 3 à 6 μm de diamètre accolés à la surface de la muqueuse. Le marquage par un anticorps monoclonal spécifique est donc une alternative intéressante (Bonnin *et al.*, 2006).

8.5. La sérologie

Il est possible de réaliser des sérologies pour détecter dans le sérum, des anticorps, surtout des IgG, anti-Cryptosporidium. Un titre d'anticorps élevé est corrélé avec une infection datant de moins de six mois. La sérologie ayant peu d'intérêt dans le diagnostic ; elle est principalement utilisée dans une perspective épidémiologique (Molkhou, 2014).

9. Le Traitement

Les médicaments utilisés contre les protozoaires Apicomplexes se sont révélés inefficaces contre *Cryptosporidium, spp* peut être en raison de la localisation particulière du parasite dans la vacuole parasitophore.

Les voies d'absorption des nutriments et des médicaments par *Cryptosporidium spp* sont encore mal connues, mais l'activité des médicaments anti-cryptosporidiens peut dépendre de leur transport directement à travers la membrane de la cellule hôte à partir de la lumière intestinale ou indirectement via le cytoplasme de cette cellule (benamrouz-Vannesteet *al.*, 2020). Les différentes options du traitement varient en fonction du statut immunitaire du malade (Paoletti, 2002).

9.1. Traitement symptomatique

Le traitement symptomatique de la cryptosporidiose est celui de toute infection intestinale. Il repose d'abord sur la réhydratation, que le patient soit un enfant ou non. Il est initié per os, puis par voie parentérale si la déshydratation est trop sévère. Chez les enfants en bas âge, il est recommandé d'utiliser des solutés de réhydratation orale (SRO), contenant des électrolytes (sodium et potassium),

des agents alcalinisants (bicarbonates) et des glucides. Ces produits sont reconstitués extemporanément, chacun dans 200 ml d'eau à faire boire à l'enfant. Il faut peser régulièrement l'enfant pour objectiver éventuelle perte de poids qui est un critère de gravité. (Molkhou, 2014).

9.2. Traitements spécifiques

Dans certains cas, par exemple une diarrhée incontrôlée chez un patient immunodéprimé et après documentation de l'infection, un traitement spécifique est le plus souvent instauré (Molkhou, 2014) :

- **Nitazoxanide (NTZ)**

Chef de file de la famille des thiazolides, il a été validé aux États-Unis par la Food and Drug Administration avec comme indication, le traitement de la cryptosporidiose de l'immunocompétent, et n'est pas loin d'être l'anticyptosporidien idéal. En revanche, le NTZ ne s'est pas avéré plus efficace que le placebo chez les patients atteints du SIDA, et chez des enfants malnutris, malgré une diminution de la mortalité liée à la parasitose (18% du groupe placebo sont décédés au huitième jour du traitement versus 0 % du groupe traité), le NTZ n'a guéri que 56 % d'entre eux. (Benamrouz-Vanneste et al., 2020).

- **La paromomycine**

La paromomycine est un aminoglycoside oral, non résorbé par la muqueuse, qui reste donc concentré dans la lumière intestinale. Son administration à des patients infectés par le VIH n'a pas révélé une efficacité contre *Cryptosporidium* mais elle s'est montrée significativement différente de celle d'un placebo. (Benamrouz-Vanneste et al., 2020).

10. Prévention de la cryptosporidiose

10.1. La prévention individuelle

La prévention consiste à réduire l'exposition au parasite en respectant des règles d'hygiène élémentaires et en évitant l'ingestion d'eau ou d'aliments pouvant être souillés par des matières fécales.

Il est fondamental de se laver les mains avec de l'eau et du savon aussi souvent que nécessaire, après passage aux toilettes, après avoir changé une couche, après un contact avec des animaux, après

avoir jardiné ou avant de manipuler et de consommer des aliments. Il faut éviter le contact avec des individus malades ainsi que les jeunes animaux (veaux notamment), a fortiori s'ils sont diarrhéiques. Il est nécessaire, avant leur consommation, de laver à l'eau potable tout fruit et légume pouvant être souillé par de la terre, des selles ou encore par de l'eau d'arrosage ou d'irrigation provenant d'une ressource hydrique contaminée. Il est aussi préconisé d'éviter la consommation de coquillages crus si ceux-ci sont en provenance d'un lieu non identifié ou non autorisé (pêche à pied familiale par exemple). Il est recommandé de boire uniquement de l'eau connue pour ne pas être contaminée et d'éviter l'absorption d'eau de surface susceptible d'être souillée par des fèces d'animaux (pour les randonneurs et campeurs). En cas d'incertitude, il faut faire bouillir l'eau, y compris celle qui est utilisée pour se rincer les dents ou pour laver les aliments (**Benamrouz-Vanneste et al., 2020**).

10.2. La prévention collective

La prévention collective consiste à contrôler et à protéger les ressources d'eau destinées à la consommation humaine ainsi que sur la maîtrise de la dissémination des oocystes dans l'environnement. Le traitement des effluents et le contrôle parasitologique des eaux retraitées par les stations d'épuration permettent, dans les pays développés, de diminuer le risque de contamination par l'eau de consommation. Des mesures semblables devraient être appliquées aux eaux récréatives, puisqu'elles représentent un vecteur important de contamination (**Molkhov, 2014**).

11. L'immunité

Les nouveau-nés (enfants, et ruminants) sont particulièrement sensibles à l'infection intestinale par le parasite *Cryptosporidium parvum* car leur système immunitaire est encore en cours de développement. Peu de solutions de contrôle existent à ce jour. L'immunité innée joue un rôle prépondérant pour le contrôle de la phase aiguë de l'infection (**Potiron, 2016**).

11.1. Réponse immunitaire à l'infection par *Cryptosporidium parvum*

L'infection par *C. parvum* concerne essentiellement les nouveau-nés et les sujets immunodéprimés comme les patients atteints du SIDA et les patients avec une hypogammaglobulinémie. Chez les animaux, l'infection atteint surtout les ruminants nouveau-nés. Elle dans certains cas à une mortalité des animaux. La résistance et la protection contre *C. parvum* nécessitent des réponses immunitaires de l'hôte innées par les cellules épithéliales et

les cellules sous-jacentes à l'épithélium et des réponses immunitaires spécifiques médiées par les lymphocytes T et les cellules B (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

11.1.1. Réponse immunitaire innée

La réponse immunitaire innée constitue en un ensemble de mécanismes (barrières physiques, phagocytose, réaction inflammatoire) mis en place par l'organisme immédiatement après infection, elle est non spécifique de l'agent pathogène rencontré (**Manent-Manent, 2014**).

11 .1.1.1. Résistance à l'infection

A. La MBL (mannose binding lectin) :

Parmi les mécanismes de défense non spécifiques de l'hôte contre *C. parvum*, la MBL semble jouer un rôle. La MBL est une lectine du sérum qui se lie à des résidus mannose et N-acetyl glucosamine exprimés en surface des micro-organismes. Une fois liée, la MBL active le système du complément d'une manière indépendante des anticorps, via deux sérines protéases qui lui sont associées : MASP-1 et MASP-2 qui clivent C4 puis C2 pour former la C3 convertase C4b2a (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

Chez l'homme, une déficience génétique en MBL augmente le risque d'infection par de nombreux agents pathogènes notamment par *C. parvum*. La MBL retrouvée dans les fluides duodénaux de patients atteints de cryptosporidiose a la capacité de se lier aux sporozoïtes de *C. parvum* et permet ensuite la fixation de la protéine du complément C4 à la surface des sporozoïtes (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

B. Les cellules épithéliales

Dans la protection innée, les cellules épithéliales sont les cellules hôtes de *C. parvum*. Elles répondent de manière non spécifique pour permettre l'élimination du parasite et peuvent également être à l'origine de la réponse immunitaire acquise (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

C. Les chimiokines

Les chimiokines sont des protéines de faible poids moléculaire jouant un rôle dans le recrutement et l'activation des cellules inflammatoires. L'infection par *C. parvum* de lignées de cellules épithéliales intestinales humaines (Caco-2, HCT-8) provoque l'augmentation de l'expression et la production de deux CXC chimiokines, l'IL8 et GRO α (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

D. Les prostaglandines :

Les prostaglandines jouent un rôle majeur dans la sécrétion de fluides mucosaux et dans la diarrhée observée dans un modèle expérimental de porcelets atteints de cryptosporidiose (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

E. β -défensines :

Les défensines sont des peptides anti-microbiens de faible poids moléculaire participant à la réponse immunitaire mucoale innée (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

11.1.2. La réponse immunitaire acquise

Elle est spécifique de l'agent pathogène, est plus tardive mais durable dans le temps. Elle est également à l'origine de la mémoire immunitaire. Elle comprend la réponse humorale et la réponse cellulaire (**Manent-Manent, 2014**).

11.1.2.1. La réponse humorale :

Fait intervenir les anticorps, ou immunoglobulines, produits par les lymphocytes B (**Manent-Manent, 2014**).

11.1.2.2. La réponse cellulaire :

Met en jeu les lymphocytes T, cytotoxiques et auxiliaires, et les cellules NK (**Manent-Manent, 2014**).

11.2. L'apoptose dans la cryptosporidiose

La mort cellulaire programmée est un processus physiologique normal qui joue un rôle déterminant dans le développement embryonnaire ainsi que dans le fonctionnement et l'homéostasie du système immunitaire. Le terme apoptose est utilisé pour décrire la participation active de la cellule à sa propre destruction. La cellule apoptotique se détache de ses voisines et se désintègre de façon ordonnée, quels que soient les signaux inducteurs (Fas/FasL ; TNF/TNFR1 ; Granzyme/Perforine...) (**Lacroix-Lamandé, 2001**).

Matériels et Méthodes

Chapitre 2 : Matériels et méthodes :

1. Zone et période d'étude

1.1. Présentation de zone d'étude

A. La wilaya d'Alger :

La ville d'Alger est située au nord de l'Algérie. Elle surplombe le côté ouest du golfe méditerranéen et se compose de deux parties : une partie plus ancienne connue sous le nom de la Casbah qui s'étend sur le bord d'une colline escarpée (122 mètres au-dessus du niveau de la mer) et une partie moderne qui se trouve au niveau de la mer.

B. La wilaya de Tipaza :

La wilaya de Tipaza est située sur le littoral Nord Centre du pays. Elle s'étend sur une superficie de 1 707 km². Elle est limitée au Nord par la Méditerranée, à l'Ouest par : la Wilaya de Chlef, au Sud -Ouest : la Wilaya de Ain-Defla, au Sud Est : La Wilaya de Blida, à l'Est la Wilaya d'Alger.

C. La wilaya de Blida :

La wilaya de Blida se situe dans la partie Nord du pays dans la zone géographique du Tell central, d'une superficie de 1 478,68 KM², elle est limitée au Nord par les Wilayas d'Alger et Tipasa ; à l'Ouest par la Wilaya de Ain Defla, au Sud par la Wilaya de Médéa et à l'Est par les Wilayas de Bouira et de Boumerdès.

1.2.Période et lieu de l'étude

Notre stage pratique au sein du laboratoire de parasitologie de trois établissements hospitaliers initialement prévu du 20 février au 20 juin n'a finalement duré que moins d'un mois à cause de la situation sanitaire liée au Covid 19, notre courte étude a été finalement conduite du 20 février à 17 mars 2020, Aucune reprise des activités expérimentales n'a été autorisée depuis la levée partielle du confinement ce qui ne nous a pas permis de poursuivre nos manipulations abandonnées en cours et dans la hâte et la précipitations.

Il s'agit d'une étude descriptive concernant les examens parasitologiques des selles d'enfants immunodéprimés ou pas. Les prélèvements ont été effectués au sein de trois établissements hospitaliers différents :

- L'Établissement Koubili Mohamed Rabet à Hâdjout, Wilaya de Tipaza.
- L'Établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, TOT à Blida.
- Le centre Hospitalier universitaire Issad Hassani, à Beni Messous, wilaya d'Alger plus précisément à l'unité de Parasitologie-Mycologie.

2. Échantillonnage

2.1. Population étudiée

Ce travail consiste en la recherche de *Cryptosporidium* chez :

- Les nourrissons de 2 à 7 mois, hospitalisés dans le service de pédiatrie à l'EPH (Hadjout) et aussi :
- Les enfants immunodéprimés hospitalisés, touchés par l'hépatite A et B dans le service de pédiatrie de l'EPH de Hadjout
- Patients externes composés d'enfants provenant de Gouraya, Damous, Beni hawa, et Fouka.
- Les enfants internes ayant subi des greffes rénales à Blida (EHS TOT).
- Les enfants hospitalisés dans les services de Mussy de Pédiatrie, Pio pédiatrie, pediatrie.A au CHU Beni Messous –Alger.

Nous avons effectué l'analyse parasitologique des selles au sein d'un échantillon de 70 enfants provenant des 03 sites indiqués plus haut.

2.2. Prélèvements des patients immunodéprimés

Au total, 70 prélèvements ont été recueillis et analysés. Ils sont répartis comme suit :

- ✓ Vingt (20) prélèvements ont été collectés au niveau du laboratoire de l'EPH de Hadjout (Tipaza) à l'unité de Parasitologie-Mycologie. L'effectif est réparti comme suit :

Le service de pédiatrie : 14 nourrissons (10 filles et 04 garçons). Ainsi que les prélèvements de 06 enfants dont l'âge est compris entre 8 et 15 ans.

- ✓ Trois (03) prélèvements ont été réalisés au niveau du laboratoire de (TOT), à Blida, à l'unité de Parasitologie-Mycologie, répartis comme suit :
 - **Le service de néphrologie** : 03 enfants (02 garçons et une fille) d'âge non indiqué.
- ✓ Quinze (15) prélèvements ont été collectés au niveau du laboratoire de L'Etablissement Hospitalier Issad Hassani, à Beni Messous Wilaya d'Alger, à l'unité de Parasitologie-Mycologie, L'effectif est réparti comme suit :
 - **Le service Mussy de pédiatrie** : quatre enfants (2 garçons, 2 filles) d'âge non indiqué.
 - **Le service de pédiatrie A** : deux enfants (2 filles) d'âge non indiqué.
 - **Le service pédiatrie** : quatre enfants (2 filles 2 garçons) d'âge non renseigné.
 - **Le service de R.dumas**: deux enfants (02 filles) d'âge non indiqué.
 - **Laboratoire central mère-enfant** : trois enfants (03 filles) d'âge non renseigné.

Remarque :

Vu que la région de Blida a été la première et la plus touchée par la pandémie du Corona-Virus et suite à l'application du confinement général dès le 12 Mars, nous n'avons pas pu récupérer tous les échantillons et prélèvements des différentes structures hospitalières. Les échantillons présentés dans cette partie sont ceux réellement analysés, mais la taille de l'échantillon est beaucoup plus importante que ce qui est présenté.

2.3.Prélèvements des patients immunocompétents

Les prélèvements des patients immunodéprimés ont été :

- ✓ Collectés au niveau du laboratoire de l'EPH Hadjout plus précisément à l'unité de Parasitologie-Mycologie : Vingt (20) prélèvements d'enfants externes immunocompétents provenant d'autres Wilayas, non renseignées.
- ✓ Collectés au niveau de du laboratoire de CHU Beni Messous wilaya d'Alger, à l'unité de Parasitologie-Mycologie : Douze (12) prélèvements d'enfants externes

2.4.Précautions à prendre avant le recueil des selles :

- Le recueil des selles doit être effectué en dehors de tout traitement antibiotique ou antifongique.

- Il convient aussi de suspendre avant l'examen tout traitement à base de charbon, ou huile de paraffine, ou produit de contraste pour examen radiologique.
- Un régime pauvre en fibres végétales dans les jours précédents l'examen est recommandé.
- La répétition de l'examen 3 fois en 10 jours augmente significativement sa sensibilité.
- Eviter les fruits et légumes 2 jours avant les prélèvements.

- **Prélèvement des selles :**

Pour chaque enfant un échantillon de selles fraîches est recueilli le matin dans des pots noirs propres et secs à fermeture hermétique fabriqués en un matériau non absorbant (**Voir figure 03 en annexe**). Le pot contenant les selles doit être étiqueté lisiblement et porter les mentions suivantes :

- Le nom et prénoms ou le numéro ou identifiant de l'enfant.
- La date d'émission de la selle.
- L'heure à laquelle elle a été émise.

Les pots pour recueillir des échantillons ont été distribués la veille après l'accord des parents des enfants. Les prélèvements doivent se faire le matin et les boîtes récupérées le jour-même. En plus nous avons noté leur situation socio-économique et la consistance de la selle de chaque enfant.

2.5. La conservation des selles

Les échantillons ont été conservés au frais dans un réfrigérateur ou, lorsque c'était impossible, dans l'endroit le plus frais du laboratoire et parfois nous étions obligés de les conserver dans du formol à 10 % lorsqu'on ne pouvait pas effectuer les examens le jour-même. (L'eau formolée c'est une solution fixatrice et conservatrice). Le matériel de prélèvement est rapporté en **annexe (figure 03)**.

2.6. Prélèvements et matériels biologique :

Ce matériel biologique a consisté en 70 échantillons de selles recueillis dans les 3 zones d'étude sur des enfants et nourrissons immunodéprimés, hospitalisés (internes) ou non hospitalisés (externes).

2.7. Matériels non biologiques

Le matériel non biologique est constitué de verrerie et appareillages, ainsi que des réactifs :

2.7.1. Verrerie et appareillages (voir figure 04 en annexe) :

- Boîtes de prélèvements noires propres et sèches.
- Des gants d'examen en latex.
- Des lames de microscope et des lamelles.
- Des pipettes pasteur.
- Des tubes coniques.
- Un entonnoir, pince, et papier filtre
- Un verre à pied.
- Un agitateur en verre.
- Une centrifugeuse.
- Un microscope

2.7.2. Les réactifs (voir figure 05 et 06 en annexe) :

- Acide sulfurique à 96 % (**Université Saad Dahleb blida**) diluée à 2 %.
- Alcool 70°.
- Eau phéniquée.
- Eau physiologique.
- Ether di-éthylique.
- Formol liquide diluée à 10%.
- Fushine basique phéniquée poudre (**idéal labo de Beni Merad**).
- Huile d'immersion.
- Méthanol.
- Vert de malachite poudre (**Idéal labo de Beni Merad**).

3. Diagnostique coprologique

3.1. L'examen macroscopique

L'examen macroscopique consiste à étudier à l'œil nu les selles pour déterminer :

- **La consistance** : pouvant être moulée, molle, pâteuse ou liquide.
- **La couleur** : pouvant être pathologiquement décolorée, observer la présence de sang ou pas.
- **Les glaires** : glaireuse, glairo-sanglante, sanglante, afécale.
- **L'odeur** : pouvant être désagréable.

But : C'est pour la recherche d'helminthes visibles à l'œil nu tel que les oxyures.

3.2. L'examen microscopique

Cet examen est réalisé le plus rapidement possible après le recueil des selles lorsqu'elles sont encore Fraiches. Il permet de dépister les formes kystiques, les œufs et les larves d'helminthes.

3.2.1. L'examen direct à l'état frais : (examen en eau physiologique)

- **Principe et objectif :**

Il permet la mise en évidence des éléments parasitaires. Il peut être réalisé sans ou avec coloration. L'examen direct sans coloration est pratiqué rapidement souvent juste après la réception des échantillons (**Belhamri, et Moutaj., 2015**).

- **Mode opératoire : (voir figure 07 en annexe).**

- A l'aide d'un agitateur en verre, on prélève des fragments de selles en superficie et en profondeur de la selle.
- On ajoute de l'eau physiologique doucement jusqu'à ce que la dilution soit homogène.
- On verse la dilution dans un tube à essai.
- A l'aide d'une micropipette on dépose une petite goutte de dilution entre lame et lamelle.
- **Lecture microscopique** : La lecture des lames se fait d'abord au faible grossissement (x10) pour déceler les œufs et larves d'helminthes puis au grossissement moyen (x40) pour rechercher les formes végétatives et kystiques des protozoaires. (**Belhamri, et Moutaj., 2015**).

3.2.2 Examen après coloration au Lugol :

- **Principe :**

L'examen direct avec la coloration au Lugol permet une meilleure visualisation des parasites particulièrement les noyaux des protozoaires et la disposition de la chromatine nucléaire (**Benhouda., 2019**).

- **Mode opératoire (voir figure 08 en annexe) :**
- On dépose une goutte de dilution (selles +eau physiologique) sur une lame propre.
- On rajoute une petite goutte de Lugol à 1 %.
- On recouvre le tout d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.
- On effectue une lecture au microscope optique avec un grossissement (**G x100**).

3.2.3. Examen microscopique après concentration

3.2.3.1.Méthode physico-chimique ou diphasique

- **Principe :**

Cette méthode consiste à mettre les selles en présence de 2 phases non miscibles : une aqueuse et l'autre organique. En plus de son action dissolvante, la mise en jeu de 2 phases non miscibles, une hydrophile et l'autre lipophile réalise pour chaque élément fécal (parasite ou non) un coefficient de partage dont la valeur dépend de sa balance hydrophile-lipophile et conditionne sa position dans les phases obtenues après émulsion. Ce sont des techniques simples et rapides (**El-kouraibi, 2011**).

A. Technique de Ritchie modifiée :

Cette technique permet d'augmenter la sensibilité de la recherche des œufs d'helminthes et des protozoaires intestinaux par méthode physico-chimique.

- **Mode opératoire (voir figure 09 en annexe) :**
- Pour obtenir une solution homogène on dilue les selles dans une solution de formol à 10 % (10 ml de formol pur + 90 ml d'eau distillée stérile)
- On laisse sédimenter pendant 5 minutes.
- Dans un tube à centrifuger conique de 10 ml, on verse 2/3 de surnageant
- On ajoute 1/3 du volume total d'éther.
- On bouche avec le pouce revêtu d'un doigtier, et on mélange bien pendant une minute.
- On centrifuge 3 minutes à 5000 tours /mn.
- On vide le contenu du tube puis on élimine les 03 couches supérieures par retournement brusque du tube.

- On prélève une goutte du culot avec une pipette pasteur et on examine entre lame et lamelle.
- On effectue la lecture au microscope à l'objectif (G x 40) (Touhami.K., 2010).

3.2.4. Technique de coloration

3.2.4.1. La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée :

Cette coloration de frottis de selles est utilisée principalement pour la mise en évidence des oocystes, après concentration par la technique de Ritchie a montré des oocystes en rouge vif sur un fond vert et la présence d'un corps résiduel arrondi (Alaoui, 2010).

- **Mode opératoire :(voir figure 10 en annexe) :**
- Confectionner un frottis de selles sur lame dégraissée (à partir de Ritchie).
- Sécher
- Fixer à l'alcool méthylique pendant 5 minutes.
- Colorer pendant une heure dans de la fushine phéniquée.
- Rincer la lame à l'eau du robinet
- Immerger en agitant la lame 20 secondes dans l'acide sulfurique (2ml d'acide sulfurique + 98 ml d'eau).
- Rincer à l'eau de robinet
- Effectuer une contre coloration dans le vert de malachite pendant 5 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet
- Sécher par agitation
- Lire au microscope G X40.
- **L'analyse statistique des résultats :**
L'indice parasitaire simple (IPS) qui représente le pourcentage de positifs par rapport au nombre total des examens effectués.

Résultats et Discussion

Chapitre 3 : Résultats

Notre travail effectué sur une zone d'étude assez étendue a nécessité la représentation du pourcentage des cas positifs selon les espèces trouvées lors de l'analyse des échantillons pour chaque établissement hospitalier, et ce afin de dresser un état des lieux des infections au *Cryptosporidium* chez les enfants immunodéprimés dans la zone d'étude. Pour cela et afin de vous permettre de mieux suivre les résultats obtenus, nous vous proposons le plan suivant :

1. Le taux global de positivité des échantillons

1.1. Dans les trois Etablissements Hospitaliers

Dans le **tableau 2** est consigné le nombre total des cas positifs et négatifs au niveau des trois Établissements hospitaliers. On a estimé un indice parasitaire simple de **22,87%** sur un total de **70** prélèvements pour les trois zones d'étude.

Tableau 2 : Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global au niveau des trois établissements hospitaliers.

	Effectifs	%
Nombre de cas positifs	16	22,87 %
Nombre de cas négatifs	54	77,14 %
Total	70	100%

Le Tableau 2 montre que le nombre de cas positifs est significativement inférieurs à celui des négatifs avec un **IPS = 22,87%**.

1.2. Dans l'Établissement Hospitalier Public de Hadjout-Tipaza :

Dans le **tableau 3** est consigné le nombre de cas positifs au niveau de l'EPH de Hadjout, à l'unité de Parasitologie-Mycologie.

Les résultats des analyses coproparasitaires montrent que sur les 40 enfants examinés, seuls 09 enfants se sont montrés parasités par les espèces suivantes : (*Blastocystis hominis*, *Giardia*

intestinalis, Entamoeba coli,) Un **IPS = 22,50 %** pour cet hôpital, tel que représenté sur le **tableau 3**

Tableau 3 : Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global pour l'EPH de Hadjout :

	Effectif	%
Nombre de cas positifs	09	22,50 %
Nombre de cas négatifs	31	77,50 %
Total	40	100%

1.3. Dans le centre Hospitalier Issad Hassani, a Béni Messous-Alger :

Dans le **tableau 4** sont résumés le nombre de cas positifs au niveau de du laboratoire centrale de CHU à Beni Messous-Alger paraport à 03 espèces recherchées (*Blastocystis hominis, Trichuris trichura, Enterobius vermicularis*) on estime un **IPS :22,22 %** sur un total de 27 prélèvements.

Tableau 4 : Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global à CHU. Beni Messous.

	Effectifs	%
Nombre de cas positifs	06	22,22%
Nombre de cas négatifs	21	77,77%
Total	27	100%

On constate que le nombre de cas positifs est significativement inférieurs à celui des négatifs, et absence de la Cryptosporidie

1.4. Dans l'établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, à Blida

Nous n'avons pas pu collectés beaucoup des échantillons on été effectuer que 03 prélèvements et parmi ces 03 on été trouvé le Cryptosporidie chez un enfant à l'âge de 3 ans car nous avons été forcées d'interrompre notre stage pratique à cause des dispositives de préventions prises en relation avec la pandémie du coronavirus (COVID-19).

Tableau 5 : Nombre de cas positifs et négatifs et pourcentage de positivité dans l'échantillon global du centre à (TOT) de Blida :

	Effectifs	%
Nombre de cas positifs	01	33,33%
Nombre de cas négatifs	02	66,66%
Total	03	100%

On déduit que le nombre de cas positifs est significativement inférieurs à celui des négatifs, et présence de la Cryptosporidie.

2. Résultats des examens parasitaires chez les enfants en fonction de leur provenance

La répartition des résultats des analyses des selles chez les enfants hospitalisés et externes au niveau de l'EPH de Hadjout, le CHU de Beni Messous-Alger et le centre TOT de Blida est représentée comme suit :

2.1. Le taux global de positivité des échantillons chez les enfants en fonction de leur provenance au niveau des trois établissements

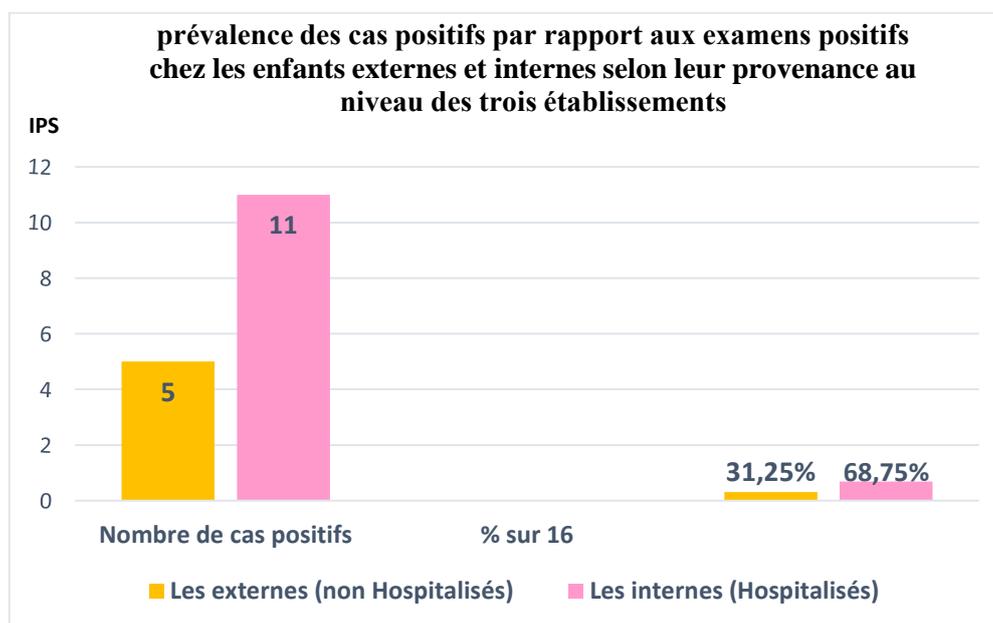


Figure 11 : Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau des trois établissements

D'après la figure on note que les sujets internes (Hospitalisés) apparus beaucoup plus infesté avec un taux de 68,75%.

2.2 . Dans l'Établissement Hospitalier Public de Hadjout-Tipaza :

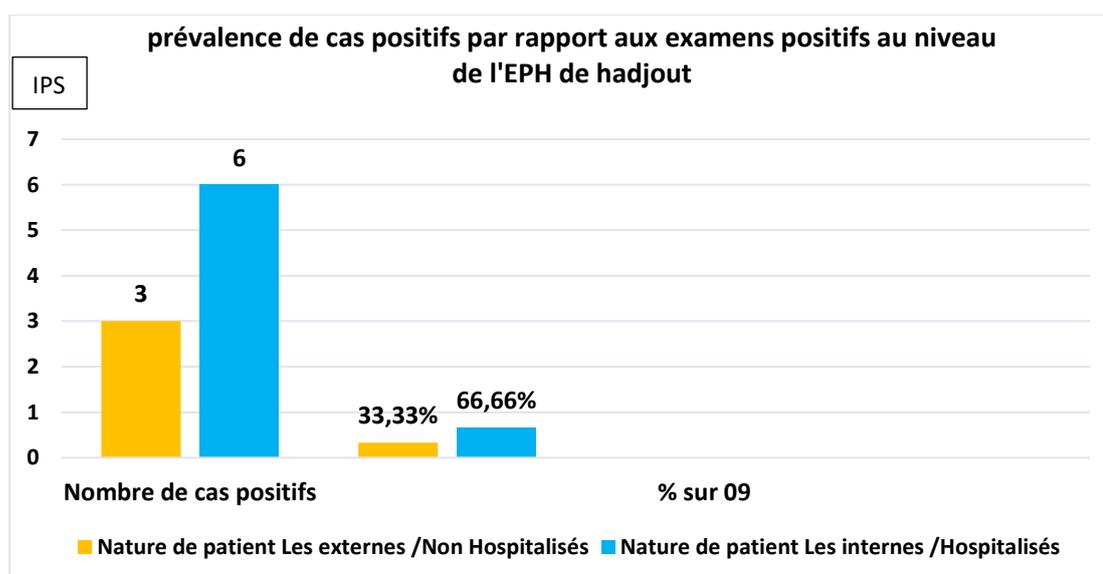


Figure 12 : Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau de l'EPH Hadjout

2.3. Dans le centre Hospitalier Issad Hassani, à Béni Messous-Alger

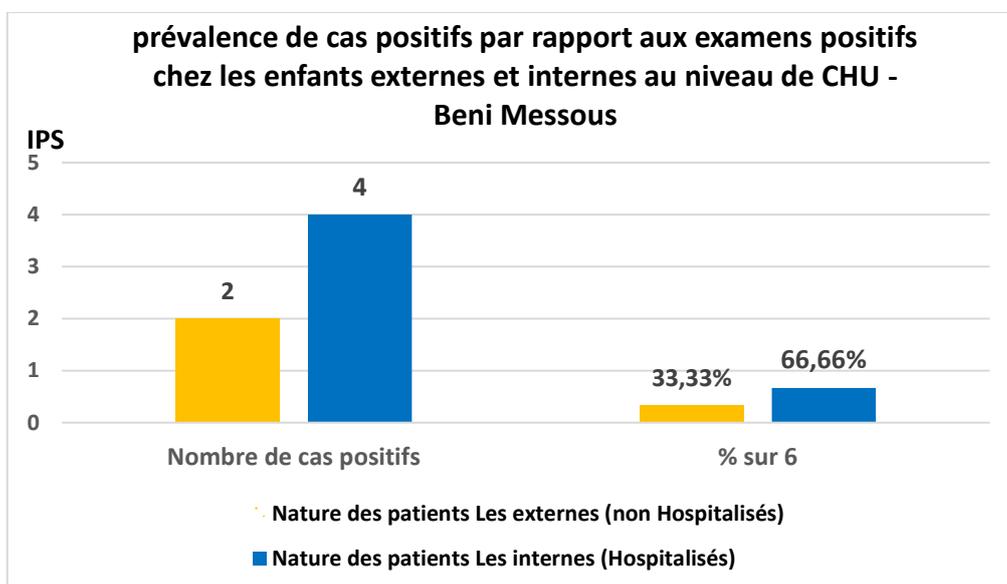


Figure 13 : Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau de CHU -Beni Messous

2.4. Dans l'Établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, à Blida

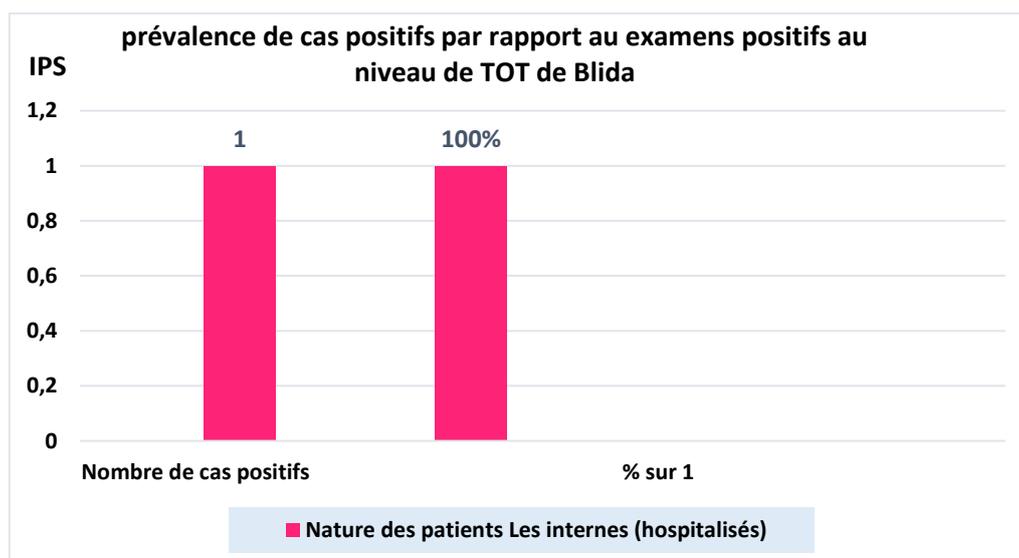


Figure 14 : Prévalence des cas positifs par rapport aux examens positifs chez les enfants externes et internes selon leur provenance au niveau TOT à Blida

3. Les différentes formes parasitaires diagnostiquées durant notre période de stage

Durant la courte durée de notre stage, nous avons découvert 06 espèces de parasites intestinaux chez l'Homme sur l'ensemble des 70 échantillons traités. Ces parasites sont consignés sur les figures 15- 16- 17-18- 19-20 :

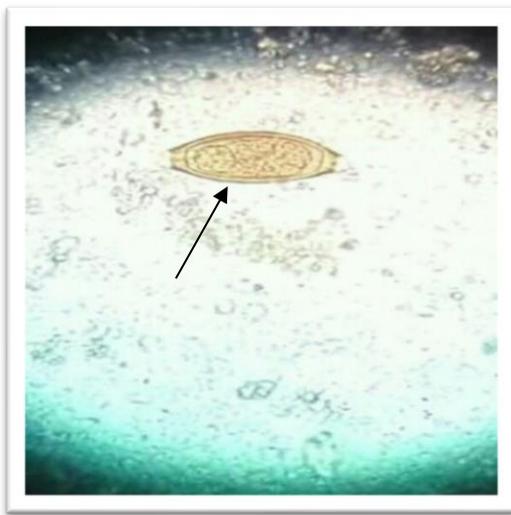


Figure 15 : Œuf *Trichuris trichura* Gx40 (Original 2020)

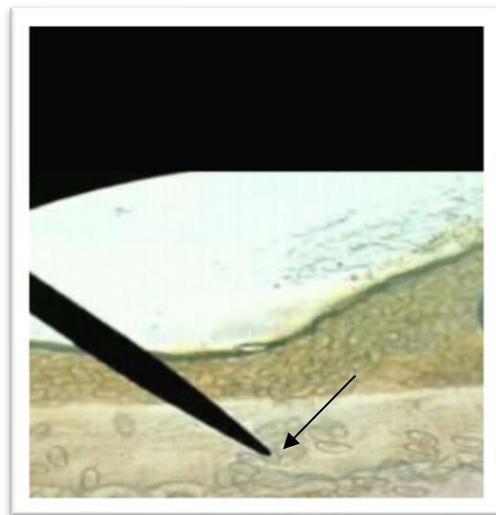


Figure 16 : Œufs d'*Enterobius vermicularis* Gx40(Original 2020)



Figure 17 : *Entamoeba coli*. Gx40 (original 2020).

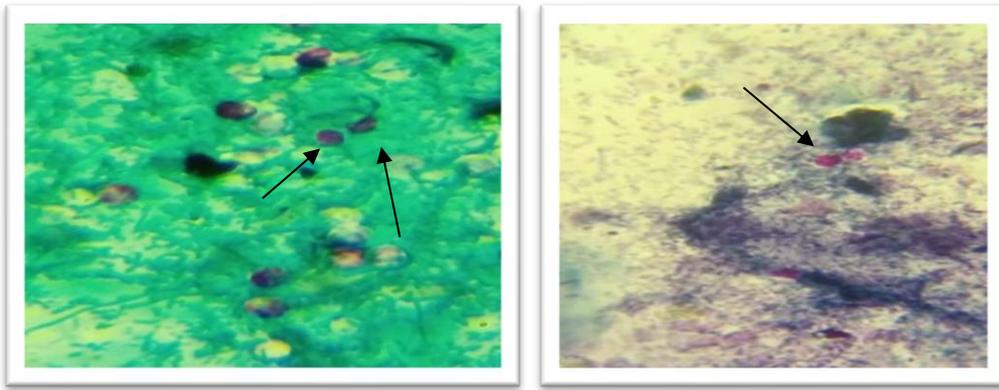


Figure 18 : La coloration au Ziehl -Neelsen modifiée montrant deux oocystes de *Cryptosporidium Spp.* Gx40 (original 2020).

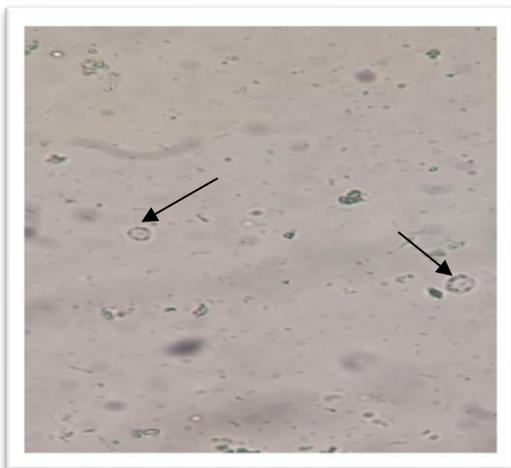


Figure 19 : Kyste de *Blastocystis hominis* Gx40 (Original 2020)

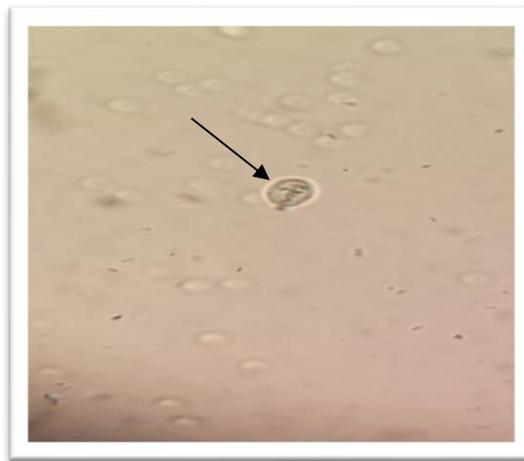


Figure 20 : Kyste de *Giardia Intestinalis* Gx40. (Original 2020).

4. Résultats globaux des infestations parasitaires par les protozoaires et les métazoaires au niveau des trois Etablissements Hospitaliers publics

4.1. Par les protozoaires

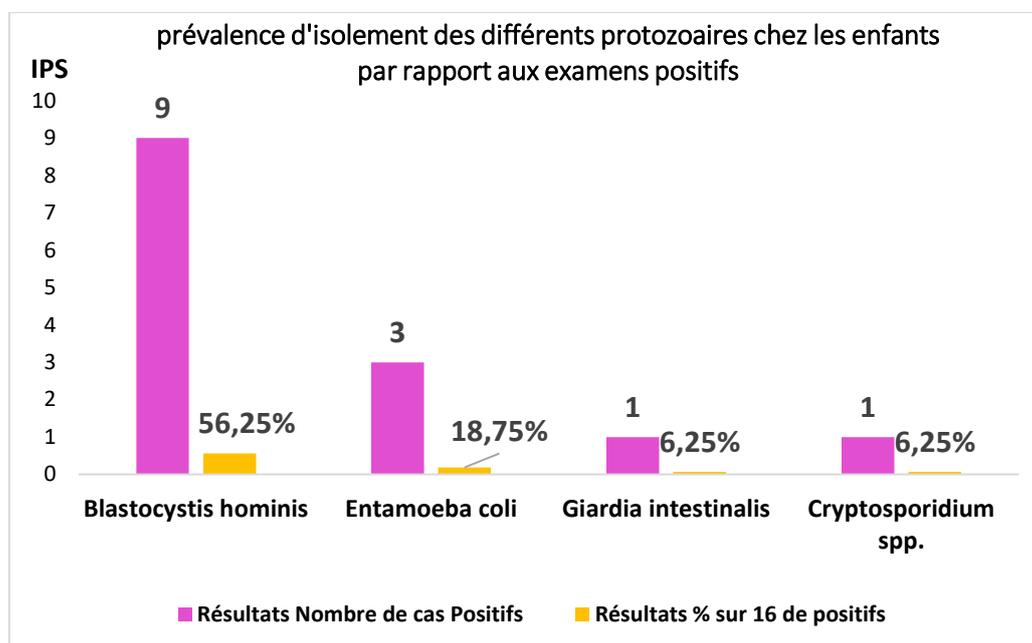


Figure 21 : Prévalence d'isolement des différents protozoaires chez les enfants par rapport aux examens positifs

D'après la figure nous remarquons que, parmi les 16 enfants positifs, un seul enfant est excréteur de *Cryptosporidium Spp* soit un taux de **(6,25%)**, et *Giardia intestinalis* avec un taux de **(6,25%)**. Ces deux parasites affichent respectivement les plus faibles pourcentages. A l'inverse, *Blastocystis hominis* enregistre la plus grande fréquence d'isolement, avec un taux de **(56,25 %)** suivi d'*Entamoeba coli* soit un taux de **(18,75%)**.

4.2. Par les métazoaires

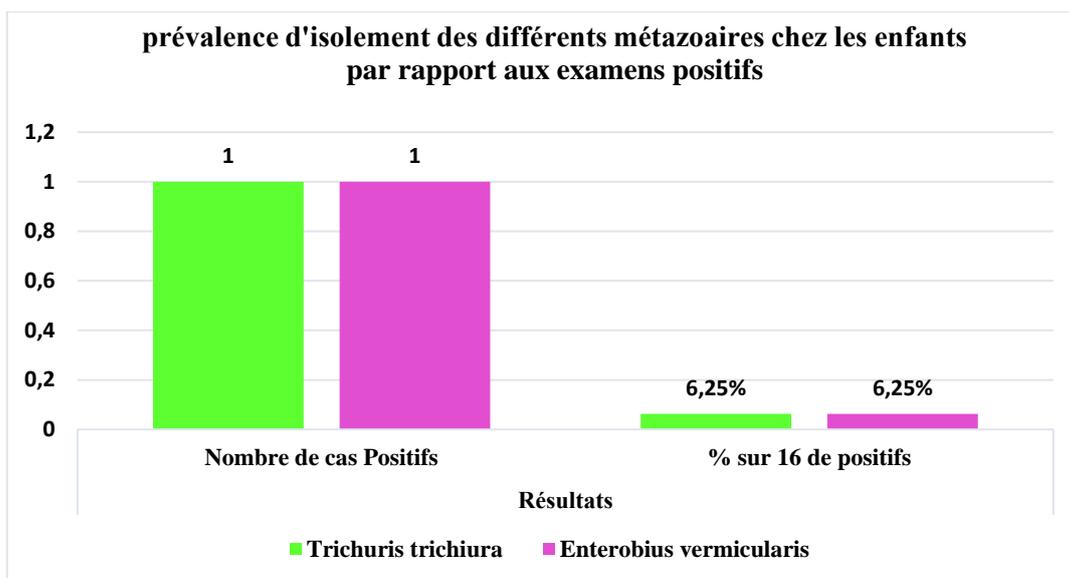


Figure 22 : Prévalence d'isolement des différents métazoaires chez les enfants par rapport aux examens positifs

D'après la figure, nous constatons que le taux de positivité de *Trichuris trichiura* soit 6,25% n'a été retrouvé que dans une seule selle appartenant à un enfant de 8 ans et pour *Enterobius vermicularis* avec un taux 6,25 % il n'a été retrouvé que dans une seule selle appartenant à un enfant de 5 ans.

4.3. Fréquence global selon les groupes parasitaires :

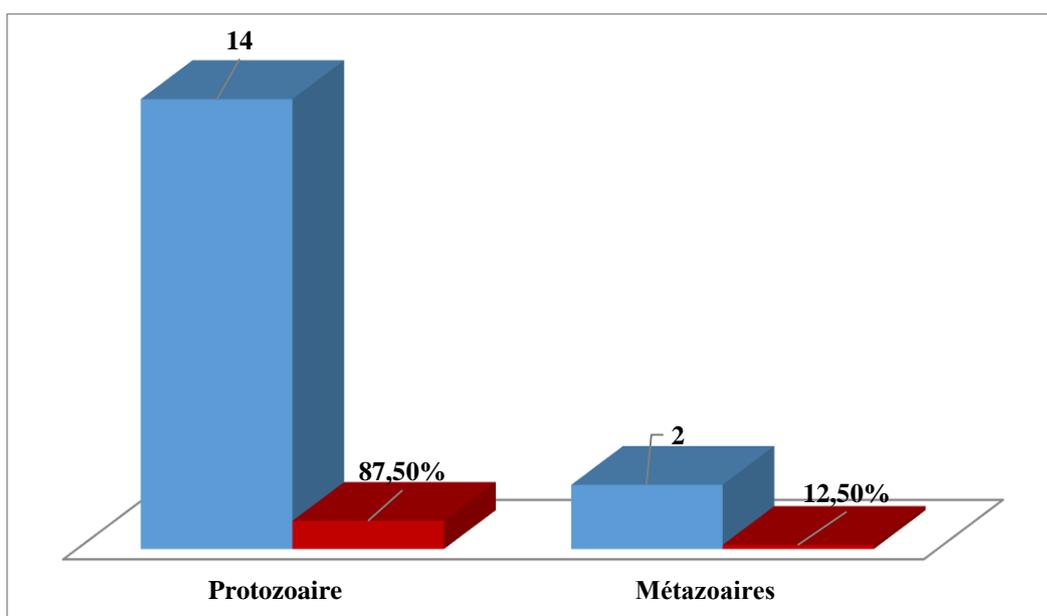


Figure 23 : Répartition des protozoaires et des métazoaires chez le total des enfants sur l'échantillon positif

Parmi les 16 cas positifs analysés, on déduit que 14 cas sont infestés par les protozoaires avec un taux de (87,50%), et 2 cas sont infestés par des métazoaires avec un taux (12,50 %).

4.4 Résultat global de l'infestation par *Cryptosporidium spp* :

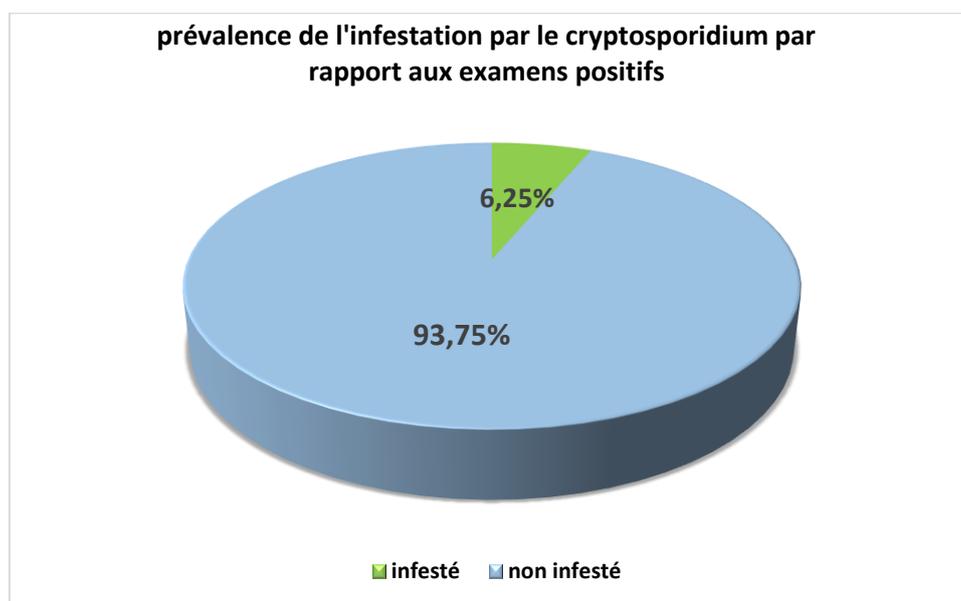


Figure 24 : Prévalence de l'infestation par le *Cryptosporidium spp* par rapport aux examens positifs

D'après la figure 28 nous avons également remarqué, sur 16 prélèvements positifs que le taux de positivité globale pour *Cryptosporidium spp* est de 6,25%, et il n'a été trouvé que dans une seule selle appartenant à un enfant de sexe masculin de 3 ans souvent accompagné avec une diarrhée aqueuse et des douleurs gastro-intestinales. *Cryptosporidium spp.* appartient aux parasites intestinaux isolés au laboratoire de Parasitologie Mycologie du L'Établissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation des Organes Solides et des Tissus, à Blida.

5. Résultats globaux des examens parasitaires en fonction du sexe, de l'âge et du statut immunitaire des enfants

5.1. En fonction du sexe

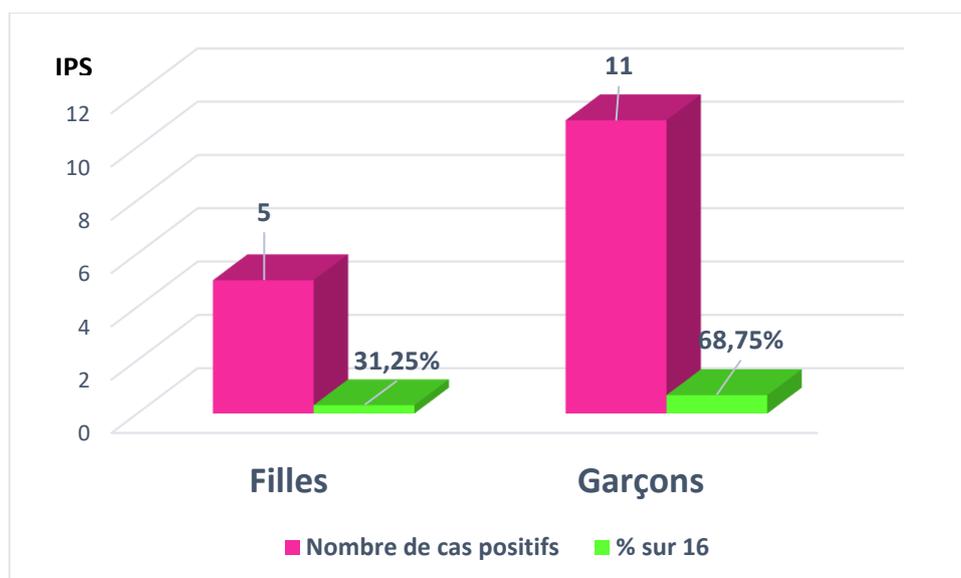


Figure 25 : Prévalence des enfants parasités par rapport aux examens positifs en fonction du sexe

La figure indique que 16 enfants sont positifs dans notre échantillon global de 70 enfants : les enfants de sexe masculin marquent un taux important d’infestation pour les parasites avec un IPS de **(68,75%)**, et les enfants du sexe féminin marquent un taux faible d’infestation avec un IPS de **(31,25%)**.

5.2. En fonction de la tranche d’âge

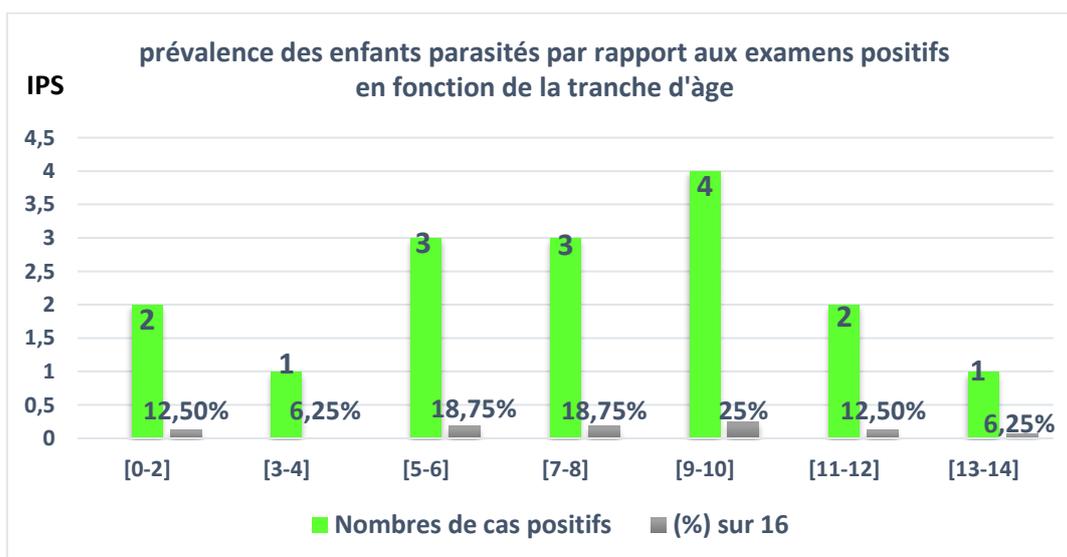


Figure 26 : Prévalence des enfants parasités par rapport aux examens positifs en fonction de la tranche d’âge

La figure indique que l'infestation par les parasites est observée dans toutes les classes d'âge. La tranche d'âge la plus parasitée est celle de [9 ans à 10 ans] avec un taux de positivité légèrement élevé de 25%.

5.3. En fonction du statut immunitaire

Dans notre échantillon global de 70 enfants (16) enfants sont positifs on a 9 enfants des immunocompétents et 07 enfants immunodéprimés.

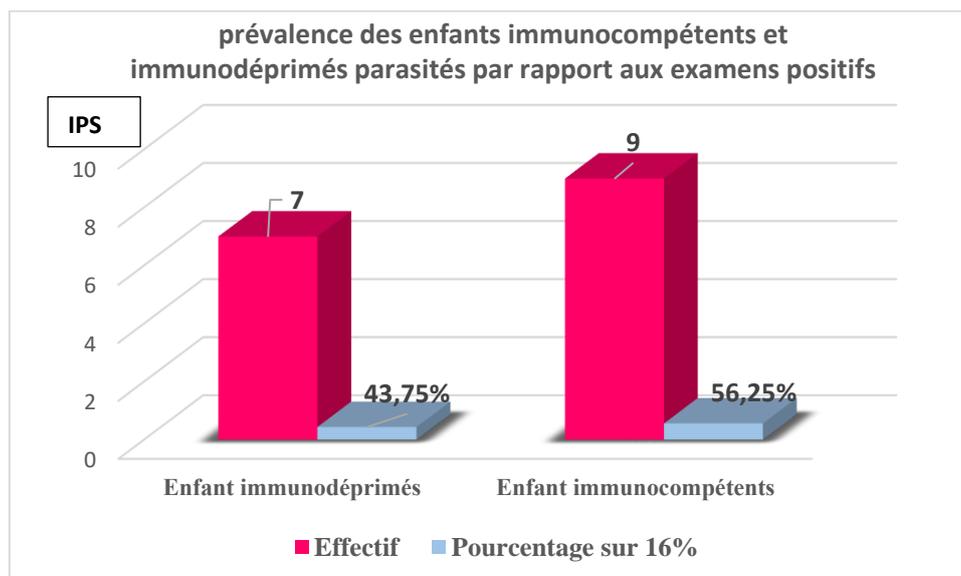


Figure 27: : Prévalence des enfants immunocpétents et immunodéprimés par rapport aux examens positifs

Nous avons remarqué que les immunocompétents sont les plus infestés par les parasites avec un taux de 56,25%.

Chapitre 4 : Discussion des résultats

Notre travail s'est intéressé à la population infantile en déterminant le taux de positivité du *Cryptosporidium spp.* Durant ce travail, il a été question de dresser un état des lieux des infections au *Cryptosporidium* chez les enfants immunodéprimés des services de pédiatrie et d'identifier les parasites intestinaux les plus fréquents au niveau de trois structures hospitalières : le laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU à Béni-Messous, l'EPH de Hadjout et le centre de transplantation des organes TOT à Blida. Cette étude est descriptive transversale. En effet, durant notre période de stage (qui n'a pas été trop longue- on n'a pas pu collecter que peu d'échantillons à cause de la situation épidémiologique liée au Covid-19. Ceci constitue un facteur de sous-estimation des taux que nous avons trouvés.

Notre étude repose sur des statistiques tirées à partir des prélèvements effectués au niveau du laboratoire de parasitologie-Mycologie mais par manque de réactifs et la courte période de stage, nous n'avons pas pu utiliser beaucoup de méthodes pour approfondir notre étude.

Notre faible fréquence est expliquée par le fait que les autres études étaient effectuées sur une période plus large et sur un échantillonnage plus grand.

Sur les 70 prélèvements effectués, **22,5 %** était positifs pour l'EPH de Hadjout, **22,22%** pour le CHU de Béni Messous, et **33,33 %** pour le TOT de Blida. Cette fréquence est probablement due aux conditions climatiques de température et d'humidité qui favorisent la maturation des parasites. Nos résultats montrent que la daïra de Hadjout était la région la plus touchée par les protozooses intestinales avec un pourcentage de **22,5 % (9 cas Positifs)** suivie de Béni-Messous **22,22% (06 cas positifs)** puis Blida **1 seul cas positifs (3 cas collectés seulement)**. La comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature montre que le pourcentage de cas positifs de l'EPH de Hadjout, du CHU de Béni Messous et du TOT de Blida est inférieur à celui de **Cheikhrouhou (2009)** dans la région du Sfax en Tunisie avec un taux de (26,6 %). Cette différence statistique avec l'étude d'une région méditerranéenne (Sfax) serait justifiée par les conditions qui sont peut-être plus défavorables par rapport à notre zone d'étude.

Ce travail nous a permis d'estimer une prévalence globale 22,87 % des parasitoses intestinales, Cette fréquence est inférieure à celle observée au sein du laboratoire de parasitologie-Mycologie médicales du CHU de Tlemcen en (2017) par **Hadj,M et al.**, soit un taux 30.8 % ce qui serait lié à l'amélioration des conditions sanitaires ou bien dans notre cas au faible nombre d'échantillons analysés .

Les résultats de la prévalence globale des parasitoses intestinales pendant cette enquête chez les enfants Hospitalisés sont beaucoup plus nombreux avec une prévalence de 68,75 % que ceux les externes soit un taux de 31,25 % et donc le nombre de cas positifs le plus élevé est enregistré chez les internes (les enfants hospitalisés). Ce résultat se contredit avec celui rapporté par Dani, F et Saïb, M en (2017) au niveau du C.H.U Tizi Ouzou où un pourcentage de 7% pour les internes et un taux de 93% pour les externes a été enregistré. Ceci s'explique par le fait que les parasitoses intestinales ne nécessitent pas une hospitalisation qui immobilise le malade et augmenterait de ce fait les frais et les dépenses hospitalières. (Dani, &Saïb, 2017).

Dans notre analyse, le *Blastocystis hominis* représente l'espèce parasitaire la plus dominante avec une prévalence de 56,25 %. Ce résultat est contredit avec celui retrouvé par **Ouraïba et Seghir** en (2014) où le *Blastocystis hominis* est le troisième protozoaire isolé (n'est pas fréquent) avec une fréquence de 13.33 %, mais il est proche avec celui rapporté par **Benouis. A** à Oran en (2012) avec une prévalence de (47,17 %).

Le parasitisme intestinal était dominé par les protozoaires avec un pourcentage de 87,5 % par rapport à 12,5 % seulement pour les métazoaires alors que cette fréquence est proche à celles retrouvées à Guelma en (2017) par **Khaoula, B.A. B., & Maroua, K.** soit un taux de (98 %) avec un dominance des protozoaires ce qui serait lié au fait que les conditions climatiques des zones Tipaza, Alger, Blida, et Guelma sont favorable au développement des cycles biologiques des protozoaires, parasites à transmission hydrique.

Le taux de *Cryptosporidium spp* (6,25 %) enregistré durant notre étude et faible par rapport aux résultats rapportés par **Sory I, T** à Bamako à Mali en (2010) avec une prévalence de (10,75 %), mais il est contredit de celui d'Oran en 2012 où la prévalence était de (0,4 %) (**Benouis, 2012**). Cette différence statistique avec l'étude de Bamako serait justifiée par le faible nombre d'échantillons, ainsi que le faible nombre de cas d'immunodéprimés inclus dans notre travail, sans oublier la courte durée de l'étude. Les différences liées aux conditions sanitaires dans les deux pays seraient aussi probablement à l'origine de cette disparité dans les résultats avec l'étude malienne.

Dans notre étude, la prévalence de la positivité en fonction du sexe par rapport aux examens positifs (16 cas) montre que les enfants de sexe masculin étaient les plus représentés avec une pourcentage de 68.75 % alors que pour les enfants de sexe féminin elle était de 31.25 % Comparé aux taux observés au niveau du laboratoire de microbiologie, à l'unité de Parasitologie-Mycologie Médicale du Centre Hospital universitaire (CHU) de Tlemcen par **Ouraïba et Seghir** en (2014) où les garçons étaient représentés à hauteur de 54.3 % et les filles

45.7%. Aussi, en comparant à ceux observés au Maroc par **Benzalim, M** en (2010), où 54 % de l'effectif des garçons étaient parasités contre 46% des filles.

On peut dire que les enfants de sexe masculin sont plus touchés et plus prédisposés que les enfants de sexe féminin, mais sans beaucoup trop de certitude car nous n'avons pas eu un large panel expérimental sur une longue durée.

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus touchée est comprise entre [9 ans à 10 ans] avec un pourcentage de 25 % par rapport aux examens positifs (16 cas), puis vient la tranche d'âge entre 5 et 6 ans et la tranche d'âge de 7 et 8 ans avec un pourcentage de 18.75 %. Ceci pourrait se justifier par le niveau scolaire de ces élèves dans notre pays où l'inscription à l'école se fait à partir de 6 ans. La source d'approvisionnement en eau et la précarité de l'hygiène corporelle favorisent grandement la contamination, surtout en collectivités tel que les écoles et les crèches. Nos résultats sont largement inférieurs à ceux rapportés au Niger par **Soumana et al.**, en (2016) avec une proportion de 51.5 %. et aussi inférieurs à ceux observés au Maroc à l'hôpital d'enfants de Rabat par **Esselmani, H** en (2008) chez des enfants âgés de [0 à 15 ans] avec un pourcentage trouvé au Maroc de 47.5%. Cette disparité peut être attribuée également aux conditions socio-économiques, ainsi que l'accès à l'eau potable et le manque de conditions d'hygiène.

Dans notre étude le taux de positivité des cas chez les enfants en fonction de leur statut immunitaire par rapport aux examens positifs (16 cas) montre que les patients immunocompétents sont les plus infestés par les parasites intestinaux avec un pourcentage de 56.25 % et la catégorie de patients immunodéprimés représente 43.75 % donc la proportion totale des patients immunodéprimés est presque la même que celle des patients immunocompétents dans notre échantillon, avec une légère augmentation chez ces derniers. Notre résultat est largement inférieur à ceux rapportés au sein du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Tlemcen par **Hadj, M et al.**, en (2017) où la population infestée est constituée principalement par les patients immunocompétents mais avec un pourcentage de 96 %. Ces faibles prévalences peuvent être expliquées par le fait que notre étude était effectuée sur une période plus courte (20 jours seulement) et par un nombre de cas recensés plus faible (70 cas).

Conclusion et Perspectives

• Conclusion et perspectives

Les parasitoses intestinales constituent un problème de santé non négligeable, ils regroupent un ensemble large d'infections relativement fréquentes liées au péril fécal.

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressé à la Cryptosporidiose chez les enfants immunodéprimés causée par le parasite *Cryptosporidium spp.*

Notre Objectif et de déterminer le taux de prévalence de parasitoses intestinales et de la Cryptosporidiose dans la région de Blida, Tipaza, Alger. Les résultats de cette étude ont pour but de dresser un état des lieux des infections au *Cryptosporidium* chez les enfants immunodéprimés des services de pédiatrie et d'identifier les parasites intestinaux les plus fréquents au niveau du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU à Beni-Messous, de l'EHP de Hadjout ainsi que le centre de transplantation des organes TOT de Blida.

Nous avons obtenu un taux de positivité globale aux parasites qui est de 22,87 % sur un total de 70 échantillons recueillis sur les trois zones d'études (les structures hospitalières citées ci-dessus). L'analyse des échantillons a permis de détecter 6 parasites, les protozoaires sont majoritaires avec un taux de positivité de *Blastosystis hominis* de 56,25 %. Les patients immunocompétents étaient les plus parasités par rapport aux immunodéprimés.

Le taux de positivité du *Cryptosporidium spp* était de 6,25 %, très semblable à celui trouvé l'année dernière par **Benaouda et al, 2019**. Notre étude a montré un seul cas de *Cryptosporidium* qui n'a été retrouvé que chez un enfant immunodéprimé à Blida, de sexe masculin de 3 ans, issu d'un milieu rural. Cet enfant présentait une diarrhée aqueuse et des douleurs gastro-intestinales.

Nos faibles résultats sont expliqués par le faible nombre d'échantillons analysés qui est attribué à l'arrêt de notre stage suite à la propagation de virus Corona (Covid-19) qui a raccourci notre stage, pour en faire au final que 20 Jours ; durée insuffisante pour avoir une bonne estimation des prévalences, ce qui constitue un facteur de sous-estimation des taux que nous avons trouvés.

Notre étude a montré la nécessité de mettre en place des mesures de prévention collective et individuelle, centrées sur le lavage minutieux des mains avec de l'eau et du savon, après tout contact avec les animaux, ou avant de manipuler et de consommer des aliments. Ceci constitue la base de la prophylaxie de la Cryptosporidiose. L'épidémie actuelle du Coronavirus

est un très bel exemple de la nécessité du lavage des mains et des aliments quel que soit la situation.

- **Perspectives**

Comme perspective à cette étude, nous proposons d'étendre la zone d'étude, et la réaliser sur une plus longue période, incluant des régions différentes d'étude pour voir l'impact et le contexte socio-économique sur la prévalence de la Cryptosporidiose.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aajaouj, G. (2015). Les coccidioses intestinales. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie Rabat. Maroc.
- Alaoui, N. (2010). La cryptosporidiose chez l'immunodéprimé et étude des cas d'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de doctorat.
- Appelbee, A. J., Thompson, R. A., & Olson, M. E. (2005). Giardia and Cryptosporidium in mammalian wild life—current status and future needs. *Trends in parasitology*, 21(8), 370-376.
- Belhamri, N., & Moutaj, R. (2015). Profil épidémiologique des parasitoses intestinales au service de Parasitologie Mycologie à l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. *Université de Marrakech*.
- Benamrouz-Vanneste, S., Sawant, M., Benamrouz, S., Chabé, M., Guyot, K., Costa, D., Certad, G. (2020). La cryptosporidiose et son impact en santé publique. *Revue de biologie médicale*.
- Benahouda, D. (2019). Risques du potentiel zoonotique de certains protozoaires parasites chez les populations infantiles et adultes vivants en zone urbaine et rurale via les animaux domestiques. Thèse de doctorat. Ziane Achour. University of Djelfa
- Benouis, A. (2012). Etude épidémiologique des parasitoses intestinales humaines dans la région d'Oran. Mémoire de Magister. Faculté des sciences d'Oran.
- Benzalim, M. (2010). Dépistage des parasites intestinaux chez les enfants consultant à l'hôpital de jour de pédiatrie au chu Med VI à Marrakech. Thèse de Doctorat en médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech.
- Bonnin, A., Dautin, G., Dalle, F., & Champlaud, D. (2001). Cryptosporidiose : risque sanitaire individuel et collectif. *Lettre Infectiologie*, 12(XVI-10), 310-314.
- Bonnin, A., Dubremetz, J. F., Lopez, J., Vagner, O., & Cuisenier, B. (2006). Infections à Cryptosporidies et à Cyclospora. EMC.
- Bones, A. J., Jossé, L., More, C., Miller, C. N., Michaelis, M., & Tsaousis, A. D. (2019). Past and future trends of Cryptosporidium in vitro research. *Experimental parasitology*, 196, 28-37.
- Cacciò, S. M., & Widmer, G. (Eds.). (2013). *Cryptosporidium: parasite and disease*. Springer Science & Business Media.
- 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. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé - Lille II, Français

- Chalmers, R. M., &Katzner, F. (2013). Looking for Cryptosporidium: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends in parasitology*, 29(5), 237-251.
- Chartier, C., Rieux, A., Delafosse, A., Lehébel, A., &Paraud, C. (2013). Detection of Cryptosporidiumoocysts in fresh calf faeces:characteristics of two simple tests and evaluation of a semi-quantitative approach. *The Veterinary Journal*, 198(1), 148-152.
- Cheikhrouhou, F., Trabelsi, H., Sellami, H., Makni, F., & Ayadi, A. (2009). Parasitoses intestinales dans la région de Sfax (Sud tunisien): Etude rétrospective. *Rev Tun Infectiol*, 3(2), 14-18.
- Coudert, P., & Dreyfuss, G. (2010). Biologie et cycles parasitaires. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(500), 18-22.
- Dani, F., & Saib, M. (2017). Parasitoses intestinales diagnostiquées au niveau du CHU de Tizi Ouzou. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention docteur de pharmacie. Faculté de médecine
- Desai, A. N. (2020).Cryptosporidiosis. *Jama*, 323(3), 288-288.
- El-Kourraibi, S. (2011). Portage parasitaire intestinal chez la femme enceinte. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie-rabat.
- Esselmani, H. (2008). Donnes comparatives de trois techniques d'enrichissement en coproparasitologie. Thèse de doctorat.
- Euzéby, J. (2002). The epidemiology of human cryptosporidiosis. *Bulletin de L'academie Nationale de Medecine*, 186(5), 837-47.
- Fayer, R. (2004). Cryptosporidium:a water-borne zoonotic parasite. Review of Veterinary parasitology, 126(1-2), 37-56.
- Gargala, G., Razakandrainibe, R., Costa, D., Leméteil, D., & Forest, C. D. (2017). La cryptosporidiose, une cause de diarrhée aiguë: revue de la littérature et étude rétrospective des cas dans le département de pédiatrie du CHU de Rouen. *Archives de Pédiatrie*, 24(12), 1344-1349.
- Ghizlaine, O.D. (2015). Prévalence des parasitoses intestinales chez les enfants de 0 à 5 ans dans la communauté d'anonkoi3. Thèse de doctorat, UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT BOIGNY des sciences pharmaceutiques biologiques
- Guyot, K., Sarfati, C., &Derouin, F. (2012). Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. *Feuillets de Biologie*, 53(304), 21-29.

- Hadj, M. F. Z., & Mohammedi, A. (2017). Étude de la prévalence des parasitoses intestinales chez l'enfant diagnostique au sein du laboratoire de parasitologie -Mycologie Médicales du CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat.
- Jex, A. R., Smith, H. V., Monis, P. T., Campbell, B. E., & Gasser, R. B. (2008). *Cryptosporidium*—biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology advances*, 26(4), 304-317.
- Juarez, M. M., & Rajal, V. B. (2013). Intestinal parasitoses in Argentina: major causal agents found in the population and in the environment. *Revista Argentina de microbiologia*, 45(3), 191-204.
- Khaoula, B. A. B., & Maroua, K. (2017). Etude des parasites intestinaux chez L'Homme et les Ovins dans la région de Guelma. Thèse de master Université de Guelma
- Khurana, S., Sharma, P., Sharma, A., & Malla, N. (2012). Evaluation of Ziehl-Neelsen staining, auramine phenol staining, antigen detection enzyme linked immune sorbent assay and polymerase chain reaction, for the diagnosis of intestinal cryptosporidiosis. *Tropical parasitology*, 2(1), 20.
- Korzeniewski, K. (2016). Prevalence of intestinal parasitic infections in the population of Central Asia on the example of inhabitants of Eastern Afghanistan. *PrzeglEpidemiol*, 70(4), 563-573.
- Lacroix-Lamandé, S. (2001). Rôle de l'interféron- γ dans la réponse immunitaire mucoale à L'infection par *Cryptosporidium parvum* chez la souris. Thèse de doctorat. Université François Rabelais.
- Manent-Manent, M. (2014). Moyens de lutte thérapeutique contre la cryptosporidiose : actualités et perspectives. Thèse de doctorat. *Faculté de médecine de Créteil*.
- Molkhou, C. (2014). La cryptosporidiose chez le patient transplanté rénal : étude rétrospective des cas diagnostiqués dans le service de Néphrologie du CHU de Rouen entre 2010 et 2014.
- Morjan, A. (2010). Portage parasitaire intestinal et cutané chez les résidents d'un centre social. Thèse de doctorat Université Mohammed v faculté de médecine et de pharmacie -Rabet.
- Nicolas, X., Chevalier, B., Simon, F., & Klotz, F. (2002). Traitement des parasitoses intestinales (amibiase et mycoses exclues). *Enc. Méd. Chir.(Paris-France), Maladie infectieuse*.
- Ouraiba, I., & Seghir, N. (2014). *Evaluation de la fréquence des parasitoses intestinales chez les enfants scolarisés*. Thèse de doctorat.
- Paoletti, A. (2002). Données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à L'homme. Thèse de doctorat

- Potiron, L. (2016). Rôle des phagocytes mononucléés dans la réponse immunitaire innée Contre cryptosporidium parvum . Thèse de doctorat, Tours.
- Potters, I., & Van Esbroeck, M. (2010). Negativestaining technique of Heine for the detection of Cryptosporidium spp.: a fast and simple screening technique. *The Open Parasitology Journal*, 4(1).
- Razakandrainibe, R., Le Goff, L., Gargala, G., & Favennec, L. (2014). Giardiose et cryptosporidiose: deux parasitoses à transmission hydrique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2014(459), 51-56.
- Rousseau, A. (2018). *Méthodes de caractérisation de la viabilité et l'infectiosité des protozoaires Toxoplasma gondii, Cryptosporidium spp et Giardia duodenalis et applications aux matrices alimentaires* .Thèse de doctorat. Reims.
- Ryan, U. N. A., Fayer, R., & Xiao, L. (2014). Cryptosporidium species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*, 141(13), 1667-1685.
- Sory, I. T. (2010). Thèse de doctorat en médecine. Diagnostic de la cryptosporidiose chez les patients VIH diarrhéiques à Bamako (Mali). Faculté de médecine et de pharmacie.
- Soumana, A., Kamaye, M., Saidou, D., Dima, H., Daouda, B., & Guéro, T. (2016). Les parasitoses intestinales chez les enfants de moins de cinq ans a Niamey au Niger. *Mali medical*, 31(4).
- Touhami Kadiri, I. (2010). Performances des kits copro-duo®, kop-color® pour la concentration et la coloration des parasites dans les selles. Thèse de doctorat.
- Tyzzer, E. E. (1910). An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. *The Journal of medical research*, 23(3), 487.
- Vanathy, K., Parija, S. C., Mandal, J., Hamide, A., & Krishnamurthy, S. (2017). Cryptosporidiosis: A mini review. *Tropical parasitology*, 7(2), 7

LES ANNEXES

Tableau 1 : Les espèces de *Cryptospridium* et leurs hôtes principaux : (Appelbee et *al.*, 2005)

Espèces :	Hôte principal :
<i>C. andersoni</i>	Bétail et camélidés
<i>C. baileyi</i>	Oiseaux
<i>C. canis</i>	Chiens
<i>C. felis</i>	Chats
<i>C. hominis</i>	Humains et singes
<i>C. meleagridis</i>	Oiseaux et humains
<i>C. muris</i>	Rongeurs et camélidés
<i>C. nasorum</i>	Poissons
<i>C. parvum</i>	Humains et les autres mammifères
<i>C. saurophilium</i>	Reptiles
<i>C. serpentis</i>	Serpents
<i>C. wrairi</i>	Cobayes
<i>C. galli</i>	Oiseaux
<i>C. suis</i>	Porcs

Annexe partie expérimentale (relatif au chapitre 2)

- **Préparation des solutions utilisées :**

a. Préparation de la solution de formol à 10 % :

- ✓ Formol :100 ml
- ✓ Eau distillée :900 ml

Solution de vert de malachite à 5% :

- ✓ Vert de malachite (poudre).....5g
- ✓ Eau distillée.....100 ml

b. Solution de la fushine phéniquée :

Solution A :

- Fushine basique150 g
Ethanol à 95 %.....1 L

Solution B : eau phéniquée à 5 %

Solution de travail :

- Solution A.....10ml →Filtrer avant l'emploi
Solution B..... 90 ml

- **Méthodes utilisées concernant le traitement des selles :**

- A la réception de chaque prélèvement, un Examen Parasitologique des Selles « EPS » a été réalisé.



Figure 3 : Matériel de prélèvement donné pour chaque enfant (original 2020).



Figure 6 : Les réactifs utilisés au laboratoire de parasitologie -mycologie à EPH Hadjout pour la copro-parasitologie des selles (photo originale 2020).

- **Méthode examen microscopique direct des selles à l'état frais**



1. Prélever à différents endroits de la selle 2. Ajouter de l'eau physiologique. et diluer.



3. Laisser sédimenter la dilution

4. Verser la dilution dans un tube à essai.



5. Déposer une goutte de dilution au Centre d'une lame sèche et propre.

6. Recouvrir d'une lamelle



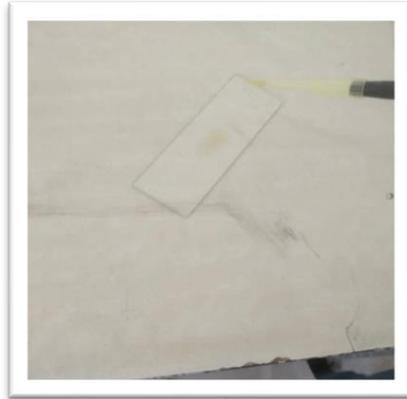
7. Examiner la préparation à l'objectif **G x10** puis **G x40**.

Figure 7 : Les étapes de l'examen direct à l'état frais (**photo originale 2020**).

- **Méthode examen après coloration au Lugol**



1. Obtenir une dilution homogène



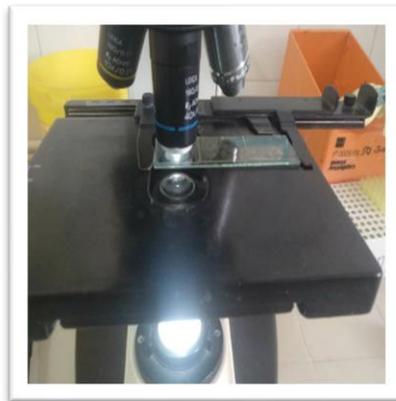
2. Déposer une petite goutte de dilution (selle + eau physiologique) sur une lame



3. Ajouter une goutte de Lugol à 1 %



4. Recouvrir d'une lamelle



5. Examiner la préparation à l'objectif (G x 10) puis (G x 40).

Figure 8 : Les étapes de l'examen après coloration au Lugol (Photo original 2020).

- **Méthode technique de Ritchie**



1. Diluer une noisette de selles dans une solution du formol 10 % .



2. Laisser sédimenter.



3. Ajouter 1/3 du volume total d'éther et agiter vigoureusement.



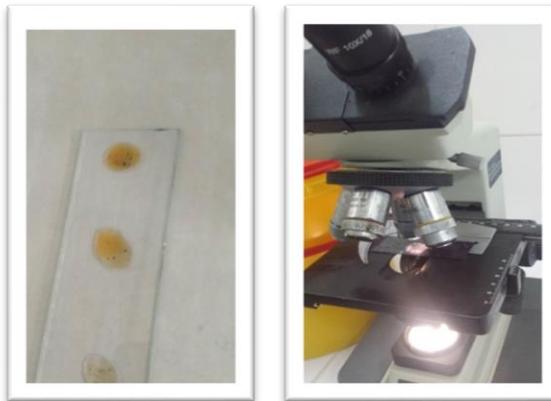
4. Tube conique.



5. Centrifuger 5000 tours 3 minutes.



6. Obtention de 4 couches, élimination de 3 couches et on obtention du culot



7. Examen du culot entre lame et lamelle et lecture au microscope à l'objectif (G x 40).

Figure 9 : les étapes de la technique de Ritchie (Photo original 2020).

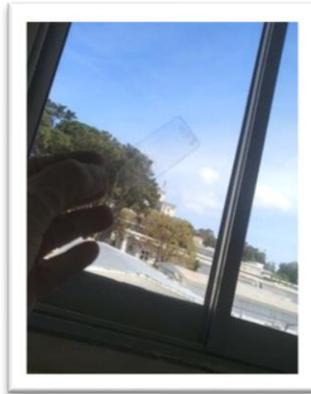
- **Méthode coloration Ziehl-Neelsen**



1. Une lame dégraissée propre et sèche.
fixer avec

2. Ajouter un frottis de selles puis le

l'alcool méthylique.



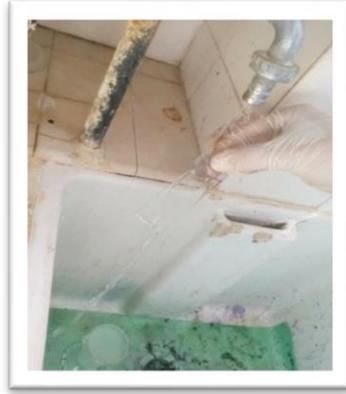
3. Laisser sécher.

4. Colorer dans la fushine phéniquée
pendant 1 h.



5. Rincer du l'eau de robinet

6. Agiter la lame dans l'acide sulfurique
Pendant 20s-



7. Rincer à l'eau du robinet.



8. Effectuer une contre coloration avec le vert de malachite



9. Rincer à l'eau du robinet puis
Laisser sécher la lame.



10. Lecture au microscope
Optique (GX40).

Figure 10 : Les étapes de la coloration de ziehl-Neelsen modifiée (original 2020).