



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



LES PARASIToses DIGESTIVES AU SERVICE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE DU CHU HASSAN II-FÈS

MEMOIRE PRESENTE PAR :
Docteur ZINEB AMHAOUCH
Née le 03 février 1986 à Tafrant

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
OPTION : BIOLOGIE MÉDICALE

Sous la direction de :
Professeur : TLAMÇANI ZINEB

Session Mai 2017

A Nos MAITRES

*Pour ce don inestimable, nous vous restons à jamais
reconnaissants, sincèrement respectueux et toujours disciples
dévoués.*

PLAN

RESUME	4
I. INTRODUCTION	7
II. MATERIELS ET METHODES	10
III. RESULTATS 1	13
A. Caractéristiques épidémiologiques de la population d'étude	14
B. Prévalence des parasites intestinaux	14
C. Répartition des espèces parasitaires	14
IV. DISCUSSION	17
A. Examen parasitologique des selles (EPS)	18
1. Orientation de l'EPS	18
2. Indications de l'EPS	18
3. Limites	20
4. Conduite de l'EPS	21
a. Phase pré-analytique	21
✚ Modalités du prélèvement	21
✚ Précautions lors du recueil	21
b. Réalisation de l'EPS.....	22
✚ Examen macroscopique	22
✚ Examen microscopique	22
Ø Examen direct à l'état frais	23
Ø Examen direct après coloration	26
Ø Examen après concentration	30
Ø Techniques spécifiques	32
Ø Prélèvements particuliers	33
Ø Eléments non parasitaires.....	34
B. Comparaison de nos résultats avec la littérature	36
V. CONCLUSION	39
BIBLIOGRAPHIE	41

RESUME

Introduction:

Les parasitoses intestinales sont dues à des parasites appartenant aux groupes : protozoaires et helminthes, pouvant être responsable d'atteintes intestinales et/ou hépatiques, et sont liées étroitement au niveau d'hygiène.

L'objectif principal de cette étude est de donner la prévalence et les indices épidémiologiques parasitaires au niveau du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Hassan II de Fès.

Matériels et méthodes:

Il s'agit d'une étude rétrospective menée au service de parasitologie-mycologie du CHU Hassan II de Fès, s'étalant sur une durée de 13 mois, allant du 1^{er} novembre 2015 au 30 novembre 2016, portant sur 886 examens parasitologiques des selles (EPS).

Les résultats des examens, ainsi que les renseignements cliniques des malades ont été recensés à partir du registre des activités du service du laboratoire.

Cette étude a été faite sur des malades de provenances très diverses aussi bien sur le plan géographique que sur le plan social.

Chaque échantillon de selles fraîchement émises a fait l'objet d'un examen macroscopique et d'un examen direct microscopique, entre lame et lamelle, après dilution à l'eau physiologique et coloration au Lugol, complétée par les techniques de concentration (Ritchie), MIF-concentration, et éventuellement une coloration de Ziehl-Neelson modifiée.

Résultats:

Sur un total de 886 prélèvements reçus, les données épidémiologiques analysés montrent une moyenne d'âge de 27.08 ans, avec un sex-ratio H/F de 0.78, la population pédiatrique représentait 38.68% ; 87.13% des prélèvements reçus relevaient de patients consultants externes.

La prévalence des échantillons positifs a été de 38.14%, la positivité de l'examen parasitologique a été plus élevée chez les patients de sexe féminin (40%) contre 35% chez les sujets de sexe masculin; par ailleurs le pourcentage des examens positifs a été plus élevé chez les adultes (>15ans) : 42.68% par rapport aux enfants : 32.67%.

La majorité des parasites isolés étaient des protozoaires (98.15%); le *Blastocystis hominis* : 38.67%, l'*Entamoeba histolytica* : 26.40%, les flagellés intestinaux : 22.62 % et les helminthes : 1.85 %. Le polyparasitisme a été signalé dans 32.84% des échantillons positifs.

Conclusion:

Dans notre série, les parasitoses intestinales sont dominées par les protozoaires représentés essentiellement par le *Blastocystis hominis*, les amibes, et les flagellés intestinaux.

Les associations parasitaires sont nettement augmentées par rapport à d'autres séries nationales ; l'amélioration du niveau socio-économique constitue la pierre angulaire pour la lutte contre ce type de maladies.

INTRODUCTION

Les parasitoses intestinales représentent un problème de santé notamment dans les pays en voie de développement, elles sont étroitement liées à l'absence ou un mauvais assainissement ou une mauvaise hygiène personnelle [1]. Par conséquent elles sont devenues relativement rares dans les pays industrialisés, ce qui n'est pas le cas des pays en développement dont le Maroc. Elles constituent l'une des principales causes de morbi-mortalité dans le monde par atteinte du tube digestif [2].

Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'année 2002, on évalue à 3,5 milliards le nombre de sujets infectés par les parasites digestifs et à 450 millions le nombre de malades [3]. La mortalité liée à ce type de maladies est estimée à environ 200 000 décès par an [1, 4-6]. Les infections parasitaires intestinales ont des effets néfastes sur la survie, l'appétit, la croissance, le rendement scolaire et les performances cognitives des individus infectés [7].

Le tube digestif de l'être humain peut être colonisé par diverses espèces parasitaires. Qu'il s'agisse de Protozooses ou d'Helminthiases, ces organismes ont un tropisme particulier pour l'intestin, expliqué par l'apport nutritionnel régulier assurant la pérennité de leur cycle de transmission. Majoritairement liées au péril fécal, seules certaines parasitoses intestinales peuvent être pathogènes pour l'Homme. Leur pathogénicité se traduit par l'agression de la paroi intestinale pouvant conduire à des colites asymptomatiques, voire des pseudotumeurs [2,8].

Les parasitoses intestinales sont des infections cosmopolites. L'amibiase, l'ascaridiose, l'ankylostomiase et la trichocéphalose figurent parmi les dix infestations les plus fréquentes au monde [9]. D'autres parasitoses telles que l'angiostrongylose abdominale, la capillariose intestinale et l'anguillulose sont importantes en santé publique [10, 11].

Les facteurs qui concourent à l'endémicité et à la pérennisation de la transmission sont très divers et complexes et la répercussion de ces parasitoses sur la santé individuelle ou collective est plus ou moins grave selon divers facteurs : l'espèce parasitaire en cause; l'intensité de l'infestation; la nature des interactions entre le parasite et l'hôte, les infestations concomitantes; l'état nutritionnel et immunitaire de la population [12,13].

Le pouvoir pathogène de ces parasites est très divers allant du simple portage asymptomatique à des tableaux cliniques gravissimes voire mortels en cas d'infestation massive.

Dans de nombreux laboratoires des pays en voie de développement, l'examen microscopique des selles à la recherche des kystes, des formes végétatives, des oocystes et des trophozoïtes reste la méthode de choix pour le diagnostic, en raison du faible coût des réactifs, par ailleurs les méthodes moléculaires sont plus coûteuses et nécessitent des équipements spécifiques, mais ont une spécificité et une sensibilité plus élevées par rapport à la microscopie.

La lutte contre ces infestations est aujourd'hui beaucoup plus facile qu'autrefois grâce à l'amélioration et à la simplification de certaines méthodes de diagnostic et aux progrès réalisés en biologie parasitaire, et aussi à la découverte de traitements médicamenteux efficaces avec moins d'effets secondaires.

L'objectif de notre étude est de déterminer le profil épidémiologique des espèces parasitaires isolées lors des bilans coprologiques effectués au service de parasitologie du CHU Hassan II de Fès et d'en déduire le niveau d'hygiène oro-fécale.

MATERIELS

ET METHODES

A. LIEU ET PERIODE D'ETUDE :

Il s'agit d'une étude rétrospective menée au service de parasitologie-mycologie du CHU Hassan II de Fès, s'étalant sur une durée de 13 mois, allant du 1^{er} novembre 2015 au 30 novembre 2016, portant sur 886 examens parasitologiques des selles (EPS).

B. POPULATION D'ETUDE :

Les résultats des examens, ainsi que les renseignements cliniques des malades ont été recensés à partir du registre des activités du service du laboratoire.

Les variables suivantes ont été étudiées : le sexe, l'âge, la provenance (malade hospitalisé ou externe) et l'examen microscopique.

Conformément à la plupart des études nous avons retenus l'âge inférieur à 15 ans pour les enfants.

C. PRELEVEMENT DE SELLES ET TECHNIQUE D'EXAMEN

Pour chaque prélèvement coprologique, nous avons réalisé un examen parasitologique des selles. Cet examen a comporté :

☐ Un examen macroscopique

☐ Un examen microscopique à l'état frais et après coloration au Lugol.

☐ Une technique de concentration utilisant une méthode diphasique : (Ritchie et MIF), complétée éventuellement par des colorations spéciales en fonction des renseignements cliniques.

D. DEFINITION DU CAS POSITIF :

Un sujet est considéré parasité lorsque l'examen direct suivi par la technique de concentration de la selle révèle la présence d'un ou plusieurs parasites sous diverses formes : kyste, forme végétative, œuf et/ou ver adulte.

E. ANALYSE STATISTIQUE :

Les données ont été saisies sur le logiciel Microsoft Excel 2007 et ont été analysées grâce au logiciel IBM SPSS version 20.

RESULTATS

A. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE :

Du 1^{er} Novembre 2015 au 30 novembre 2016, 886 échantillons de selles ont été adressés au laboratoire pour examen parasitologique des selles. L'âge moyen des patients était de 27,08 ans avec des extrêmes à 1 et 91 ans, les enfants représentaient 38.68% de la population. Le sexe féminin était le plus représenté avec 56,09% contre 43,91% d'hommes. Le sex ratio (H /F) était de 0,78. Seulement 12,87% des prélèvements provenaient de patients hospitalisés, alors que les patients non hospitalisés constituent 87,13% de la population de l'étude.

B. PREVALENCE DES PARASITES INTESTINAUX :

Sur les 886 échantillons de selles examinés, 338 avaient au moins un parasite, soit une prévalence globale de 38,14%. Selon les caractéristiques de la population, la prévalence chez le sexe féminin est de 40% contre 35,56% pour le sexe masculin, cette différence n'est pas statistiquement significatif ($p > 0,05$). Chez l'enfant (< 15 ans), la prévalence est de 32.67%. La différence de prévalence entre les adultes et les enfants est statistiquement significatif ($p < 0,05$). Le polyparasitisme a été retrouvé chez 32,84% des patients.

C. REPARTITION DES ESPECES PARASITAIRES :

Les protozoaires dominent largement avec 98,15% des espèces alors que les helminthes ne sont retrouvés que dans 1.85 % des cas. L'ensemble des amibes représentent 37.62 % des parasites isolés, les flagellés : 22.62%. Les helminthes se répartissent entre les cestodes : 1,24% et les nématodes : 0,61%. Aucun Trématode n'a été retrouvé.

Le *Blastocystis hominis* est le parasite le plus isolé avec 38.67% suivi d'*Entamoeba histolytica* : 26.40%, *Dientamoeba fragilis* : 12.89%, *Entamoeba coli* : 6.03% (Tableau I). *Taenia saginata* : 1,24% était l'helminthe majoritaire.

Le polyparasitisme a été signalé dans 32.84% des échantillons positifs ; les associations parasitaires les plus retrouvées sont : *Blastocystis hominis*+ *Entamoeba histolytica* : 16.27% et *Blastocystis hominis* + *Dientamoeba fragilis* : 7.39% des prélèvements positifs.

Tableau I: Répartition des parasites et leurs prévalences au CHU Hassan II de Fès

Espèces parasitaires			Proportion des parasites %	Prévalence %
Protozoaires	Amibes	<i>Entamoeba histolytica</i>	26,40	37
		<i>Entamoeba coli</i>	6,03	8.57
		<i>Entamoeba hartmani</i>	4,36	6.21
		<i>Pseudolimax butschili</i>	0,83	1.18
	Flagellés	<i>Dientamoeba fragilis</i>	12,89	18.34
		<i>Chilomatix mesnili</i>	4,16	5.91
		<i>Giardia intestinalis</i>	3,74	8.28
		<i>Trichomonas intestinalis</i>	0,83	1.18
	Coccidies	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	0,20	1.29
		<i>Blastocystis hominis</i>	38,67	55.32
Helminthes	Cestodes	<i>Taenia saginata</i>	1,24	1.77
	Nématodes	<i>Ascaris lombricoïde</i>	0,41	0,29
		<i>Enterobius vermicularis</i>	0,20	0.29

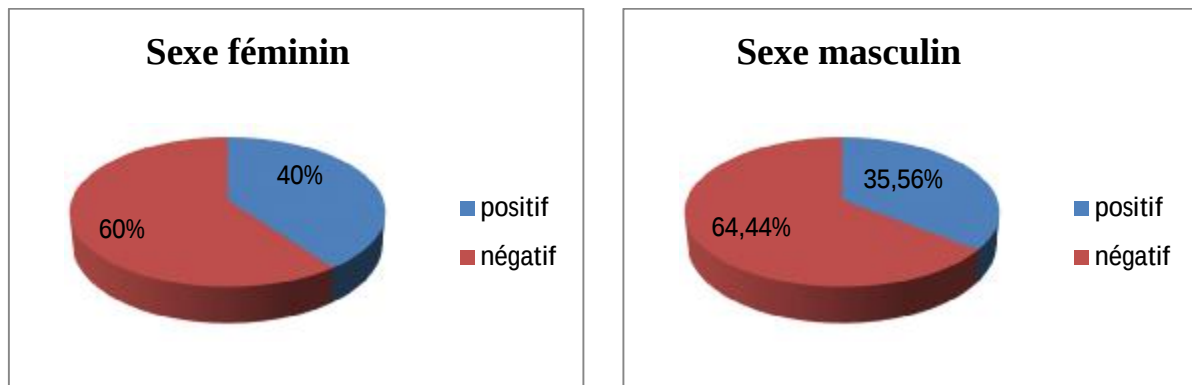


Figure 1 : Prévalence des parasites intestinaux en fonction du sexe au CHU Hassan II de Fès

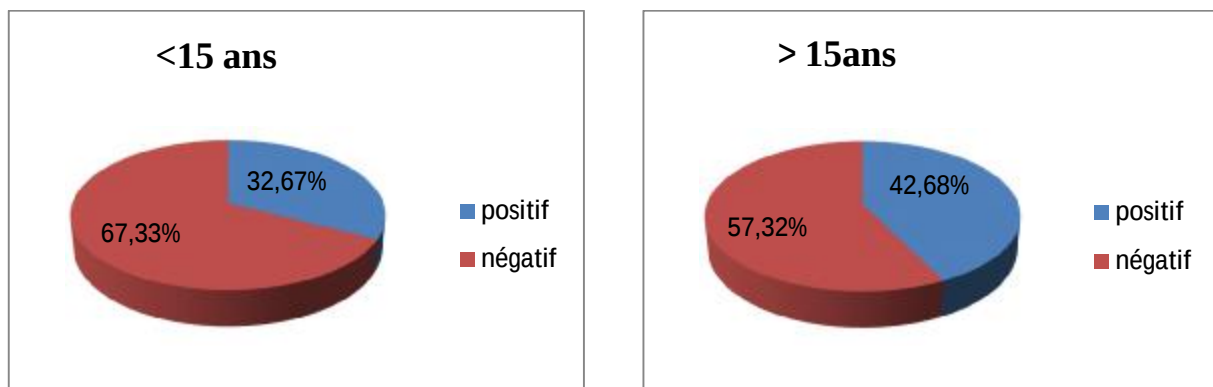


Figure 2 : Prévalence des parasites intestinaux en fonction de l'âge au CHU Hassan II de Fès

DISCUSSION

A. EXAMEN PARASITOLOGIQUE DES SELLES (EPS) [14, 15,16]

1. OBJECTIFS ET ORIENTATION DE L'EPS :

L'examen parasitologique des selles a pour but le diagnostic des parasitoses intestinales par la mise en évidence des parasites quelque soit leur stade de développement (œufs, larves, vers adultes, kystes, formes végétatives, oocystes).

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

Selon la nomenclature des actes de biologie médicale, un examen parasitologique des selles doit comprendre un examen macroscopique, un examen microscopique direct plus deux techniques d'enrichissement, une standard concentrant toutes les formes parasitaires (forme végétative; kyste; œuf et larve) et une autre spécifique pour la concentration des œufs. Le recours à d'autres techniques de concentrations comme celles utilisées en cas des ankylostomoses ne sera justifié que par la présence des signes cliniques et épidémiologiques évoquant ce type de parasitose.

2. INDICATIONS DE L'EPS

Les signes cliniques :

Les situations cliniques amenant à la réalisation d'un EPS sont représentés par la diarrhée aigue persistante pendant plus de 3 jours malgré un traitement symptomatique, diarrhée persistante (2 semaines) ou chronique (> 4 semaines), diarrhée glairo-sanglante chez un malade ayant séjourné dans une région à risque chez qui il convient de rechercher des formes végétatives *d'Entamoeba histolytica*. Un EPS s'impose également en cas de douleurs abdominales, troubles digestifs divers (anorexie, boulimie, nausées, dyspepsie, ténésme, prurit anal), prurit anal.

Si l'EPS (au total 3) est négatif et si les symptômes persistent, il convient de demander des recherches spécifiques (cryptosporidies, microsporidies, *Cyclospora*, *Isospora belli*) ; par ailleurs, chez un malade immunodéprimé, les recherches sont identiques aux situations précédentes. En cas de traitement immunosuppresseur réalisé chez un sujet ayant voyagé dans des zones à risque, il convient de demander également une recherche de larves d'anguillules.

Les éléments d'orientation épidémiologiques :

L'origine géographique du malade, ainsi que la notion de voyage ou de séjour dans une zone endémique est une donnée fondamentale à noter, même s'il s'agit d'un séjour ancien (la longévité de certaines espèces de schistosomes atteint 20 ans), la notion de baignades éventuelles, mode de vie urbain ou rural, la présence d'animaux familiers, l'existence d'une pathologie identique dans la famille ou le voisinage, recherche de douleurs abdominales.

Critères biologiques de présomption :

- o Hémogramme : anémie et/ou hyper éosinophilie qui évoquent certaines parasitoses.

En cas d'hyper éosinophile ($> 500/\text{mm}^3$), il faut évoquer une helminthiase en phase d'invasion ou une infection en phase d'état. Compléter le bilan, en fonction du contexte, par des sérologies parasitaires (ascaridiose, toxocarose, anisakiase, trichinose, bilharziose, distomatose).

- o Vitesse de sédimentation : utile en cas d'abcès amibien ou de destruction tissulaire d'origine parasitaire.
- o Bilans biochimiques divers : la destruction du tissu hépatique par migration de certaines larves de parasites ou blocage des voies biliaires par un parasite

adulte, peut se traduire biologiquement par des élévations de certaines enzymes.

- o En cas de séropositivité pour le VIH et si la numération des CD4 est $< 200/\mu\text{l}$, il convient de demander une recherche de cryptosporidies et de microsporidies.

Critères radiologiques de présomption:

L'échographie et la scintigraphie apportent des informations précieuses pour les atteintes hépatiques. Pour le colon, la radiographie, la coloscopie et la fibroscopie oeso-gastro-duodénale (FOGD) peuvent objectiver des lésions amibiennes ou permettre de repérer certains vers.

3. LIMITES

L'EPS n'est pas contributif dans les situations suivantes :

- ☐ Lors de période dite muette c'est-à-dire absence d'élimination transitoire des éléments parasitaires vers le milieu extérieur.
- ☐ Lorsqu'il s'agit d'un parasite d'origine animale en impasse parasitaire chez l'homme ne pouvant pas atteindre le stade adulte (syndrome de *larva migrans*, anisakiase)
- ☐ Lorsque le parasite n'est pas éliminé par voie intestinale.
- ☐ Au cours de l'oxyurose où les œufs se trouvent volontiers au niveau de la marge anale. ☐ Parasite en phase de migration tissulaire.

4. CONDUITE DE L'EPS :

a. Phase pré-analytique

✚ Modalités du prélèvement :

Le prélèvement des selles représente une étape cruciale qui conditionne la validité du résultat, de nombreux faux négatifs résultent d'une insuffisance de préparation du patient, par ailleurs l'existence de périodes muettes où il n'y a pas d'émission de parasites explique la nécessité de la réalisation de trois examens coprologiques à quelques jours d'intervalles.

La préparation du malade (3 jours avant l'EPS) est basée sur l'adoption d'un régime alimentaire pauvre en résidus, le malade doit s'abstenir de prendre tout antispasmodique intestinal ou de suppositoire, des médicaments à base de charbon, d'huile de vaseline, ou radio-opaque et éviter l'administration d'un purgatif qui diminue la concentration des parasites.

✚ Précautions lors du recueil :

Le prélèvement des selles doit se répéter 2 à 3 fois avec quelques jours d'intervalle (rareté parasitaire, émission discontinue d'éléments parasitaires), pour un EPS classique 30 à 50 g de selles suffisent ; idéalement au laboratoire dans un récipient propre à large ouverture, identifié à l'avance, l'échantillon doit être accompagné d'un bon contenant les renseignements épidémio-clinico-biologiques (origine géographique, syndrome dysentérique).

Si le prélèvement est fait en dehors du laboratoire : l'acheminement doit être immédiat, sinon, les selles ne doivent pas être conservées à température ambiante ; en effet, cette température favorise la multiplication des bactéries qui gêne l'observation microscopique et provoque la lyse des formes végétatives des protozoaires. Il faut donc placer le flacon à +4°C pour la conservation des œufs et des kystes en sachant que les formes végétatives sont mal conservées. Une meilleure conservation des éléments parasitaires est obtenue en mélangeant les

selles avec des conservateurs fixateurs tels que le formol à 5% ou la solution de MIF (Merthiolate-Iode-Formol).

b. Réalisation de l'EPS

✚ Examen macroscopique :

Il consiste à étudier les caractères organoleptiques des selles, la consistance (dures, moulées, molles, pâteuses, liquides), la couleur (marron, brunâtre, jaunâtre, verdâtre ou noirâtre), recherche de pus, sang ou glaires, et il faut signaler que c'est dans le mucus que les formes hématophages d'amibes sont recherchées, recherche d'éléments nutritionnels, recherche de parasites adultes (vers ou fragments de vers: anneaux de *Tænia*, ascaris mâle ou femelle, oxyures femelles...)

✚ Examen microscopique :

Il comporte un examen direct à l'état frais, après coloration et après concentration par deux méthodes de routine (physique et physico-chimique). Le choix des techniques est orienté par les renseignements cliniques et les examens biologiques.

C'est le temps essentiel de l'analyse, il permet de dépister les œufs et les larves des helminthes, les kystes et les formes végétatives des amibes et des flagellés, les oocystes de coccidies et les spores de microsporidies. Les cristaux de Charcot-Leyden sont dus à la destruction des polynucléaires éosinophiles du tube digestif, il n'existe pas de parallélisme entre eux et l'éosinophilie sanguine et leur constatation doit inciter à rechercher une helminthiase, mais ils peuvent également se rencontrer au cours de protozooses (amibiases, isosporose).

L'examen direct des selles liquides ou diarrhéiques devrait être fait en dedans de 30 minutes après l'émission de la selle; celui des selles molles ou pâteuses, moins d'une heure après l'émission. Sinon, le matériel devrait être fixé.

L'iode à 1 % peut être utilisé dans la préparation des frottis pour préciser les détails morphologiques des organismes [17]. Ces frottis peuvent également être préparés à partir des selles fixées.

Ø Examen direct à l'état frais :

▼ Intérêt :

Il permet la mise en évidence des formes végétatives, de préciser la taille, la forme et le contenu cytoplasmique (noyaux, vacuoles, hématie), d'étudier la mobilité des formes végétatives (flagelles, pseudopodes, membrane ondulante), ainsi que d'évaluer la mobilité de certains parasites sans dilution sur des selles liquides ou glaireuses ou après dilution dans l'eau physiologique sur des selles moulées ou dures.

▼ Technique :

Elle consiste à déposer 1 goutte d'eau physiologique sur une lame, puis de prélever un fragment des selles en plusieurs endroits, en réalisant un mélange homogène, avant de recouvrir d'une lamelle. Pour les selles glairo-sanglantes, il faut prélever dans les zones muqueuses et/ou sanguinolentes (fig. 3).

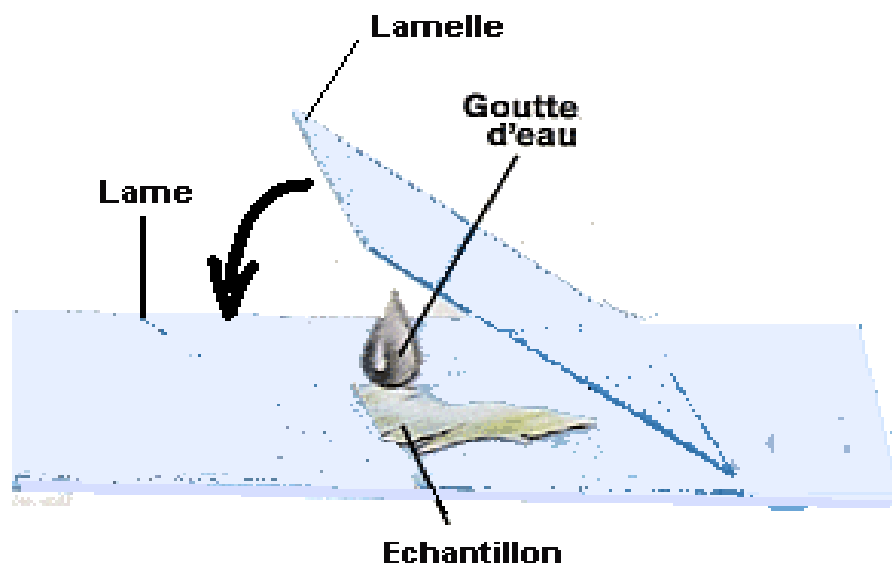


Figure 3 : image objectivant la technique de l'examen direct à l'état frais

▼ Résultats :

L'examen direct permet d'observer des formes végétatives vivantes de protozoaires, des formes kystiques, des œufs de nématodes ou de cestodes, des larves rhabditoïdes vivantes (anguillule, ankylostomidés), des cristaux de Charcot-leyden, des GR, leucocytes, levures et éléments de la digestion.

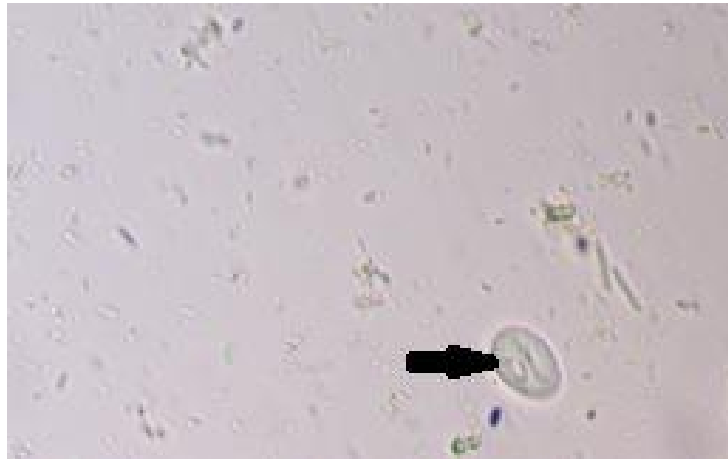


Figure 4 : examen direct à l'état frais (objectif *40-microscope optique) objectivant une forme kystique de *Giardia intestinalis* (image de notre service)

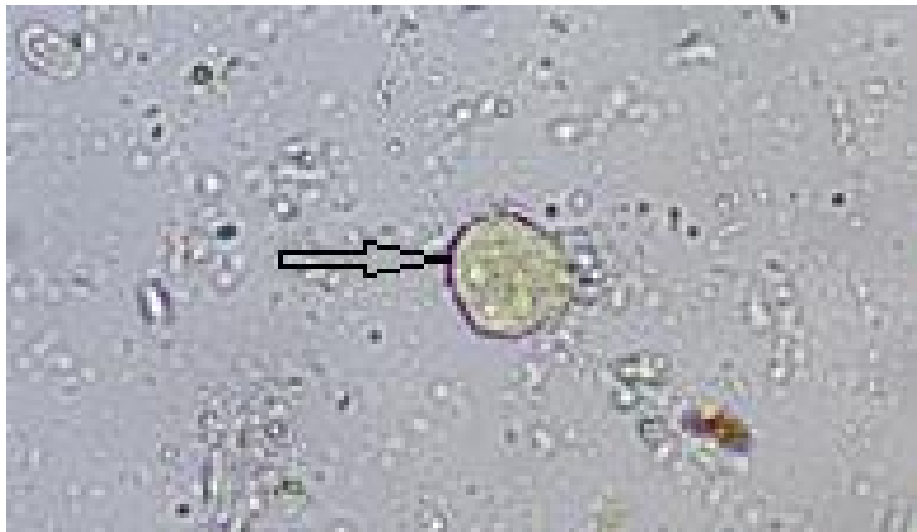


Figure 5 : examen direct à l'état frais (objectif *40) montrant l'*Entamoeba coli* (image de notre service)

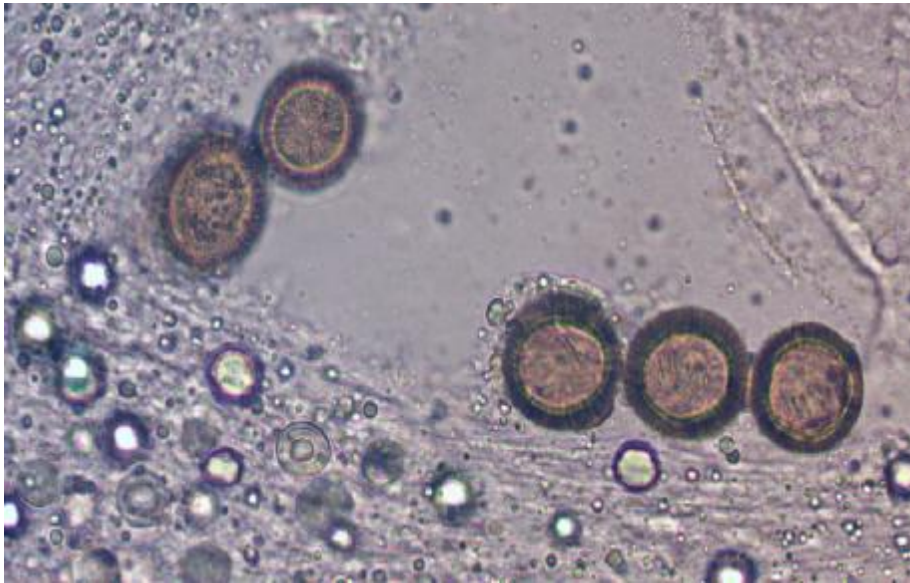


Figure 6 : Examen direct l'état frais (objectif *40) montrant des œufs de *Taenia saginata* (image de notre service)

- Examen direct après dilution dans l'eau de robinet :

Il permet, grâce à la présence de chlore dans cette eau, de lyser rapidement le *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis* et *Pseudolimax butshlii* et de laisser intacts les kystes d'amibes ou de flagellés pathogènes.

Ø Examen direct après coloration

▼ Coloration par le lugol double :

C'est une technique permettant la coloration du cytoplasme des kystes en jaune brun et le noyau en brun foncé, son inconvénient majeur est représenté par la mort des formes végétatives.

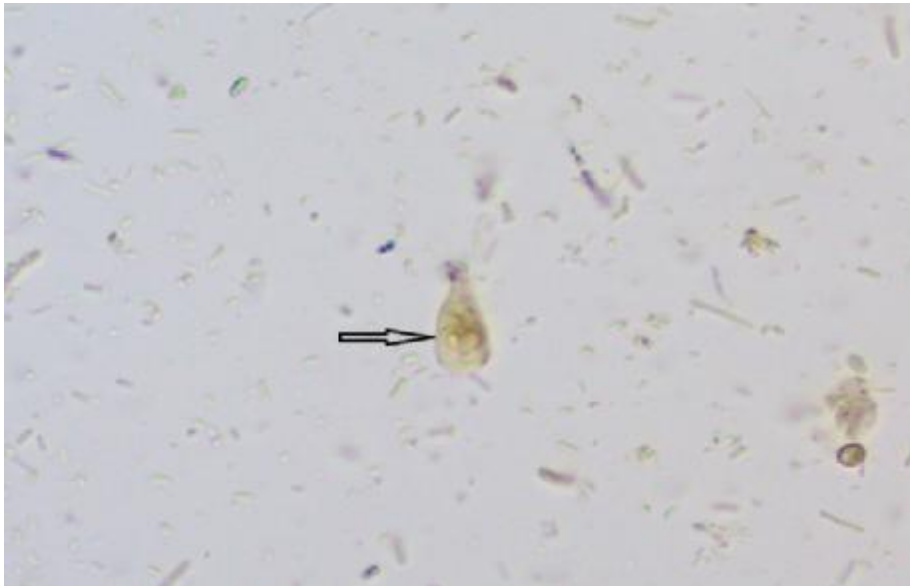


Figure 7 : examen direct après coloration au Lugol montrant la forme végétative (immobile) de *Giardia intestinalis* (image de notre service)

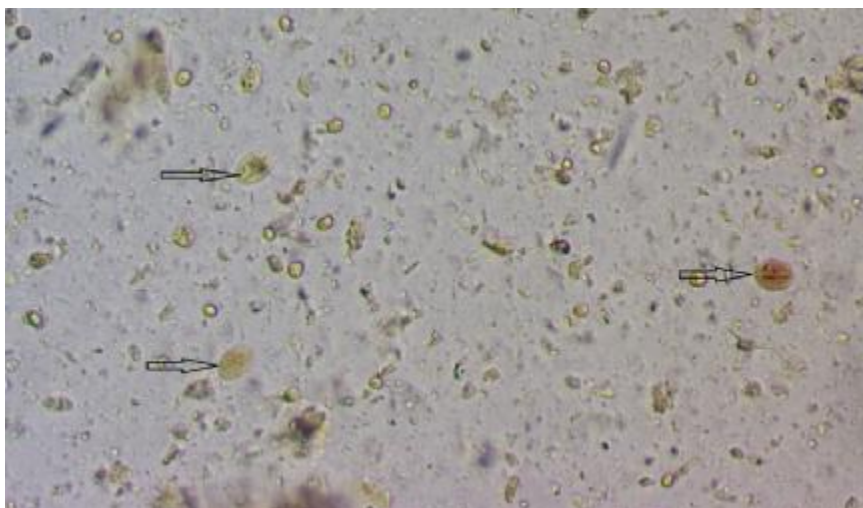


Figure 8 : examen direct après coloration au lugol (objectif *40) montrant la forme kystique de *Giardia intestinalis* (image de notre service)



Figure 9 : examen direct après coloration au lugol (objectif *40) montrant des formes kystiques de l'*Entamoeba histolytica*. *Histolytica/dispar* (image de notre service)

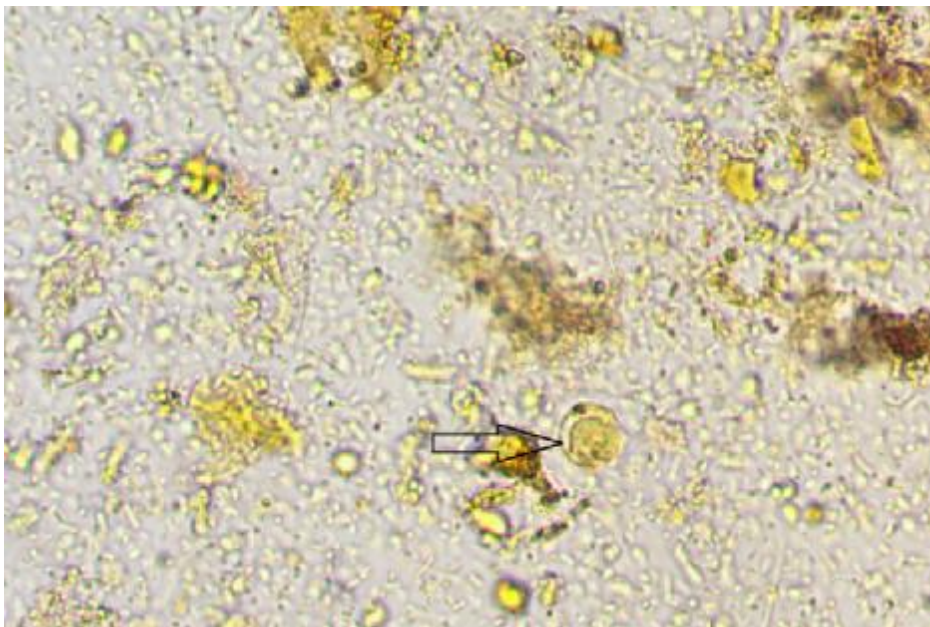


Figure 10 : examen direct après coloration au Lugol (objectif *40) montrant le *Blastocystis hominis* (image de notre service)

▼ Coloration au Merthiolate Iode Formol (MIF) :

Intérêt : elle permet la fixation des formes végétatives des protozoaires et la conservation des échantillons durant une longue période

Résultats : les kystes apparaissent incolores ou roses, les formes végétatives : claires, alors que les noyaux sont délimités par une membrane brun noir avec des masses chromatinienues réfringentes.

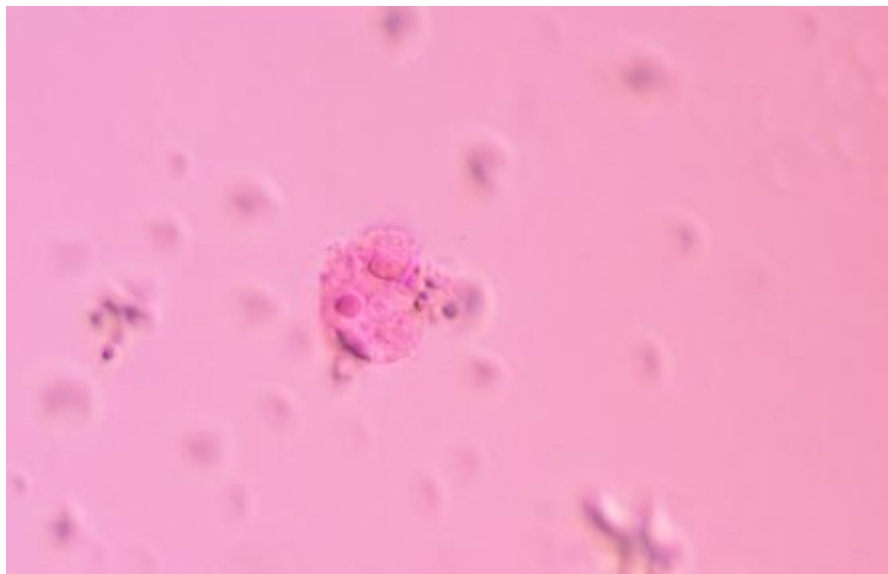


Figure 11 : examen direct après coloration au MIF (objectif *40) montrant une forme végétative d'*Entamoeba histolytica histolytica/dispar* (image de notre service)

▼ Colorations spécifiques :

Elles sont orientées par les renseignements cliniques :

Ziehl Neelsen modifiée: elle est utile dans le diagnostic des PAAR coccidies:

Cryptosporidium, *isospora belli*, *cyclospora cayetanensis*

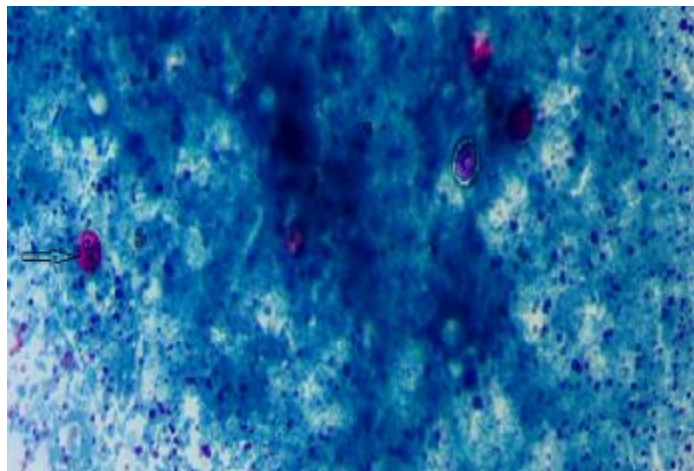


Figure 12 : image montrant le *Cyclospora cayetanensis* (coloration de Ziehl Neelsen modifiée) (image de notre service)

Coloration à l'APV (alcool polyvinique) Trichrome : elle facilite l'identification des œufs, amibes et flagellés

Coloration de Weber : Microsporidies

Hématoxyline ferrique : les structures du noyau sont colorées en noir et ressortent bien sur le fond grisâtre du frottis.

Ø Examen après concentration [18]

Le but des techniques de concentration est de réunir dans un faible volume les éléments parasitaires initialement dispersés dans une grande masse de selles, et cela permettra d'augmenter les chances de mise en évidence du parasite et de faciliter le diagnostic. En pratique, un examen coprologique de qualité associe un examen direct (état frais / coloration) et deux techniques de concentration.

On distingue trois méthodes de concentration différentes :

- ü Méthodes physiques ou monophasiques
- ü Méthodes diphasiques ou physico-chimiques
- ü Méthodes mixtes ou combinés

v Méthodes physiques

Le principe est basé sur la séparation des parasites du reste du bol fécal en se basant sur le phénomène de densité, ainsi les éléments parasitaires vont flotter ou sédimenter suivant la densité du diluant, par conséquent on distingue 2 techniques différentes : les techniques de sédimentation et les techniques par flottation.

v Méthodes physicochimiques ou diphasiques :

Elles utilisent les propriétés de l'éther qui d'une part, est un solvant des lipides et d'autre part n'est pas miscible avec l'eau.

Le principe est basé sur la mise en jeu de 2 phases non miscibles et de réaliser pour chaque élément fécal un coefficient de partage qui dépendra de sa balance hydrophile / lipophile, permettant ainsi de concentrer les éléments fécaux dans le culot

Tableau II : les principales méthodes diphasiques de concentration et leurs indications

Méthodes	Diluant	Indication
Bailanger	Tampon acéto-acétique à pH 5	Œufs de giardia, amibes, trichocéphale et d'ankylostome
Ritchie modifiée	Formol 10%	Œufs d'helminthes (sauf ascaris) kystes de protozoaires
MIF concentration	Solution de MIF	Œufs de schistosomes, d'ascaris Kystes de protozoaires
Telemann-Rivas	Acide acétique à 0,5%	Œufs de douve, trichocéphale, ankylostomes Kystes de giardia et d'amibes

v Méthodes combinées

Il s'agit de techniques de concentration combinant une méthode de flottation et une autre diphasique, elles permettront d'avoir d'excellents résultats (Exemple : Technique de Junod modifiée).

Ø Techniques spécifiques

▼ Scotch test anal ou Test de Grahamm :

C'est un test qui permet la récolte des œufs d'oxyure déposés sur les plis anaux pendant la nuit par la femelle gravisée d'*Enterobius vermicularis*, au moyen de cellophane adhésive et d'un tube ou abaisse langue. Ce test peut également mettre en évidence les œufs de *Tænia*.

Le prélèvement doit être effectué le matin avant la toilette et avant d'aller à la selle, il faut manipuler avec des gants car les œufs sont infestants.

▼ Méthode de Kato :

Il s'agit d'une technique réservée à la recherche des œufs d'helminthes, plus particulièrement les œufs d'*Ascaris* et de Trichocéphales.

▼ Technique de Baermann :

Elle consiste à mettre la selle dans une passoire pointue tapissée de 2 couches de gaze, puis la passoire est posée sur un entonnoir fermé par un robinet et contenant de l'eau à 40°C en immergeant le fond de la passoire. En deux heures, les larves d'anguillules (ayant un hygrotropisme et un thermotropisme positifs) quittent la selle pour venir dans l'eau chaude, enfin le robinet sera ouvert pour recueillir le liquide, puis centrifuger à 1500 tours/min pendant 5 minutes, le culot sera examiné au microscope, c'est une méthode qui permet la recherche de *Giardia*, d'anguillule et d'ankylostome



Figure 13 : technique de Baermann [18]

▼ Numération des Œufs d'helminthes : Technique de Stoll

▼ Culture des helminthes

▼ Culture des protozoaires

Ø Prélèvements particuliers :

Biopsie rectale : peut être envisagée à la recherche d'amibes ou d'œufs de schistosomes

Tubage duodéal : Recherche de douve, de lamblia, d'anguillules, d'ankylostomes

Ø Eléments non parasitaires :

Les éléments non parasitaires présents dans les selles correspondent aux résidus alimentaires, on trouve en fonction du régime alimentaire des débris d'aliments animaux et végétaux.

Il est important de ne pas confondre certains débris avec des éléments parasitaires

v Débris d'aliments animaux et végétaux : [18]

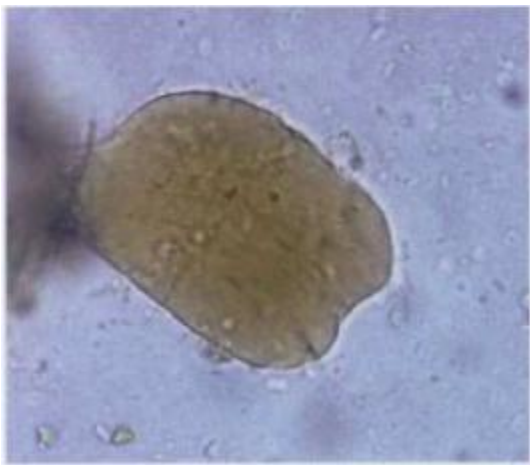


Figure 14 : fibre musculaire bien digérée

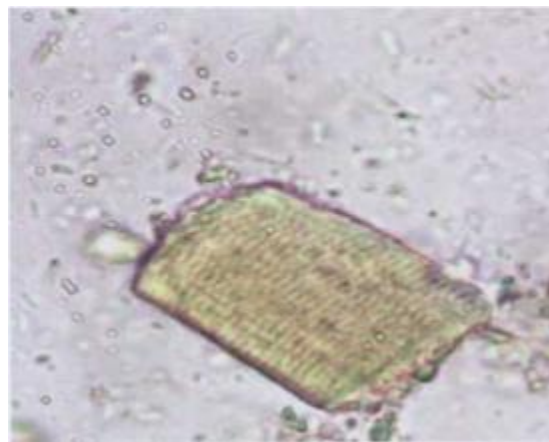


Figure 15: fibre musculaire mal digérée

▼ Cristaux d'origine alimentaire : [18]

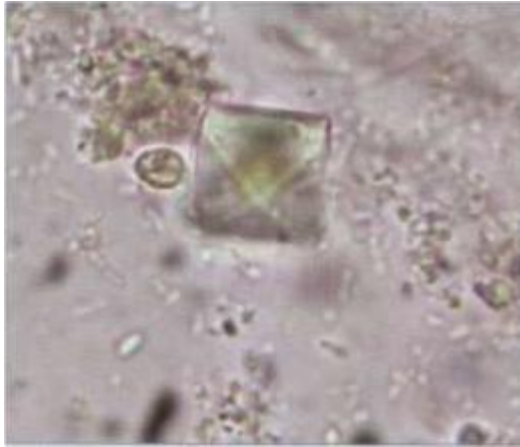


Figure 16 : oxalate de calcium

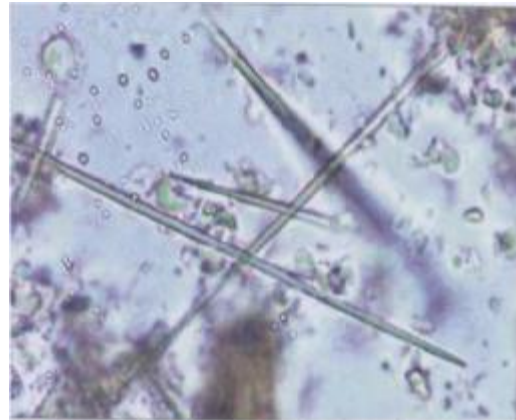


Figure 17 : cristaux de monocotylédones raphides (ananas, asperge ou oignon)

B. COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC LA LITTERATURE

Plusieurs études épidémiologiques ont été menées au Maroc sur la prévalence des parasitoses intestinales. Il est ainsi intéressant de comparer les résultats obtenus au laboratoire de parasitologie de Fès aux données des autres régions du Maroc et dans d'autres pays du monde.

Dans la présente étude, 38,14% des patients ont une infection parasitaire. Cette prévalence est supérieure à celle de Kénitra et Marrakech où les prévalences rapportées étaient respectivement de 14,15% et 27,8% [19,20]. Elle est par contre inférieure à celle retrouvées lors d'une enquête réalisée dans les provinces de Taounate, Béni Mellal et Tiznit [21] et à celle de Tiflet [22].

Hors du Maroc, la prévalence du parasitisme intestinal dans notre étude est assez proche de celle retrouvée dans des études en Mauritanie, en Turquie, en Afghanistan et en Jordanie [23-26]. Par contre, elle est supérieure aux prévalences rapportées au Maghreb notamment à Tunis (Tunisie) et à Oran (Algérie) où elle est respectivement de 12,55% et 19,96% [27,28]. Enfin, La plupart des études en Afrique sub-saharienne rapportent des prévalences largement supérieures. En effet, elle est de 54,7% au Burkina Faso, 60,15% à Nkondjock au Caméroun et 67,6% à Mahajanga en Madagascar [29-31].

La prévalence des parasites intestinaux chez la femme (39,84%) est plus élevée que chez l'homme (35,47%) cependant la différence n'est pas statistiquement significative. Ce résultat est conforme à celui de Benouis et al. à Alger (Algérie) [28], Alver et al à Bursa (Turquie) [19], Sylla et al à Dakar (Sénégal) [32]. Par contre, El Guamri et al. à Kénitra (Maroc) [19], Sayyarri et al. en Iran [33], De lima et al. au Brésil [34] rapportent une prévalence statistiquement plus élevée chez la femme par rapport à l'homme alors que pour Siala et al. à Tunis (Tunisie) [27] le sexe masculin

est plus parasité. Cette discordance entre les auteurs pourrait s'expliquer par la différence des populations étudiées.

Classiquement, la prévalence des parasites intestinaux est plus élevée chez l'enfant par rapport à l'adulte. Nous n'avons pas retrouvé cette situation dans notre étude. Ce paradoxe pourrait s'expliquer par le fait que les enfants ne représentent que 37,35% de notre population d'étude.

La large prédominance des protozoaires (98,15%) sur les helminthes que nous rapportons dans notre étude a été également rapportée par plusieurs auteurs [19, 22, 27,28]. La nature cosmopolite des protozoaires, leur omniprésence dans l'environnement, l'existence de formes de résistance dans le milieu extérieur, les campagnes de déparasitage contre les helminthes sont des facteurs qui expliquent cette prédominance [35].

Blastocystis hominis est l'espèce parasitaire la plus isolée dans notre étude. Ce résultat est similaire à celui rapporté par Tligui et al. à Tifelt (Maroc) [22] et Benouis et al. à Oran (Algérie) [28]. Les kystes de *Blastocystis hominis* peuvent être transmis par l'eau, à travers l'alimentation ou d'une personne à l'autre. Son rôle pathogène est incertain et reste très controversé à l'heure actuelle. Cependant, il peut être considéré comme un marqueur d'exposition potentielle à d'autres protozoaires pathogènes [35].

L'espèce pathogène la plus retrouvée est *Entamoeba histolytica* avec une prévalence de 37%. Cette prévalence est supérieure de celle retrouvée dans la population mondiale qui est d'environ 10% selon l'Organisation mondiale de la santé [36]. Il s'agit essentiellement de la forme kystique de ce parasite, les prélèvements de selles n'étant pas effectués au laboratoire dans la plupart des cas.

La totalité des *Giardia intestinalis* a été isolée chez l'enfant. Sa prévalence au sein de cette population d'âge est de 5,43%. Il peut être responsable de diarrhée chronique chez l'enfant, de retard de croissance et de malabsorption.

Les helminthes ont été relativement rares dans notre étude et ont été dominés par *Tænia saginata*, sa prévalence était de 0,67%. La prévalence des oxyures pourraient être sous-évaluée du fait que l'examen parasitologique des selles ne soit pas l'examen la mieux indiquée pour leur diagnostic. La répartition des helminthes est très variable selon les études. Ces espèces se développent dans des conditions climatiques particulières et dans des zones à très faibles niveau d'assainissement [31].

CONCLUSION

Il ressort de cette étude que les parasites intestinaux ont une prévalence plus élevée à Fès par rapport aux autres régions du Maroc. La majorité des espèces parasites répertoriées sont peu pathogènes, les affections sont largement dominées par l'amibiase et la blastocystose. L'*Entamoeba histolytica* est l'espèce pathogène la plus retrouvée avec une prévalence importante.

Ces parasitoses constituent un indicateur du niveau d'hygiène de la population, et en raison des répercussions considérables des parasitoses intestinales sur la santé des populations, il est nécessaire d'adopter des mesures efficaces sur le plan individuel et collectif afin de lutter contre ce fléau.

L'examen parasitologique des selles permet l'identification du parasite le plus souvent sous sa forme kystique à l'examen direct ou après concentration. Ces kystes représentent les formes de résistance et de dissémination dans le milieu extérieur, par conséquence ils sont responsables de la contamination féco-orale chez l'Homme.

Les résultats obtenus sont préliminaires et cette étude doit être approfondie et élargie sur une durée plus longue. Des mesures préventives doivent être entretenues avec notamment une sensibilisation de la population en insistant sur l'hygiène fécale, plus particulièrement pour les enfants et le traitement convenable des eaux et des aliments pour lutter contre ces parasitoses.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] WHO. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. World Health Organ Tech Rep Ser. 2002;912:I vi:1–57 (back cover).
- [2] X. Nicolas, B. Chevalier, F. Simon, F. Klotz, "Traitement des parasitoses intestinales (amibiase et mycose exclues)", Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris), 9-062-A-60, pp. 1-13, 2001
- [3] OMS. Burden of disease in disability-adjusted life years (DALAYS) by cause, sex and mortality stratum in who regions, estimates for 2000. Rapport 2001.
- [4] Noyer CM, Brandt LJ. Parasitic infections of the gastrointestinal tract. Curr Gastroenterol Rep. 1999;1(4):282–91.
- [5] WHO. Schistosomiasis and soil-transmitted helminth infections. In: Fiftyfourth World Health Assembly. vol. WHA54.19. World Health Organization; 2001.
- [6] Hotez PJ, Bundy DAP, Beegle K, Brooker S, Drake L, de Silva N, Montresor A, Engels D, Jukes M, Chitsulo L, et al. Helminth infections: soil-transmitted Helminth infections and Schistosomiasis. In: Jamison DT, Breman JG, Anthony RM, George A, Mariam C, David BE, Jha P, Mills A., Musgrove P, editors. Disease control priorities in developing countries. vol. xlii. 2nd ed. New York: Oxford University Press; World Bank; 2006.
- [7] de Silva NR, Guyatt HL, Bundy DA. Morbidity and mortality due to Ascaris-induced intestinal obstruction. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1997;91(1):31–6.
- [8] P. Rey, D. Andriamanantena, C. Bredin, F. Klotz, "Colites parasitaires", Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris), 9-062-A-45, pp. 1-9, 2005.
- [9] Rapport d'un comité d'experts de l'OMS. Lutte contre les parasitoses intestinales. OMS, Genève, 1987.
- [10] Rapport d'un groupe scientifique. Infections intestinales à protozoaires et à helminthes. *Série de rapports techniques*, N° 666.1981.

- [11] Warren KS, Mahmoud AAF. Tropical and geographical medicine. *New York, McGraw-Hill Book Compagny*, 1984.
- [12] Comité OMS d'experts. Importance des parasitoses intestinales en santé publique. *Bulletin de l'OMS*, 1988.
- [13] Vanden Bossche H. Economic aspects of parasitic diseases: Proceedings of an international workshop. *Social science and medicine*. 1984; 19: 1013-1126.
- [14] T. Kien, B. Molet. Techniques coprologiques standards en parasitologie. EMC encyclopédie médico biologique 90-60-0345
- [15] Golvan y.j, Ambroise- Thomas P. les nouvelles techniques en parasitologie. Flammarion médecine sciences.Paris 2003.
- [16] JEAN-JACQUES ROUSSET. COPRO-PARASITOLOGIE PRATIQUE. ESTEM Paris 1993. 1. Comité OMS D'experts, Importance des parasitoses intestinales en santé publique. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 66 (1): 23-34 (1988)
- [17] Karine Thivierge. Méthodes de laboratoire en parasitologie intestinale. Institut national de santé publique.
- [18] Viviane Gillaume, parasitologie- auto-évaluation/ manipulations, 2007
- [19] Y. El Guamri, D. Belghyti, A. Achicha et al Enquête épidémiologique rétrospective sur les parasitoses intestinales au Centre hospitalier provincial El Idrissi (Kénitra, Maroc) : Bilan de 10 ans (1996-2005). *Ann Biol Clin* 2009 ; 67 (2) : 191-202.
- [20] Sana El-Fadeli, RaschidaBouhouch, MajidaLahrouni et al ; La prévalence des parasites intestinaux chez les enfants d'âge scolaire dans une région rurale de Marrakech-Maroc. *International Journal of Innovation and Scientific Research* Vol. 19 No. 2 Dec. 2015, pp. 229-234

- [21] Laamrani EL Idrissi A, Lyagoubi A, Barkia A et al ; prévalence des parasitoses intestinales au niveau de trois provinces du Maroc. La revue de santé de la Méditerranée orientale, vol.5, N°1, 1999.
- [22] Tligui H, Agoumi A ; prévalence du portage parasitaire intestinal chez l'enfant scolarisé à Tiflet. Revue francophone des laboratoires, novembre 2006, N°386.
- [23] Salem Cheikh Baba O A, Aminetou B M, Ba O et al ; Prévalence des parasitoses intestinales chez les écoliers dans les Wilayas du Gorgol, Guidimagha et Brakna (Mauritanie). Revue francophone des laboratoires - mars 2012 - n°440.
- [24] Alver O, Heper Y, Ercan I et al ; Prevalence of intestinal parasites in Bursa Province of Turkey and assessment of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and three microscopic methods in the diagnosis of *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*. African Journal of Microbiology Research Vol. 5(12), pp. 1443-1449, 18 June, 2011.
- [25] Korzeniewski K, Smoleń A, Augustynowicz A et al ; Diagnostics of intestinal parasites in light microscopy among the population of children in eastern Afghanistan. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 2016, Vol 23, No 4, 666 – 670.
- [26] Jaran A S ; Prevalence and seasonal variation of human intestinal parasites in patients attending hospital with abdominal symptoms in northern Jordan. Eastern Mediterranean health journal, Vol 22. N°10. 2016, 756-760.
- [27] Siala E, Toumi I, Béttaleb J et al ; évolution de la prévalence des parasitoses digestives dans la région de Tunis de 1996 à 2012. LA TUNISIE MEDICALE - 2015 ; Vol 93 (11). Pp : 687-691.
- [28] Benouis A, Bekkouche Z, Benmansour Z ; étude épidémiologique des parasitoses intestinales humaines au niveau du C.H.U. d'Oran (Algérie). International Journal of Innovation and Applied Studies, Vol. 2 No. 4 Apr. 2013, pp. 613-620.

- [29] Cissé M, Coulibaly SO, Guiguemdé RT ; Aspects épidémiologiques des parasitoses intestinales rapportées au Burkina Faso de 1997 à 2007. *Med Trop* 2011 ; 71 : 257-260.
- [30] NguendoYongsiH.B,TejiokemM.C, TsagueL.D ; activites de soins dans une formation sanitaire semi urbaine du Cameroun (Nkondjock) : Bilan de trente ans d'examens coprologiques et de prescription médicale. *Médecine d'Afrique Noire* 2007 - 54 (2) : 79-90.
- [31] Buchy P ;Les parasitoses digestives dans la région de Mahajanga, côte Ouest de Madagascar. *Bull Soc PatholExot*, 2003, 96, 1 : 41-45.
- [32] Sylla K, TineR C K, Sow D ; Aspects épidémiologiques des parasitoses intestinales diagnostiquées au laboratoire de parasitologie-mycologie du centre National Hospitalier de Fann, Dakar. *Médecine d'Afrique noire*, 2013 : vol 60, N°7.
- [33] Sayyari A A, Imanzadeh F, BagheriYazdi S A et al ; Prevalence of intestinal parasitic infections in the IslamicRepublic of Iran. *EasternMediterraneanHealth Journal*, Vol. 11, No. 3, 2005.
- [34] De lima E Q, De Sousa Costa E, De Siqueira R R et al ; Prevalence of intestinal parasites of the human population in the City of Pombal-PB, Brazil. *J. Public HealthEpidemiol*, Vol. 8(12), pp. 343-350, December 2016.
- [35] Fletcher S M, Damien Stark D, Harkness J et al. EntericProtozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012, 25(3):420.
- [36] Bercu TE, Petri WA, Behm JW. Amebiccolitis: new insights into pathogenesis and treatment. *CurrGastroenterolRep*2007;9:429-33.