

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn-Khaldoun-Tiaret  
Institut des Sciences Vétérinaires  
Laboratoire d'Hygiène et de Pathologie Animale

**Mémoire de Magistère**

Spécialité : Sciences Vétérinaires

Option : Hygiène et Qualité des Aliments d'Origine Animale

***Thème***

Enquête sur *Blastocystis* sp. chez les bovins  
dans les deux régions Alger et Boumerdes

***Présenté par :***  
Said MOUGARI

Soutenu publiquement le : 23/05/2016

Devant le jury :

Président :	AGGAD Hebib	Professeur	I.S.V. Tiaret
Encadreur :	HAMOUDI Abdelhamid	Professeur	I.S.V. Tiaret
Co-Encadreur :	BAROUDI Djamel	Maitre de Conférences	E.N.S.V. Alger
Examineur :	BOUKABOUL Aboud	Maitre de Conférences	I.S.V. Tiaret
Examinatrice :	GHAZI Kheira	Maitre de Conférences	I.S.V. Tiaret

**Année Universitaire : 2015/2016**

## REMERCIEMENT

Je tiens à remercier vivement Monsieur **A. HAMOUDI**, Maître de Conférences à l'Université de Tiaret, de m'avoir encadré et conseillé et soutenu tout au long de ce travail.

Je remercie également Monsieur **D. BAROUDI**, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, de m'avoir co-encadré, conseillé et soutenu tout au long de la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur **H. AGGAD**, Professeur à l'Université de Tiaret et Chef de laboratoire d'Hygiène et Santé Animale pour le grand honneur qu'il me fait de présider le jury.

Je suis particulièrement touché par l'accord de Madame **K. GHAZI**, Maître de Conférences à l'Université de Tiaret, d'examiner mon travail, je lui exprime toute ma gratitude.

Je remercie également Monsieur **A. BOUKABOUL**, Maître de Conférences à l'Université de Tiaret, d'avoir accepté d'examiner mon travail, qu'il trouve ici l'expression de mes sentiments respectueux.

Un clin d'œil chaleureux, exprimant de la gratitude et de l'estime à tous mes enseignants au cours de l'année théorique, **Pr.Aggad, Dr.Bedrani, Dr. Ghazi, Dr. Aouabed. Dr.Doukani, Dr.Benchaib.**

Je ne saurais terminer cette énumération de remerciements sans y associer toute personne du département de sciences vétérinaires de Tiaret en général, ou tout ami ou proche pour son encouragement ou pour quelque contribution qui m'a apportée.

## **Résumé :**

Suite à une enquête épidémiologique portant sur la recherche des Blastocystes, **280** prélèvements de fèces de bovins âgés de la naissance à l'âge adulte, provenant de **47** fermes réparties sur **2** régions, Alger et Boumerdes ont été effectués.

L'analyse des prélèvements a fait l'objet de trois techniques de diagnostic, l'examen direct puis une technique d'enrichissement celle de Ritchie simplifié par Allen et Redly, et la troisième est une technique de coloration spécifique aux cryptosporidies.

L'étude a montré une prévalence de *Blastocystis* de l'ordre de **27,5%**. *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Eimeria* et *Entamoeba* qui font aussi l'objet de notre recherche, ont été isolés avec une prévalence de **6%**, **5%**, **2,5%**, et **41,79%**, respectivement. L'association de ces parasites avec *Blastocystis* (infection mixte) atteste une prévalence de **2,85%**, **1,78%**, **0%** et **9,64%**, respectivement. Un taux plus élevé de l'infection par *Blastocystis* a été constaté chez les animaux diarrhéiques, **53,33%**, ce qui laisse penser que ce parasite pourrait avoir un impact sur le statut clinique des animaux atteints. D'autre part, le portage asymptomatique des bovins analysés a été déterminé avec un taux de l'ordre de **26%**.

## **Mots-clés :**

*Blastocystis*, Prévalence, Bovins, Alger-Boumerdes.

### **Abstract:**

Further to an epidemiological survey on the *Blastocystis*, **280** samples of feces from cattle from birth to adulthood, from **47** farms spread over **2** regions, Algiers and Boumerdes were made.

The analysis of samples makes the subject of three techniques diagnosis, direct examination and then an enrichment technique the one of Ritchie simplified by Allen and Redly, and the third is a specific staining technique for *Cryptosporidium* the one of Ziehl Neelsen modified by Henriksen and Pohlenz.

The study showed a prevalence of *Blastocystis* in the order of **27.5%**. *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Entamoeba* and *Eimeria* which are also the subject of our research, were isolated with a prevalence of **6%**, **5%**, **2.5%** and **41.79%**, respectively. The association of these parasites with *Blastocystis* (mixed infection) shows a prevalence of **2.85%**, **1.78%**, **0%** and **9.64%**, respectively. A higher rate of infection with *Blastocystis* was found in diarrheal animals, **53.33%**, which suggests that this parasite could have an impact on the clinical status of affected animals. On the other hand, asymptomatic carriage of cattle tested was determined with a rate of around **26%**.

### **Key words:**

*Blastocystis*, Prevalence, Cattle, Alger-Boumerdes.

## ملخص

بعد دراسة وبائية للبحث عن البلاستوسيتيس، قمنا باخذ و تحليل 280 عينة من براز البقر من مختلف الاعمار، من 47مزرعة موزعة على منطقتين، الجزائر العاصمة وبومرداس.

تحليل العينات تم بواسطة ثلاث تقنيات تشخيص ,الفحص المباشر ومن ثم تقنية تخصيب ، و الثالثة عبارة عن أسلوب تلوين محددة للكريبتوسبوردييوم.

أظهرت الدراسة انتشار البلاستوسيتيس حوالي 27.5%. تم عزل الكريبتوسبوردييوم، الجيارديا، الانتيميا والأيمرية التي هي أيضا موضوع بحثنا، مع انتشار 6%، 5%، 2.5% و 41.79% على التوالي. رابطة هذه الطفيليات مع البلاستوسيتيس (عدوى مختلطة) أظهرت انتشار 2.85%، 1.78%، 0% و 9.64% على التوالي.

زيادة على ذلك دراستنا اثبتت تواجد نسبة عالية من الطفيلي عند الحيوانات المصابة بالإسهال، 53.33%، مما يشير إلى أن هذا الطفيلي يمكن أن يكون له تأثير على الحالة السريرية للحيوانات المصابة. من ناحية أخرى، تم تحديد نسبة الحيوانات المصابة عديمة الأعراض بحوالي 26%.

## الكلمات المفتاحية

بلاستوسيتيس، انتشار، ابقار، الجزائر وبومرداس.

# Sommaire

INTRODUCTION.....	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1. GENERALITES SUR BLASTOCYSTIS.....	4
1.1. Historique.....	4
1.2. Taxonomie.....	4
1.2.1. Classification.....	5
1.2.2. Diversité génétique.....	8
1.3. Biologie Du Parasite :.....	9
1.3.1. Morphologie :.....	9
1.3.1.1. La forme vacuolaire.....	9
1.3.1.2. La forme granulaire.....	11
1.3.1.3. La forme Amiboïdes.....	11
1.3.1.4. La forme kystique.....	13
1.3.1.5. Autres formes.....	14
1.3.2. Structure et rôle de quelques organites.....	14
1.3.2.1. Manteau de surface.....	14
1.3.2.2. la vacuole centrale.....	15
1.3.2.3. L'appareil nucléaire.....	15
1.3.2.4. Les Mitochondries.....	16
1.3.3. Cycle évolutif.....	16
1.3.3.1. Un cycle de vie controversé.....	16
1.3.3.2. Mode de reproduction.....	19
1.3.4. Culture.....	20
1.3.4.1. Culture en milieu solide.....	21
1.3.4.2. Culture en milieu diphasique.....	21
2. ETUDE DE <i>BLASTOCYSTIS SP</i> CHEZ LES ANIMAUX.....	22
2.1. Les oiseaux.....	22
2.2. Les ruminants.....	23
2.3. Les primates.....	23
2.4. Les rongeurs : un model expérimental.....	24
2.5. Le porc.....	25
2.6. Les carnivores.....	26

2.7.	Les reptiles .....	27
3.	ETUDE DE BLASTOCYSTIS HOMINIS CHEZ L'HOMME .....	27
3.1.	Epidémiologie .....	27
3.1.1.	Répartition géographique .....	27
3.1.2.	Répartition des sous-types.....	27
3.1.3.	Hôte et réservoir .....	29
3.1.4.	Mode de contamination .....	30
3.1.5.	Facteurs de risques .....	31
3.1.5.1.	Conditions d'hygiène .....	31
3.1.5.2.	Age et sexe .....	31
3.1.5.3.	Statut immunitaire : .....	31
3.1.5.4.	Effet de la saison .....	31
3.1.5.5.	Infections intercurrentes .....	32
3.2.	Pathogénie .....	32
4.	CONDUITE A TENIR FACE A UNE INFECTION PAR BLASTOCYSTIS.....	33
4.1.	Symptomatologie.....	33
4.1.1.	Signes cliniques.....	33
4.1.2.	Signes biologiques.....	35
4.2.	Diagnostic.....	35
4.2.1.	Diagnostic direct.....	35
4.2.1.1	L'examen des selles à l'état frais.....	35
4.2.1.2.	Colorations .....	36
4.2.1.3.	Concentrations.....	36
4.2.1.4.	Culture .....	37
4.2.1.5.	L'amplification du génome .....	38
4.2.2.	Diagnostic indirect.....	38
4.3.	Traitement .....	39
4.4.	Prévention.....	40
4.4.1.	Education sanitaire .....	40
4.4.2.	Assainissement du milieu .....	40
4.4.3.	Hygiène alimentaire.....	40
	PARTIE EXPERIMENTALE.....	42
	OBJECTIF :.....	43
1.	MATERIELS ET METHODES .....	43
1.1.	Echantillonnage.....	43
1.2.	Prélèvement .....	44

1.3. Technique d'analyse des prélèvements .....	45
1.3.1. L'examen microscopique direct .....	45
1.3.2. Technique de concentration de Ritchie simplifié par Allen et Redly .....	46
1.3.3. Technique de coloration de Ziehl Neelsen modifiée .....	48
1.4. Calcul de la prévalence .....	51
1.5. Utilisation des tests statistiques : .....	51
2. RESULTATS .....	52
2.1. Prévalence de <i>Blastocystis</i> .....	52
2.2. Prévalence de <i>Blastocystis</i> en fonction de la région .....	52
2.3. Influence de l'âge .....	53
2.4. Influence du sexe .....	54
2.5. Influence du statut clinique .....	55
2.6. Influence des infections parasitaires concomitantes .....	56
2.6.1. <i>Giardia duodenalis</i> .....	56
2.6.1.1. Prévalence globale .....	56
2.6.1.2. Prévalence de <i>Giardia</i> en fonction de la région .....	57
2.6.1.3. Présence de <i>Giardia</i> en fonction de l'âge des animaux .....	58
2.6.1.4. Présence de <i>Giardia</i> en fonction du sexe des animaux .....	59
2.6.1.5. Présence de <i>Giardia</i> en fonction du statut clinique .....	60
2.6.1.6. Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Giardia</i> : .....	61
2.6.2. <i>Cryptosporidium</i> .....	62
2.6.2.1. Prévalence globale : .....	62
2.6.2.2. Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction de la région .....	62
2.6.2.3. Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction de l'âge des animaux .....	64
2.6.2.4. Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du sexe des animaux .....	65
2.6.2.5. Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du statut clinique des animaux : .....	65
2.6.2.6. Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Cryptosporidium</i> .....	66
2.6.3. <i>Eimeria</i> .....	67
2.6.3.1. Prévalence globale d' <i>Eimeria</i> dans les élevages étudiés .....	67
2.6.3.2. Prévalence d' <i>Eimeria</i> en fonction de la région .....	67
2.6.3.3. Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction de l'âge des animaux .....	69
2.6.3.4. Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction du sexe des animaux .....	70
2.6.3.5. Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	70
2.6.3.6. Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Eimeria</i> .....	71
2.6.4. <i>Entamoeba</i> : .....	71
2.6.4.1. Prévalence globale d' <i>Entamoeba</i> dans les élevages étudiés .....	71

2.6.4.2. Prévalence d' <i>Entamoeba</i> en fonction de la région .....	72
2.6.4.3. Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction de l'âge des animaux.....	73
2.6.4.4. Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du sexe des animaux .....	74
2.6.4.5. Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du statut clinique.....	74
2.6.4.6. Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Entamoeba</i> .....	76
2.7. Observation microscopique des différents parasites .....	77
3. DISCUSSION ET INTERPRETATION .....	79
3.1. Discussion des résultats de <i>Blastocystis</i> .....	79
3.2. Discussion des résultats de <i>Giardia</i> et son association avec <i>Blastocystis</i> .....	83
3.3. Discussion des résultats de <i>Cryptosporidium</i> et son association avec <i>Blastocystis</i> .....	85
3.4. Discussion des résultats d' <i>Eimeria</i> et son association avec <i>Blastocystis</i> .....	90
3.5. Discussion des résultats d' <i>Entamoeba</i> et son association avec <i>Blastocystis</i> .....	91
CONCLUSION .....	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	95
ANNEXES	
LISTE DES ABREVIATIONS	

## Listes des tableaux, des figures, et des photos

### Liste des tableaux

Tableau 1 :Caractéristiques utilisées pour reclasser <i>Blastocystis</i> parmi les protozoaires d'après Ziedrt, 1991. ....	6
Tableau 2 :Répartition des sous-types de <i>Blastocystis</i> sp. dans la population humaine de différents pays d'après Souppart et al., 2009. ....	31
Tableau 3 : Régions de répartition des élevages suivis .....	46
Tableau 4 : Prévalence globale de l'infection par <i>Blastocystis</i> dans les élevages étudiés .....	54
Tableau 5 : Prévalence de <i>Blastocystis</i> dans chaque région.....	54
Tableau 6 : Présence de <i>Blastocystis</i> en fonction de l'âge des animaux.....	55
Tableau 7 : Présence de <i>Blastocystis</i> en fonction du sexe des animaux.....	56
Tableau 8 : Présence de <i>Blastocystis</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	57
Tableau 9 : Prévalence de l'infection par <i>Giardia</i> dans les élevages étudiés.....	59
Tableau 10 : Prévalence de <i>Giardia</i> dans chaque région .....	59
Tableau 11 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction de l'âge des animaux .....	60
Tableau 12 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction du sexe des animaux.....	61
Tableau 13 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	62
Tableau 14 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Giardia</i> dans les élevages étudiés .....	63
Tableau 15 : Prévalence globale de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> dans les élevages étudiés .....	64
Tableau 16 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> dans chaque région .....	65
Tableau 17 : Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction de l'âge des animaux.....	66
Tableau 18 : Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du sexe des animaux .....	67
Tableau 19 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Cryptosporidium</i> .....	68
Tableau 20 : Prévalence globale d' <i>Eimeria</i> dans les élevages étudiés .....	70
Tableau 21 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> dans chaque région .....	70
Tableau 22 : Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction de l'âge des animaux.....	72
Tableau 23 : Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction du sexe des animaux .....	73
Tableau 24 : Prévalence globale d' <i>Entamoeba</i> dans les élevages étudiés .....	74
Tableau 25 : Prévalence d' <i>Entamoeba</i> dans chaque région.....	75
Tableau 26 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction de l'âge des animaux .....	76
Tableau 27 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du sexe des animaux.....	77
Tableau 28 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	78
Tableau 29 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Entamoeba</i> .....	79

## Liste des figures

Figure 1 : Arbre de classification de <i>Blastocystis</i> d'après Stechman et al, 2008 .....	7
Figure 2 : Proposition de cycle de développement pour <i>Blastocystis sp.</i> d'après Singh et al., 1995.....	18
Figure 3 : Cycle de développement de <i>Blastocystis sp.</i> proposé par Tan, 2004.....	19
Figure 4 : Cycle de développement de <i>Blastocystis sp.</i> revisité par Tan, 2008.....	20
Figure 5 : Prévalence globale de <i>Blastocystis</i> .....	53
Figures 6, 7 : Prévalence de <i>Blastocystis</i> dans chaque région.....	54
Figure 8 : Présence de <i>Blastocystis</i> en fonction de l'âge des animaux.....	55
Figure 9 : Présence de <i>Blastocystis</i> en fonction du sexe des animaux .....	56
Figure 10 : Présence de <i>Blastocystis</i> selon le statut clinique des animaux.....	57
Figure 11 : Prévalence globale de <i>Giardia</i> dans les élevages étudiés.....	58
Figure 12 : Prévalence de <i>Giardia</i> dans la région d'Alger.....	59
Figure 13 : Prévalence de <i>Giardia</i> dans la région de Boumerdes .....	59
Figure 14 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction de l'âge des animaux.....	60
Figure 15 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction du sexe des animaux.....	60
Figure 16 : Présence de <i>Giardia</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	61
Figure 17 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Giardia</i> dans les élevages étudiés .....	62
Figure 18 : Prévalence globale de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> dans les élevages étudiés.....	63
Figure 20 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> dans la région de Boumerdes.....	64
Figure 20 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> dans la région de Boumerdes .....	64
Figure 21 : Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction de l'âge des animaux .....	65
Figure 22 : Présence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du sexe des animaux .....	66
Figure 22 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Cryptosporidium</i> dans les élevages étudiés .....	67
Figure 24 : Prévalence globale d' <i>Eimeria</i> dans les élevages étudiés .....	68
Figure 25 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> dans la région d'Alger.....	69
Figure 26 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> dans la région de Boumerdes.....	69
Figure 27 : Prévalence d' <i>Eimeria</i> en fonction de l'âge des animaux.....	70
Figure 28 : Présence d' <i>Eimeria</i> en fonction du sexe des animaux.....	71
Figure 29 : Prévalence globale d' <i>Entamoeba</i> dans les élevages étudiés .....	72
Figure 30 : Prévalence d' <i>Entamoeba</i> dans la région d'Alger.....	73
Figure 31 : Prévalence d' <i>Entamoeba</i> dans la région de Boumerdes .....	73
Figure 32 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction de l'âge des animaux .....	74
Figure 33 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du sexe des animaux.....	75
Figure 34 : Présence d' <i>Entamoeba</i> en fonction du statut clinique des animaux .....	76
Figure 35 : Prévalence de l'association <i>Blastocystis-Entamoeba</i> .....	77

## Liste des Photos

Photo 1: Frome vaculaire de Blastocystis en microscopie optique d'après Tan, 2004.....	11
Photo 2 : Forme granulaire de Blastocystis en microscopie optique (Tan et <i>al.</i> , 2004).....	12
Photo 3 : Forme amiboide de Blastocystis en culture, observé au microscopie optique d'après Tan, 2008.....	13
Photo 4 : Formes Kystiques de <i>Blastocystis</i> observés au microscope optique d'après Tan, 2008.....	14
Photo 5 : Extensions fibrillaires du manteau de surface de <i>Blastocystis hominis</i> .....	15
Photo 6 : Eruption cutanée récurrente et très prurigineuse chez un homme de 39 ans atteint de blastocystose chronique.....	35
Photo7: Observation de <i>Blastocystis hominis</i> avec et sans coloration.....	37
Photo 8 : Culture de <i>Blastocystis hominis</i> sur le milieu solide agar après 7 jours d'incubation.....	38
Photo 9 : Observation de la forme vaculaire de <i>Blastocystis</i> dans un examen direct des selles (Gr. X40).....	78
Photo 10 : Observation d'un kyste de Giardia dans un examen direct (Gr. X40).....	78
Photo 11 : Oocyste de Cryptosporidium dans un frottis de fécès après coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et pohlenz (Gr. X100).....	79
Photo 12 : Oocyste d'Eimeria dans le culot obtenu selon la technique de Ritchie simplifié par Allen et Redley (Gr. X40).....	79

# INTRODUCTION

Appartenant au groupe hétérogène des Straménopiles, *Blastocystis sp.* est un protozoaire parasite anaérobie du tractus gastro-intestinal de l'homme et de divers animaux (Yoshikawa et al., 2007), il fut décrit pour la première fois par Alexeieff en 1911, et dénommé *Blastocystis hominis* une année plus tard par Brumpt (Brumpt, 1912). Ce microorganisme est à ce jour le parasite le plus fréquemment rencontré dans les selles chez l'homme, et présente une prévalence beaucoup plus élevée que d'autres protozoaires intestinaux tels que *Giardia*, *Entamoeba* ou *Cryptosporidium* (Boorom et al., 2008). *Blastocystis sp.* est également un des rares parasites entériques à dépasser une prévalence de 5% dans la population générale des pays développés (Tan, 2008), celle-ci pouvant atteindre 60% dans les pays en développement (Saksirisampant et al., 2006).

Ces dernières années la communauté scientifique s'accorde de plus en plus sur le fait que *Blastocystis sp.* est un pathogène émergent (Tan et al., 2010). Plusieurs études *in vitro* ont montré que *Blastocystis sp.* est capable de sécréter des protéases pouvant altérer l'épithélium intestinal (Puthia et al., 2005; Puthia et al., 2006; Sio et al., 2006; Mirza et Tan, 2009), et moduler ou dégrader la réponse immunitaire (Long et al., 2001; Puthia et al., 2005; Puthia et al., 2008). *In vivo*, la présence de ce parasite chez l'homme a été associée à des désordres digestifs aigus, particulièrement chez des patients immunodéprimés, et pourrait parfois conduire à des syndromes chroniques tels que le syndrome de l'intestin irritable ou IBS "Irritable Bowel Syndrome" (Boorom et al., 2008; Tan, 2008). Chez les animaux la pathogénie de *Blastocystis sp.* n'a jamais pu être prouvée, cependant de nombreuses études ont pu mettre en évidence une forte émergence de *Blastocystis* chez des personnes en contact étroit avec des animaux (TAN, 2004; Parkar et al., 2010; Yoshikawa et al., 2009) suggérant une contamination d'origine zoonotique mais qui reste toujours hypothétique.

La présente étude apporte une première donnée sur la prévalence de *Blastocystis* chez l'espèce bovine en Algérie, plus précisément dans les deux régions Alger et Boumerdes. Notre enquête a étudié également l'influence de certains facteurs épidémiologiques sur le développement de l'infection au sein de ces élevages, en particulier les infections intercurrentes par d'autres protozoaires digestifs, notamment, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Eimeria* car *Blastocystis* serait pathogène surtout en association.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

# 1. GENERALITES SUR BLASTOCYSTIS

## 1.1. Historique

La première observation d'entités pouvant correspondre à ce microorganisme quel'on nommera plus tard *Blastocystis hominis*, est réalisée par Swayne (Swayne, 1849) et Brittan (Brittan, 1849) lors de leurs études sur l'épidémie de choléra qui a eu lieu à Londres en 1849. Pour eux, ces entités retrouvées dans les diarrhées de patients infectés sont la cause du choléra et sont désignées sous le nom de "cholera bodies" par Swayne et de "annular cells" par Brittan. Il n'est pas à exclure que Swayne et Brittan aient pu observer des cellules de *Blastocystis* (encore méconnues à l'époque) dans les selles de ces patients.

Durant les années suivantes, l'observation de cet énigmatique parasite va être interprétée de façons très diverses. Il sera notamment confondu avec des cellules végétales ou des cellules en dégénérescence, probablement en raison des faibles performances des microscopes de l'époque. *Blastocystis* a par exemple été décrit à tort, comme un parasite responsable de certaines hépatopathies chez l'homme, de par sa ressemblance morphologique avec des hépatocytes dégénérés. Le nombre d'observations de *Blastocystis* se multiplie pourtant, non seulement chez l'homme, mais aussi chez certains animaux comme les serpents, les mouches, les rongeurs, ou encore les blattes, mais les auteurs de ces observations sont largement ignorés.

Aux débuts du XX<sup>ème</sup> siècle, Bensen, Alexieff, Swellingrebel, pour n'en citer que certains, pensaient que *Blastocystis* était la forme kystique des flagelles *Trichomona intestinalis*, *Chilomastix mesnili* ou *Endolimax nana* (Zierdt, 1991). Alexieff reconnaît cependant son erreur et donne le nom de *Blastocystis enterocola* à cet organisme, qui est pour lui une levure. En 1912, Brumpt remplace l'épithète *enterocola* par *hominis* pour les organismes retrouvés dans les selles de patients humains (Brumpt, 1912).

Il aura donc fallu attendre près de 60 ans pour que ce microorganisme soit considéré comme un organisme autonome et qu'il ait enfin une identité. Le nom de *Blastocystis hominis* demeure maintenant le nom utilisé dans la littérature actuelle, bien que la notion d'espèce soit parfois confuse.

## 1.2. Taxonomie

### 1.2.1. Classification

*Blastocystis hominis* fut longtemps considéré comme une levure saprophyte. En effet, sa grande variation de taille, son mode de division et l'absence d'organes locomoteurs sont les aspects morphologiques qui ont permis de classer en 1912 ce microorganisme parmi les levures dans le genre des Blastomycètes (Bouree, 2007).

Sept décennies plus tard, Zierdt remet en question cette classification, et expose les caractéristiques suivantes, qui sont autant d'arguments permettant de conclure à l'appartenance de *Blastocystis* sp. au groupe des protozoaires (Zierdt, 1988):

- absence de développement en milieu de culture fongique
- culture nécessitant des facteurs nutritionnels similaires aux autres protozoaires
- anaérobie strict
- croissance à pH neutre
- reproduction par scission binaire ou sporulation
- présence de pseudopodes nourriciers et locomoteurs
- absence de paroi cellulaire, seulement une fine membrane avec des pores et des vésicules
- appareil de Golgi et nombreuses mitochondries typiques des protozoaires.

Sur cette base Zierdt classe ainsi *B. hominis* parmi les sporozoaires, avant de l'inclure dans la famille des sarcodines, en s'appuyant une nouvelle fois sur des observations morphologiques et ultrastructurales (Zierdt 1991). (Tableau 1).

L'arrivée des premières analyses moléculaires, basées sur le séquençage partiel de l'ARNr de la petite sous unité ribosomique (ARNr18S), a permis de montrer que *Blastocystis* sp. n'était pas monophylétique avec les levures, les champignons ou les Sarcodinés (Johnson et al., 1989). Il fut donc proposé en 1993 un nouveau sous phylum : *Blastocysta*, incluant la classe *Blastocystea*, l'ordre *Blastocystida*, la famille *Blastocystidae* et le genre *Blastocystis* avec *Blastocystis hominis* comme espèce. (Jiang et He, 1993).

L'étude de la totalité de la séquence de l'ARNr18S par Silberman (Silberman et al., 1996) montra qu'il pouvait être placé parmi les Straménopiles. Ce groupe complexe très hétérogène regroupe à la fois des organismes unicellulaires et pluricellulaires, hétérotrophes ou photosynthétiques (Tan, 2004) pouvant aller des parasites végétaux du genre *Phytophthora*

spp. aux algues brunes en passant par les diatomées. Depuis cette analyse, la classification de *Blastocystis* n'est plus remise en cause (Arisue *et al.*, 2002).

**Tableau 1 :** Caractéristiques utilisées pour reclasser *Blastocystis* parmi les protozoaires d'après Ziedt, 1991.

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

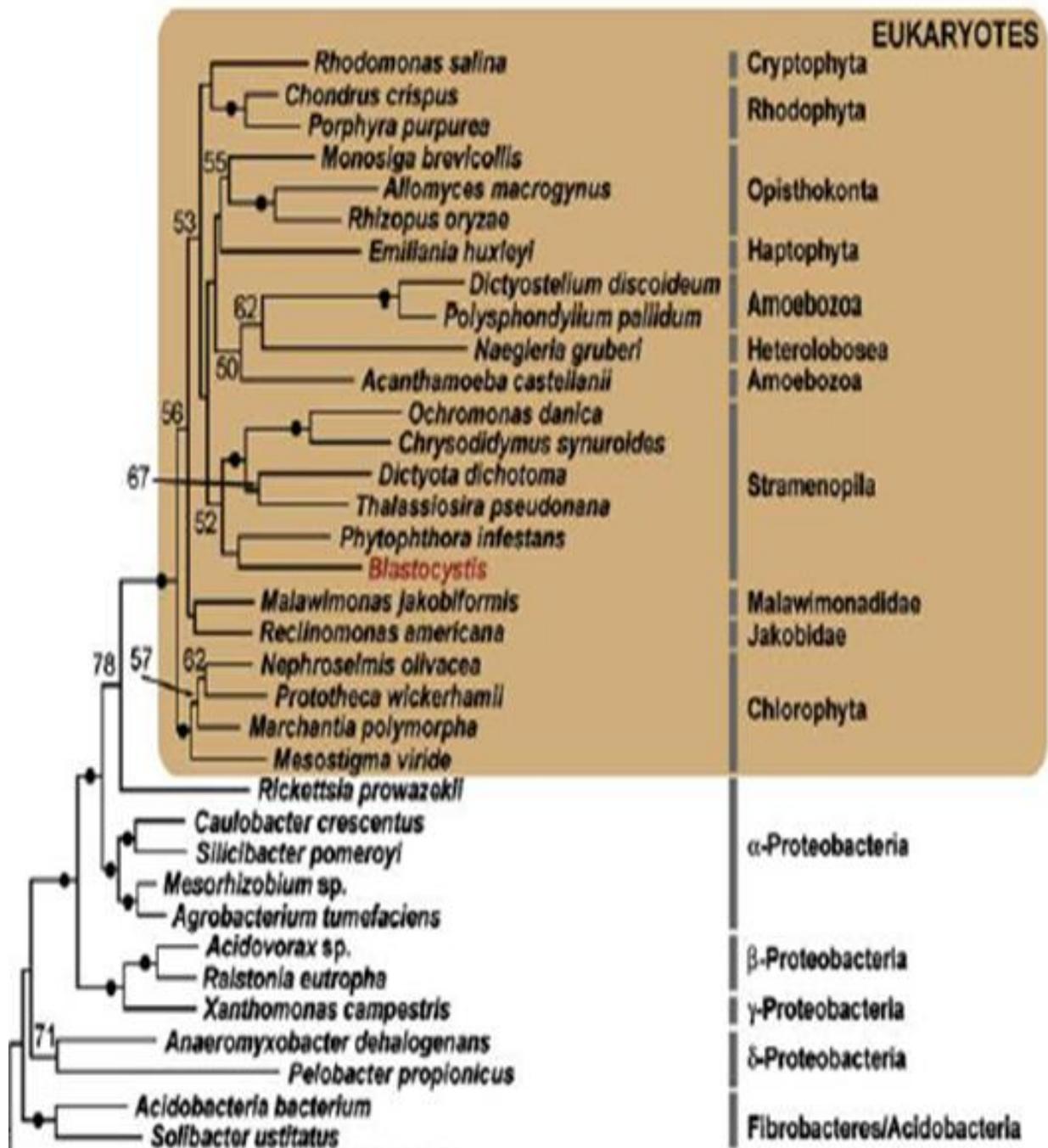


Figure 1 : Arbre de classification de *Blastocystis* d'après Stechman et al, 2008

### 1.2.2. Diversité génétique

A la suite de la découverte de *Blastocystis* chez l'homme, Brumpt, en 1912, a présumé qu'une seule espèce de *Blastocystis* était portée par les humains et il l'a alors nommée *B. hominis*.

De la même manière, les différentes espèces retrouvées chez les animaux ont porté le nom du mammifère ou l'oiseau ou le rongeur à partir duquel elles ont été isolées. Ainsi, celles qui ont été isolées des rats ont été nommées *Blastocystis ratti* et celles isolées des poulets ont été appelées *Blastocystis galli* (Lorgeril, 2011).

Cependant, des analyses phylogénétiques (Capron *et al.*, 2005) des séquences géniques des sous-unités de l'ARNn d'isolats de *Blastocystis* humains et animaux ont démontré qu'il n'y avait pas d'espèce de *Blastocystis* spécifique à l'homme. Au contraire, les humains sont infectés par les mêmes espèces de *Blastocystis* que celles retrouvées chez les rats, chevaux, chiens, cochons, oiseaux et autres animaux, ceci renforce l'idée d'une possible transmission inter-spécifique des humains aux animaux et des animaux aux humains, ce qui révèle un caractère épidémiologique d'une grande importance : *Blastocystis* sp. présente un potentiel zoonotique.

Ce phénomène de faible spécificité d'hôtes a donné naissance à un nouveau système de classification en sous-types (Clark *et al.*, 2007). La classification des souches de *Blastocystis* par le nom de l'espèce hôte a été donc abandonnée et un consensus a été établi pour typer les isolats de *Blastocystis* sp. (Stensvold *et al.*, 2007). Les différents isolats étant désormais désignés comme *Blastocystis* sp. avec un numéro de sous-type allant de ST1 à ST9.

L'homme est supposé être l'hôte spécifique du ST3 et parfois du ST1, les autres STs étant retrouvés chez une large variété d'animaux incluant les primates, les ovins, les bovins, les porcins, les chiens (ST 1, 2, 5, 8), les rongeurs (ST 4) et les oiseaux (ST 6, 7, 8). Le ST 9 consiste actuellement en 2 isolats retrouvés chez l'homme.

Par la suite, de nouveaux sous-types ont été identifiés uniquement chez certains animaux, le ST 10 chez des primates (Stensvold *et al.*, 2009), le ST 11 chez les éléphants, le ST 12 chez la girafe, et le ST 13 chez le quokka et le kangourou gris (Parkar *et al.*, 2010).

### **1.3. Biologie du parasite:**

#### **1.3.1. Morphologie :**

Ce protozoaire parasite anaérobie présente un polymorphisme important, se traduisant par l'existence de quatre formes majeures, connues sous le nom de forme vacuolaire, granulaire, amiboïde et kystique, rencontrées dans les selles de patients infectés et en culture *in vitro* (Tan *et al.*, 2002). D'autres formes, observées de façon occasionnelle, ont également été mises en évidence notamment dans des échantillons de selles et de coloscopies (Stenzel and Boreham, 1996). Certaines présentent une absence de vacuole centrale (caractérisant la forme vacuolaire) et sont qualifiées de formes avacuolaires, alors que d'autres comportent une multitude de vacuoles, définissant ainsi la forme multivacuolaire (Stenzel *et al.*, 1991).

En dehors de quelques rapports sur le développement des formes kystes aux formes vacuolaires (Zaman *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 1999; Moe *et al.*, 1999), il y a très peu d'informations sur les passages d'une forme à une autre et la plupart des données rapportées sur le caractère polymorphe de *Blastocystis* sont liées à des études microscopiques descriptives de la morphologie individuelle de chacune des formes.

##### **1.3.1.1. La forme vacuolaire**

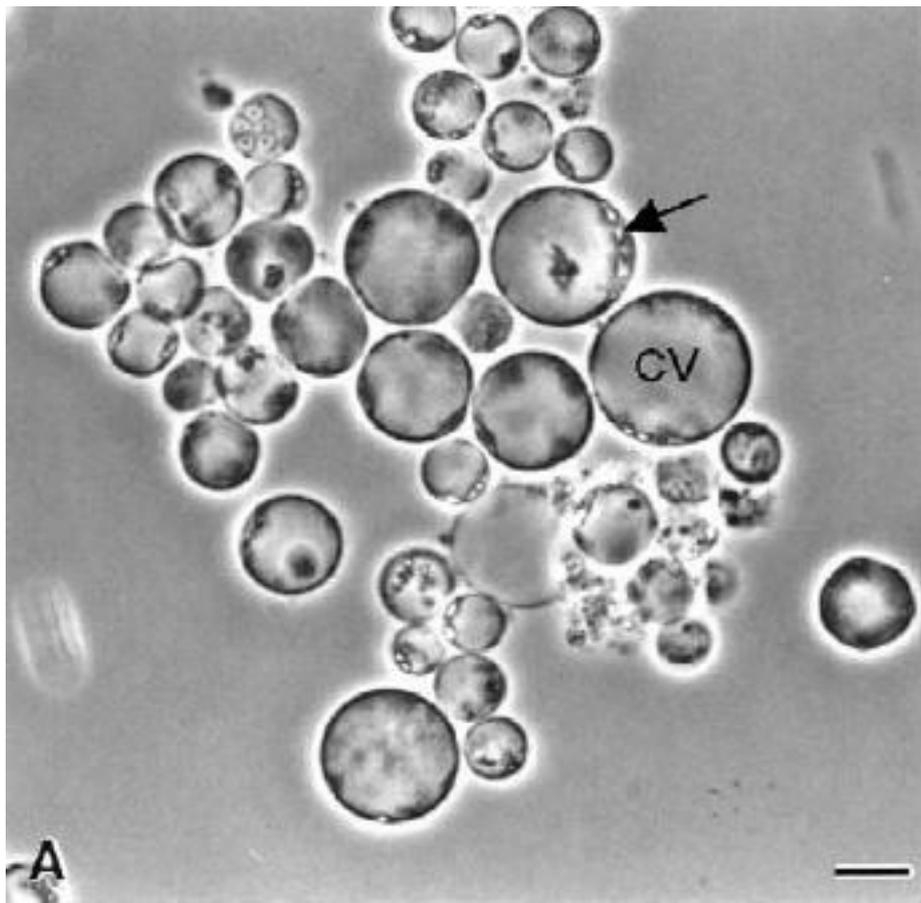
C'est la plus fréquemment rencontrée *in vitro* et dans les selles, que les patients soient symptomatiques ou non (Suresh et Tan, 2006), considérée comme la forme typique de reconnaissance de *Blastocystis* sp. de forme sphérique, sa taille varie en moyenne entre 4 et 15 micromètres (Qiao *et al.*, 2007; Tan, 2008), mais certaines observations ont pu mettre en évidence des variations considérables d'un isolat à un autre, s'étalant de 4 à 63  $\mu\text{m}$  (Dunn *et al.*, 1989). En culture axénique, la forme vacuolaire peut atteindre sa plus grande taille, qui est de l'ordre de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre (Stenzel et Boreham, 1996).

Comme son nom l'indique, la forme vacuolaire est caractérisée par la présence d'une énorme vacuole en position centrale, la plus part du temps transparente, occupant environ 90% du volume de la cellule,

Le cytoplasme constitue une fine bordure entourant la vacuole centrale. Il contient un noyau périphérique, difficilement observable, des organites tels que les mitochondries, les appareils

de Golgi et les réticulums rugueux et endoplasmiques ainsi que de petites vacuoles qui pourraient être des réserves nutritives (Rohela *et al.*, 2009).

La membrane cytoplasmique est entourée d'une fine couche de surface pouvant être apparenté à un glycocalyx (Lanuza *et al.*, 1996) qui constitue le manteau de surface, plus ou moins épais selon l'environnement. Il a une tendance naturelle à s'amoinrir jusqu'à disparaître lors de la mise en culture *in vitro* (Cassidy *et al.*, 1994; Dunn *et al.*, 1989).



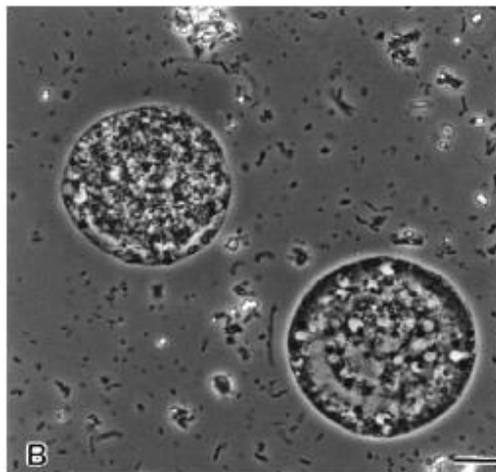
**Photo 1:** Frome vacuolaire de Blastocystis en microscopie optique d'après Tan, 2004.

Le rôle de la vacuole centrale est encore mal connu, elle peut être vide ou présenter un contenu finement granuleux voire floconneux. certains auteurs ont montré la présence de glucides et de lipides, proposant un rôle de stockagenécessaire à la croissance cellulaire (Yoshikawa *et al.*, 1995; Yoshikawa *et al.*, 1995b), tant dis que d' autres suggèrent un rôle dans la reproduction (Singh *et al.*, 1995; Suresh *et al.*, 1994) et dans la mort cellulaire programmé du parasite (Nasirudeen *et al.*, 2001; Tan *et al.*, 2001; Tan et Nasirudeen, 2005).

### 1.3.1.2. La forme granulaire

La forme granulaire de *Blastocystis* sp. est morphologiquement identique à la forme vacuolaire, elle est caractérisée par la présence de granules dans le cytoplasme et la vacuole centrale d'où elle tire son nom, Les granules ont des aspects très hétérogènes et ont été décrits comme de petites vésicules ou des gouttes lipidiques (Dunn et *al.*, 1989), elles sont de trois sortes : des granules métaboliques situés dans le cytoplasme, des granules lipidiques situés dans le cytoplasme et la vacuole centrale et enfin des granules reproducteurs situés dans la vacuole centrale.

Les formes granulaires sont fréquemment observées dans les cultures non axéniques ou âgées. La modification des conditions de culture peut également faire apparaître ces formes, notamment l'augmentation des concentrations en sérum ou l'addition d'antibiotiques ou d'antifongiques. A la différence avec les formes vacuolaires ces formes sont plus souvent rencontrées chez les sujets asymptomatiques que chez les sujets symptomatiques (Suresh et Tan, 2006).



**Photo 2 :** Forme granulaire de *Blastocystis* en microscopie optique (Tan et *al.*, 2004)

### 1.3.1.3. La forme Amiboïdes

Cette forme est rarement observée en culture (milieux de culture anciens outraités par antibiotiques (Singhetal., 2002) elle est principalement retrouvée dans les selles diarrhéiques des patients symptomatiques. (Suresh et Tan 2006).

La forme amiboïde serait une forme intermédiaire entre la forme vacuolaire et le kyste (Suresh et Tan, 2006), qui ingère par phagocytose les bactéries et débris cellulaires afin de fournir la nutrition nécessaire à l'enkystement (Rohelaetal., 2009). elle apparait comme une structure

relativement petite, sa taille varie de 2,6 à 7,8  $\mu\text{m}$  (Singhetal., 2002), présente des contours irréguliers formant de larges pseudopodes. Cependant, les organites types de la forme vacuolaire, tels que la vacuole centrale, les MLOs, ou le manteau de surface semblent être absents (Dunn *et al.*, 1989.) Il reste en revanche un noyau au centre de la cellule. Mais contrairement à ces observations, Tan et ses collaborateurs révèlent la présence d'une vacuole centrale, et de MLOs au niveau des extensions cytoplasmiques suggérant que la forme amiboïde serait impliquée dans un processus nécessitant une importante quantité d'énergie (Moe *et al.*, 1996; Tan *et al.*, 2001; Tan and Suresh, 2006).



**Photo 3 :** Forme amiboïde de *Blastocystis* en culture, observé au microscope optique d'après Tan, 2008.

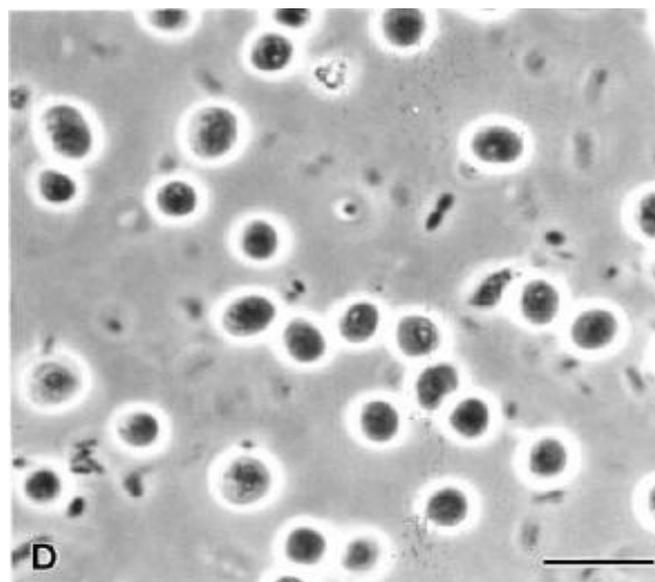
La forme amiboïde de *Blastocystis* sp., de par la présence d'extensions cytoplasmiques, a fait l'objet d'une hypothèse selon laquelle elle jouerait un rôle dans la pathogénie du parasite, en adhérant aux cellules de l'épithélium intestinal de l'hôte (Katsarou-Katsari *et al.*, 2008; Tan et Suresh, 2006). Cette hypothèse est néanmoins remise en cause par une étude récente, qui fait état d'une absence de corrélation entre la présence de formes amiboïdes dans les selles et la symptomatologie des patients (Souppart *et al.*, 2009).

#### 1.3.1.4. La forme kystique

La forme kystique a été trouvée pour la première fois dans les selles d'un patient en 1988 (Mehlhorn, 1988), et sa première description détaillée date de 1991 (Stenzel et Boreham, 1991), la description tardive de cette forme s'explique par le fait qu'elle a longtemps été confondue avec des débris fécaux. Elle est retrouvée dans les fèces stockées plusieurs jours, et très occasionnellement en culture.

Les kystes sont de plus petite taille que les autres formes citées, allant de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre. Le contenu cellulaire peut comporter un ou plusieurs noyaux (pouvant aller jusqu'à 4), des MLOs, des grains de glycogène et de lipides, ainsi que de multiples vacuoles (Stenzel et Boreham, 1996 ; Zaman *et al.*, 1995). Les kystes ont le plus souvent une forme sphérique, et comportent une paroi plus ou moins épaisse formée de plusieurs couches. Certains sont entourés d'un manteau fibrillaire plus ou moins lâche, de fonction inconnue (Zaman *et al.*, 1997).

C'est une forme de résistance face aux situations défavorables telles que l'exposition à l'eau, à l'air ou aux fortes variations de température (Qiao *et al.*, 2007). Le kyste peut survivre un mois à température ambiante et 2 mois à 4°C (Yoshikawa *et al.*, 2004), il peut également résister 19 jours dans l'eau à température ambiante, par contre il est sensible aux hautes et basses températures ainsi qu'aux désinfectants (CHEN *et al.*, 1997). Des infections expérimentales chez la souris (Moe *et al.*, 1997) et le rat (Yoshikawa *et al.*, 2004) montrent qu'il s'agit d'une forme infectante, témoignant aussi de leur caractère de résistance vis-à-vis des sucs gastriques.



**Photo 4** : Formes Kystiques de *Blastocystis* observés au microscope optique d'après Tan, 2008.

### 1.3.1.5. Autres formes

Il existe également des formes avacuolaires, multi-vacuolaires (Boreham et Stenzel, 1996). La forme avacuolaire a été mise en évidence dans des échantillons de coloscopie tandis que la forme multi-vacuolaire est observée de façon occasionnelle dans les selles (Suresh et Tan, 2006). Elle représenterait un stade intermédiaire entre le kyste et la forme vacuolaire (Singh, 2002).

### 1.3.2. Structure et rôle de quelques organites

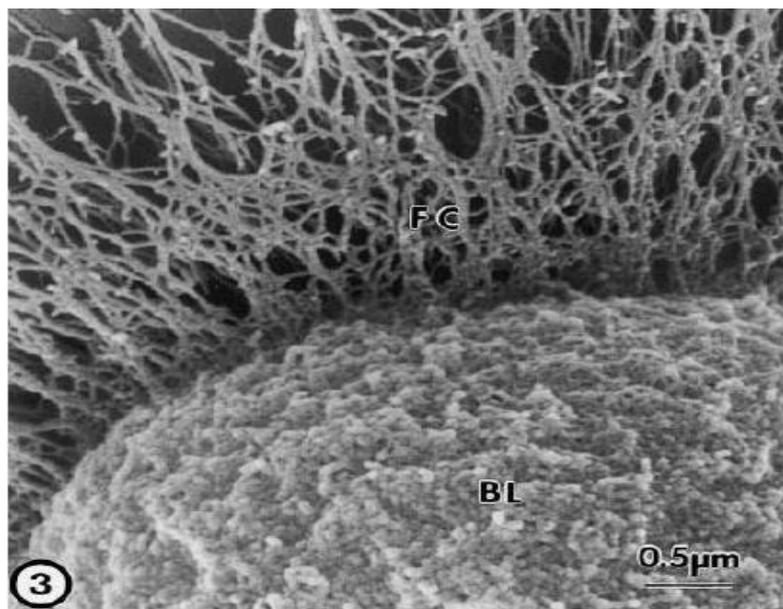
Les différentes structures composant *B. hominis* sont mises en évidence par microscopie électronique à transmission.

#### 1.3.2.1. Manteau de surface

Egalement appelé capsule, le manteau de surface forme une zone claire visqueuse autour de la cellule.

Ce manteau présente à sa surface des filaments fibrillaires de 5 micromètres qui permettent l'adhésion des bactéries (Chenet *al*, 1997, Gohetal., 1999). Les fonctions de ce manteau de surface sont mal connues : il pourrait permettre l'encapsulation des bactéries et autres petits organismes ainsi que l'adhérence à l'épithélium intestinal (Gohetal., 1999).

Ce manteau est présent dans les trois formes évolutives de *B.hominis* : vacuolaire, granulaire et amiboïde.



**Photo 5** : Extensions fibrillaires du manteau de surface de *Blastocystis hominis* d'après Gohetal., 1999.

### 1.3.2.2. la vacuole centrale

Elle est le plus souvent unique et occupe la plus grande partie de la surface cellulaire dans les formes vacuolaires et granuleuses. Elle est majoritairement retrouvée dans les formes que l'on observe en culture. Dans la forme vacuaire, la vacuole centrale apparaît optiquement vide tandis que dans la forme granulaire elle est remplie de granulations et d'inclusions. Les formes amiboïdes sont elles aussi pourvues d'une vacuole optiquement vide de formes et de dimensions variables.

La fonction exacte de cette vacuole n'est pas encore connue mais certains auteurs ont montré la présence de glucides et de lipides, proposant un rôle de stockage d'espèces carbonées nécessaires au développement de la cellule (Yoshikawa *et al.*, 1995).

Certains auteurs suggèrent également que *Blastocystis* serait capable de se multiplier par un mode de reproduction assimilable à la schizogonie. Leurs observations montrent au sein de la vacuole centrale, des structures ressemblant à des formes vacuolaires de petites tailles. Selon eux, la vacuole jouerait donc un rôle essentiel dans ce mode de reproduction (Singh *et al.*, 1995; Suresh *et al.*, 1994). Cette hypothèse est néanmoins très controversée et peu probable, compte tenu de l'extrême ressemblance de cette " progéniture " avec la description des granules métaboliques présents dans la vacuole centrale de la forme granulaire (Tan and Stenzel, 2003 ; Windsor *et al.*, 2003). La présence d'ADN au niveau de ces structures n'a également jamais été prouvée. Enfin, cette vacuole pourrait avoir un rôle dans la mort cellulaire programmée du parasite, l'invagination de matériel cytoplasmique à l'intérieur de la vacuole, pouvant correspondre à des corps apoptotiques, étant parfois observée (Nasirudeen *et al.*, 2001; Tan *et al.*, 2001; Tan et Nasirudeen, 2005).

### 1.3.2.3.L'appareil nucléaire

Le nombre de noyaux varie de 1 à 4 mais rares sont les cellules qui en contiennent plus d'un. La membrane nucléaire délimite bien le noyau qui est constitué de substance granulaire opaque aux électrons. On trouve un nucléole composé de granules denses et agglomérés sous la membrane nucléaire. La chromatine est souvent concentrée en forme de croissant caractéristique.

#### **1.3.2.4. Les Mitochondries**

Décrits pour la première fois par Zierdt (Zierdt, 1986), ces organites ont été référencés comme des mitochondries anaérobies. D'un point de vue morphologique ils font en moyenne de 0,5 à 1 µm et ont un profil rond légèrement allongé. Ils sont répartis dans le cytoplasme, le plus souvent autour du noyau. Leur nombre peut varier de 1 à 4 dans les parasites. Leur structure est typique des mitochondries, ils sont entourés par une double membrane, leur matrice est dense aux électrons avec la présence de crêtes. Différentes colorations au DAPI et au Mito-Light suggèrent que cet organite possède respectivement un génome (Nasirudeen et Tan, 2004) et un potentiel transmembranaire.

Cette mitochondrie anaérobie est rapportée comme fonctionnelle (Nakamura et al., 1996), même si aucune activité des enzymes mitochondriales n'a été détectée. La présence de ces organites est restée longtemps déconcertante. En effet, chez les organismes eucaryotes, les mitochondries ont classiquement pour rôle de produire de l'énergie sous forme d'ATP en présence d'oxygène. Cette production d'ATP se fait par la réduction de l'oxygène à travers le processus de phosphorylation oxydative. Le mode de vie anaérobie du parasite a poussé certains chercheurs à suggérer que la mitochondrie de *Blastocystis* était un hydrogénosome (Boreham et Stenzel, 1993). Les hydrogénosomes sont des organites générateurs d'énergie qui diffèrent des mitochondries par l'absence des cytochromes, du cycle de Krebs, et par la présence d'enzymes capables de produire de l'hydrogène. On les retrouve chez divers organismes eucaryotes anaérobies tel que *Trichomonas* et chez certains champignons. Il a également été suggéré que la mitochondrie de *Blastocystis* ne possédait pas de cytochrome (Nakamura et al., 1996).

#### **1.3.3. Cycle évolutif**

##### **1.3.3.1. Un cycle de vie controversé**

Le cycle évolutif de *Blastocystis* sp. et son mode de reproduction divisait autant que sa taxonomie, du fait de la méconnaissance du parasite, ainsi de de nombreuses, cycles parfois contradictoires, ont été proposés.

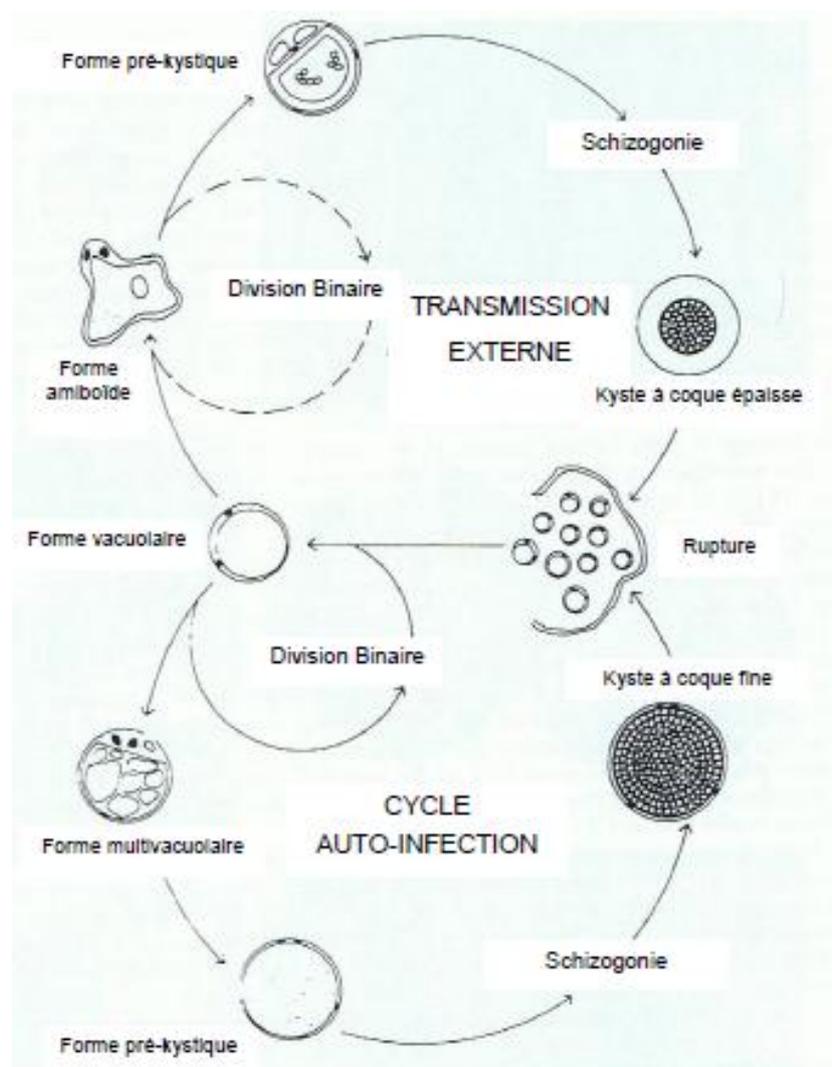
Toutes ces hypothèses s'accordent à dire que l'infestation débute par l'ingestion des formes kystiques. Ensuite, les kystes fécaux se désenkystent dans l'estomac au contact du suc et acides gastriques ou bien au contact des enzymes intestinales et se transforment en forme vacuolaire.

Ces formes vacuolaires donneraient naissance indirectement à des kystes car il a été démontré *in vitro* que lorsque les formes vacuolaires du *Blastocystis* décroissent, les formes kystiques, elles, s'accroissent, ce qui confirme que la forme vacuaire est bien située en amont dans le cycle par rapport à la forme kystique (Rohela *et al.*, 2009).

Ce sont les étapes *in vivo* se situant entre la forme vacuaire et la forme kystique qui constituent des zones d'ombre.

Jusqu'en 1995, le cycle de vie retenu était celui proposé par Zierdt, basé sur plusieurs modes de division : la fission binaire, la schizogonie, la plasmotomie (Zierdt, 1973, 1991).

En 1995, Singh *et al.* ont suggéré un cycle avec un mode de transmission externe, à partir de kystes issus d'une schizogonie d'une forme pré-kystique, et un cycle auto-infectieux conduisant à la multiplication de l'organisme par fission binaire ou schizogonie dans le tractus intestinal de l'hôte. La forme vacuaire serait à l'origine de ces deux modes d'infections (Singh *et al.*, 1995).

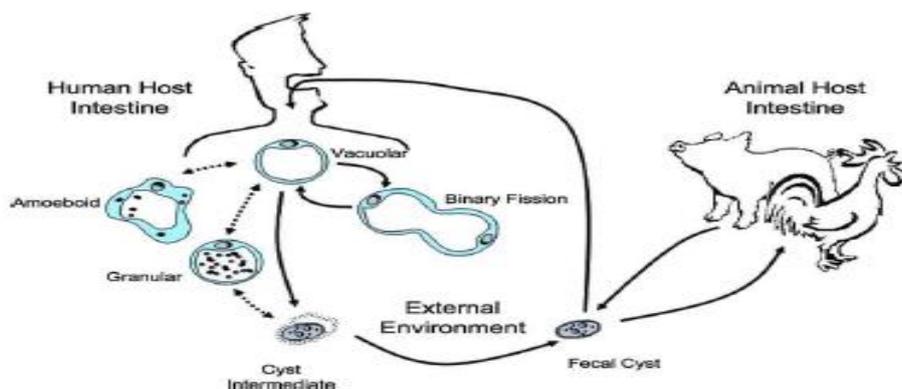


**Figure 2 :** Proposition de cycle de développement pour *Blastocystis* sp. d'après Singh *et al.*, 1995.

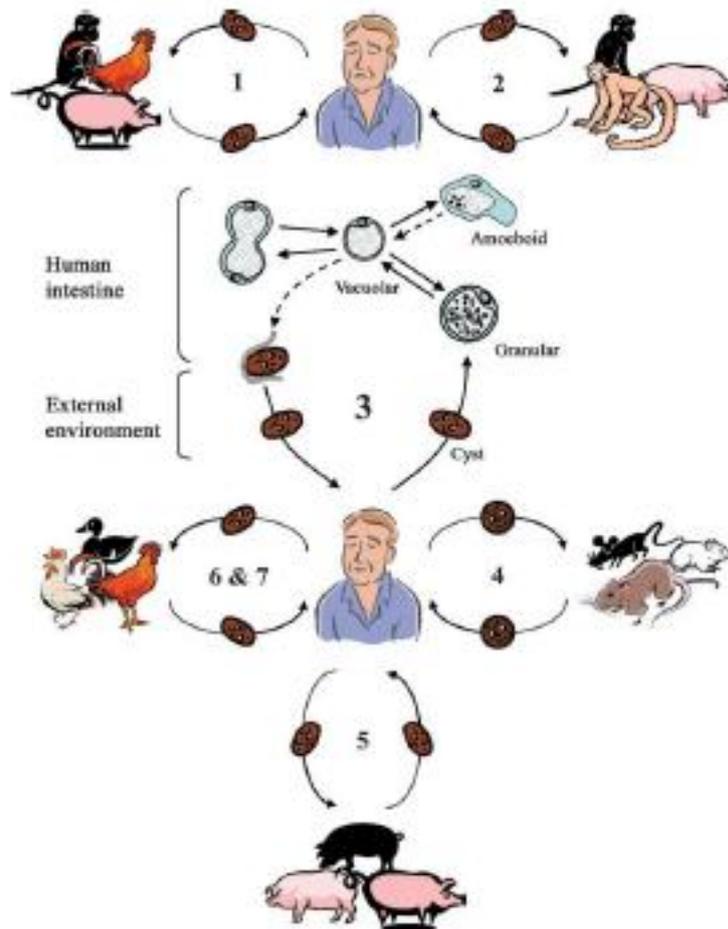
En 1996, Stenzel et Boreham proposent un nouveau cycle, la forme présente dans les intestins humains serait une petite cellule avacuolaire sans manteau de surface qui passerait à travers les intestins. Les petites vésicules présentes dans son cytoplasme s'uniraient formant ainsi une cellule multivacuolaire qui est retrouvée de façon prédominante dans le matériel fécal. Elle est entourée d'un épais manteau de surface en dessous duquel se formerait le kyste. Une fois dépouillé de ce manteau, le kyste serait alors ingéré représentant par la même la forme infectante de la blastocystose. L'exposition aux acides gastriques et aux enzymes intestinales entraîne le désenkystement de *B. hominis*, donnant ainsi naissance aux formes avacuolaires décrites au début de ce cycle.

Les études menées sur l'observation et les mécanismes de différenciation de certaines formes morphologiques de *Blastocystis* sp, ont fourni d'importantes données sur la compréhension du cycle de développement de ce parasite. Ainsi, le cycle de vie proposé par Tan (2004), postule que l'infection est initiée lorsque le kyste de *Blastocystis* sp. est ingéré par un hôte, humain ou animal. Le kyste ainsi ingéré se développe alors en formes vacuolaires, au niveau de l'intestin, qui vont ensuite se diviser par fission binaire. Certaines formes vacuolaires vont s'enkyster, conduisant à l'apparition de kystes dans les selles, qui pourront à leur tour contaminer un nouvel hôte, voir le même hôte (Tan, 2004). Le rôle exact des formes amiboïdes et granulaires n'est pas clairement élucidé, celles-ci n'apparaissent pas de manière active dans le cycle de développement proposé.

Plus récemment, Tan (2008) décide de réaliser une mise à jour de ce cycle, en incluant les données liées aux sous-typages de *Blastocystis* sp. et à leur éventuelle spécificité d'hôte(s). Ce nouveau cycle prend de surcroît en considération l'aspect zoonotique de la plupart des sous-types rencontrés chez l'homme, certains groupes d'animaux pouvant constituer un important réservoir de contamination (Tan, 2008)



**Figure 2 :** Cycle de développement de *Blastocystis* sp. proposé par Tan, 2004



**Figure 3 :** Cycle de développement de *Blastocystis* sp. revisité par Tan, 2008.

Tan suggère l'existence de génotypes zoonotiques et en tenant compte des réservoirs possibles pour le parasite. L'homme est infecté par 7 sous-types, dont le sous-type 3 qui semble spécifique à l'homme.

### 1.3.3.2. Mode de reproduction

La reproduction de *Blastocystis* est lui aussi très controversé.

Il a été proposé que cet organisme pourrait se diviser par schizogonie (Singh et al. 1995), plasmotomie (Tan and Suresh, 2007), ou endodyogenie (Zhang et al. 2007). Pour certains chercheurs, l'observation de ces modes de reproduction n'est qu'artefactuelle, et n'est due qu'au caractère pléomorphe de cet organisme (Tan, 2008). A l'heure actuelle, en l'absence de preuve prouvant de manière certaine l'existence *in vivo* de ces modes de division, seule la fission binaire, qui est régulièrement observée dans les selles, est acceptée.

### 1.3.4. Culture

Les premières publications concernant un milieu de culture pour *Blastocystis hominis* datent de 1921, l'incubation avait lieu à 37°C, dans un milieu salin à 0,5% additionné de 10% de sérum humain. La croissance se faisait au fond du tube où la concentration d'oxygène était faible (Barret, 1921).

Les milieux de cultures doivent être rapidementensemencés après le prélèvement car *B. hominis* ne peut survivre plus d'une nuit dans les selles à température ambiante.

La culture *in vitro* présente plusieurs avantages (Smith et Suresh, 2004) :

- elle permet d'amplifier le nombre de parasites rendant ainsi la détection de *B. hominis* plus facile par rapport à la recherche microscopique,
- elle permet la croissance et le maintien des isolats en culture pouvant servir à d'autres études,
- elle permet également la cryo-préservation du parasite (6 mois à 4°C sur le milieu de Jones).

Une des préoccupations des auteurs fut l'isolement de *Blastocystis* au sein de ces cultures, c'est-à-dire l'axénisation : l'élimination de tout autre être vivant au sein du milieu de culture. Elle fut permise par l'utilisation d'antibiotiques tels que l'ampicilline, la colistine et la streptomycine puis la ceftizoxime et la vancomycine. (Zierdt, 1991 ; Barret, 1921)

Le protocole d'axénisation peut parfois être long (de quelques semaines à plusieurs mois), laborieux, et peut dans certains cas se solder par un échec.

Quelques études font néanmoins état de l'échec de ce processus et de la baisse d'efficacité de croissance de certaines cultures axénisées, émettant l'hypothèse que certains isolats de *Blastocystis* sp. auraient besoin de bactéries pour survivre (Chen *et al.*, 1997; Lanuza *et al.*, 1997).

Actuellement plusieurs milieux de culture puissent être utilisés pour la croissance de ce parasite, entre autre des milieux solides et diphasique, l'incubation a lieu dans des jarres anaérobies, et généralement à 37°C. La température d'incubation peut néanmoins être différente selon la provenance de l'isolat. Ainsi, les isolats provenant de reptiles sont préférentiellement incubés à 25°C (Singh *et al.*, 1996).

#### 1.3.4.1. Culture en milieu solide

La faculté de *Blastocystis* sp. à former des colonies n'a été découverte que relativement récemment (Tan *et al.*, 1996; Tan *et al.*, 2000), Cette capacité n'est pas propre à ce parasite, puisque celle-ci a été utilisée par le passé, pour d'autres protozoaires comme *Trichomonas vaginalis* (Hollander, 1976), *Entamoeba* (Gillin et Diamond, 1978, 1978), *Giardia intestinalis* (Gillin et Diamond, 1980), ou encore *Trypanosoma brucei* (Carruthers et Cross, 1992).

Elle consiste à étaler une fraction de culture provenant d'un milieu liquide à la surface d'un milieu solide contenant de l'agar, de l'IMDM et 10% de sérum de cheval. L'addition dans le milieu d'un agent réducteur comme le thioglycollate de sodium favorise également l'efficacité de croissance des colonies (Tan *et al.*, 1996). L'utilisation d'une telle méthode permet *a priori* de séparer physiquement les colonies de *Blastocystis* sp. des colonies bactériennes, permettant par conséquent la mise en culture d'une seule colonie parasitaire en milieu liquide. Le résultat de cette manipulation aboutit ainsi à une culture clonale, à une charge bactérienne diminuée, qui pourra être plus facilement détruite par l'action d'antibiotiques,

Cette propriété fournit un outil puissant puisqu'elle permet d'obtenir des populations clonales, qui constituent un atout dans les études de génétique et de biochimie du parasite.

#### 1.3.4.2. Culture en milieu diphasique

Les milieux diphasiques (une phase solide et une phase liquide) placées en anaérobioses sont également utilisées pour cultiver *Blastocystis* sp. Cependant il est nécessaire de faire des repiquages tous les 3 à 4 jours pour conserver les souches.

Dans ces milieux, la phase solide constitue le support nutritif et la phase liquide apporte des substances nutritives et crée le lieu de croissance du parasite.

Les milieux de Dobell et Laidlaw, de Nelson et Jones ainsi que celui de Boeck et Drbohlav sont des milieux diphasiques :

##### - Milieu de Dobell et Laidlaw

Ce milieu se compose de deux parties : une phase solide contenant du sérum de cheval coagulé et incliné en tube et une phase liquide correspondant à 5 mL de solution de Ringer (composée de 8,5 g de NaCl, 0,25 g de KCl, 0,3 g de CaCl<sub>2</sub>, 0,2 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, un litre d'eau distillée et du sérum de cheval) La solution de Ringer est enrichie au sixième par du sérum de cheval et contient des grains d'amidon de riz en suspension.

- Milieu de Nelson et Jones

Ce milieu est composé d'une solution de Hanks additionnées de sérum de cheval, de bicarbonate de sodium et de poudre d'amidon de riz.

La croissance est optimale à 37°C et est maximale au bout de 10 à 15 jours.

- Milieu de Boeck et Drbohlav

La phase solide est constituée d'une émulsion stérile d'œuf dans 50 mL de solution de Locke (8 g de NaCl, 0,2 g de CaCl<sub>2</sub>, 0,2 g de KCl, 0,01 g de MgCl<sub>2</sub>, 2 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O) 12, 0,4 g de NaHCO<sub>3</sub> et 0,3 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pour un litre de solution) et la phase liquide est composée de 8 volumes de solution de Locke et de 1 volume de sérum de cheval.

Tout comme le milieu de Nelson et Jones, la croissance est optimale à 37°C mais la croissance maximale est plus rapide, elle est atteinte en trois jours.

## **2. ETUDE DE *BLASTOCYSTIS SP* CHEZ LES ANIMAUX**

L'étude de *Blastocystis sp* chez les animaux suscite de nos jours un intérêt croissant du fait de l'éventuelle transmission zoonotique du parasite, il est rencontré chez de nombreuses espèces de vertébrés (primates, porcs, oiseaux, rongeurs, ruminants, reptiles,...) et même d'insectes. La plupart des isolats provenant de ces espèces hôtes sont identiques en microscopie optique et électronique à *B. hominis* isolé chez l'homme. Alors que certains auteurs ont proposé (ou proposent encore) une liste d'espèces de *Blastocystis* en fonction de critères assez discutables dont les espèces hôtes, le consensus actuel est plutôt de distinguer *B. hominis* chez l'homme et *Blastocystis sp.* chez les animaux.

### **2.1. Les oiseaux**

Parmi les espèces hôtes les plus touchées, les volailles sont fréquemment porteuses de *Blastocystis sp.* Les diverses études publiées montrent des prévalences très élevées chez les poules, allant de 80 à 100% (Belova and Kostenko, 1990)

En 1992, Belova a enquêté sur le rôle de *Blastocystis sp* (anciennement appelé *Blastocystis galii*) à provoquer une maladie chez les poulets. Ces oiseaux ont été infectés artificiellement après culture du parasite, et les signes cliniques et les performances ont été surveillés. L'administration de 10.6 à 10.7 organismes n'a causé aucun signe clinique de la maladie et n'avait aucun effet sur les performances des animaux. De cela, il a été conclu que *Blastocystis*

était un microorganisme commensal chez la poule.

En 1999 dans une étude réalisée sur 4 fermes d'élevage poulet, Lee et Stenzel ont trouvé une prévalence de 92 à 100%, confirmant ainsi que l'infection est très répandue chez cette espèce (Lee and Stenzel, 1999).

Chez le canard, une étude au Japon réalisé par Abe et *al.* en 2002, montre une prévalence de 56%. Une autre étude de Pakandl et Pecka a isolé *Blastocystis* sp. sur des canards domestiques avec 80% d'infection chez les adultes et 25% chez les jeunes d'un mois.

## 2.2. Les ruminants

Ces dernières années les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'étude de *Blastocystis* chez les ruminants du fait de leur éventuel rôle comme réservoir du parasite.

En 1995 Quilez et *al.* dans une étude réalisée sur 554 échantillons de selles, prélevés de veaux de 1.5 à 6 mois provenant de 30 fermes en Aragon, rapportent une prévalence de 1,8%.

En 1997 König et Müller ont trouvé une prévalence de 15% sur 66 bovins testés en Allemagne.

En 2002, dans une étude d'Abe et *al.*, au Japon, des échantillons de selles de 55 bovins issus de 12 fermes ont été analysés, la prévalence obtenue était de 71%.

En 2004, au laboratoire de parasitologie de l'école vétérinaire de Lyon, une enquête a été menée sur 300 bovins de diverses origines en France, âgés de 6 mois et plus. Après mise en culture et observation, l'étude a permis d'estimer une prévalence de 7%.

Chez les caprins, une étude a été réalisée en Malaisie sur 236 échantillons de selles non diarrhéiques, provenant de 5 fermes différentes, montre une prévalence de 30.9%, la forme vacuolaire était la seule forme observée, et le taux d'infection le plus élevé (46.4%) a été détecté chez les animaux âgés (plus de 2 ans).

## 2.3. Les primates

Les sous-types les plus rencontrés chez les primates sont le ST1, ST2, ST3 (en commun avec l'homme), ST4, ST5 et plus récemment le ST8.

En 1980, Macclure décrit un cas de diarrhée chez un macaque à queue de cochon (*Macaca nemestrina*) avec un grand nombre de *Blastocystis* sp. dans les fèces.

En 1987, Yamada et *al.* dans une étude réalisée sur 26 singes au Japon, révèle 15 cas infectés par *Blastocystis* sp.

En 1993, Stenzel et coll. ont réalisé une étude sur les parasites isolés à partir de singes *Macaca* et *presbytis* en Malaisie, l'étude a met en évidence certaines similarités morphologiques avec les isolats humains.

En 2011 Petrasova et *al.*, ont étudié la transmission rapide du parasite au sein d'une population de 366 singes suite à l'introduction de nouveaux individus. Ils ont ainsi constaté une très importante diversité de sous types ainsi qu'un portage asymptomatique quasi systématique.

#### **2.4. Les rongeurs : un model expérimental**

Plusieurs infections expérimentales ont été testées sur différents rongeurs incluant le rat, la souris ou encore le cochon d'Inde, dans le but de vérifier la capacité d'invasion de la muqueuse intestinale par le parasite et d'associer ce parasite à des symptômes spécifiques notamment l'IBS.

Chez la souris, les différentes infections expérimentales ont été faites par voie orale à partir de kystes, ou par voie intracaecale, intramusculaire et intrapéritonéale à partir de formes vacuolaires en culture (Moe et *al.*, 1997; Moe et *al.*, 1998; Elwakil et Hewedi, 2010).

Une étude a été menée par Moe et *al.* en 1997 en utilisant différents protocoles d'infection expérimentales de souris BALB/c immunocompétentes par des kystes provenant d'un isolat humain. Les animaux ont été infectés avec succès, soit oralement par des kystes, soit de manière intra-caecale par une culture *in vitro* (formes vacuolaires). L'infection est généralement limitée, même si quelques souris présentent une perte de poids et une certaine léthargie. Des formes granulaires et vacuolaires sont observées dans le caecum, mais seule la forme kystique est retrouvée au niveau du colon. Les auteurs montrent également que la susceptibilité à *Blastocystis* sp. est dépendante de l'âge chez la souris BALB/c. En effet, les jeunes souris sont plus susceptibles que les souris adultes, et sont même résistantes à l'infection lorsqu'elles sont âgées de plus de 8 semaines.

Elwakil et Hewedi (2010) remarquent que des souris fortement infectées par un isolat symptomatique de *Blastocystis* sp. ( $4 \times 10^7$  kystes), présentent des problèmes de locomotion, une léthargie, une perte de poids, et pour certaines d'entre elles, la présence de mucus dans les fèces. Deux semaines après infection, les examens histopathologiques du gros intestin révèlent une infiltration du parasite dans la lamina propria et la muscularis mucosae (Elwakil et Hewedi, 2010). Ces observations sont accompagnées d'une intense colite, et d'une infiltration de cellules inflammatoires (lymphocytes, histiocytes, éosinophiles).

Les expérimentations par injections intrapéritonéale réalisées à partir de parasites issus de selles de patients et cultivés sur RPMI1640 montrent une pathogénie du parasite dépendante de la dose (Zhou et *al.*, 2010). La mortalité des souris est croissante en fonction du nombre de parasites injectés. Les auteurs observent ainsi une mortalité de 20% chez les souris infectées avec 10.4 parasites, de 30% chez les souris infectées avec 10.5 parasites et de 45% chez celles infectées avec 10.6 parasites (Zhou et *al.*, 2010). Les souris survivantes présentent un comportement apathique, léthargique et un pelage hérissé, les symptômes disparaissant au bout d'une semaine. Trois formes du parasite (vacuolaire, granulaire et kystique) ont été retrouvées dans l'abdomen des souris mortes. Chez les souris vivantes, seuls des kystes ont été retrouvés, laissant supposer un lien entre les formes du parasite et la pathogénie.

Chez le rat, les chercheurs ont pu démontrer qu'une centaine de kystes, isolés à partir d'un rat de Norvège (*Rattus norvegicus*) et d'un cochon d'Inde, inoculée par voie orale suffisent à entraîner une infection chez le rat wistar (Yoshikawa et *al.*, 2004) confirmant une transmission oro-fécale. Comme chez la souris, le caecum et le gros intestin sont infestés alors que le petit intestin semble sain.

Selon Yoshikawa et ses collaborateurs (2004) une infection orale ou intra-caecale avec seulement 10 kystes, suffit à aboutir à une colonisation du caecum et du gros intestin par *Blastocystis* sp. chez des rats Wistar âgés de 3 semaines (Yoshikawa *etal.*, 2004).

Plus récemment, des infections expérimentales ont été réalisées à partir de parasites issus de patients et injectés intracaecalement aux rats (Iguchi et *al.*, 2007). Cette étude montre une variation du degré des infections, qui est fonction des sous-types testés (2, 3, 4 et 7). Seul le ST3 s'est avéré incapable d'infecter les rats. Des infections expérimentales ont également été réalisées à partir de STs 1, 3 et 4 de *Blastocystis* sp. issus de patients symptomatiques et asymptomatiques et d'un ST2 issu uniquement de patients asymptomatiques (Hussein et *al.*, 2008). Les rats infestés à partir des isolats de patients symptomatiques développent des pathologies modérées à sévères au contraire des rats infestés avec des isolats issus de patients asymptomatiques qui développent peu voire aucune pathologie. Parmi les isolats symptomatiques, seul le ST1 induit une mortalité (25%). Les auteurs concluent que seul le ST1 est un sous-type pathogène pour le rat, et que le potentiel pathogène des STs 3 et 4 est variable.

## **2.5. Le porc**

En 2003, des chercheurs thaïlandais ont met en évidence pour la première fois la présence du sous types3 chez le porc et le cheval après une étude faite à la fois chez des hommes, des

porcs et des chevaux, supposant ainsi une contamination d'origine zoonotique (Thathaisong et al., 2003).

En 2008, 395 échantillons de matières fécales de porcs espagnols ont été analysés à la recherche de *Blastocystis sp.* en utilisant la microscopie optique et la PCR. Une prévalence globale de 46,8% a été observée avec une incidence plus importante chez les jeunes ainsi qu'en saison chaude (Navarro et al., 2008).

En Australie, une étude a été réalisée sur 28 porcs asymptomatiques dont 5 immunodéprimés, a révélé une prévalence de 100%, le parasite a été localisé dans le colon (comme chez l'homme) mais également dans l'intestin grêle de certains animaux en particulier les immunodéprimés. L'analyse moléculaire a mis en évidence 3 sous types ; ST5, ST3 ST1 ces deux derniers sont les plus fréquemment rencontrés chez l'homme, l'examen histologique n'a détecté aucune trace de pathologie au niveau des intestins, il a été donc supposé que pour causer la maladie clinique chez le porc *Blastocystis sp.* doit agir en synergie avec d'autres agents pathogènes opportunistes, l'étude a aussi suggéré l'utilisation du porc comme un modèle animal pour l'étude des Blastocystoses (Wang et al., 2014).

Wang et coll. a mené une autre étude moléculaire sur des échantillons de selles de porcs et d'humains en contact étroit avec ces animaux en Australie (personnel de porcherie) et des villageois en Cambodge. La prévalence de *Blastocystis* chez les porcs australiens et cambodgiens était de 76,7% et 45,2% respectivement, les sous types détectés étaient le ST1 et ST3 (chez les porcs australiens uniquement), ST5, avec ST5 comme sous types dominant. Parmi le personnel de la porcherie, 83,3% étaient positifs au *Blastocystis* contre 55,2% des villageois cambodgiens. Les sous types trouvés chez l'homme étaient le ST1, ST2 et le ST3. Curieusement le ST5 qui est généralement rare chez les humains était présent chez 13,9% du personnel de la porcherie mais absent chez les villageois cambodgiens, de ce fait et de la présence des sous types ST1 et ST3 majoritairement rencontrés chez l'homme dans les selles de porcs australiens, l'étude a conclu qu'un contact étroit entre le porc et l'homme peut augmenter les risques d'une transmission zoonotique de *Blastocystis*.

## **2.6. Les carnivores**

La première étude sur *Blastocystis* chez les carnivores domestique a été menée en Australie en 1998 sur un grand nombre de chiens et de chats issus d'un refuge, en se basant sur l'observation microscopique après culture des échantillons, une prévalence de 70,8% et de 67,3% chez les chiens et les chats respectivement. Cependant, la symptomatologie, l'âge et le

sexe ne semblaient avoir un lien avec la présence du parasite (Dudaet *al.*, 1998).

Une autre étude réalisée au Japon en 2002 sur des échantillons de selles de 54 chiens errants et domestiques, la détection du parasite était basée sur une observation au microscope optique après culture. Finalement aucun cas positif n'a été trouvé (Abeetal., 2002).

En 2011, une étude grecque menée sur 72 échantillons de selles provenant de chiens errants et domestique n'a met en évidence aucun cas positif, les prélèvements ont été observé tout d'abord au microscope optique (après mise en culture) puis analysé avec la PCR. (Sapanakosetal., 2011)

Enfin, en 2014, une étude faite par le laboratoire de parasitologie de l'école vétérinaire de Lyon sur une population de 113 chiens n'a révélé que 4 cas positifs au *Blastocystis* soit une prévalence de 3,5%, les prélèvements ont été observés au microscope optique (après mise en culture) avant d'être analysé avec la PCR.

## **2.7. Les reptiles**

*Blastocystis* a été également isolé chez des animaux à sang froid : Pythons, Iguanes, Tortues, Serpents d'eau et crocodiles.

Chez ces animaux, les différentes formes de *Blastocystis* n'ont pas été classées en sous-types, elles portent encore des noms en lien avec l'espèce hôte, c'est le cas de *Blastocystis pythoni* retrouvé chez le python, de *Blastocystis cycluri* chez l'iguane, de *Blastocystis geocheloni* chez la tortue et de *Blastocystis lapemi* retrouvé chez le serpent d'eau (Teowetal., 1992)

Ces espèces bien qu'elles présentent une morphologie similaire au *Blastocystis hominis* isolé chez l'homme, elles se développent à des température plus basse (27°C au lieu de 37°C) (Upcroft et *al.*, 1989).

## **3. ETUDE DE BLASTOCYSTIS HOMINIS CHEZ L'HOMME**

### **3.1. Epidémiologie**

#### **3.1.1. Répartition géographique**

Comme nous l'avons vu, de nombreuses enquêtes épidémiologiques effectuées dans différents pays identifient *Blastocystis hominis* comme le parasite intestinal le plus fréquemment retrouvé dans la population humaine (ANOFEL, 2010 ; Boorom etal., 2008), la prévalence de

ce parasite ubiquiste est en effet plus importante que celle d'autres protozoaires parasites intestinaux comme *Giardia*, *Entamoeba* et *Cryptosporidium*.

La prévalence observée varie beaucoup d'un pays à un autre, voire d'une population à une autre pour un même pays (Souppart *et al.*, 2009; Tan, 2008). Cette différence peut s'expliquer, par le manque d'hygiène, le contact avec certains animaux comme le porc, et la consommation d'eau ou de nourriture contaminée par des kystes. La prévalence peut être faible dans certains états comme le Japon (0,5-1%) (Hirata *et al.*, 2007) ou Singapour (3,3%) (Wong *et al.*, 2008) et élevée pour des pays en voie de développement tels que le Brésil (40,9%) (Aguilar *et al.*, 2007), l'Égypte (33,3%) (Rayan *et al.*, 2007), ou l'Indonésie (60%) (Pegelow *et al.*, 1997). Cette prévalence peut être assez variable dans certains pays selon l'échantillon de population étudié, ou la méthode de diagnostic. Celle-ci est en effet comprise entre 1,9 et 32,6% en Chine (Li *et al.*, 2007) et entre 0,9 et 45,2% en Thaïlande (Saksirisampant *et al.*, 2003; Saksirisampant *et al.*, 2006).

### 3.1.2. Répartition des sous-types

La quasi-totalité des études épidémiologiques menées sur *Blastocystis hominis* rapportent que la majorité des infections humaines sont attribuées au sous-type 3 (ST3), avec une prévalence mondiale estimée à 61,2% (Dogruman-Al *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2007; Meloni *et al.*, 2011; Souppart *et al.*, 2009; Souppart *et al.*, 2010). Quelques exceptions montrent cependant une forte prévalence du sous-type 4 (ST4) en Espagne (Dominguez-Marquez *et al.*, 2009) et au Danemark (Stensvold *et al.*, 2011), et du sous-type 1 (ST1) en Thaïlande (Thathaisong *et al.*, 2003). Néanmoins, le caractère dominant du ST3 dans la population humaine, même si celui-ci peut être retrouvé chez certains animaux, suggère fortement qu'il est le seul sous-type d'origine humaine, hypothèse déjà proposée par Noel et collaborateurs (Noel *et al.*, 2005). La prédominance de ce sous-type pourrait par conséquent être principalement expliquée par une contamination inter-humaine (Yoshikawa *et al.*, 2000).

Concernant la distribution des autres sous-types, il apparaît que les sous-types 6 (ST6) et 7 (ST7) sont régulièrement rencontrés en Asie, mais rarement observés en Europe. Le sous-type 8 (ST8) a seulement été isolé au Royaume-Uni et en Italie alors que le sous-type 9 (ST9) n'a été identifié qu'au Japon. Les infections par les sous-types 5 (ST5), 11 (ST11), 12 (ST12) et 13 (ST13) sont quant à elles épisodiques chez l'homme (Parkar *et al.*, 2007; Parkar *et al.*, 2010; Yan *et al.*, 2007).

**Tableau 2 :**Répartition des sous-types de *Blastocystis* sp. dans la population humaine de différents pays d'après Souppart *et al.*, 2009.

Countries	No. of isolates	Subtype classification <sup>b</sup> (% in parentheses)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	Unknown <sup>c</sup>
Bangladesh	26	2 (7.7)	0	24 (92.3)	0	0	0	0	0	0	0
China	202 <sup>a</sup>	56 (27.7)	11 (5.4)	125 (61.8)	1 (0.5)	0	1 (0.5)	0	0	0	8 (4.0)
China	40 <sup>a</sup>	18 (45.0)	0	19 (47.5)	0	0	0	2 (5.0)	0	0	1 (2.5)
China	80 <sup>a</sup>	18 (22.5)	2 (2.5)	56 (70.0)	1 (1.2)	0	0	0	0	0	3 (3.8)
Denmark	28	5 (17.9)	9 (32.1)	13 (46.4)	1 (3.6)	0	0	0	0	0	0
Denmark	29	1 (3.4)	6 (20.7)	15 (51.7)	7 (24.1)	0	0	0	0	0	0
Egypt	44	8 (18.2)	0	24 (54.5)	0	0	8 (18.2)	4 (9.1)	0	0	0
England	29	2 (6.9)	1 (3.4)	22 (75.9)	4 (13.8)	0	0	0	0	0	0
England	55	3 (5.4)	9 (16.4)	22 (40.0)	17 (31.0)	0	0	1 (1.8)	3 (5.4)	0	0
France	43 <sup>a</sup>	11 (25.6)	4 (9.3)	23 (53.5)	4 (9.3)	0	0	1 (2.3)	0	0	0
Germany	12	3 (25.0)	2 (16.7)	5 (41.7)	2 (16.7)	0	0	0	0	0	0
Germany	171 <sup>a</sup>	40 (23.4)	1 (0.6)	118 (69.0)	12 (7.0)	0	0	0	0	0	0
Greece	45	9 (20.0)	6 (13.3)	27 (60.0)	1 (2.2)	0	1 (2.2)	1 (2.2)	0	0	0
Japan	64	10 (15.6)	13 (20.3)	31 (48.4)	7 (10.9)	0	0	0	0	0	3 (4.7)
Japan	50	4 (8.0)	0	26 (52.0)	2 (4.0)	0	11 (22.0)	5 (10.0)	0	2 (4.0)	0
Pakistan	10	2 (20.0)	0	7 (70.0)	0	0	1 (10.0)	0	0	0	0
Singapore	9	2 (22.2)	0	7 (77.8)	0	0	0	0	0	0	0
Turkey	96 <sup>a</sup>	19 (19.8)	22 (22.9)	55 (57.3)	0	0	0	0	0	0	0
Turkey	87	8 (9.2)	12 (13.8)	66 (75.9)	1 (1.1)	0	0	0	0	0	0
	1,120	221 (19.7)	98 (8.7)	685 (61.2)	60 (5.4)	0	22 (2.0)	14 (1.2)	3 (0.3)	2 (0.2)	15 (1.3)

### 3.1.3. Hôte et réservoir :

*Blastocystis* sp. est retrouvé chez l'homme ainsi que chez de très nombreuses espèces animales ( rats, les chats, les chiens, les porcins, les bovins, les singes, les oiseaux et volailles, reptiles) ceci est dû au faible spécificité d'hôte de ce parasite (Capronet *al.*, 2003), des études épidémiologiques chez l'homme ont montré que les personnes travaillant avec des animaux ont une prévalence supérieure à celle observée dans des populations témoins sans contact avec les animaux (Rajah *et al.*, 1999; Wang 2014). Il est donc légitime de s'interroger sur la notion de réservoir animal de *Blastocystis* et sur le caractère zoonotique de ce parasite.

### 3.1.4. Mode de contamination

Il est actuellement admis que le mode de contamination par *Blastocystis* se fait de manière oro-fécale (Yoshikawa et al., 2004). La présence d'une forme kystique dans le cycle du parasite, qui est capable de résister dans l'eau et les selles (Moe et al., 1996), laisse supposer que la contamination est liée à de mauvaises conditions d'hygiène, notamment à travers la consommation d'eau souillée et le contact avec des animaux réservoirs du parasite (Garavelli et Scaglione, 1989; Doyle et al., 1990; Nimri et Batchoun, 1994; Leelayoova et al., 2004; Leelayoova et al., 2008; Eroglu et Koltas, 2010; Banaticla et Rivera, 2011).

Dans une analyse réalisée à partir d'une population composée de soldats de l'armée thaïlandaise et de leurs familles, Taamasri et ses collaborateurs (2000) constatent que *Blastocystis* est le parasite le plus fréquemment rencontré dans les selles de ces personnes, avec une prévalence supérieure à 20% (Taamasri et al., 2000). De manière significative, les auteurs relient cette forte prévalence avec la consommation d'eau non filtrée ou non stérilisée, potentiellement contaminée par des kystes de *Blastocystis*. Il est aussi important de noter qu'en 2006, *Blastocystis* a été ajouté par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans les protocoles de recherche de parasites pour la vérification de la qualité de l'eau de boisson ([http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/gdwqrevision/blastocystis/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/gdwqrevision/blastocystis/en/)), montrant l'intérêt croissant de ce parasite vis-à-vis des problèmes de santé publique qui pourraient apparaître.

La contamination zoonotique due à la proximité d'animaux est une autre cause majeure, elle a largement été démontrée (Garavelli et Scaglione, 1989 ; Doyle et al., 1990), et confirmée par des analyses phylogénétiques désignant ainsi la blastocystose comme une zoonose (Yoshikawa et al., 2004; Noel et al., 2005). Une étude de prévalence sur les animaux et leurs gardiens, menée au parc zoologique de Perth en Australie, a ainsi mis en évidence une forte contamination des gardiens (63%) en comparaison avec une population contrôle où l'on retrouve seulement 9% de positifs (Parkar et al., 2010). Chez les animaux, 50% des échantillons issus de primates se sont révélés positifs, et 32% des échantillons issus des autres animaux (Parkar et al., 2010). Cette étude fait suite à une étude danoise similaire sur des animaux de zoo et leurs gardiens, montrant une infection des gardiens par le sous-type 8 (25% positifs), sous-type habituellement rare chez l'homme, et retrouvé dans cette étude chez 21% des primates non humains (Stensvold et al., 2009). De même, les isolats de *Blastocystis* humains possèdent la capacité à infecter des animaux de laboratoire (Iguchi et al., 2007).

### **3.1.5. Facteurs de risques**

#### **3.1.5.1. Conditions d'hygiène**

Il a été démontré que des conditions sanitaires précaires telles qu'une malnutrition, une hygiène alimentaire défectueuse, la présence de latrines, de saleté et d'inondations fréquentes dans les habitations étaient propices aux infections par *B. hominis*. (Apeztegui *et al.*, 2004)

De plus, ces mêmes auteurs ont observé que la densité de la population avait un rapport avec l'incidence de la blastocystose ; plus la population est dense, plus le taux de prévalence de *B. hominis* est élevé et inversement.

#### **3.1.5.2. Age et sexe**

La plupart des études s'accordent à dire que *B. hominis* touche à part égale les males que les femelles.

A la différence avec d'autres parasites intestinaux comme *Cryptosporidium* qui est retrouvé plus particulièrement chez les jeunes, *B. hominis* touche en général tous les âges d'une population avec plus ou moins de différence. Il infesterait plus les adultes que les enfants et ce sont les adultes jeunes qui présentent le plus fort taux d'infection (Boreham et Stenzel, 1996).

#### **3.1.5.3. Statut immunitaire**

Une étude turque (Koltas *et al.*, 2000) a mis en lumière que la survenue d'une infection à *B. hominis* dépendait du statut immunologique des personnes. Le sujet de l'étude consistait à comparer la prévalence de la blastocystose chez des personnes atteintes d'une hémopathie maligne et chez des personnes saines. Ils ont conclu que la prévalence du parasite est bien plus élevée chez les sujets immunodéprimés que chez les sujets sains. *Blastocystis hominis* est aussi le protozoaire le plus commun chez les patients VIH ou ayant développé le SIDA, et un des plus fréquents chez les patients ayant déclaré un cancer selon Tan et ses collaborateurs (Tan *et al.*, 2010). D'autres études effectuées sur des greffés rénaux sous immunothérapie arrivent à la même conclusion.

#### **3.1.5.4. Effet de la saison**

Les infections à *B. hominis* sont plus fréquentes en été et au début de l'automne. Smith et Suresh, en 2004 appuient cette observation en constatant une forte augmentation de l'excrétion des kystes de *B. hominis* en été par rapport aux saisons hivernales et printanières. En effet la quantité de kystes excrétés de juillet à septembre est deux fois plus importante

qu'en hiver ou au printemps.

### 3.1.5.5. Infections intercurrentes

Un lien avec la flore digestive semble émerger puisque la blastocystose apparaît très fréquemment associée à une perturbation de la flore digestive, ou à une atteinte concomitante des fonctions digestives (syndrome du côlon irritable, autre parasitose...).

### 3.2. Pathogénie

La pathogénie de *Blastocystis hominis* est très controversée, les études menées s'opposant sur son implication ou non dans des désordres gastro-intestinaux.

Selon certains auteurs, *B. hominis* serait directement responsable de troubles digestifs et serait ainsi considéré comme l'agent étiologique causant une diarrhée persistante. Le mécanisme de la pathogénicité n'est pas encore explicité ; plusieurs hypothèses sont émises (Molbak *et al.*, 2009) et incluent les mécanismes suivants :

- Altération de la perméabilité épithéliale colique suite à l'apoptose des cellules intestinales et à la perturbation de la barrière épithéliale intestinale
- Réactions toxi-allergiques au niveau de l'épithélium intestinal
- dégradation des sécrétions d'immunoglobuline A (Ig A) par des protéases produites par *B. hominis*. Les Ig A jouent un rôle important de défense immunitaire : elles limitent l'adhérence aux muqueuses, la colonisation par les microorganismes et neutralisent certaines toxines microbiennes. *B. hominis* sécrète des Ig A protéases - les cystéines protéinases - qui dégradent les Ig A et permettent la survie du parasite dans le colon. Ceci peut expliquer la sensibilité accrue des sujets immunodéprimés à *B. hominis*. En effet, ces derniers présentent un système immunitaire déficient et donc des Ig A plus faiblement concentrées dans les sécrétions muqueuses, facilitant la colonisation de *B. hominis*. De plus, ces protéases pourraient intervenir dans la dégradation de la paroi intestinale ce qui correspondrait à un mécanisme invasif.
- modulation de la réponse immunitaire et libération de cytokines au niveau des cellules épithéliales coliques à l'origine d'une infiltration cellulaire inflammatoire intense, d'un œdème de la *lamina propria* et d'une desquamation de la muqueuse au niveau du colon et du caecum (Chan *et al.*, 2003).

Cependant, d'autres auteurs (Auguet *et al.*, 1992) concluent que ce parasite n'est pas habituellement pathogène mais que les patients symptomatiques abritant *B. hominis* ont une infection entérique ou une affection gastro-intestinale non infectieuse responsable de leurs

manifestations cliniques.

Selon certains auteurs, *B. hominis* n'aurait pas de rôle pathogène puisqu'il n'entraîne aucune lésion intestinale observée par endoscopie (Chanetal., 2003).

D'autre part, dans la plupart des observations, le sujet traité par métronidazole voit ses symptômes régresser et les blastocystes disparaître ou se raréfier dans les selles, ce qui renforce l'idée que *B. hominis* était la cause des troubles. Il est par contre difficile d'affirmer l'absence d'autres organismes pouvant être responsables de la symptomatologie et qui sont sensibles au métronidazole. En effet, une blastocystose symptomatique, qui s'améliore après traitement spécifique, peut être attribuée à l'élimination de pathogènes non détectés (Boreham et Stenzel, 1996).

En conclusion, même si les récentes études tendent à décrire le blastocyste plus comme un opportuniste qu'un agent pathogène il est impossible à l'heure actuel de se prononcer pour ou contre la pathogénicité de *B. hominis*. Son rôle de *B. hominis* en tant qu'agent causal de maladie chez l'homme et chez les animaux demeure indéfini. Rappelons cependant que des protozoaires comme *Cryptosporidium spp.* et les microsporidies, qui étaient autrefois considérés comme peu ou pas pathogènes, sont maintenant reconnus comme des organismes capables de causer des maladies, en particulier chez les patients immunodéprimés (Stenzel et al., 1996) .

## **4. CONDUITE A TENIR FACE A UNE INFECTION PAR BLASTOCYSTIS**

### **4.1.Symptomatologie**

La pathogénie au sein des espèces animales pose encore actuellement de nombreuses interrogations. Nous nous consacrerons donc dans ces paragraphes à ce qui a pu être décrit chez l'homme.

#### **4.1.1. Signes cliniques**

Chez l'homme, les principaux symptômes rapportés sont de types gastro-intestinaux aspécifiques correspondant en majorité à des diarrhées, des douleurs abdominales, des crampes et des nausées. Il a également été rapporté des cas d'anorexie, de perte de poids, de constipation ou de vomissement. Ces symptômes sont d'intensité variable, et les infections peuvent être de type aigu ou chronique (Stenzel et Boreham, 1996 ; Kaya et al., 2007; Tan, 2008).

Outre ces désordres gastro-intestinaux, il a été rapporté plusieurs cas de manifestations cutanées associées à une infection à *Blastocystis hominis*, principalement de l'urticaire de type chronique ou aigu. Cet urticaire a été corrélé avec la présence de *Blastocystis hominis* appartenant aux sous-types 2 et 3 dans les selles des patients (Gupta et Parsi, 2006 ; Vogelberg et al., 2010; Hameed et al., 2011), ou avec l'observation de forme amiboïde dans le cas du ST3 (Katsarou Katsari et al., 2008). Il a également été rapporté un cas d'angio-oedème avec une identification de *Blastocystis hominis* dans les selles (Micheloud et al., 2007). Dans tous ces cas les traitements antiparasitaires ont abouti à la résolution de l'infection à *B. hominis* et à la disparition des lésions cutanées.



**Photo 6 :** Eruption cutanée récurrente et très prurigineuse chez un homme de 39 ans atteint de blastocystose chronique, d'après Boorometal., 2008.

*Blastocystis hominis* semble également impliqué dans des cas de syndrome de l'intestin irritable (IBS) (Tan, 2008). En effet, une incidence plus élevée des infections à *Blastocystis* chez les patients IBS par rapport à une population contrôle a pu être mise en évidence par certains auteurs (Yakoob et al., 2004; Yakoob et al., 2010). L'étude d'une population IBS montre une prédominance du ST1 suivi par le ST3. Cette prédominance est inverse à la prédominance dans la population contrôle dans laquelle le sous-type 3 est prépondérant. Les autres sous-types apparaissent identiques dans les 2 populations (Yakoob et al., 2010).

Cependant, si ces études montrent une prévalence plus élevée de *Blastocystis hominis* chez les patients IBS, elles ne permettent pas de conclure que ce parasite puisse être le seul agent étiologique de la maladie.

#### **4.1.2. Signes biologiques**

La numération de la formule sanguine est le plus souvent normale mais on peut rencontrer chez certains sujets une hyperleucocytose (signe d'une infection) modérée à élevée, associée ou non à une hyperéosinophilie.

L'examen coprologique révèle dans la majorité des cas un nombre important de *B. hominis* seuls ou associés à d'autres parasites.

Des examens plus invasifs tels que les endoscopies et les biopsies démontrent des états inflammatoires de la muqueuse du colon. La colonoscopie a révélé une diverticulose (petite hernie de la muqueuse colique).

Enfin, l'examen anatomopathologique, pratiqué très exceptionnellement, a pu dévoiler une adénite mésentérique et une hyperplasie lymphoïde (Gaye, 1995). Cet examen a également permis de rechercher le siège du parasite dans l'intestin de l'homme. La localisation de *B. hominis* semble être limitée au colon et en particulier au niveau du caecum et de l'appendice.

### **4.2. Diagnostic**

#### **4.2.1. Diagnostic direct**

Le diagnostic de blastocystose repose essentiellement sur le diagnostic biologique direct.

L'identification de *B. hominis* peut être réalisée par différentes méthodes :

Examen coprologique à l'état frais ou suite à une coloration, à une concentration, à une culture ou encore une extraction et amplification de l'ADN.

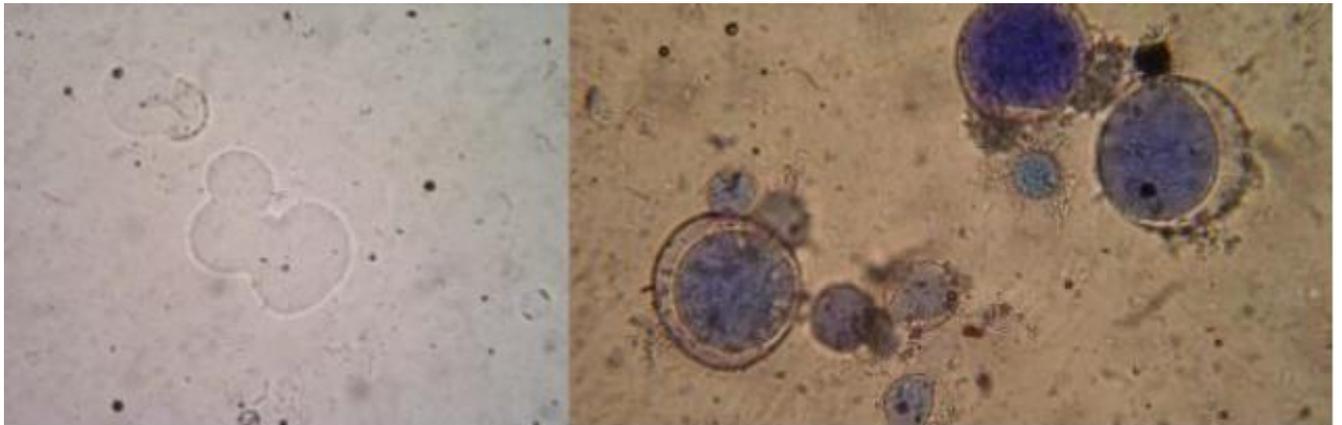
##### **4.2.1.1. L'examen des selles à l'état frais**

Le diagnostic en microscopie optique à partir d'un examen direct des selles frais des patients est la méthode la plus commune pour détecter *Blastocystis* sp. Cependant, Le biais majeur de cette technique réside dans le fait que l'absence de forme vacuolaire n'est pas une preuve de l'absence du parasite dans les fèces, ce qui conduit régulièrement à des faux-négatifs. En effet, l'observation directe par microscopie photonique ne permet pas de déceler la présence des kystes, qui sont de petite taille (3-5 µm). L'examen parasitologique des selles requiert donc de

la part du chercheur un « œil avisé » car ces kystes peuvent être facilement confondus avec des levures ou des débris fécaux.

#### 4.2.1.2. Colorations

Divers colorants peuvent être utilisés pour faciliter la reconnaissance de *B. hominis*. En routine, on privilégie la coloration au Lugol ou au Trichrome même si les autres colorants tels que l'hématoxyline ferrique, le Giemsa, le MIF (Mertthiolate-Iode-Formol) ou le Gram colorent eux aussi avec succès le parasite.



**Photo7:** Observation de *Blastocystis hominis* avec et sans coloration, d'après Mine et Rosa, 2008.

#### 4.2.1.3. Concentrations

On entend par concentrations les techniques par lesquelles on essaie, à partir d'une grande quantité de matière fécale recueillie, d'obtenir dans un faible volume les différentes formes du parasite, par élimination des résidus de la digestion.

Deux techniques sont utilisées pour mettre en évidence *B. hominis* :

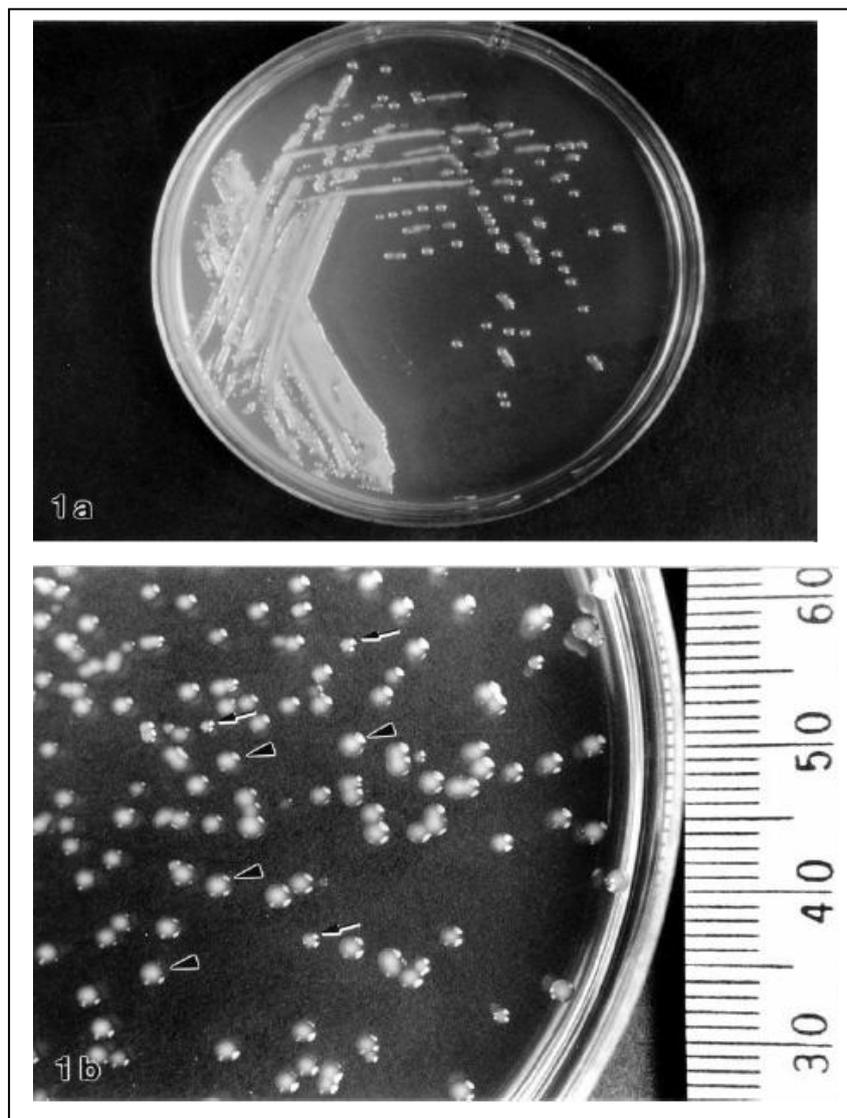
- la technique de RITCHIE qui est une solution composée de sérum physiologique à 9 pour 1000 et de formol à 10%
- la technique de Teleman qui utilise une solution d'acide acétique à 5%.

Ces techniques sont nécessaires pour observées les formes kystiques de *Blastocystis* (Suresh et Smith, 2004) ainsi que pour rechercher d'autres parasites. même si elles ne sont recommandées pour détecter les autres formes du parasites (Tan et *al.*, 2010).

#### 4.2.1.4.Culture

La mise en culture systématique des échantillons s'est avéré une méthode de choix pour confirmer les diagnostics microscopiques. Le milieu de Jones pour la mise en culture xénique *in vitro* à partir d'échantillons de selles s'est avéré le plus efficace (Suresh et Smith, 2004). Cette méthode est jusqu'à six fois plus sensible que l'observation directe en microscopie (Termmathurapoj et al., 2004). Cependant cette méthode présente quelques inconvénients dont le principal est la difficulté voire l'impossibilité à cultiver certains isolats en milieu de Jones (Parkar et al., 2007; Tan, 2008). De plus, le temps de multiplication variable selon les sous types, entraîne la disparition des cas de co-infections lors de la mise en culture (Tan et al., 2010).

L'utilisation des méthodes de diagnostic moléculaire s'avère être une meilleure alternative.



**Photo 8 :** Culture de *Blastocystis hominis* sur le milieu solide agar après 7 jours d'incubation, d'après Howet al. , 1996.

#### 4.2.1.5. L'amplification du génome

Plusieurs approches de diagnostic moléculaire, principalement basées sur un diagnostic PCR ont été décrites ces dernières années. L'utilisation d'amorces spécifiques ciblant l'ARNr 18S a été privilégiée, permettant ainsi le génotypage des sous-types (Yoshikawa *et al.*, 1998; Stensvold *et al.*, 2007; Santin *et al.*, 2011). Récemment, deux méthodes de PCR en temps réel ont été développées ciblant respectivement une région de 152 bases d'un gène inconnu (Jones *et al.*, 2008) et une région de l'ARNr 18S (Poirier *et al.*, 2011).

L'utilisation de ces méthodes moléculaires a permis la mise en évidence de nouveaux sous-types, mais également la description de co-infections et la réévaluation de la prévalence du parasite.

#### 4.2.2. Diagnostic indirect

Il s'agit d'est une technique récente car la réponse humorale face au *Blastocystis* est restée longtemps méconnue.

Une étude de Rivera et Santos, en 2009, confirme cela. Réalisée sur des souris infestées par *B. hominis*, elle a mis en évidence la production et l'activité de trois isotypes d'anticorps anti-blastocyste : les immunoglobulines A (Ig A), B (Ig B) et M (Ig M) présentes dans le sérum ou les sécrétions intestinales. Il s'agit de la première étude qui rapporte l'analyse cinétique ainsi que les cibles antigéniques des différents anticorps par cytométrie de flux. Les Ig M sont uniquement retrouvées dans le sérum et correspondent à la réponse immune précoce. Ce sont donc des indicateurs d'une infection récente à *B. hominis*. Les Ig A sont quant à elles retrouvées dans les sécrétions intestinales et présentent une forte activité contre le blastocyste suggérant un rôle vital dans la réponse immune contre ce parasite. Les Ig G peuvent être sériques et/ou intestinales et apparaissent après les Ig A ; elles sont le signe d'une infection plus ancienne à *B. hominis*.

Il est plus que probable que *B. hominis* entraîne la même réaction immunitaire humorale chez l'homme.

Le diagnostic indirect s'effectue à l'aide d'une méthode immunologique: le test ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) qui permet de mettre en évidence des anticorps spécifiques dirigés contre des antigènes de *B. hominis*. Ce sont Nagy *et al.*, en 1995, qui ont réalisé pour la première fois cette méthode sur le blastocyste.

En pratique, le diagnostic sérologique indirect est peu utilisé. Il présente peu d'intérêt puisque les anticorps peuvent également être détectés chez des sujets asymptomatiques mais infectés

de façon chronique. Cependant l'enquête immunologique peut s'avérer nécessaire pour affirmer un diagnostic de blastocystose lorsque les autres méthodes de détection de *B. hominis* ne se sont pas révélées concluantes. Cette méthode permet aussi d'apprécier l'évolution de la blastocystose sous traitement.

### 4.3.Traitement

En 2007, Bouree a met en place des critères pour affirmer le diagnostic d'une Blastocystose :

- la constatation d'un nombre important de *B. hominis*, supérieur à 5 par champ microscopique (au grossissement X 100)
- la présence de signes cliniques
- et surtout l'absence d'autre étiologie connue de diarrhée et troubles digestifs (virale, bactérienne, parasitaire...).

La réunion de ces trois critères aboutit au diagnostic de blastocystose. Il y a donc lieu d'instaurer un traitement pour essayer de corriger le dysmicrobisme intestinal et limiter le développement de *B. hominis*.

Le traitement d'attaque de l'infection est le métronidazole, molécule largement utilisée contre les protozoaires parasites anaérobies (Samuelson, 1999 ; Gardner et Hill, 2001 ; Stensvold et al., 2010). Le métronidazole devient actif une fois métabolisé dans les cellules microbiennes. Chez les parasites, le métronidazole est activé quand il reçoit un électron de la ferrédoxine ou de la flavodoxine qui ont eux même été réduits par une pyruvate ferrédoxine oxydo-réductase. Une fois activé, il se lie à l'ADN et provoque une altération de la structure de ce dernier (Samuelson, 1999).

La première évaluation de l'efficacité du métronidazole sur *Blastocystis* sp. a été menée en 2003. Cette étude montre que des patients immunocompétents, présentant *Blastocystis* sp. comme seul responsable de diarrhée, répondent parfaitement au traitement (Nigro et al., 2003). Pourtant, il semble que ce traitement présente une efficacité variable pouvant aller de 0 à 100% (Haresh et al., 1999; Moghaddam et al., 2005; Stensvold et al., 2008; Stensvold et al., 2010). Deux raisons principales aux échecs thérapeutiques ont été proposées : une résistance de certaines souches de *Blastocystis* sp. au métronidazole (Haresh et al., 1999; Mirza et al., 2011), ou une rapide réinfection causée par la non élimination de la source de contamination, sans que l'on puisse trancher en faveur de l'une ou l'autre.

Dans les cas de non réponse au métronidazole, un traitement à base de triméthoprime/sulfaméthoxazole est utilisé comme solution alternative, avec une disparition

des parasites dans les selles chez plus de 90% des patients, une disparition des symptômes chez plus de 70% des patients et une diminution des symptômes chez environ 18 % des patients (Ok et *al.*, 1999; Moghaddam et *al.*, 2005; Ertug et *al.*, 2009).

#### **4.4. Prévention**

Les mesures prophylactiques reposent essentiellement sur des mesures hygiéno-diététiques dont les trois piliers sont l'éducation sanitaire, l'assainissement du milieu et l'hygiène alimentaire (Coudert et Dreyfuss, 2010). Ces mesures concernent majoritairement les pays en voie de développement.

##### **4.4.1. Education sanitaire**

L'éducation sanitaire consiste à informer les populations sur les dangers liés au péril fécal et de leur inculquer les règles élémentaires d'hygiène. Cette éducation doit se faire dès le plus jeune âge.

Pour les travailleurs en contact avec des animaux, on leur conseillera le port de masque et de gants afin d'éviter une éventuelle infestation par *B. hominis* (Maketel., 1999).

##### **4.4.2. Assainissement du milieu**

L'assainissement du milieu est indispensable pour éviter la dissémination des blastocystes et autres parasites, ceci implique :

- la réglementation de l'usage de l'engrais humain ou animal ;
- l'aménagement de latrines ;
- le traitement des eaux usées en vue de protéger les cultures contre la dispersion des kystes de blastocystes ;
- la collecte et la destruction des ordures.

##### **4.4.3. Hygiène alimentaire**

Une bonne hygiène alimentaire est indispensable pour éviter l'infestation par *B. hominis*. Elle impose un lavage systématique des mains avant les repas et toute manipulation d'aliments ainsi qu'à la suite d'un contact avec un animal et après chaque selle.

Les légumes et les fruits consommés crus doivent toujours être lavés soigneusement avec une eau propre. Lorsque ceci n'est pas réalisable, il faut les éplucher puis les cuire systématiquement.

En ce qui concerne l'eau de consommation, il faut la filtrer ou la faire bouillir pendant au moins une minute ou alors la désinfecter avec de l'eau de Javel (diluer 1 à 2 gouttes dans un litre et attendre ½ heure avant la consommation) ou de la chloramine T Hydrochlorazone® (dissoudre 1 comprimé par litre d'eau à traiter et attendre impérativement 1 heure avant l'utilisation de l'eau).

On conseillera aux populations des pays en voie de développement ainsi qu'aux voyageurs se rendant dans les régions tropicales et subtropicales de boire de préférence l'eau en bouteille décapsulée devant soi et d'éviter le plus possible la consommation de glaçons et de glaces (Fischer et Sohail, 2005).

Enfin, le dépistage et le traitement systématique des porteurs sains pourraient permettre de contrôler la blastocystose mais cela n'est pas effectué en pratique puisqu'on ne traite que lorsqu'il y a une symptomatologie clinique étant donné que le rôle pathogène de ce parasite est encore discuté.

# PARTIE EXPERIMENTALE

**OBJECTIF :**

L'objectif de cette enquête prospective était de déterminer l'incidence de *Blastocystis sp* dans quelques élevages bovins dans les deux régions Alger et Boumerdes. Nous avons tenté également de révéler l'influence de certains facteurs épidémiologiques sur le développement de l'infection au sein de ces élevages, en particulier les infections intercurrentes par d'autres protozoaires digestifs, notamment, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Eimeria*, car *Blastocystis* serait pathogène surtout en association.

**1. MATERIELS ET METHODES****1.1.Echantillonnage**

Notre Etude a été réalisée au niveau de deux régions du nord du pays ; Boumerdes qui est une wilaya côtière à vocation agricole, située au centre et s'étend sur une superficie de 1 456,16 km<sup>2</sup> avec 100 km de profil littoral allant du cap de Boudouaou El Bahri à l'ouest. Sur le plan agricole la région est caractérisée par la disponibilité de l'aliment de bétail et la hausse du nombre d'éleveurs bovins, estimé actuellement à 2500, avec un cheptel bovin qui compte 16.000 têtes, dont 10.000 vaches laitières à haut rendement lactaire. Par contre Alger est une région de 1 190 km<sup>2</sup> de superficie de nature urbaine où les élevages bovins sont assez rares et se situent en générale à la périphérie des zones urbaines.

Dans la période allant de Novembre 2014 à Mars 2015, un total de 280 échantillons de matières fécales par bovin ont été récoltés, parmi lesquels 93 sont des mâles et 187 sont des femelles, la plus part des fermes étudiées sont représentées par des petites localités qui pratiquent un élevage semi extensif traditionnel sauf pour quelques exploitations qui pratiquent un élevage intensif type laitier ou à viande et dont l'effectif ne dépasse pas les 35 animales.

Selon l'âge, la population étudiée a été divisée en 4 catégories :Nouveaux nés âgés moins de 1 mois (14), veaux âgés entre 1 et 6 mois (33), jeunes bovins âgés entre 6 et 12 mois (66) et adultes de plus de 12 mois (167).

En général, les mesures d'hygiène ne sont pas respectées dans la totalité des élevages et compris la séparation d'animaux de différentes catégories d'âge, à part l'institut technique des élevages de Baba-Ali ITELV qui respecte ces mesures.

En tout, notre enquête a concerné 48 élevages situés dans 17 communes des deux régions Alger et Boumerdes comme le rapporte le tableau suivant :

**Tableau 3 : Régions de répartition des élevages suivis**

Région	Commune	Nombre d'élevages	Nombre de prélèvements
Alger (112 prélèvements)	REGHAIA	6	31
	REGHAIA PLAGES	1	3
	ROUIBA	3	29
	AIN-TAYA	2	10
	HEROUA	2	20
	BABA-ALI	2	19
Boumerdes (168 prélèvements)	BOUDOUAOU	5	25
	BOUDOUAOU PLAGES	2	7
	KHEROUBA	1	4
	CORSO	5	18
	TIDJELABINE	2	8
	BOUMERDES	1	5
	LAKHDARIA	2	20
	KHEMIS EL KHECHNA	7	48
	ARBATAACHE	2	15
	OULED MOUSSA	5	18

## 1.2. Prélèvement

Un total de 280 prélèvements de matières fécales a été réalisé entre Novembre 2014 et Mars 2015 en raison de 10 à 20 prélèvements par semaine

Chez les veaux les fèces sont récupérées par stimulation de l'orifice anal des animaux dans des pots stériles hermétiquement fermés et étiquetés. Chez les animaux adultes les selles sont

récoltées directement à partir du rectum à l'aide de gants propres. Ensuite les prélèvements sont conservés à une température de +4 puis acheminés au Laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger pour analyse parasitologique réalisée dans les 24 heures suivant leur émission.

Chaque prélèvement a été identifié d'abord sur l'étiquette de la boîte dont les renseignements mentionnés sont :

- Age de l'animal
- Sexe
- Consistance des matières fécales

### **1.3. Technique d'analyse des prélèvements**

L'analyse des échantillons fécaux est réalisée au niveau du laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger, chaque prélèvement coprologique a fait l'objet de 3 techniques parasitologiques qui sont :

L'examen microscopique direct

Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Redly (Allen et *al.*, 1997)

Technique de coloration de Zeihl Neelsen modifiée (Henriksen et *al.*, 1981).

#### **1.3.1. L'examen microscopique direct**

L'examen direct est le temps majeur de l'examen coproparasitologique. On dit parfois que dix examens directs bien effectués sont souvent plus intéressants et plus fiables que deux concentrations hâtivement lues.

A l'aide d'une fine baquette on prélève des selles en superficie et en profondeur à différents endroits en privilégiant les zones où des anomalies sont patentées (mucus sanglant).

Ces petites particules de matière fécale seront diluées sur lame dans une goutte de soluté NaCl à 9 pour 1000, éventuellement tiédi.

La dilution doit être suffisante pour que, après écrasement sous une lamelle, il soit possible de reconnaître les caractères d'un journal à travers la préparation.

L'écrasement se fera avec le doigt protégé par un papier buvard et des doigtiers ou des gants protecteurs (absorption de l'excès de liquide et hygiène individuelle).

On lit toute les préparations aux objectifs faibles et on regarde au moins une centaine de champs microscopiques à l'objectif **X40**.

Cette technique permet d'observer les différentes formes de *Blastocystis* retrouvées dans les selles. Généralement la forme vacuolaire est prédominante, elle est considérée comme la forme typique de reconnaissance de *Blastocystis* sp. de forme sphérique, sa taille varie en moyenne entre 4 et 15 micromètres. La forme granulaire de *Blastocystis* sp. est morphologiquement identique à la forme vacuolaire, elle est caractérisée par la présence de granules dans le cytoplasme et la vacuole centrale d'où elle tire son nom, En cas de diarrhée importante, il est possible de voir la forme amiboïde avec des pseudopodes qu'il est parfois difficile de différencier des leucocytes ou des amibes. Les kystes sont de plus petite taille que les autres formes citées, allant de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, le plus souvent d'une forme sphérique, et comportent une paroi plus ou moins épaisse.

### **1.3.2. Technique de concentration de Ritchie simplifié par Allen et Redly**

#### ➤ **Principe :**

Il s'agit d'une technique d'enrichissement qui permet, à partir de la grande quantité de matières fécales recueillies, d'obtenir dans un faible volume les kystes voire les formes végétatives fixées de parasites par élimination des résidus de la digestion.

Pour ce faire, on joue sur les densités et affinités différentes de ces résidus et des parasites recherchés (*Blastocystis*, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Eimeria*...). Le principe de cette techniques est donc de mélanger les selles avec une solution de formol à 10% puis d'agiter le tout avec de l'éther avant de centrifuger pour recueillir œufs et kystes

#### ➤ **Mode opératoire :**

-Déposer à peu près 5 grammes de matières fécales dans un verre à pied conique.

-Verser dans le verre à pied conique un volume de formol à 10%, 2 à 3 fois supérieure à la quantité de selles déposées.

-Agiter le mélange à l'aide d'un agitateur en verre, jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.

-Pour éliminer les particules alimentaires non fragmentées (peaux de légumes parexemple), le diluât obtenu est filtré à travers une passoire (forme chinois) à mailles de 1 mm<sup>2</sup> environ et de 7 cm d'ouverture et recueilli dans un autre verre à pied.

-Un peu de liquide propre permet de rincer la passoire et d'emporter les éventuels œufs restés dans les mailles. La passoire, après usage, sera brossée et flambée (destruction d'œufs éventuellement restés accrochés dans les mailles).

-Après moins d'une minute le filtrat sera transvasé lentement dans un autre verre ou directement utilisé. Ces quelques secondes de sédimentation permettent aux petits éléments lourds de tomber dans le fond du verre à pied.

-le filtrat est versé dans un tube à centrifuger à fond conique en le remplissant à moitié ou aux deux tiers.

-On ajoute de l'éther en laissant un espace vide au-dessus de la couche étherée pour permettre une bonne agitation.

-Le tube bouché à la main protégée d'un gant (matériau non soluble dans l'éther) est alors agité énergiquement pendant au moins trente secondes à une minute, Il faudra prendre garde aux possibles petites projections d'éther souillé en retirant la main de l'orifice du tube.

-La suspension éthéro-liquide obtenue est centrifugée à une vitesse lente de l'ordre de 1500 à 2000 tours/minute pendant trois à cinq minutes.

-Après centrifugation, les constituants de la suspension sont répartis en quatre couches :

. Couche superficielle d'éther coloré par les corps éthéro-solubles (graisses diverses)

. Couche épaisse et adhérent aux parois du tube, contenant les résidus lipophiles

. Couche de solution aqueuse de dilution colorée par les corps hydrosolubles

. Culot devant contenir les parasites et qui doit être aussi petit que possible voire presque indiscernable à l'œil nu.

- . Décoller la couche des résidus lipophiles à l'aide d'une baguette de verre.

. Jeter le surnageant composé de 03 couches superficielles et garder le culot.

- Retourner alors le tube et ajouter une goutte de solution isotonique pour remettre en suspension le culot qui sera examiné.

-Le culot sera prélevé à la pipette Pasteur mais il est impératif de ne pas aspirer. Le liquide devra monter par capillarité dans l'effilure, au besoin en penchant légèrement le tube. En aspirant on risquerait, en effet, que le culot ne montât au-delà de l'effilure et que les parasites recherchés et le liquide se répartissent sur toute la surface interne de la pipette Pasteur : tout

serait alors à refaire.

Deux lames sont préparées à partir de chaque prélèvement, la première pour la recherche de *Blastocystis*, *Giardia* et d'autres parasites après un examen direct sous microscope optique et la deuxième pour la coloration de Ziehl Neelsen modifiée qui permet la détection des oocystes de *Cryptosporidium*.

➤ **Lecture :**

déposer une goutte du culot déposer sur une lame , mélanger avec une goutte de lugol (facultatif), couvrir d'une lamelles et examiner à l'objectif **X10** puis **X40** pour la recherche de kystes et d'autres formes de *Blastocystis*, *Giardia*, *Eiméria* et d'autres protozoaires .

➤ **Matériel utilisé :**

- Verre à pied conique.
- Agitateur en verre.
- Lames porte-objet.
- Lamelles 22x22 mm.
- Portoirs.
- Balance électrique.
- Pissette.
- Pipette Pasteur.
- Tubes coniques en verre avec bouchon en caoutchouc.
- Centrifugeuse.
- Microscope optique.

➤ **Réactifs :**

- Eau formolé à 10% (préparé à partir d'une solution à 37%).
- Ether diéthylique.

### 1.3.3. Technique de coloration de Ziehl Neelsen modifiée

C'est la technique de coloration de référence utilisée pour l'identification spécifique de Cryptosporidies (Henriksen et *al.*, 1981).

➤ **Mode opératoire :**

### 1-Confection d'un frottis fécal

Le frottis doit être mince et adhérent à la lame.

Ce frottis est réalisé à partir du culot de centrifugation de la méthode de Ritchie simplifiée déjà décrite.

A l'aide d'une pipette Pasteur, on prélève 1 à 2 gouttes du culot de centrifugation, après une légère homogénéisation. Sur deux lames bien dégraissées et numérotées par grattage à l'aide d'un diamant de préférence, pour une bonne reconnaissance ultérieure, déposer la goutte à l'une des extrémités de la lame, la mettre en contact avec le bord d'une autre lame; la goutte diffuse sur le bord de la lame par capillarité, ensuite l'étaler sur toute la surface de la lame et d'une manière continue en zigzag, sans revenir au point de départ, on obtient alors un frottis mince avec plusieurs épaisseurs, c'est le cas d'un bon frottis.

Laisser sécher à l'air jusqu'à une nuit.

### 2- Fixation, coloration du frottis

- Fixer le frottis au méthanol pendant 5 minutes.
- Laisser sécher à l'air ou par agitation.
- Colorer dans une solution de fuschine phéniquée pendant 60 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet
- Tremper dans une solution d'acide sulfurique à 2 % pendant 20 secondes (Pour décolorer et éliminer les débris et les autres micro-organismes)
- Rincer à l'eau du robinet
- Contre colorer avec une solution de vert malachite à 5 % pendant 5 minute (Tout va être coloré en vert sauf les Cryptosporidies qui gardent la coloration rouge)
- Rincer à l'eau du robinet
- Laisser Sécher à l'air ou par agitation.

#### ➤ **Lecture :**

Les cryptosporidies apparaissent en rouge sur fond vert ou bleu et sont donc faciles à repérer à l'objectif **X40** et à diagnostiquer à l'immersion (objectif **X100**).

Ce sont des éléments ronds à ovoïdes de 4-6  $\mu\text{m}$  de diamètre en moyenne, la paroi est épaisse, dans le cytoplasme il y a une zone centrale ou latérale plus claire, non colorée qui correspond au corps résiduel (reliquat oocystal), et en périphérie ou au centre des granulations noirâtres au nombre de quatre ou plus, qui correspondent aux sporozoïtes.

La lecture doit être faite sur toute la surface de la lame de haut en bas et de gauche à droite, et la présence d'un seul oocyste sur toute la surface de la lame suffit pour considérer le prélèvement correspondant comme positif (animal infecté).

➤ **Matériel :**

- Lames bien dégraissées (avec un mélange Alcool-Ether)
- Pipette Pasteur
- Bacs à coloration
- Pincettes
- Minuterie
- Microscope optique
- Eau de robinet

➤ **Réactifs :**

- Méthanol pur
- Fuschine phénique de Ziehl modifiée préparée de la manière suivante :

- Solution A :

- a. fuchsine basique.....15g
- b. Ethanol à 95%.....100 ml

- Solution B :

- a. phénol.....5 g
- b. (eau distillée.....100ml)

Pour préparer 100 ml de Fuschine phénique, on mélange 10 ml de la solution A et 90 ml de la solution B. Ensuite on laisse le réactif reposer, puis filtrer à travers un papier filtre avant l'emploi.

- Acide sulfurique à 2% (mélange de 196ml d'eau distillée et de 4ml d'acide sulfurique à 96%).
- Vert de Malachite à 5% : préparer après mélange de 5 g de vert de Malachite en poudre dans 100 ml d'eau. Laisser le réactif reposer puis filtrer à travers un papier filtre.

#### **1.4.Utilisation des tests statistiques :**

La prévalence était d'abord estimée au sein de la population globale c'est-à-dire l'ensemble des animaux contrôlés. Ensuite, la prévalence était estimée dans des sous-populations : les animaux ont été classés par âge, par sexe, et par statut clinique. Afin de comparer d'éventuelles différences entre les résultats de prévalence dans ces sous-populations, des tests statistiques ont été appliqués à ces résultats. Pour comparer entre eux les pourcentages observés, nous avons utilisé le test du khi2. Le khi2 a été calculé en reprenant les formules données par Toma et al. (1996). L'indice khi2 calculé a ensuite été comparé à la valeur donnée dans la table du même ouvrage. La table donne, avec un seuil de signification, la valeur que le khi2 calculé doit égaler ou dépasser pour que la différence entre les pourcentages soit significative, c'est-à-dire non due au hasard.

## 2. RESULTATS

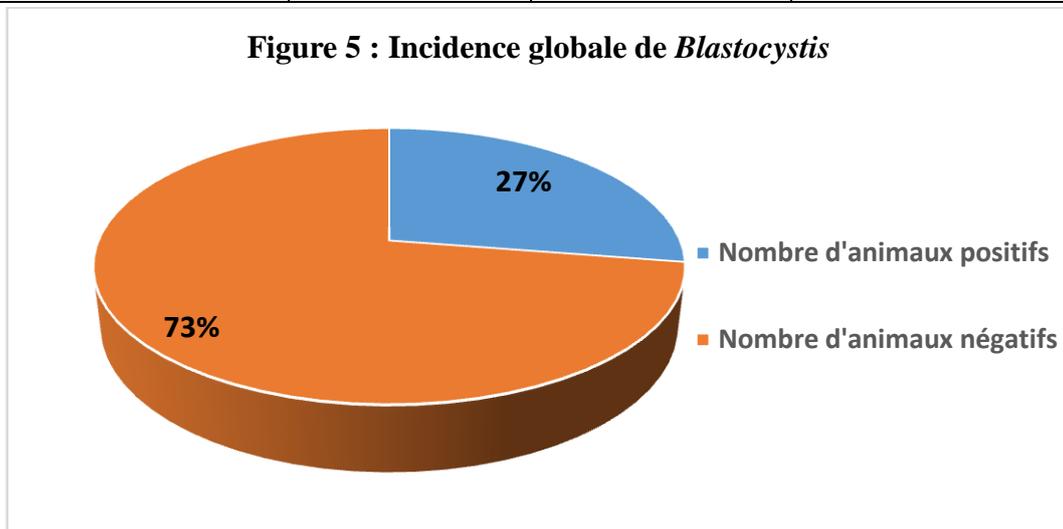
### 2.1. Incidence de *Blastocystis*

Dans l'échantillon considéré de 280 bovins, 77 animaux étaient positifs au *Blastocystis*. La prévalence trouvée pour l'échantillon est :  $77 / 280$ , soit un taux de prévalence de 27,5%. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [22,2% ; 32,7%].

**Tableau 4 :** Incidence globale de l'infection par *Blastocystis* dans les élevages étudiés

Nombre total de prélèvements	Nombre de cas positif	Taux d'Incidence	Intervalle de confiance Risque 5%
289	77	27.5%	[22,2% ; 32,7%]

**Figure 5 :** Incidence globale de *Blastocystis*

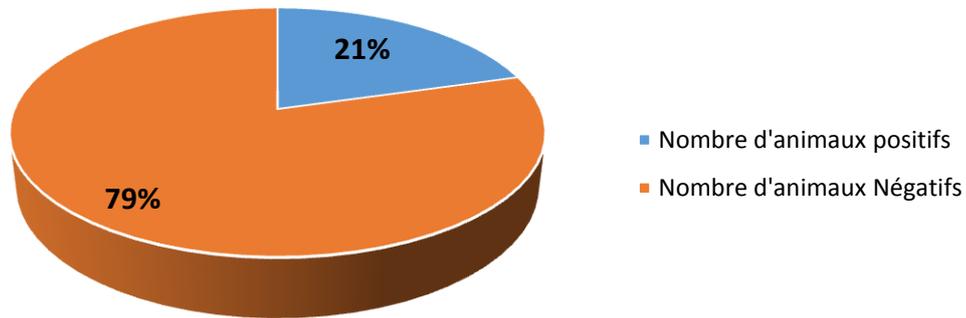
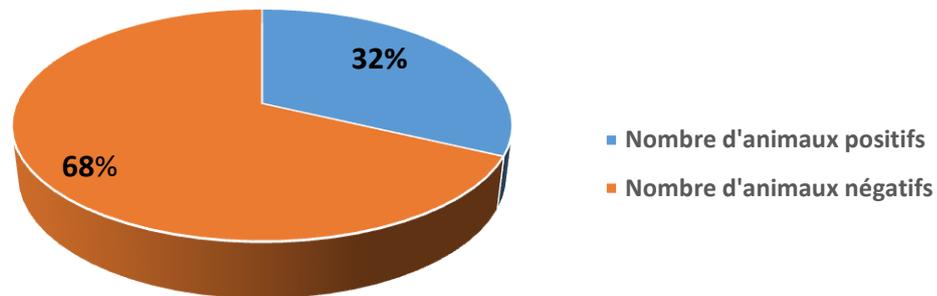


### 2.2. Incidence de *Blastocystis* en fonction de la région

**Tableau 5 :** Incidence de *Blastocystis* dans chaque région

Région	Alger	Boumerdes
Nombre de prélèvements	112	168
Nombre de cas positifs	23	54
Taux d'Incidence	20,54%	32,14%
IC Risque 5%	[13,1% -28,02%]	[25,08 – 39,20]

IC: Intervalle de confiance.

**Figure 6: Incidence de *Blastocystis* dans la région d'Alger****Figure 7: Incidence de *Blastocystis* dans la région de Boumerdes**

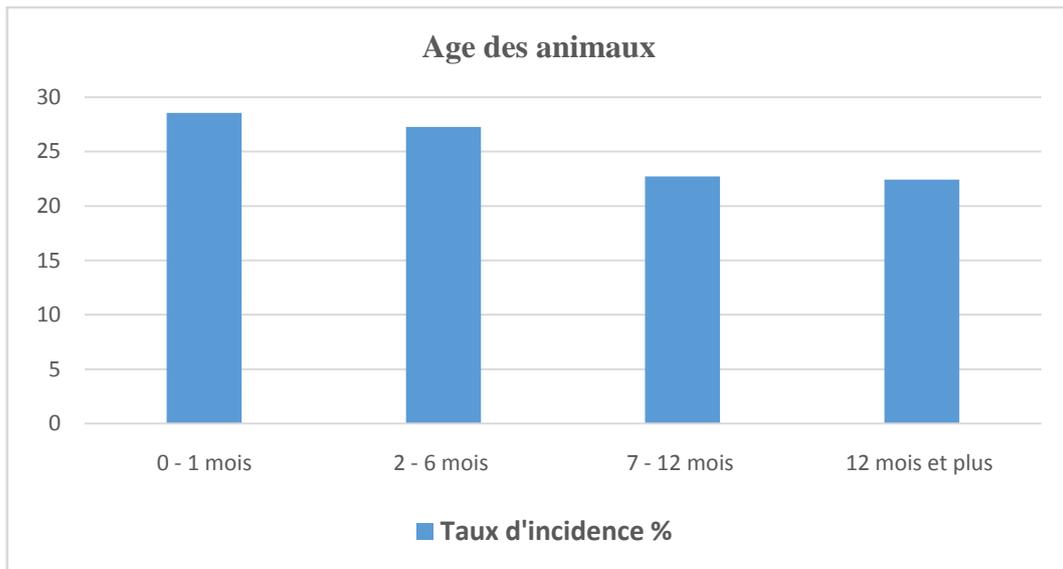
L'analyse statistique par le test khi2 d'indépendance révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre la fréquence d'isolement de *Blastocystis* au sein des élevages de la région d'Alger et celle observé dans les fermes de la région de Boumerdes.

### 2.3. Influence de l'âge.

**Tableau 6 : Présence de *Blastocystis* en fonction de l'âge des animaux**

Age des animaux	0 - 1 mois	2 - 6 mois	7 - 12 mois	>12 mois
Nombre total de bovins	14	33	66	167
Nombre de cas positif	4	9	15	49
Taux d'Incidence	28,57%	27,27%	22,73%	22,44%
IC Risque 5%	[4,91%- 52,24%]	[12,08 %- 42,47%]	[12,62- 32,84%]	[20,16%- 37,23%]

IC: Intervalle de confiance.



**Figure 8:** Présence de *Blastocystis* en fonction de l'âge des animaux

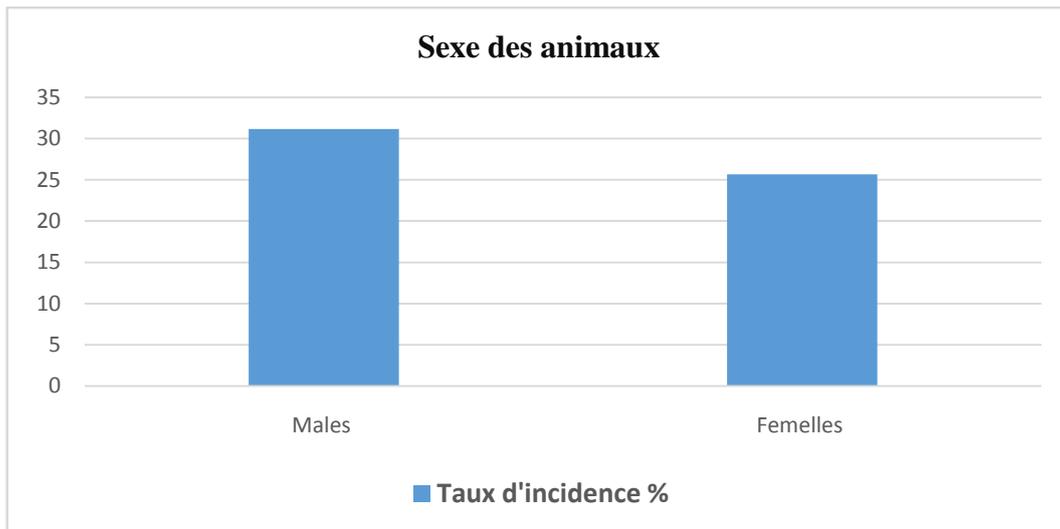
Une plus importante sensibilité au *Blastocystis* est observée chez les veaux âgés entre 0 et 1 mois, avec une différence d'isolement du protozoaire hautement significative entre les différentes classes d'âges ( $p < 0,05$ ).

#### 2.4. Influence du sexe

Parmi les 280 bovins étudiés, il y avait 93 males 187 femelles. Parmi eux on a trouvé 29 males et 48 femelles positives au *Blastocystis*.

**Tableau 7 :** Présence de *Blastocystis* en fonction du sexe des animaux

Sexe	Male	Femelle
<b>Nombre total de bovins</b>	93	187
<b>Nombre de cas positifs</b>	29	48
<b>Taux d'Incidence</b>	31,18 %	25,66
<b>Intervalle de confiance</b>	[21,76% - 40,59%]	[19,40 - 31,92%]



**Figure 9 :** Présence de *Blastocystis* en fonction du sexe des animaux

D'après ce tableau le nombre de males infectés apparaît plus important par rapport au nombre de femelles positives au *Blastocystis*, l'analyse statistique ne révèle pas une différence significative du portage de *Blastocystis* entre les deux sexes ( $p > 0,05$ ).

### 2.5. Influence de la présence de diarrhée

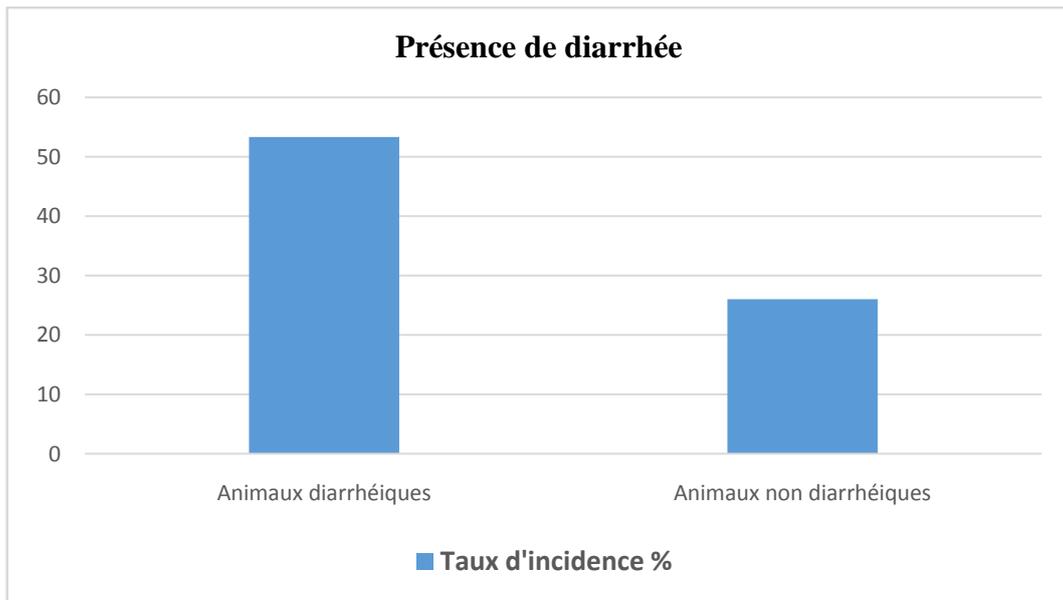
On cherche à savoir si la présence de diarrhées est statistiquement liée à la présence du parasite.

Parmi les 280 bovins étudiés, 15 animaux présentaient des diarrhées. L'incidence trouvée pour cette catégories est : 8 / 15, soit un taux de prévalence de 53,33%. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [28.08% - 78.57%].

Parmi les 265 bovins non diarrhéiques, 69 étaient positifs au *Blastocystis*. Le taux d'incidence trouvée pour cette catégorie est 26 %. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [20,71% - 31,28%].

**Tableau 8 :** Présence de *Blastocystis* en fonction de la présence de diarrhée des animaux

Statut clinique	Animaux diarrhéiques	Animaux non diarrhéiques
Nombre total de bovins	15	265
Nombre d'animaux positifs	8	69
Taux d'Incidence	53.33%	26%
Intervalle de confiance	[28.08% - 78.57%]	[20,71% - 31,28%]



**Figure 10 :** Présence de *Blastocystis* selon le statut clinique des animaux

Le test khi deux d'indépendance révèle que l'implication de *Blastocystis* est fortement liée au statut clinique de l'animal. Donc ce parasite reste plus rencontré chez les individus diarrhéiques par rapport à aux non diarrhéiques ( $p < 0,05$ ).

## 2.6. Influence des infections parasitaires concomitantes

Etant donné la présence de *Giardia*, *Cryptosporidium* et *Eimeria* chez de nombreux animaux dans notre enquête, il nous a paru intéressant d'exploiter ces trois protozoaires en dehors du *Blastocystis* puis d'apprécier leur association avec.

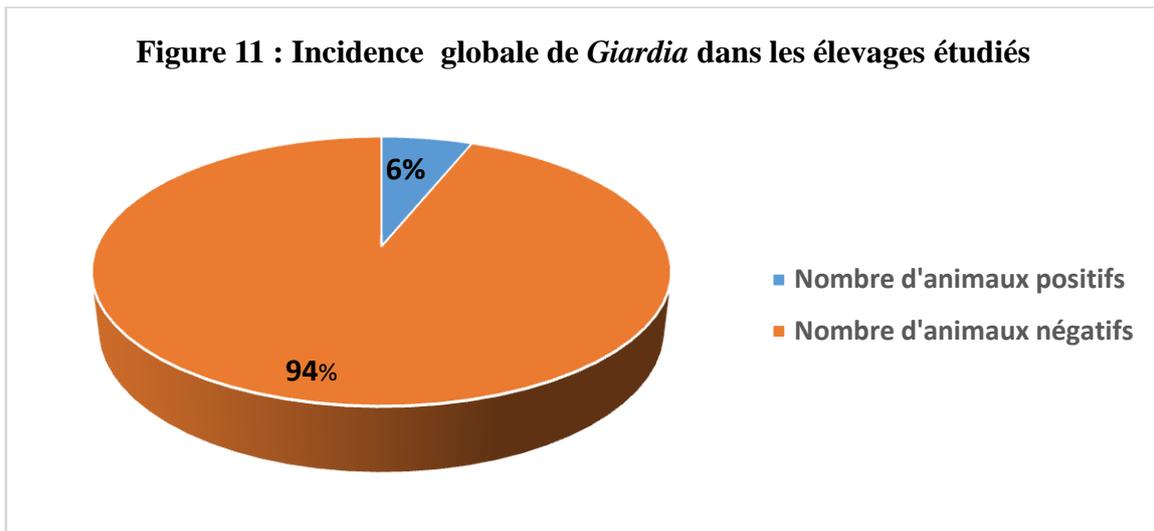
### 2.6.1. *Giardia duodenalis*

#### 2.6.1.1. Incidence globale

Dans l'échantillon considéré de 280 bovins, 17 animaux étaient positifs au *Giardia duodenalis*. L'incidence trouvée pour l'échantillon est :  $17 / 280$ , soit un taux de prévalence de 6,07%. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% : [3,27% - 8,87%].

**Tableau 9:** Incidence de l'infection par *Giardia* dans les élevages étudiés

Nombre total de prélèvements	Nombre de cas positif	Taux d'incidence	Intervalle de confiance Risque 5%
280	17	6.07%	[3,27% -8,87%]

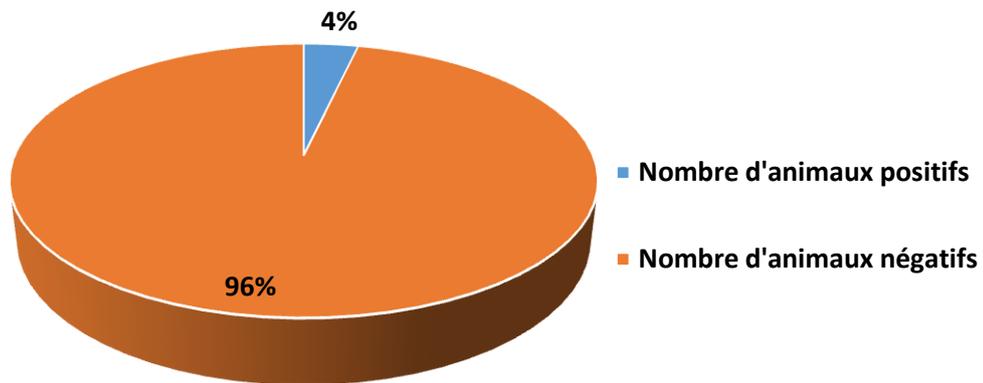
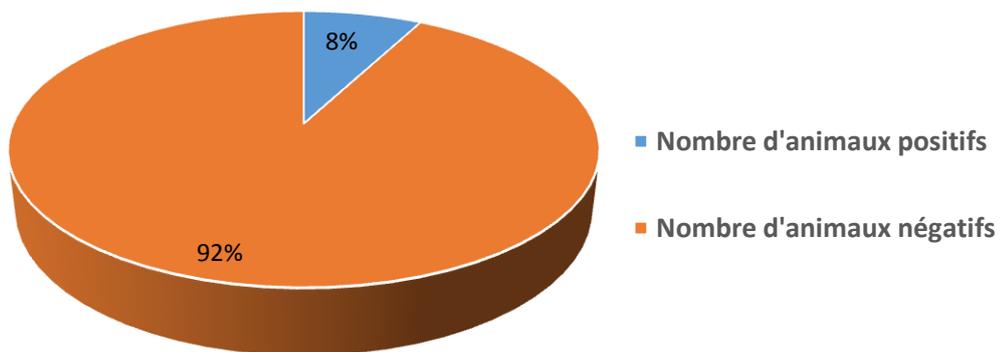
**Figure 11 :** Incidence globale de *Giardia* dans les élevages étudiés

### 2.6.1.2. Prévalence de *Giardia* en fonction de la région

**Tableau 10 :** Incidence de *Giardia* dans chaque région

Région	Alger	Boumerdes
Nombre de prélèvements	112	168
Nombre de cas positifs	4	13
Taux d'incidence	3,57 %	7,74%
Risque 5%	[0,13% - 7,01%]	[3,70% – 11,78%]

IC: Intervalle de confiance

Figure 12 : Incidence de *Giardia* dans la région d'AlgerFigure 13 : Incidence de *Giardia* dans la région de Boumerdes

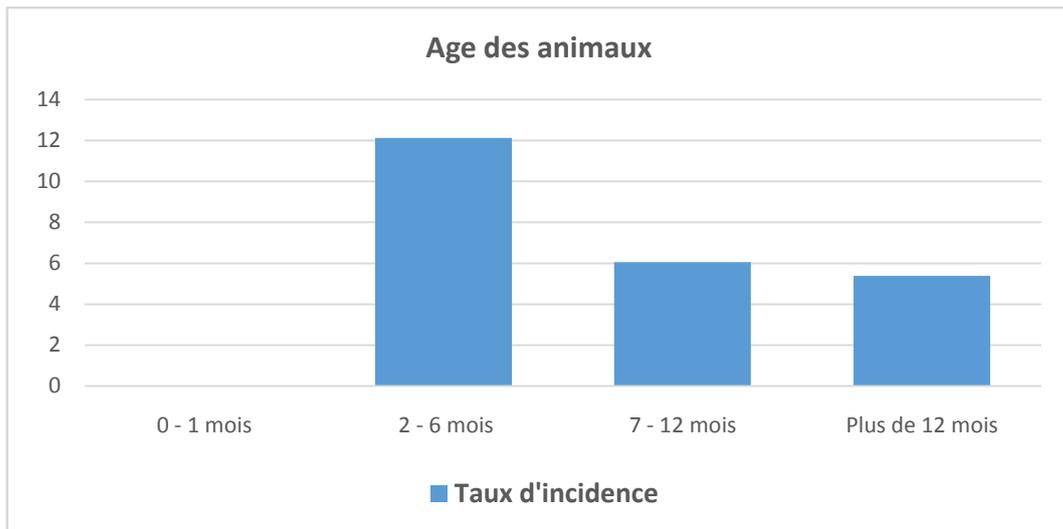
L'analyse statistique révèle une différence non significative entre la prévalence de *Giardia* dans les élevages de la région d'Alger et ceux de la région de Boumerdes ( $p > 0,05$ ).

### 2.6.1.3. Présence de *Giardia* en fonction de l'âge des animaux

Tableau 11 : Présence de *Giardia* en fonction de l'âge des animaux

Age des animaux	0 – 1 mois	2– 6 mois	7 – 12 mois	>12 mois
Nombre total de bovins	14	33	66	167
Nombre de cas positif	0	4	4	9
Taux d'incidence	0%	12,12%	6,06%	5,39%
IC Risque 5%	/	[0,99%- 23,26%]	[0,30%- 11,82%]	[1,96%- 8,81%]

IC: Intervalle de confiance.



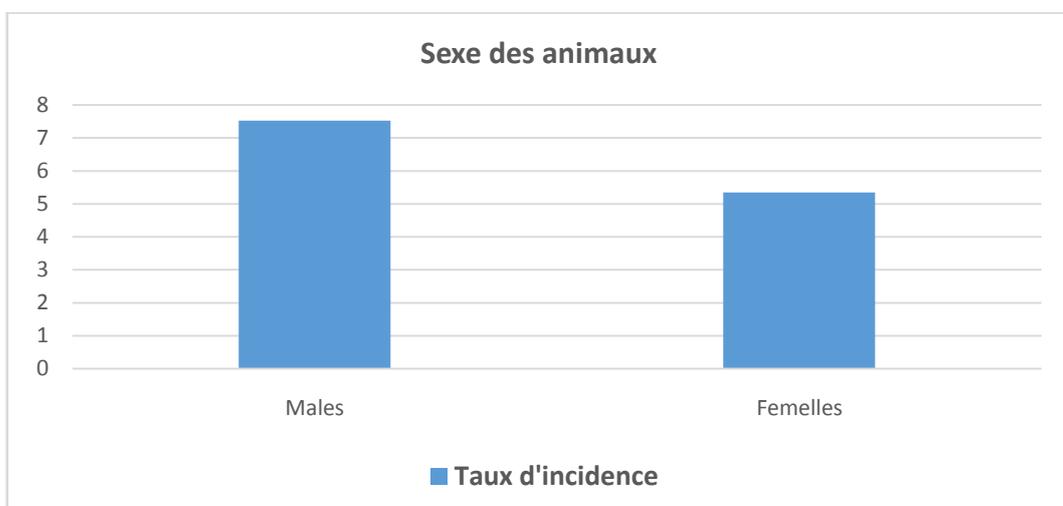
**Figure 14 :** Présence de *Giardia* en fonction de l'âge des animaux

Malheureusement le faible nombre de cas positifs ne nous a pas permis d'appliquer les tests statistiques.

#### 2.6.1.4. Présence de *Giardia* en fonction du sexe des animaux

**Tableau 12 :** Présence de *Giardia* en fonction du sexe des animaux

Sexe	Male	Femelle
Nombre total de bovins	93	187
Nombre de cas positifs	7	10
Taux d'incidence	7,53%	5,35%
Intervalle de confiance	[2,16% - 12,89%]	[2,12% - 8,57%]



**Figure 15 :** Présence de *Giardia* en fonction du sexe des animaux

Le test khi deux d'indépendance ne révèle aucune différence significative entre la fréquence d'isolement de *Giardia* chez les mâles et celles observée chez les femelles ( $p > 0,05$ ).

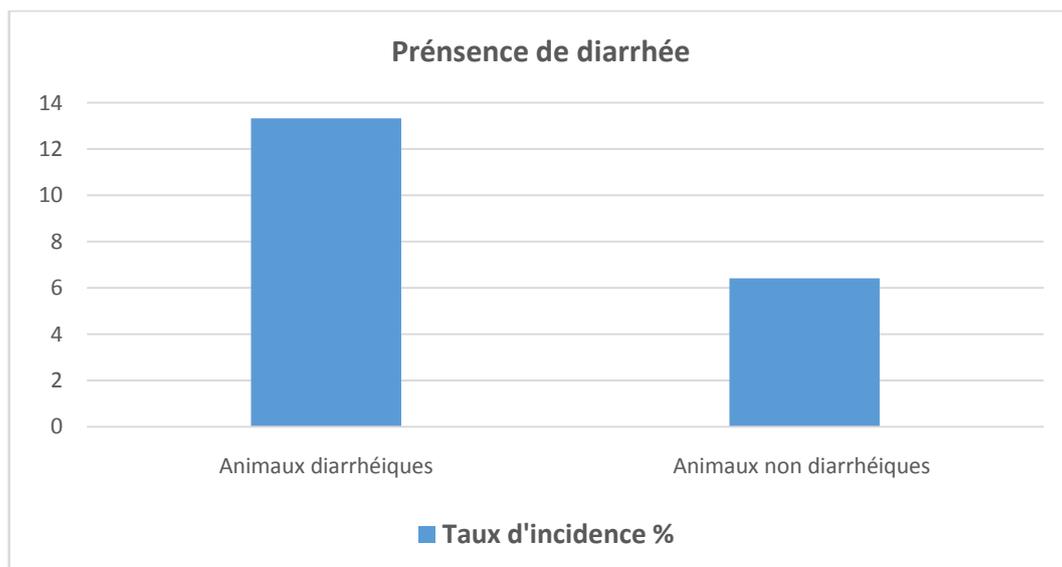
### 2.6.1.5. Présence de *Giardia* en fonction de la présence de diarrhée chez les animaux

Parmi les 15 bovins diarrhéiques, 2 animaux étaient positifs à *Giardia duodenalis*. Soit un taux de prévalence de 13,33 %. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [0 % – 30.53%].

Parmi les 265 bovins non diarrhéiques, 17 étaient positifs à *Giardia*. Le taux d'incidence trouvée pour cette catégorie est 6,41 %. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [3,46% - 9,35%].

**Tableau 13** : Présence de *Giardia* en fonction du statut clinique des animaux

Statut clinique	Animaux diarrhéiques	Animaux non diarrhéiques
Nombre total de bovins	15	265
Nombre d'animaux positifs	2	17
Taux d'incidence	13.33%	6,41%
Intervalle de confiance	[0% - 30.53%]	[3,46% - 9,35%]



**Figure 16** : Présence de *Giardia* en fonction du statut clinique des animaux

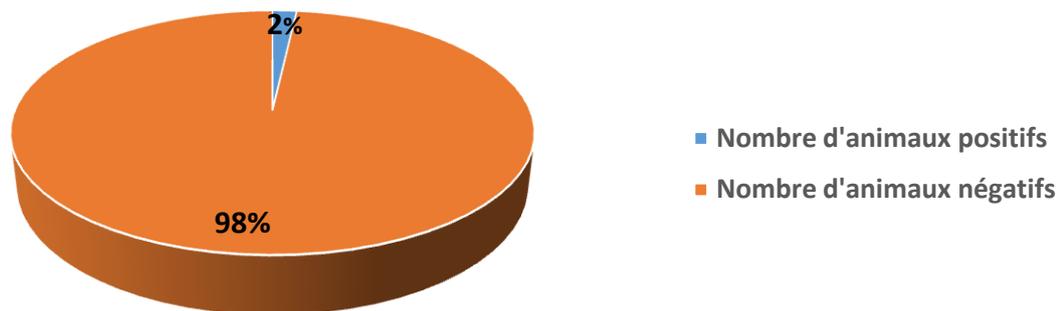
En appliquant le test Khi deux d'indépendance, il ressort bien que la différence entre la fréquence d'isolement du *Giardia* chez les animaux diarrhéiques et les non diarrhéiques est non significative ( $p$  supérieure à 0,05).

#### 2.6.1.6. Prévalence de l'association *Blastocystis-Giardia* :

**Tableau 14** : Incidence de l'association *Blastocystis-Giardia* dans les élevages étudiés

Nombre total de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs au <i>Blastocystis</i>	Nombre de prélèvements positifs à <i>Giardia</i>	Nombre de prélèvements positifs aux deux parasites	Taux d'Incidence	Intervalle de confiance
280	77	17	5	1,78 %	[0,23% - 3,32%]

**Figure 17** : Incidence de l'association *Blastocystis-Giardia* dans les élevages étudiés



Le nombre de bovins présentant une infection mixte (**5 cas**) observé dans l'ensemble de la région Alger-Boumerdes montre une différence hautement significative ( $p < 0,05$ ) avec le nombre de cas positifs aux *Blastocystis* seul (**77 cas**) et celui positifs à *Giardia* seul (**17 cas**).

Donc l'infection mixte avec les deux parasites dans tous les élevages reste beaucoup moins importante que la Blastocystose seule ou la Giardiose seule.

## 2.6.2. *Cryptosporidium*

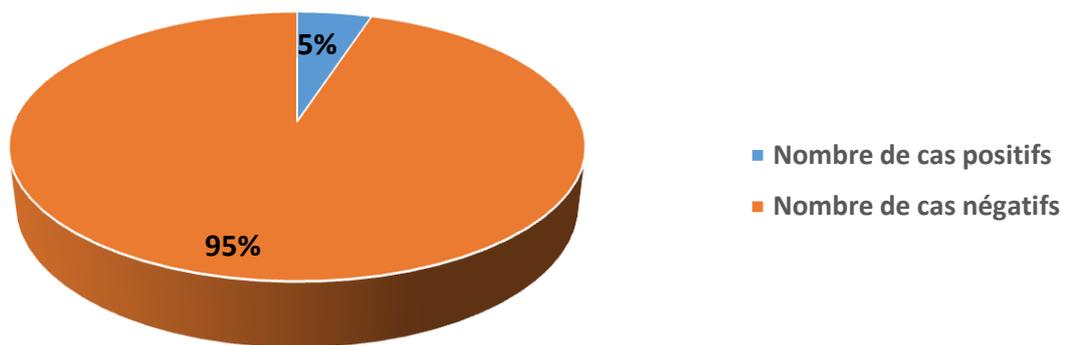
### 2.6.2.1. Incidence globale :

Dans l'échantillon considéré de 280 bovins, 14 animaux étaient positifs au *Cryptosporidium*. L'incidence trouvée pour l'échantillon est :  $14 / 280$ , soit un taux d'incidence de 5 %. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% : [2,44% – 7,55%].

**Tableau 15 :** Incidence globale de l'infection par *Cryptosporidium* dans les élevages étudiés

Nombre total de prélèvements	Nombre de cas positif	Taux d'incidence	Intervalle de confiance Risque 5%
280	14	5 %	[2,44% ; 7,55%]

**Figure 18 :** Incidence globale de l'infection par *Cryptosporidium* dans les élevages étudiés



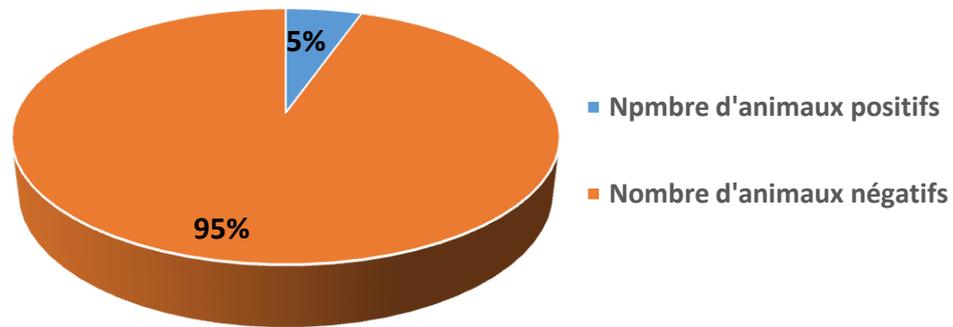
### 2.6.2.2. Incidence de *Cryptosporidium* en fonction de la région

**Tableau 16 :** Incidence de *Cryptosporidium* dans chaque région

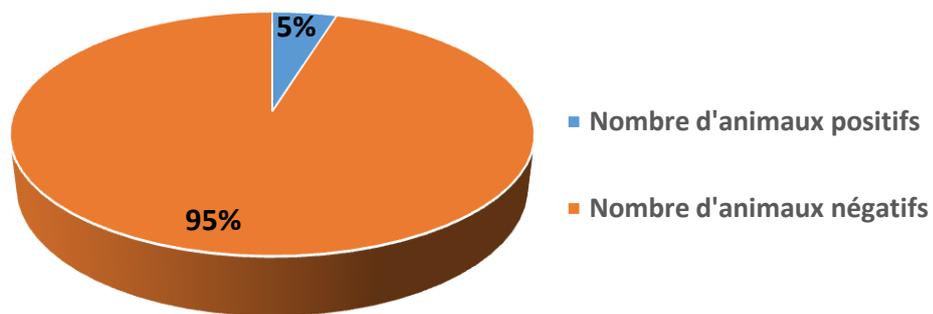
Région	Alger	Boumerdes
Nombre de prélèvements	112	168
Nombre de cas positifs	6	8
Taux d'incidence	5,36%	4,76%
IC Risque 5%	[1,19% - 9,53%]	[1,54% - 7,98%]

IC: Intervalle de confiance

**Figure 19: Incidence de *Cryptosporidium* dans la région d'Alger**



**Figure 20 : Incidence de *Cryptosporidium* dans la région de Boumerdes**



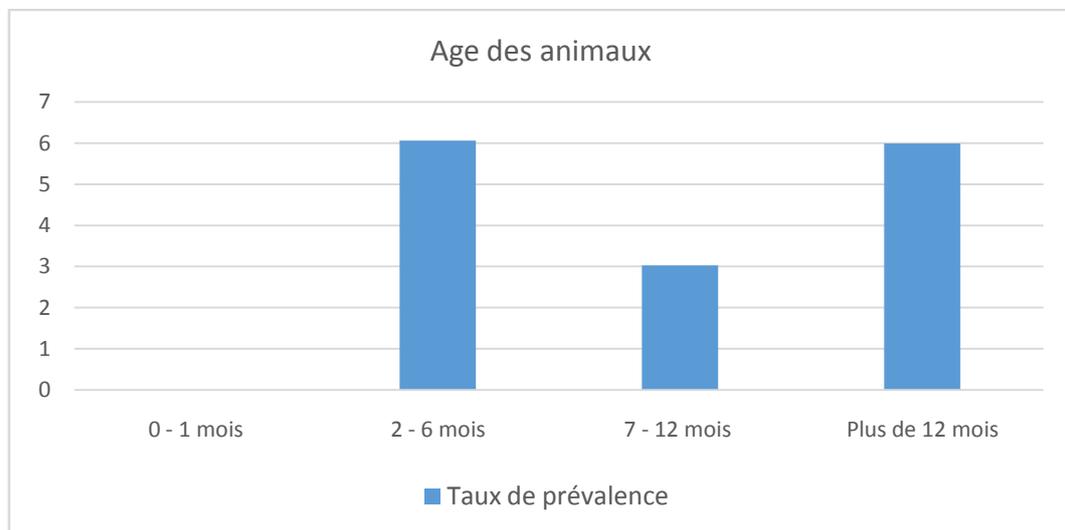
Aucune différence significative n'a été met en évidence par le test khi deux d'indépendance entre la fréquence d'isolement de *Cryptosporidium* dans les élevages de la région d'Alger et celle observé dans les élevages de la région de Boumerdes ( $p > 0,05$ ).

### 2.6.2.3. Présence de *Cryptosporidium* en fonction de l'âge des animaux

**Tableau 17** : Présence de *Cryptosporidium* en fonction de l'âge des animaux

Age des animaux	0 – 1 mois	2– 6 mois	7 – 12 mois	>12 mois
Nombre total de bovins	14	33	66	167
Nombre de cas positif	0	2	2	10
Taux d'incidence	0%	6,06%	3,03%	5,99%
IC Risque 5%	/	[0%-14 ,20%]	[0%-7,17%]	[2,39%-9,59%]

IC : Intervalle de confiance.



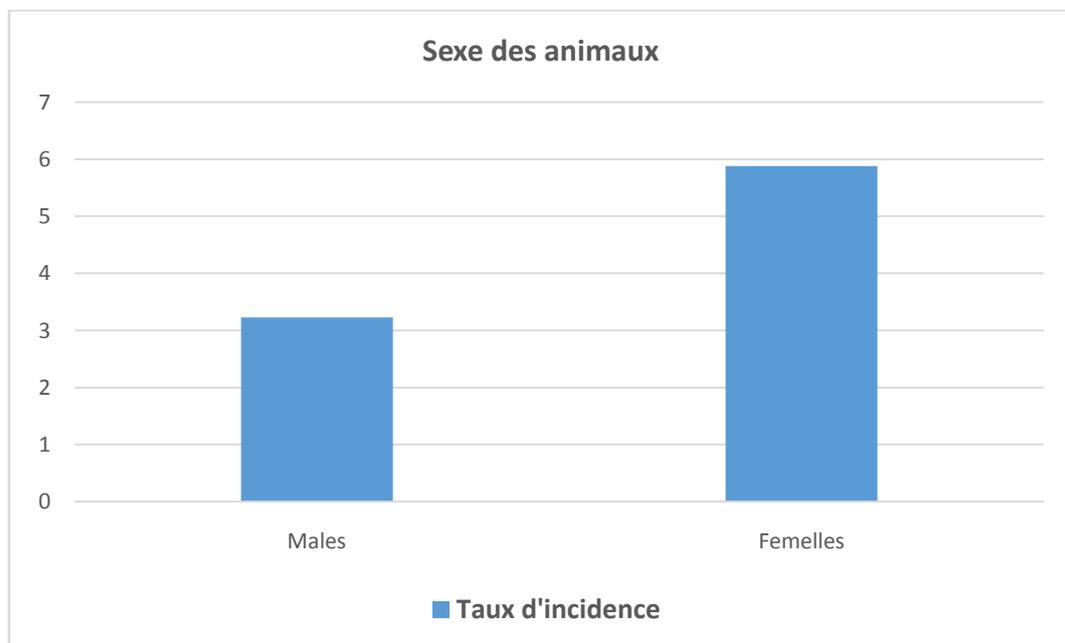
**Figure 21** : Incidence de *Cryptosporidium* en fonction de l'âge des animaux

Le faible nombre de cas positifs, en particulier des animaux âgés entre 0 et mois, ne permet d'appliquer les tests statistiques.

#### 2.6.2.4. Présence de *Cryptosporidium* en fonction du sexe des animaux

**Tableau 18** : Présence de *Cryptosporidium* en fonction du sexe des animaux

Sexe	Male	Femelle
Nombre total de bovins	93	187
Nombre de cas positifs	3	11
Taux d'incidence	3,23%	5,88%
Intervalle de confiance	[0% - 6,82%]	[2,51% - 9,25%]



**Figure 22** : Présence de *Cryptosporidium* en fonction du sexe des animaux

D'après le tableau, le nombre de femelles infectées apparaît plus élevé par rapport au nombre des males. Cependant le test statistique ne révèle pas de différence significative ( $p > 0,05$ ).

#### 2.6.2.5. Présence de *Cryptosporidium* en fonction de la présence de diarrhée chez les animaux :

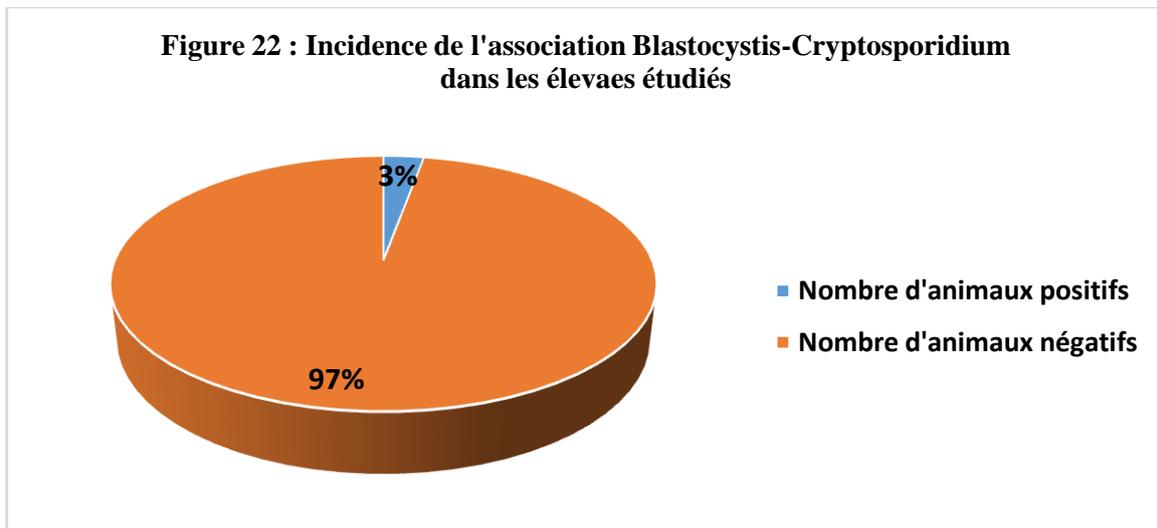
Parmi les 15 bovins diarrhéiques, aucun animal n'était positif au *Cryptosporidium*. Dans cette étude ce parasite ne semble donc un des agents étiologique de la diarrhée, que ce soit chez les jeunes ou chez les adultes.

### 2.6.2.6. Incidence de l'association *Blastocystis-Cryptosporidium*

**Tableau 19 :** Incidence de l'association *Blastocystis-Cryptosporidium*

Nombre total de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs au <i>Blastocystis</i>	Nombre de prélèvements positifs à <i>Cryptosporidium</i>	Nombre de prélèvements positifs aux deux parasites	Taux d'incidence	Intervalle de confiance
280	77	14	8	2.85 %	[0,9 % - 4,8%]

**Figure 22 :** Incidence de l'association *Blastocystis-Cryptosporidium* dans les élevages étudiés



Le nombre de bovins présentant une infection mixte (8 cas) observé dans l'ensemble de la région Alger-Boumerdes montre une différence hautement significative ( $p < 0,05$ ) avec le nombre de cas positifs aux *Blastocystis* seul (77 cas) et celui positifs à *Cryptosporidium* seul (14 cas).

Donc l'infection mixte avec les deux parasites dans tous les élevages reste moins importante que la Blastocystose seule ou la Cryptosporidiose seule.

### 2.6.3. *Eimeria*

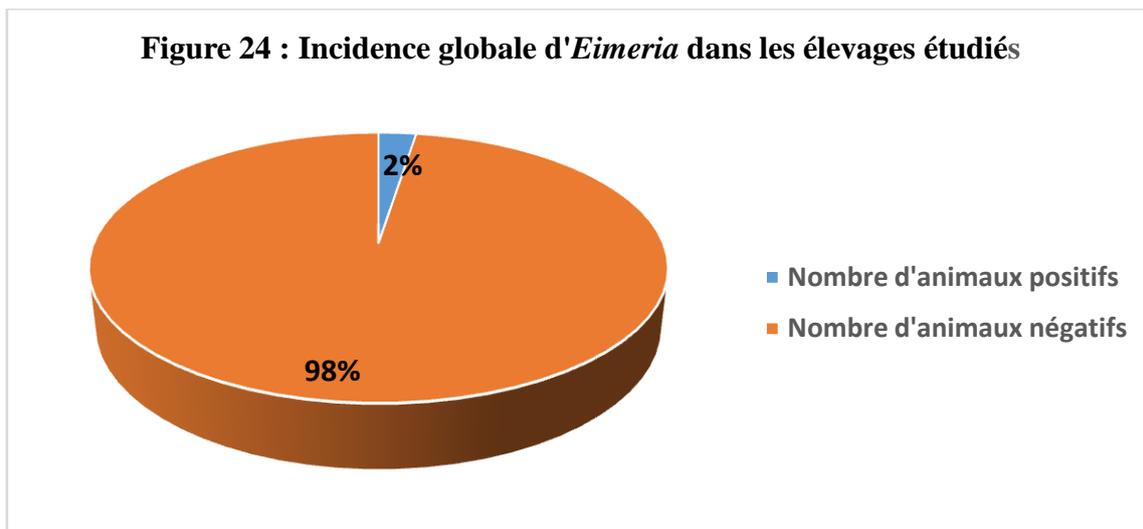
#### 2.6.3.1. Incidence globale d'*Eimeria* dans les élevages étudiés

Dans l'échantillon considéré de 280 bovins, 7 animaux étaient positifs à *Eimeria*. L'incidence trouvée pour l'échantillon est : 7 / 280, soit un taux d'incidence de 2,5%. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% : [0,67 % – 4,32%].

**Tableau 20** : Prévalence globale d'*Eimeria* dans les élevages étudiés

Nombre total de prélèvements	Nombre de cas positif	Taux d'incidence	Intervalle de confiance Risque 5%
280	7	2,5 %	[0,67 % ; 4,32%]

**Figure 24** : Incidence globale d'*Eimeria* dans les élevages étudiés

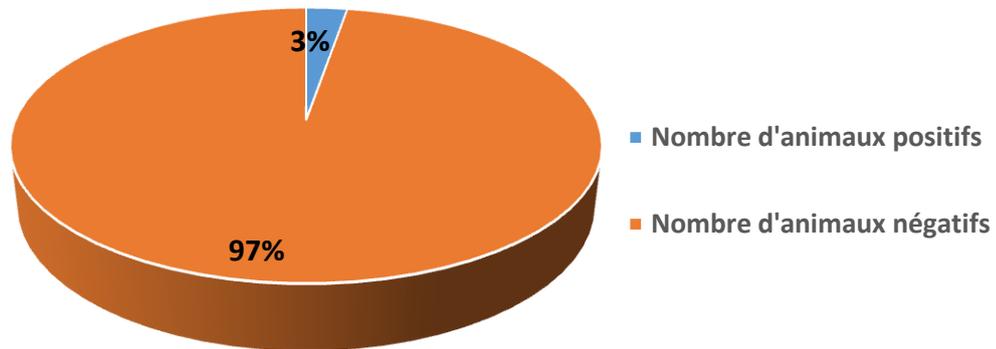
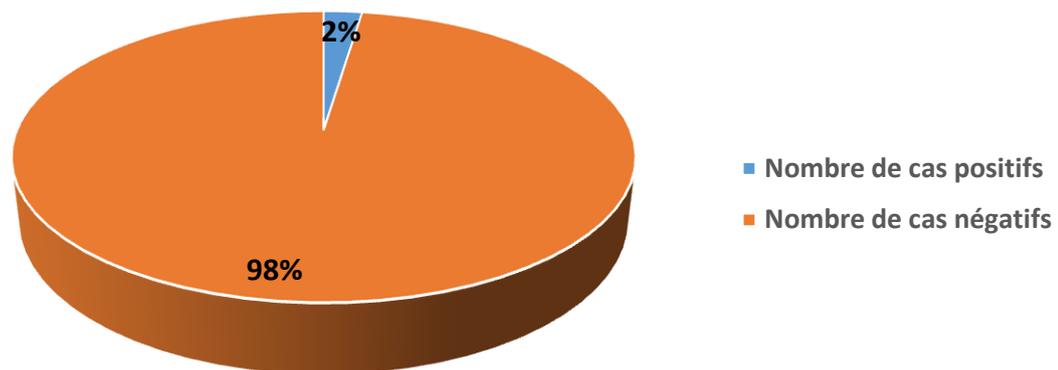


#### 2.6.3.2. Incidence d'*Eimeria* en fonction de la région

**Tableau 21** : Incidence d'*Eimeria* dans chaque région

Région	Alger	Boumerdes
Nombre de prélèvements	112	168
Nombre de cas positifs	3	4
Taux d'incidence	2,68%	2,38%
IC Risque 5%	[0% - 5,67%]	[0,08% – 4,69%]

IC : Intervalle de confiance.

**Figure 25 : Incidence d'*Eimeria* dans la région d'Alger****Figure 26: Incidence d'*Eimeria* dans la région de Boumerdes**

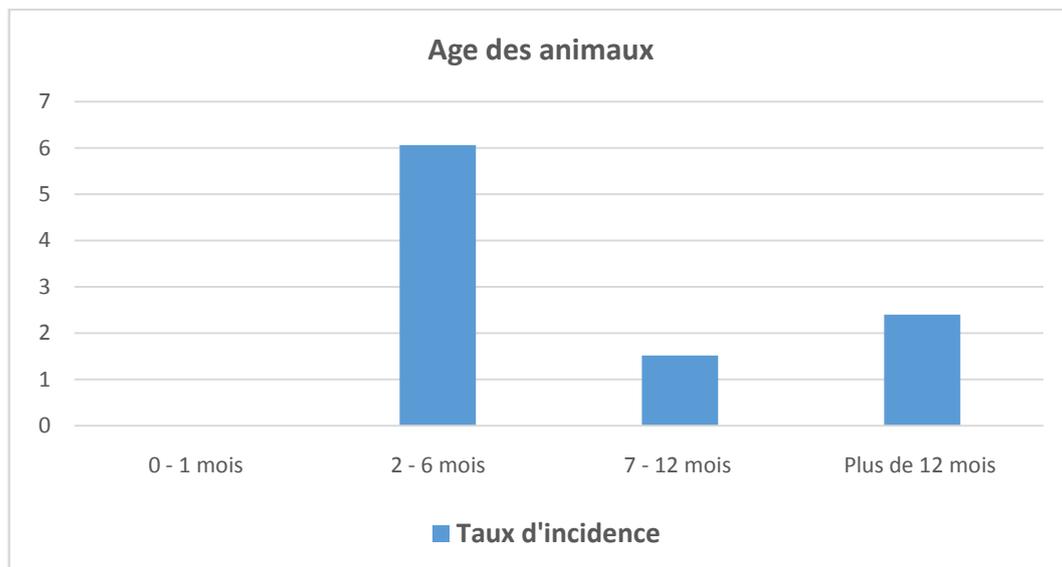
L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre la prévalence d'*Eimeria* au sein des élevages de la région d'Alger et celle observée dans les fermes de la région de Boumerdes ( $p > 0,05$ ).

### 2.6.3.3. Présence d'*Eimeria* en fonction de l'âge des animaux

**Tableau 22 : Présence d'*Eimeria* en fonction de l'âge des animaux**

Age des animaux	0 – 1 mois	2– 6 mois	7 – 12 mois	> 12 mois
Nombre total de bovins	14	33	66	167
Nombre de cas positif	0	2	1	4
Taux d'incidence	0%	6,06%	1,52%	2,40%
IC Risque 5%	/	[0%-14 ,20%]	[0%-4,46%]	[0,08%-4,71%]

IC : Intervalle de confiance.



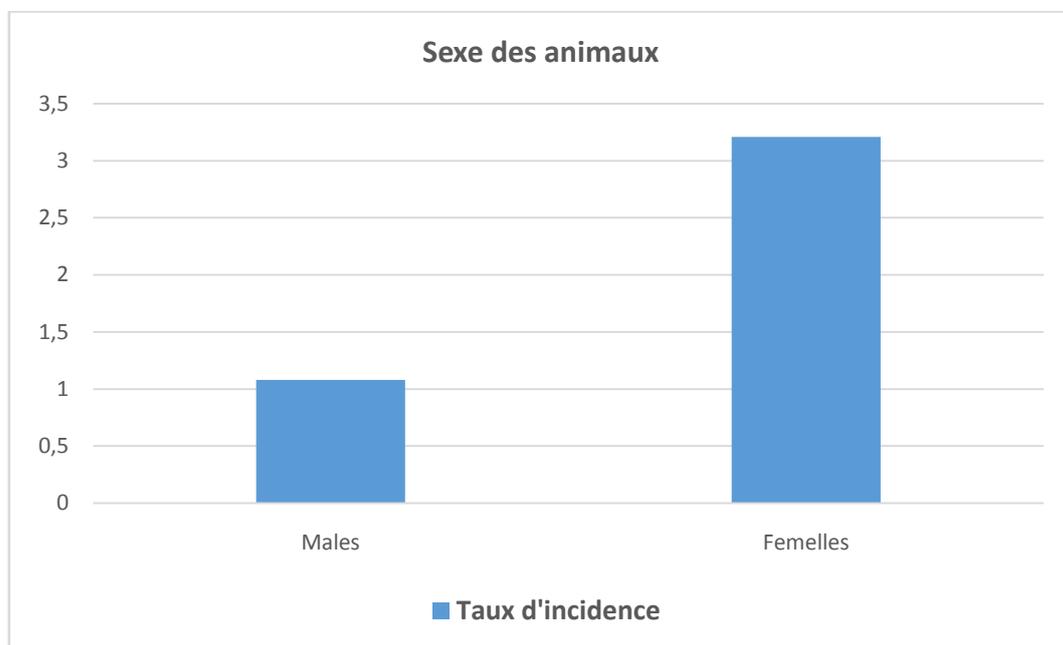
**Figure 27 : Incidence d'*Eimeria* en fonction de l'âge des animaux**

Vue le faible nombre de cas positifs (7 cas répartis sur les 4 catégories d'âge), le test statistique ne peut pas être appliqué.

#### 2.6.3.4. Présence d'*Eimeria* en fonction du sexe des animaux

**Tableau 23 : Incidence d'*Eimeria* en fonction du sexe des animaux**

Sexe	Male	Femelle
<b>Nombre total de bovins</b>	93	187
<b>Nombre de cas positifs</b>	1	6
<b>Taux d'incidence</b>	1,08%	3,21%
<b>Intervalle de confiance</b>	[0% - 3,17%]	[0,68% - 5,73%]



**Figure 28 : Présence d'*Eimeria* en fonction du sexe des animaux**

Comme c'est le cas pour *Cryptosporidium*, le nombre de femelles infectées apparaît plus élevé que le nombre de males positifs à *Eimeria*. Cependant l'analyse statistique révèle une différence non significative ( $p > 0,05$ ).

#### 2.6.3.5. Présence d'*Eimeria* en fonction de la présence de diarrhée chez les animaux

Parmi les 280 bovins étudiés, aucun prélèvement diarrhéique n'était positif à *Eimeria*. La coccidiose ne semble pas avoir aucun impact sur le statut clinique des animaux dans cette enquête.

### 2.6.3.6. Incidence de l'association *Blastocystis-Eimeria*

Notre étude n'a révélé aucune association entre *Blastocystis* et *Eimeria* parmi les 280 prélèvements analysés.

### 2.6.4. *Entamoeba* :

#### 2.6.4.1. Incidence globale d'*Entamoeba* dans les élevages étudiés

Parmi les 280 prélèvements analysés, 117 étaient positifs à *Entamoeba*.

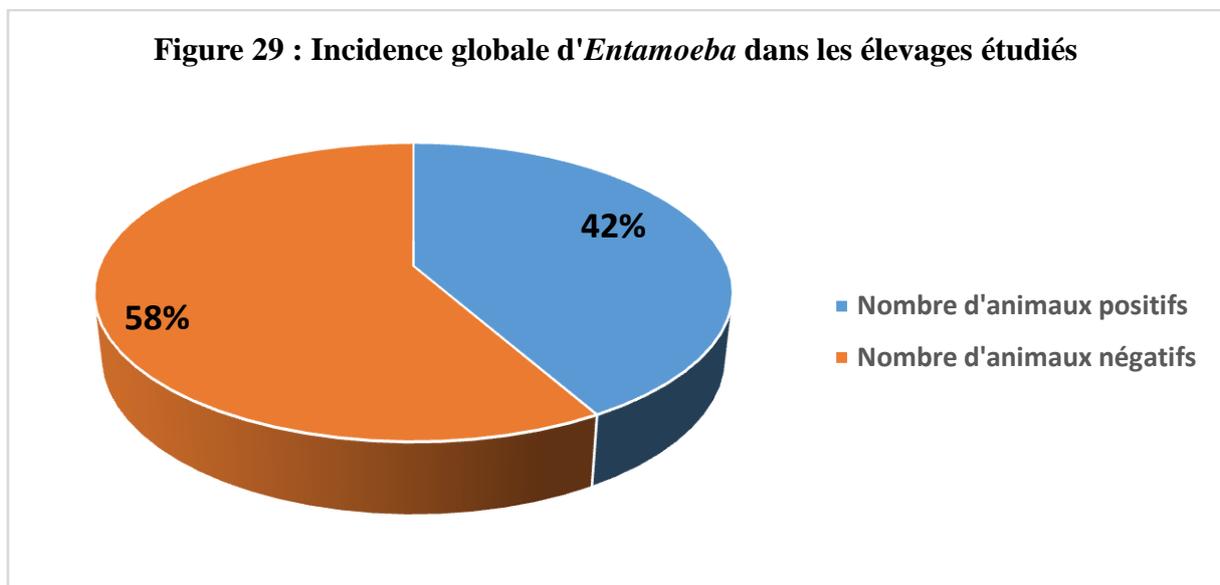
L'incidence trouvée pour l'échantillon est : 117 / 280, soit un taux d'incidence de 41,79 %.

L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% : [36,01% – 47,56%].

**Tableau 24 : Incidence globale d'*Entamoeba* dans les élevages étudiés**

Nombre total de prélèvements	Nombre de cas positif	Taux d'incidence	Intervalle de confiance Risque 5%
280	117	41,79 %	[36,01 % - 47,56%]

**Figure 29 : Incidence globale d'*Entamoeba* dans les élevages étudiés**

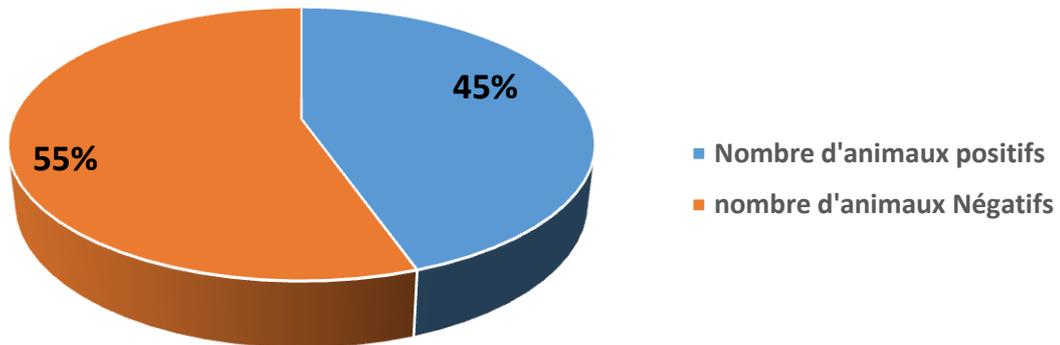


### 2.6.4.2. Incidence d'*Entamoeba* en fonction de la région

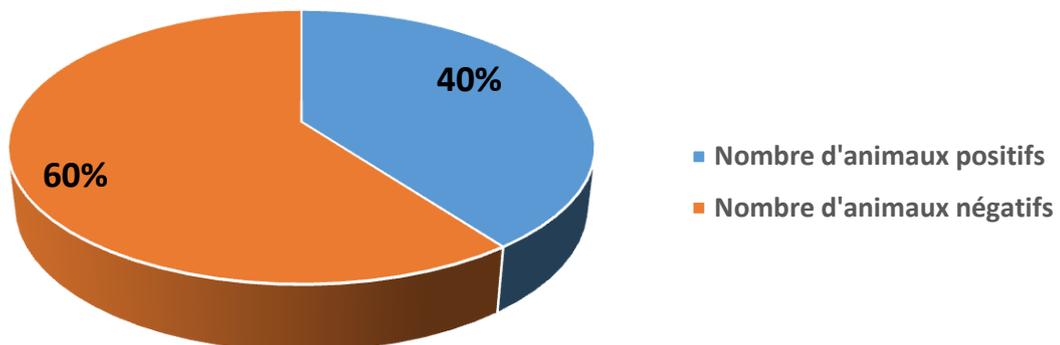
**Tableau 25** : Incidence d'*Entamoeba* dans chaque région

Région	Alger	Boumerdes
Nombre de prélèvements	112	168
Nombre de cas positifs	50	67
Taux d'incidence	44,64%	39,88%
Intervalle de confiance Risque 5%	[35 ,44% - 53,85%]	[32,48% – 47,29%]

**Figure 30** : Incidence d'*Entamoeba* dans la région d'Alger



**Figure 31** : Incidence d'*Entamoeba* dans la région de Boumerdes

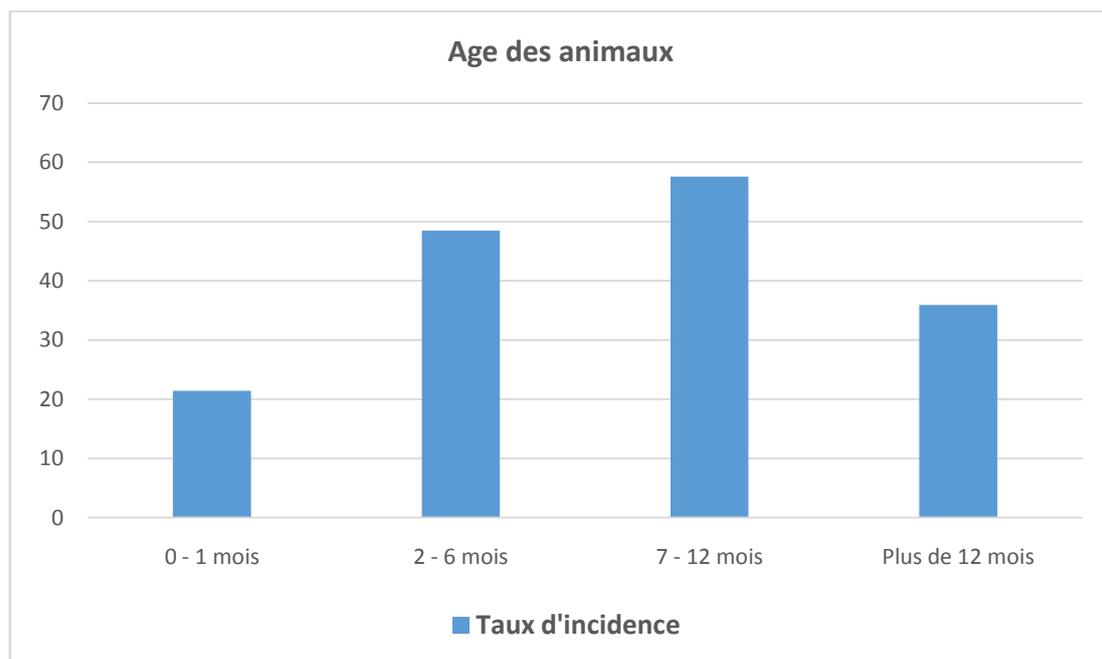


Pas de différence significative entre la fréquence d'isolement d'*Entamoeba* au sein des élevages de la région d'Alger et celle des fermes de la région de Boumerdes ( $p > 0,05$ ).

#### 2.6.4.3. Présence d'*Entamoeba* en fonction de l'âge des animaux

**Tableau 26 : Présence d'*Entamoeba* en fonction de l'âge des animaux**

Age des animaux	0 – 1 mois	2– 6 mois	7 – 12 mois	>12 mois
Nombre total de bovins	14	33	66	167
Nombre de cas positif	3	16	38	60
Taux d'incidence	21,43%	48,48%	57,58%	35,93%
IC Risque 5%	[0%-42,92%]	[31,43 %-65,54%]	[45,65-69,50%]	[28,65%-43,20%]



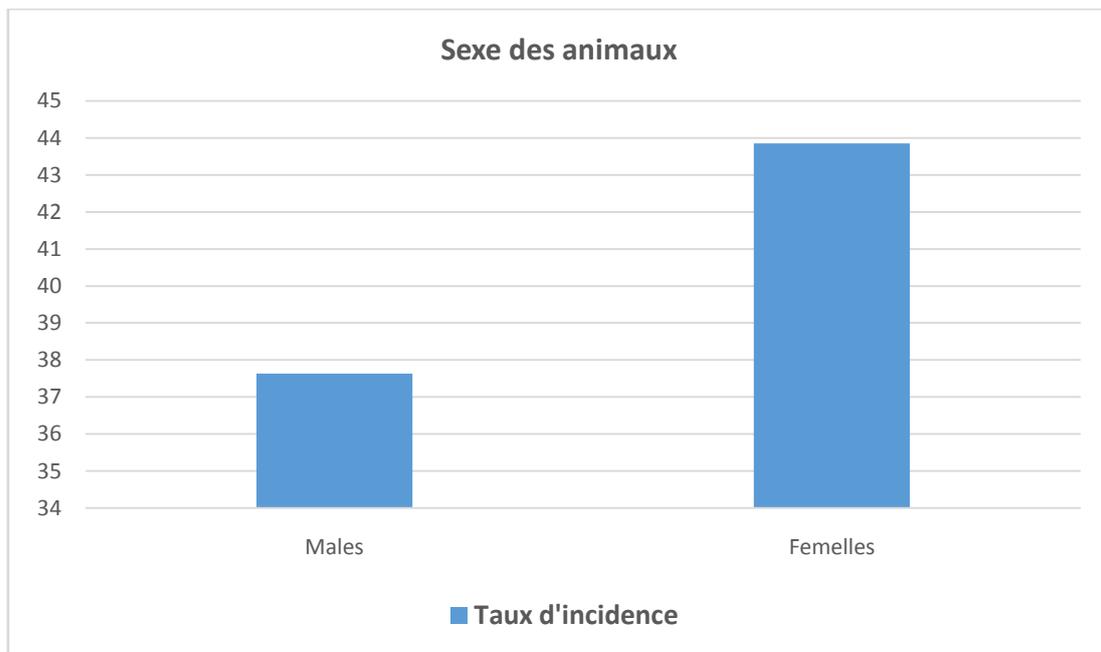
**Figure 32 : Présence d'*Entamoeba* en fonction de l'âge des animaux**

D'après le tableau, la sensibilité à *Entamoeba* est observée clairement chez les bovins dont l'âge varie de 7 à 12 mois, avec une différence d'isolement du protozoaire hautement significative entre les différentes classes d'âges ( $p < 0,05$ ).

#### 2.6.4.4. Présence d'*Entamoeba* en fonction du sexe des animaux

**Tableau 27** : Présence d'*Entamoeba* en fonction du sexe des animaux

Sexe	Male	Femelle
Nombre total de bovins	93	187
Nombre de cas positifs	35	82
Taux d'incidence	37,63%	43,85%
Intervalle de confiance	[27,79% - 47,48%]	[36,47% - 50,96%]



**Figure 33** : Présence d'*Entamoeba* en fonction du sexe des animaux

Selon le tableau, le nombre de femelles positives à *Entamoeba* est plus important que le nombre de males infectés par ce parasite. Cependant le test Khi deux d'indépendance ne met en évidence aucune différence significative ( $p$  supérieure 0,05).

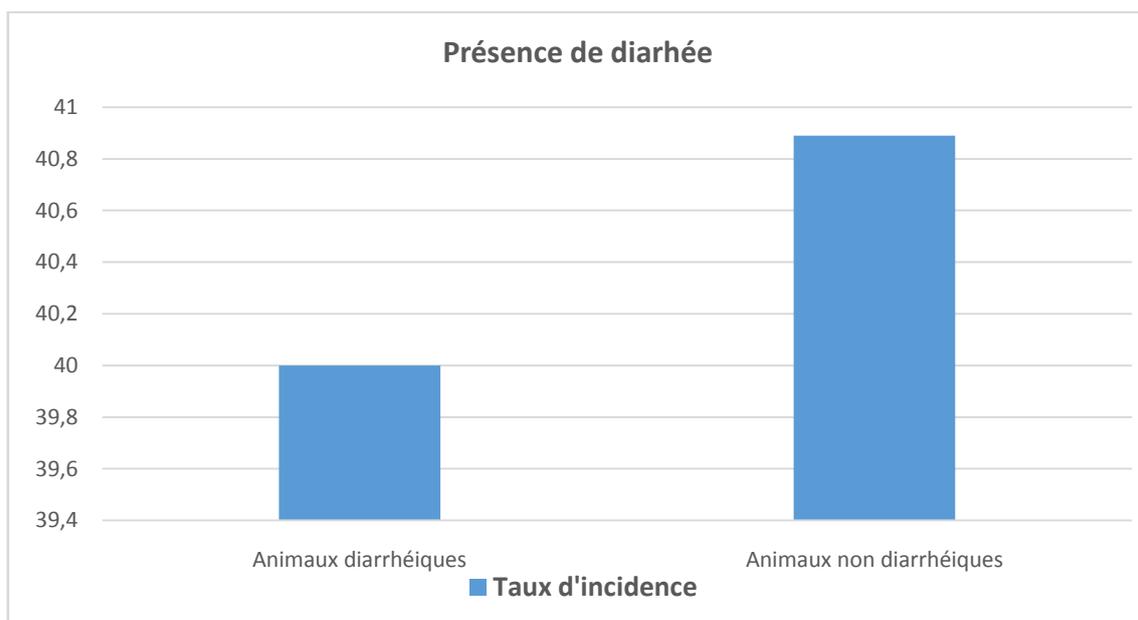
#### 2.6.4.5. Présence d'*Entamoeba* en fonction de la présence de diarrhée

Parmi les 15 bovins diarrhéiques, 6 animaux étaient positifs à *Entamoeba*. Soit un taux d'incidence de 40 %. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [15,21 % – 64.79%].

Parmi les 265 bovins non diarrhéiques, 111 étaient positifs à *Entamoeba*. Le taux d'incidence trouvée pour cette catégorie est 41,89%. L'intervalle de confiance pour un risque d'erreur de 5% est : [35,95% - 47,83%].

**Tableau 28** : Présence d'*Entamoeba* en fonction du statut clinique des animaux

Statut clinique	Animaux diarrhéiques	Animaux non diarrhéiques
Nombre total de bovins	15	265
Nombre d'animaux positifs	6	111
Taux d'incidence	40%	41,89%
Intervalle de confiance	[15,21 % – 64.79%]	[35,95% - 47,83%]



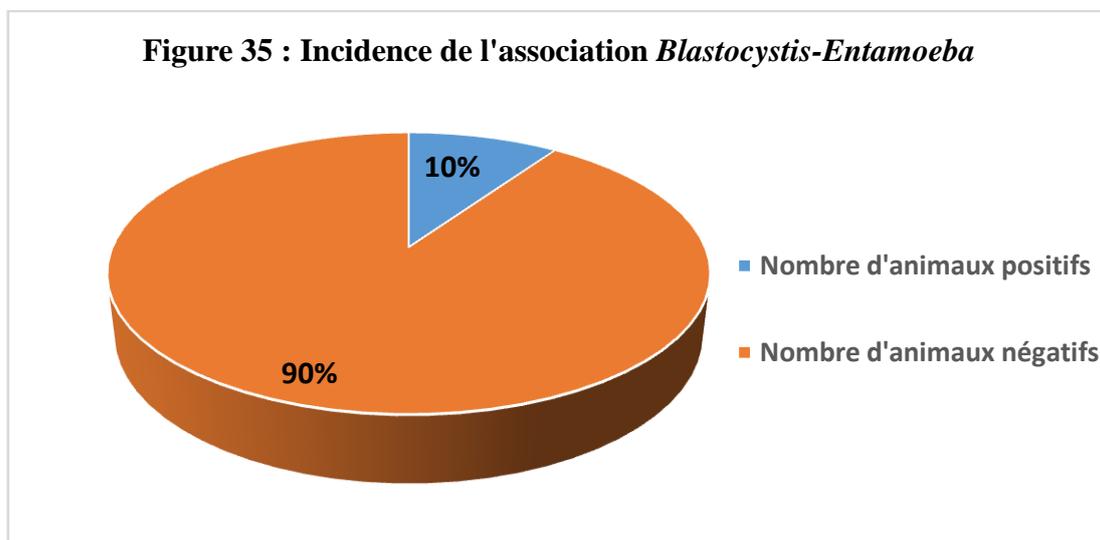
**Figure 34** : Présence d'*Entamoeba* en fonction du statut clinique des animaux

Contrairement aux *Blastocystis* et *Giardia*, la fréquence d'isolement d'*Entamoeba* est plus importante chez les animaux non diarrhéiques par rapport aux diarrhéiques, avec une différence significative ( $p < 0,05$ ).

#### 2.6.4.6. Incidence de l'association *Blastocystis-Entamoeba*

**Tableau 29** : Incidence de l'association *Blastocystis-Entamoeba*

Nombre total de prélèvements	Nombre de prélèvements positifs au <i>Blastocystis</i>	Nombre de prélèvements positifs à <i>Entamoeba coli</i>	Nombre de prélèvements positifs aux deux parasites	Taux de prévalence	Intervalle de confiance
280	77	117	27	9,64%	[6,19% - 13,10%]



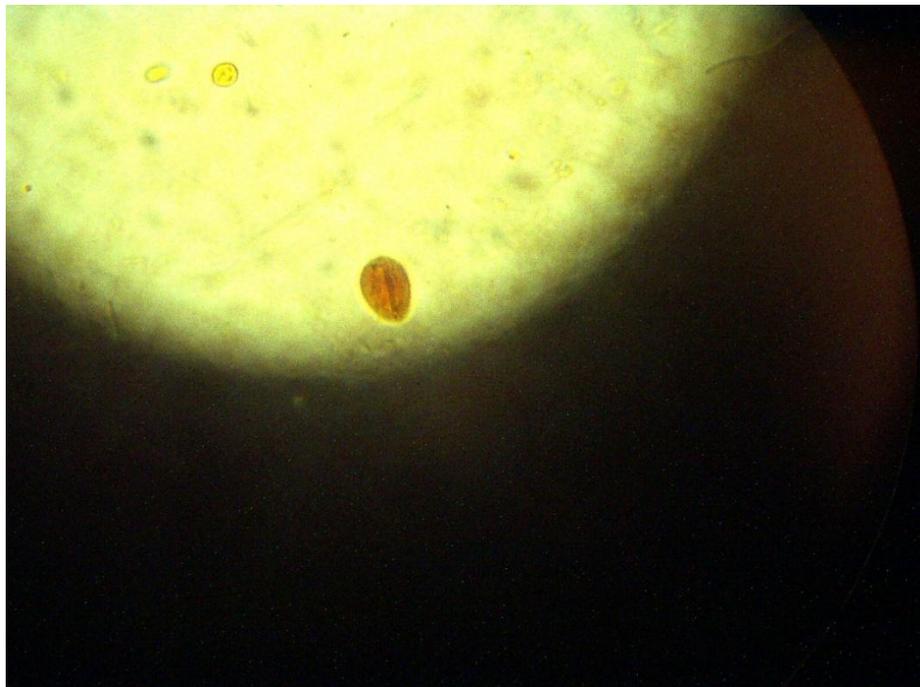
Le nombre de bovins présentant une infection mixte (27 cas) observé dans l'ensemble des deux régions Alger et Boumerdes montre une différence hautement significative ( $p < 0,05$ ) avec le nombre de cas positifs aux *Blastocystis* seul (77 cas) et celui positifs à *Entamoeba* seul (117 cas).

Donc l'infection mixte avec les deux parasites dans tous les élevages reste beaucoup moins importante que la Blastocystose seule ou l'amœbose seule.

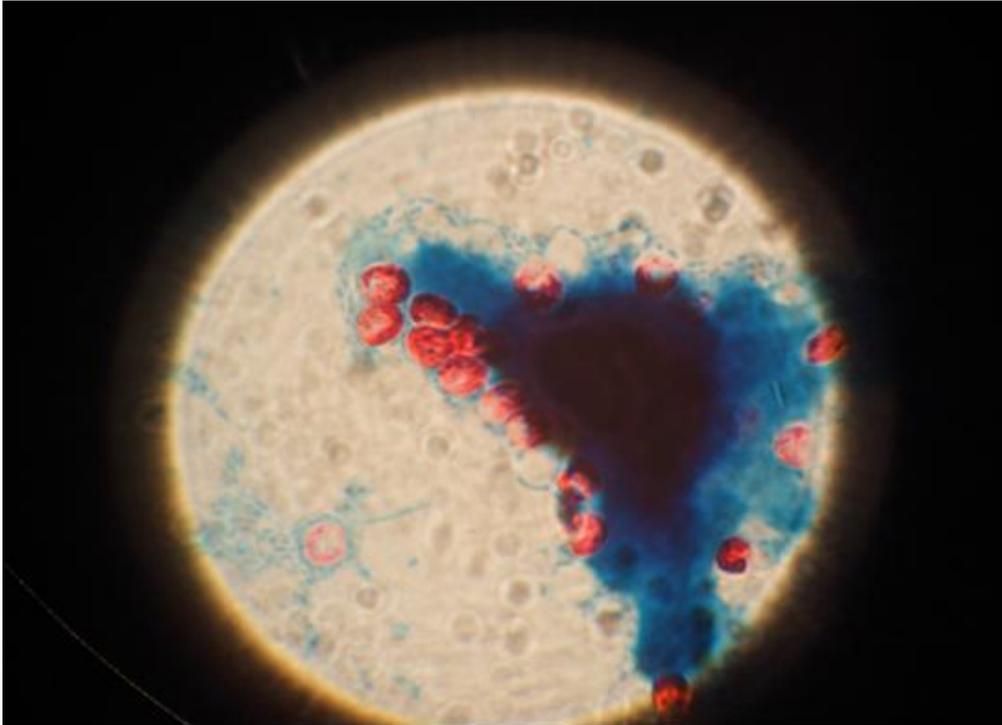
## 2.7.Observation microscopique des différents parasites



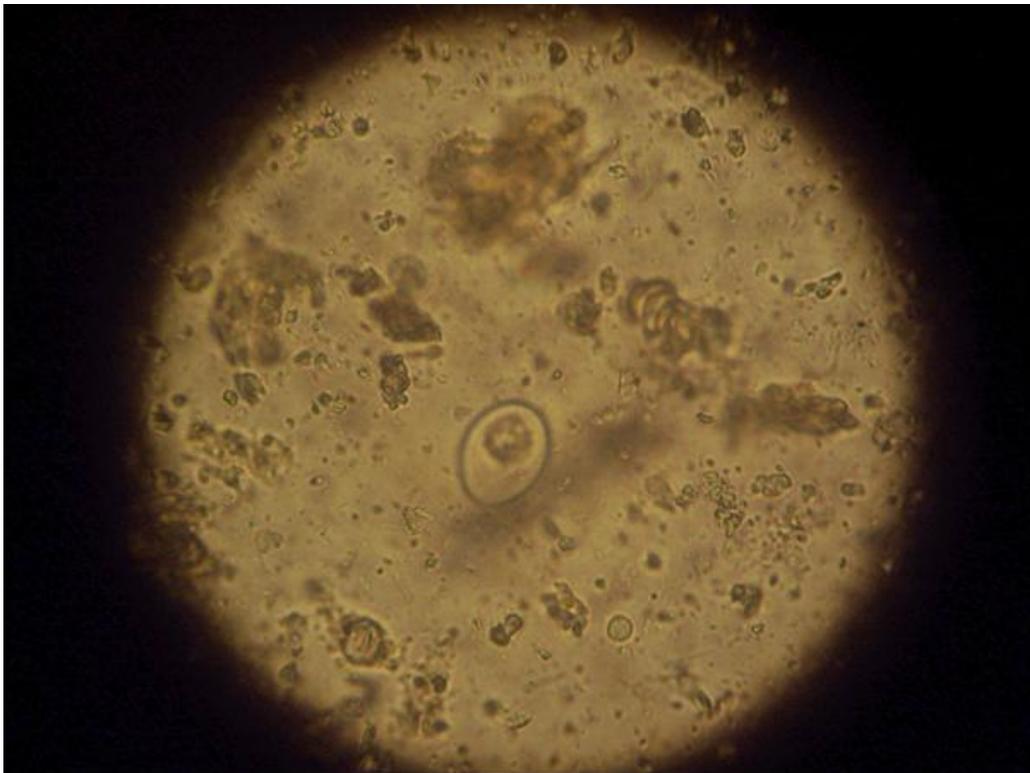
**Photo 9 :** Observation de la forme vacuolaire de *Blastocystis* dans un examen direct des selles  
(Gr. X40)  
(Laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger)



**Photo 10 :** Observation d'un kyste de *Giardia* dans un examen direct (Gr. X40)  
(Laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger)



**Photo 11** : Oocyste de *Cryptosporidium* dans un frottis de fécès après coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Gr. X100).  
(Laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger)



**Photo 12** : Oocyste d'*Eimeria* dans le culot obtenu selon la technique de Ritchie simplifié par Allen et Redley (Gr. X40).  
(Laboratoire de biologie parasitaire de l'Institut Pasteur d'Alger).

### 3. DISCUSSION ET INTERPRETATION

#### 3.1. Discussion des résultats de *Blastocystis*

Si quelques données épidémiologiques concernant *Blastocystis* chez les animaux et l'homme dans divers pays ont été publiées, la prévalence des différentes espèces de *Blastocystis* sp. et de *Blastocystis hominis* en Algérie reste inconnue. Chez les bovins, quelques données sont disponibles dans des pays étrangers grâce aux études de Fayer et *al.*, Abe et *al.*, König et Müller, Quilez et *al.*, et Chatelier et *al.*.

Dans notre étude, sur 280 prélèvements analysés, 77 étaient positifs à *Blastocystis* soit 27,5%. Cette incidence reste élevée par rapport à certaines enquêtes qui montrent un taux d'infection plus faible. En effet, en Espagne, une étude conduite par Quilez et *al.* (1995), sur 554 bovins provenant de 30 exploitations différentes et dont l'âge des animaux varie de la naissance à l'âge adulte (plus de 24 mois), obtenait une prévalence de 1,8% essentiellement centrée sur des veaux de 7 semaines à 6 mois. En Allemagne, une autre étude réalisée par König et Müller (1997), rapportait 15% d'infection pour 66 bovins étudiés. En 2004, au laboratoire de parasitologie de l'école vétérinaire de Lyon, une enquête menée sur 300 bovins de diverses origines en France, âgés de 6 mois et plus a permis d'estimer une prévalence de 7%. Plus récemment, Fayer et *al.* (2014), aux USA, dans une enquête effectuée sur 47 vaches laitières trouvent une prévalence de 19%. En revanche, dans l'étude faite par Abe et *al.* (2002) au Japon, sur 55 bovins provenant de 11 exploitations différentes, le taux global d'infestation obtenu était de 71% qui est nettement plus élevé à celui du notre.

La variabilité de l'incidence de *Blastocystis* est liée à plusieurs facteurs, en particulier l'âge, le statut clinique des animaux ainsi que la répartition géographique. L'influence de ce dernier paramètre est confirmée chez l'homme par de nombreuses études qui montrent une incidence plus élevée dans les pays en voie de développement que dans les pays développés, ce constat étant probablement lié aux conditions d'hygiène (Saksirisampant et *al.*, 2006 ; Tan, 2008).

Ainsi, les différences d'incidence retrouvées dans notre travail et celles des autres études sont expliquées par les méthodes de diagnostic utilisées qui diffèrent d'une étude à une autre. Dans notre enquête, le protocole de diagnostic des Blastocystes est réalisé à partir d'un examen direct des selles des animaux, par l'observation en microscopie optique des formes vacuolaires, plus rarement des formes granulaires et amiboïdes. La limite majeure de cette technique réside dans le fait que l'absence de ces formes n'est pas une preuve de l'absence du

parasite dans les fèces, ce qui conduit régulièrement à des faux-négatifs. En effet, l'observation directe par microscopie photonique ne permet pas de détecter la présence des kystes, qui sont d'une plus petite taille (3-5  $\mu\text{m}$ ) par rapport aux autres formes. Ainsi, afin d'augmenter la sensibilité de détection, une technique d'enrichissement a été utilisée pour la concentration des différentes formes parasitaires ce qui facilite sa détection. Cependant, malgré l'utilisation d'une technique de concentration la détection des kystes reste toujours délicate, car ils peuvent facilement être confondus avec des débris fécaux, dans ce cas il serait plus intéressant d'observer les selles après une mise en culture xénique de quelques jours en milieu de Jones, afin d'enrichir les fèces en parasites, et de favoriser la transformation des kystes en formes vacuolaires, facilement détectable en microscopie optique. Néanmoins, la mise en culture d'un grand nombre de selles est coûteuse en temps et en moyens ce qui ne nous a pas permis son application.

Dans cette étude, les prélèvements de matières fécales ont été examinés en microscopie optique dans des délais pouvant aller jusqu'à 24 heures, ce qui n'est pas recommandé pour la recherche des blastocystes où un délai de 6 heures doit être respecté, ce qui a diminué probablement le pourcentage des animaux positifs, et conduit par conséquent à une sous-estimation de la prévalence du parasite.

Dans notre enquête le facteur région semble jouer un rôle dans la fréquence d'isolement du parasite. Le taux observé dans la région de Boumerdes est plus élevé par rapport à celui de la région d'Alger avec une différence statistiquement significative. Le respect des normes d'élevages dans certaines fermes dans la région d'Alger, en particulier dans la ferme pilote de Baba Ali et les conditions d'hygiène parfois très déplorables au sein des élevages de la région de Boumerdes constituent probablement l'une des causes de cet écart.

En ce qui concerne le facteur âge des animaux, notre enquête montre que *Blastocystis* touche aussi bien les adultes que les jeunes, avec un taux d'infection plus important chez les veaux de moins d'un mois. Cette sensibilité particulière des veaux nouveaux nés peut s'expliquer par l'influence du statut immunitaire de l'animal. En effet, à la naissance, le veau est soumis à des substances immunodépressives (glucocorticoïdes, fétuine bovine). L'animal naît immunocompétent mais agammaglobulinémique, car le mode de placentation chez l'espèce bovine agit comme une barrière entravant tout passage d'éléments protecteurs pendant la gestation. À la naissance, les cellules immunitaires présentent une activité réduite et une immaturité fonctionnelle. La réponse à une situation antigénique est d'intensité et de rapidité

faible par rapport au bovin adulte. De plus, les protéines de compléments sont présentes en faible concentration à la naissance (Reboisson et *al.*, 2008). Il faut noter également que la qualité, la quantité du colostrum et le moment de son administration après la naissance, peuvent avoir une influence sur l'immunité du veau.

Dans l'enquête de König et *al.* (1997) et Abe et *al.* (2002), et de Chatelier (2004), l'influence de l'âge n'a pas été étudiée. Abe et König ont réalisé leurs études sur des animaux adultes, tandis que l'étude de Chatelier est portée sur des selles de bovins de 6 mois et plus, prélevés à partir du rectum après l'abattage des animaux. Cependant, Quilez (1996) dans son étude réalisée sur des bovins âgés de la naissance à l'âge adulte (plus de 24 ans) a constaté une prévalence de 3,3% et 4,6% chez les jeunes bovins de 1 à 4 mois et de 4 à 24 mois, respectivement. En revanche, ce même auteur n'a trouvé aucun cas positif parmi les veaux de moins de 6 semaines et les adultes de plus de 24 mois. Dans notre étude, l'absence de l'infection chez les veaux de moins de 6 semaines peut être expliquée par le faible échantillonnage des animaux de cette classe d'âge par rapport à ceux appartenant à la tranche d'âge entre 4 et 24 mois (78 veaux de moins d'un mois et demi contre 251 âgés entre 4 et 24 mois). D'autre part, la non détection du parasite chez les adultes de plus de 24 mois est probablement liée à la maturité de leur système immunitaire et le développement d'une réponse contre à l'encontre du parasite.

Fayer et *al.* (2012) dans une étude réalisée sur 47 bovins d'un âge variant de la naissance à l'âge adulte, ont détecté 9 prélèvements positifs à *Blastocystis* qui provenaient tous de veaux âgés entre 2 et 6 mois, le taux d'infection au sein de cette tranche d'âge est de 41%, qui est nettement supérieur à celui dans notre étude, qui est de l'ordre de 27,27%, ce qui pourrait être dû au nombre faible des échantillons de veaux de moins d'un mois par rapport à ceux de 2 mois à 6 mois, 4 et 25, respectivement. De plus, la différence entre nos résultats pourrait aussi être expliquée par les méthodes de diagnostic plus sensibles utilisées dans l'enquête de Fayer et *al.* (PCR et IFA).

Dans notre travail, *Blastocystis* peut être à l'origine de diarrhées chez les bovins, mais il existe des excréteurs asymptomatiques. La différence de prévalence entre les animaux diarrhéiques et non diarrhéiques retrouvée est hautement significative.

Cependant, bien que ces résultats montrent une prévalence plus élevée de *Blastocystis* chez les individus diarrhéiques, elles ne permettent pas de conclure que ce parasite puisse être le seul agent étiologique de la diarrhée. Il est envisageable qu'une altération de l'environnement

intestinal favorise son développement et qu'il participe de concert avec d'autres facteurs à altérer le fonctionnement de ce tissu (Wawrzyniak et al., 2012). Compte tenu des aspects aspécifiques des symptômes, de la complexité de cet environnement intestinal, la possibilité d'autres causes associées nécessite d'être investiguée. En fait, sur les 15 prélèvements diarrhéiques analysés dans notre étude, 8 prélèvements étaient positifs à *Blastocystis*, parmi eux il y avait un seul veau dont l'âge est moins d'un mois, les analyses parasitologiques des matières fécales n'a révélé aucun autre protozoaire, ce qui laisse penser que la diarrhée chez cet animal pourrait être due à *Blastocystis* seul. Toutefois, la pathogénie de ce parasite chez les animaux reste toujours controversée, il serait intéressant d'effectuer une analyse bactériologique et virale pour statuer l'incrimination de ce parasite dans les diarrhées néonatales, tout en excluant les origines métaboliques, il en est de même pour les autres prélèvements diarrhéiques positifs à *Blastocystis*.

Dans l'étude de Quilez et al. (1996) la diarrhée a été signalée chez 13,9% des 554 bovins étudiés. Cependant, dans aucun cas ce symptôme n'a pas été associé à la présence de *Blastocystis*. Ce qui laisse penser que ce parasite ne semble pas être à l'origine de désordres digestifs chez l'espèce bovine. Néanmoins, ceci reste valable dans les cas d'infection de moyenne et de faible intensité, concluent ces mêmes auteurs.

Chez les autres animaux, Quelques rares cas de primates présentant des diarrhées avec un grand nombre de *Blastocystis* ont été décrits. Les primates font partie des rares espèces chez qui la présence de signes digestifs a pu être imputée au parasite. (Mcclure et al., 1980). Mais ces cas sont peu fréquents pour que l'espèce puisse être utilisée comme modèle de pathogénie, car le plus souvent le portage reste asymptomatique.

A l'inverse, chez l'homme, beaucoup d'auteurs décrivent ce parasite comme un pathogène responsable de désordres digestifs. *Blastocystishominis* est impliqué dans de nombreux symptômes gastro-intestinaux aspécifiques comme des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées, et/ou des vomissements (Boorom et al., 2008; Stensvold et al., 2009; Tan, 2008). Il jouerait également un rôle significatif dans des maladies inflammatoires de l'intestin comme l'IBS (Irritable Bowel Syndrome). En effet, une incidence plus élevée des infections à *Blastocystis hominis* chez les patients IBS par rapport à une population contrôle a pu être mise en évidence (Yakoub et al., 2004 ; Yakoub et al., 2010). D'autre part, dans une étude récente excluant les patients comportant d'autres protozoaires intestinaux et bactéries, Dogruman-Al

et ses collaborateurs rapportent que 76% des patients atteints d'IBS sont porteurs de *Blastocystis*. (Dogruman-Al et *al.*, 2010).

Ces études, bien qu'elles aient été menées chez d'autres espèces, s'accordent avec notre investigation, du fait d'une éventuelle corrélation entre une infection par *Blastocystis* et les signes cliniques chez les animaux atteints.

Notre enquête a révélé une incidence de 31,18% et 25,66%, pour un échantillon de 93 mâles et 187 femelles, respectivement. Cependant, le résultat n'a montré aucune différence significative de portage entre les mâles et les femelles. Ce résultat, corroborent avec ceux de Abe et *al.* (2002)., Quilez et *al.* (1996) et Chatelier et *al.* (2004), qui excluent le sexe comme facteur de sensibilité à l'infection par *Blastocystis*.

### **3.2. Discussion des résultats de *Giardia* et son association avec *Blastocystis***

Après la mise en évidence de *Giardia*, il nous a paru intéressant de voir l'impact de ce parasite sur l'état de santé des animaux et son association avec *Blastocystis*.

Les résultats de la présente étude ont révélé une incidence de 6,07% de *Giardia* sur l'ensemble des bovins prélevés. Cette incidence est assez faible par rapport aux autres enquêtes. En Algérie, Ouchène et *al.* (2012) dans leur étude dans la région de Sétif au nord-est du pays, sur un total de 634 prélèvements de fèces dont 302 veaux et 332 adultes. *Giardia* a été identifié chez 13,8% de l'ensemble des animaux. Toujours en Algérie, Baroudi (2005) dans une étude faite sur 57 prélèvements de matière fécale provenant de veaux âgés de la naissance à 3 mois, obtenait une prévalence de 22,80%. En Espagne, Quilez et *al.* (1996) rapporte une prévalence de 11,7%. Cependant, nos résultats sont assez proches de ceux rapportés en Chine par Gang et *al.* (2015), avec une prévalence de 7,9% sur un total de 655 bovins. De même, au Canada, Mendonça et *al.* (2007), ont trouvé un taux de 8,9% sur 467 bovins dont 291 veaux et 176 adultes. Ce faible taux peut toujours être argumenté par l'âge avancé des animaux dans notre enquête. D'autre part, aucune différence significative n'a été signalée entre la prévalence du parasite dans la région d'Alger et celle de Boumerdes.

Dans le présent travail, le faible échantillonnage des jeunes animaux, en particulier les veaux de moins d'un mois, ne nous a pas permis d'appliquer le test statistique afin de voir l'influence de l'âge sur l'incidence de l'infection à *Giardia*. Néanmoins, il serait intéressant de signaler que d'après nos résultats, *Giardia* touche plus particulièrement les animaux de plus d'un mois avec une incidence de 12,12% contre 0%, 6,06%, 5,39% chez les animaux

âgés, de la naissance à 1 mois, de 7 à 12 mois, et de plus de 12 mois respectivement. Il faut aussi noter que les résultats de plusieurs enquêtes rejoignent les nôtres sur le fait que *Giardiaduodinalis* touche plus particulièrement les jeunes bovins de plus d'un mois. Ainsi, en Algérie, Baroudi et *al.* signalent un taux plus important chez les veaux de 27 à 45 jours dans une enquête menée sur un total de 454 veaux (Baroudi et *al.*, 2005). Toujours en Algérie, ce même auteur rapporte un taux d'infection plus élevé chez les veaux de plus de 40 jours dans une autre étude faite sur 57 veaux âgés de la naissance à plus de 40 jours dans la région d'Alger. En Espagne, Quilez et ses collaborateurs rapportent que la prévalence d'excrétion maximale des kystes de *Giardia* se situe entre l'âge de 1,5 et 4 mois. Au Canada, Coklin dans une étude faite sur 143 bovins âgés de deux semaines à l'âge adultes constate une prévalence plus élevée chez les jeunes veaux âgés entre deux semaines et 6 mois.

De ces résultats, il ressort que l'âge des animaux joue un rôle important. En effet, *Giardia* touche généralement le veau après 15 jours d'âge avec une grande fréquence à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine, contrairement à *Cryptosporidium* qui est un agent pathogène important pour les veaux de moins d'un mois (Trullard, 2002), et il ne semble pas que l'immunodépression liée à l'âge favorise le pouvoir pathogène du *Giardia*. Pour certains auteurs, *Giardia* est surtout rencontré chez les veaux sevrés, mais les kystes du parasite sont retrouvés dans les fèces des animaux dès l'âge de 1 à 2 semaines (Euzéby, 1987 ; Angus, 1990 ; Quilez et *al.*, 1996 ; Olson et *al.*, 1997 ; Morin, 2002).

L'âge de l'excrétion des kystes peut commencer au quatrième jour après la naissance (Xiao et *al.*, 1994) mais la période prépatente a été évaluée à 7-8 jours chez des veaux infestés expérimentalement (Taminelli et *al.*, 1989). Dans le présent travail, l'excrétion des kystes de *Giardia* spp. a commencé à partir de l'âge de 6 semaines et aucun cas positif n'a pas été signalé chez les animaux âgés de moins d'un mois, ce qui ne corrobore pas avec les résultats trouvés par les auteurs précités, chose qu'on peut toujours expliquer par le faible échantillonnage des animaux appartenant à cette classe d'âge dans notre étude.

*Giardia* spp. peut être à l'origine de diarrhées chez les veaux (Xiao et *al.*, 1993), mais la giardiose est souvent subclinique et la sévérité de la symptomatologie dépend de la virulence de la souche mais aussi d'autres facteurs tels que le statut immunitaire, les subcarences nutritionnelles, la co-infection par d'autres agents pathogènes, etc. (Feng et Xiao, 2008). Dans le présent travail, la différence entre veaux diarrhéiques et veaux non diarrhéiques excréant des kystes de *Giardia* spp. n'a pas été significative. Ces résultats sont comparables à ceux

observés par (Ouchène et *al.*, 2012) en Algérie, et à l'étranger (Quílez et *al.*, 1996), et (Huetink et *al.*, 2001).

D'après nos résultats, Parmi les 15 prélèvements diarrhéiques récoltés, seuls deux prélèvements provenaient de veaux appartenant à la tranche d'âge de 2 mois à 6 mois, les kystes de *Giardia* ont été isolés dans chacun de ces prélèvements. Par contre le seul prélèvement diarrhéique provenant de veau de moins d'un mois d'âge a été signalé comme négatif au parasite, ce qui rejoint les conclusions d'O'Handley et *al.* (1999) qui affirment que la giardiose est une maladie des jeunes mais n'a jamais été associée à la diarrhée avant 29 jours.

Concernant le facteur sexe des animaux, on a constaté la même observation que celle obtenue avec *Blastocystis*, aucune différence significative n'a été signalée entre l'incidence du parasite chez les mâles et chez les femelles. Il n'apparaît donc aucun lien entre la présence de *Giardia duodenalis* et le sexe de l'animal porteur.

➤ **Association avec *Blastocystis* :**

Nos résultats montrent que sur un total de 280 prélèvements analysés, le *Blastocystis* a été isolé dans 77 prélèvements soit 27,5%, le *Giardia* dans 17 cas, soit 6,07% et les deux associés dans 5 prélèvements soit 1,78%. Cela fait penser que le *Giardia* peut être concomitant de l'infection par *Blastocystis*. L'incidence de cette infection mixte reste faible comparativement à celle de *Blastocystis* seul et *Giardia* seul. Seul Fayer (2012) fait état de même constatation (14.8%) d'infection par les deux parasites simultanément contre 19,15% et 51% d'infection par *Blastocystis* seul et *Giardia* seul, respectivement.

La faible fréquence d'association de ces deux parasites peut être due à la particularité de chaque protozoaire d'infecter une classe d'âge bien déterminée ; notons que les kystes de *Giardia* touchent spécifiquement les jeunes bovins de plus d'un mois (O'handley, 1999), par contre, dans notre étude, *Blastocystis* a été particulièrement fréquent chez les veaux de moins d'un mois.

**3.3. Discussion des résultats de *Cryptosporidium* et son association avec *Blastocystis***

L'incidence globale de *Cryptosporidium* obtenue dans notre investigation est de 5%. Ce taux reste beaucoup plus faible par rapport à ceux retrouvés dans d'autres pays dont la France avec 43,7% ; l'Irlande 44,4% ; l'Espagne 52,3% ; Pays-Bas 55% ; l'Allemagne 40-44% (Afssa, 2002) et par d'autres auteurs, en France (Amédeo, 1995) 44 à 56%, (Bourgouin, 1996) 47,7%.

En Turquie, une étude menée par Degerli et *al.* (2005) sur 457 bovins rapporte une prévalence plus élevée de l'ordre de 64,3%. En Algérie, une étude réalisée dans trois régions (Alger, Boumerdes, Tipaza) sur 454 veaux, a permis d'obtenir un taux de 47,79% (Baroudi et *al.*, 2005). Une autre étude effectuée dans l'est et le centre du pays sur 3452 bovins âgés de moins de 24 mois durant plusieurs années, montre une prévalence globale de 17% (Khelef et *al.*, 2007). Cependant nos résultats rejoignent dans l'ensemble ceux trouvés par d'autres auteurs, qui considèrent que la prévalence de l'infection cryptosporidienne varie de 5 à 20% des animaux prélevés (Morin, 2002).

Nos résultats montrent que, l'incidence de *Cryptosporidium* présente une grande variabilité en raison de l'influence de plusieurs facteurs qui peuvent être à l'origine de différents taux obtenus à travers le monde. Notons des facteurs liés à l'animal (âge, statut clinique), d'autres liés à l'environnement (type d'élevages, saison, hygiène), l'échantillonnage, le moment des prélèvements et les techniques de diagnostic utilisées (Naciri et *al.*, 2007).

Selon notre enquête, aucune différence significative n'a été retrouvée entre l'incidence *Cryptosporidium* dans la Wilaya d'Alger et celle dans la Wilaya de Boumerdes, le facteur région ne semble pas avoir une influence sur la fréquence d'isolement du parasite. Ces résultats rejoignent celles trouvés dans la même région par Baroudi en 2005, qui a met en évidence 43 cas positifs à *Cryptosporidium* sur un total de 106 bovins dans la région d'Alger et 122 cas sur un total de 221 bovins prélevés dans la Wilaya de Boumerdes. Une autre étude comparative de l'infection cryptosporidienne entre la Wilaya de Bourdj Bouariridj et la Wilaya de Tiaret, n'a montré aucune différence significative entre les deux régions (Laatamna et *al.*, 2009).

En ce qui concerne le facteur âge des animaux, en raison de l'échantillonnage très faible des veaux nouveaux nés et des veaux âgés d'un mois à 6 mois, l'analyse statistique ne permet pas d'établir la relation entre la présence du parasite et l'âge des animaux. En effet, sur les 14 veaux de moins d'un mois, aucun animal ne s'est montré positif à *Cryptosporidium*, ce qui ne corrobore pas avec la plus part des études qui considèrent la cryptosporidiose comme une pathologie néonatale. Cette sensibilité des veaux nouveaux nés est liée à l'immaturité du système immunitaire à cet âge et qui profite au parasite (Chermette et Boufassa, 1988 ; Portejoie, 1995). En fait, La cryptosporidiose s'exprime en générale à partir du 2<sup>ème</sup> jour de vie, ceci s'explique par le cycle très court du parasite ,12 heures, selon Fleming et *al.*,2004. De même, plusieurs auteurs rapportent qu'une période prépatente de seulement deux jours

peut être parfois rencontrée chez le veau et que la diarrhée peut survenir dès l'âge de deux jours (Mac Cluskey et *al.*, 1995 ; O'Donoghue, 1995). Cette précocité de la diarrhée est probablement due au phénomène de rétro-infection qui caractérise les cryptosporidies. La positivité commence très tôt et évolue en diminuant à partir de 45 jours de vie. Ceci étant lié à la maturité du système immunitaire qui devient actif et dans ce cas le veau devient porteur asymptomatique (Harp et Goff, 1995).

A titre comparatif nous rapportons quelques résultats trouvés en Algérie et dans certains pays du monde :

-L'étude de Baroudi (2005) dans la région d'Alger, Boumerdes et Tipaza a montré :

- 31,18% chez les veaux âgés de 2 à 4 jours
- 48,71% chez les veaux âgés de 5 à 10 jours
- 59,01% chez les veaux âgés de 11 à 16 jours
- 61,53% chez les veaux âgés de 17 à 21 jours
- 22,16% durant l'âge de 22 à 26 jours.

- Khelef et *al.* (2007) ont trouvé :

- 19,3% chez les veaux âgés d'une semaine
- 39,6% chez les veaux âgés de deux semaines
- 21% chez les veaux âgés de trois semaines
- 17% chez les veaux d'un mois
- 9% chez les veaux âgés de deux mois
- 1,87% chez les veaux de 4 à 6 mois
- 2,4% chez les bovins de 6 à 24 mois

-Les résultats globaux obtenus par HANI (2003) dans la région de Blida et Tipaza étaient comme suit : sur 520 examens coproscopiques.

- 2,17% des veaux, étaient âgés entre 1 et 3 jours.
- 26% des veaux âgés de 4 à 7 jours.
- 35,20% des veaux, dont l'âge est compris entre 8 et 14 jours.
- 52,83% des veaux âgés de 15 à 21 jours.
- 27,37% des veaux âgés de 22 à 30 jours.
- 12,94% des veaux âgés de 1 à 2 mois.
- Et 13,16% des veaux âgés de 3 à 5 mois.

Aucun résultat n'était positif chez les veaux dont l'âge était compris entre 6 et 12 mois.

De ces résultats, il ressort bien que l'âge joue un rôle primordial dans la sensibilité au parasite, mais malheureusement en raison du faible échantillonnage des jeunes animaux dans notre enquête la comparaison ne semble pas être objective.

Dans la présente étude, les animaux diarrhéiques étaient tous négatifs à *Cryptosporidium* et qui n'apparaît pas comme un agent étiologique de la diarrhée, ce qui ne rejoint pas les résultats de plusieurs études en Algérie et dans le monde qui définissent la cryptosporidiose comme l'une des principales causes de diarrhées chez les bovins et plus particulièrement chez les veaux nouveaux nés. Cependant les diarrhées à *Cryptosporidium* reste rare chez les animaux de plus d'un mois ce qui explique en grande partie les résultats retrouvés dans cette enquête. En effet, parmi les animaux diarrhéiques, seul un veau est âgé de moins d'un mois, en plus sur les 280 prélèvements analysés, seuls 15 prélèvements étaient diarrhéiques. A cet effet, le faible échantillonnage des animaux diarrhéiques et notamment les veaux de moins d'un mois, explique les résultats obtenus. Dans l'étude d'Arslane et al. (2001) sur 28 veaux diarrhéiques âgés de 1 à 3 mois, 3 cas sont révélés positifs au *Cryptosporidium*. Ce taux reste faible par rapport à celui des veaux âgés de moins d'un mois qui est de l'ordre de 47,8% et 37% chez des veaux âgés de 8 à 14 jours et de 15 à 21 jours respectivement (Arslane et al. 2001) ce qui témoigne la rareté de la cryptosporidiose à partir de l'âge d'un mois.

En outre, nos résultats expliquent que beaucoup de porteurs sont asymptomatiques constituant ainsi la principale source de contamination pour leurs congénères.

Ceci démontre que, la diarrhée est un signe qui doit faire suspecter la cryptosporidiose mais qui n'apparaît pas d'une façon systématique et très souvent l'infection cryptosporidienne évolue à bas bruit sans signe clinique. Ces animaux sont donc des immunocompétents ou ils n'ont pas subi une forte dose infectante et c'est d'ailleurs ces animaux qu'il faudra diagnostiquer précocement pour limiter l'infestation dans un troupeau (Mac Cluskey et al., 1995 ;Olson et al.,1997 ;Courouble ,1998 ;Morin,2002).

Voici les résultats de quelques études algériennes et étrangères qui s'accordent sur la bonne corrélation entre l'infection cryptosporidienne et la présence de diarrhées chez les jeunes de moins d'un mois :

En Algérie, Hani et al. signalent une prévalence de 78,57 % chez les veaux diarrhéiques et une prévalence de 40,78 % chez les veaux non diarrhéiques. Toujours en Algérie, Akam et al.

(2005) ont isolé *Cryptosporidium* chez 40,4% des veaux diarrhéiques contre 13,6% chez les veaux non diarrhéiques. Dans une deuxième étude ces mêmes auteurs déclarent une prévalence de 33,4% chez les veaux diarrhéiques contre 13,4% chez les veaux non diarrhéiques (Akam et *al.*, 2005). Des résultats similaires ont été trouvés par Baroudi et *al.* (63,73% chez les veaux présentant les diarrhées contre 36.01% chez les veaux asymptomatique (Baroudi et *al.*, 2005).

En France, on retrouve des prévalences chez les veaux diarrhéiques de 47,7%, alors que chez les veaux non diarrhéiques elle est de 18% (Amédeo, 1995).

Dans l'ensemble les cryptosporidies sont retrouvées avec une plus grande fréquence chez les veaux diarrhéiques que chez ceux ne présentant pas la diarrhée concluent Huentink et *al.*(2001), en Hollande.

En 1984, en Belgique, lors d'une enquête épidémiologique menée par Antoine et Pivont, les cryptosporidies étaient présents dans les selles de 7 veaux sur 94 cliniquement sains, soit 7,4 %, alors que chez 40 veaux diarrhéiques, ces mêmes auteurs ont signalé 10 cas positifs, soit 25 %.

D'après nos résultats, l'infection cryptosporidienne touche de façon indifférente les deux sexes. Cela suppose que le sexe, ne soit pas un facteur épidémiologique influençant. En effet la prévalence retrouvée est de l'ordre de 3,23% et 5,88% chez les mâles et les femelles respectivement. Cette faible différence serait due alors à la fluctuation d'échantillonnage en raison du nombre important de l'effectif des femelles.

Nos résultats rejoignent ceux d'AKam et *al.* (2005), dans une étude faite au niveau de la Mitidja (Algérie). Ainsi qu'une étude de Baroudi et *al.*, 2006 effectuée dans les régions de Tipaza, Alger et Boumerdes, où aucune différence significative n'a été enregistrée entre les deux sexes.

#### ➤ **Association avec *Blastocystis***

Que ce soit dans l'ensemble des régions ou pour chaque région à part, nous avons constaté que les deux parasites protozoaires, peuvent coexister chez un même animal. La prévalence de cette infection mixte reste assez faible comparativement à celle de *Blastocystis* seul et *Cryptosporidium* seul. En effet, parmi les 280 prélèvements analysés, 27,5% et 5%, étaient positifs à *Blastocystis* et *Cryptosporidium*, respectivement, contre 2,85% de prélèvements positifs aux deux parasites simultanément. Dans l'étude de Fayer et *al.* (2012) 19,15% et

21,28% des animaux étaient déclarés positifs à *Blastocystis* et *Cryptosporidium*, respectivement, contre un taux de 10,63% d'animaux qui abritaient les deux parasites.

Eventuellement, si l'implication de *Blastocystis* dans les diarrhées des jeunes bovins puisse être confirmée, l'association *Blastocystis-Cryptosporidium* pourrait avoir une grande importance sur le statut clinique des animaux infectés par les deux parasites, étant donné que *Cryptosporidium* touche spécifiquement les veaux âgés de moins de 30 jours, tranche d'âge qui a été déclarée comme la plus sensible à *Blastocystis* selon notre enquête. Dans la présente étude, aucune association entre la présence de *Cryptosporidium* et les désordres digestifs chez les animaux infectés n'a été mise en évidence, ce qui ne nous a pas permis d'étudier l'influence de la présence de ce parasite seul sur le statut clinique, mais aussi la corrélation entre une infection mixte par *Cryptosporidium* et *Blastocystis* et l'expression clinique de diarrhée chez les animaux infectés.

### **3.4. Discussion des résultats d'*Eimeria* et son association avec *Blastocystis***

Chez les bovins la coccidiose est une maladie d'apparition sporadique durant les saisons humides : printemps et automne (Amstutz et al., 2002). Elle est due à un protozoaire du genre *Eimeria* avec deux principales espèces décrites *Eimeria bovis* et *Eimeria zuernii* (Schelcher et Guillot, 2008).

Le taux d'incidence global de l'infestation par *Eimeria* retrouvé dans cette enquête est de 2,5%. Cette valeur est inférieure aux résultats retrouvés dans d'autres régions en Algérie, Baroudi dans son étude effectuée dans trois régions, Alger, Boumerdes et Tipaza, déclare un taux de 15,63% (Baroudi et al., 2005). Laatamna (2009) a mené une enquête dans les régions de Tiaret et Bourdj-Bouariridj, sur 289 bovins âgés de la naissance à plus de 24 mois, le taux de prévalence retrouvé est de l'ordre de 32,87% qui est nettement plus élevé que celui de notre étude (Laatamna et al., 2009).

Aucune différence significative signalée entre l'incidence de la coccidiose dans la région d'Alger et de Boumerdes, ce qui rejoint les résultats retrouvés lors des précédentes études.

Concernant le facteur âge des animaux et vu le faible nombre de cas positifs, les analyses statistiques n'ont pas pu être appliquées, ce qui ne nous permet pas de vérifier si la prévalence des coccidioses dépend de l'âge des animaux. Néanmoins, on a constaté un taux de 6,06% chez les jeunes bovins âgés de plus d'un mois à 6 mois contre des taux de 0%, 1,52%, 2,40% chez les animaux dont la tranche d'âge comprise entre 0 à 1 mois, 7 à 12 mois, et plus de 12

mois, respectivement, ceci rejoint les résultats d'autres études, en Algérie, Baroudi et *al.*, 2005, Laatamna et *al.*, 2009, signalent un taux de positivité plus élevé chez les animaux de plus d'un mois, Dans d'autres pays, des auteurs ont fait état de la même constatation (Chartier et *al.*, 2003; O'Donoghue 1995; Courouble, 1998; Naciri et *al.*, 2001; Morin, 2002 ; Amstutz et *al.*, 2002).

Dans notre investigation, aucun prélèvement diarrhéique n'était positif à *Eimeria*, de ce fait, l'infection due à ce protozoaire ne se semble pas avoir une expression clinique. Plusieurs auteurs signalent des infections subcliniques ou chronique (Amstutz et *al.*, 2002 ; Chartier, 2003), mais pour la plus part, les coccidies sont connues d'être responsables de diarrhées chez le veau à partir d'un mois d'âge (Euzeby, 1987e ; Bourgouin, 1996 ; Navetat et Rizet, 2002). A cet effet, l'échantillonnage faible des veaux diarrhéiques, en particulier, ceux âgés entre 1 mois et 6 mois, qui est la tranche d'âge la plus sensible aux coccidies, apparait comme étant la cause l'absence de corrélation entre la présence des coccidies et la clinique de diarrhée chez les animaux infectés.

Le sexe des animaux n'apparait pas comme un facteur influençant sur le taux d'infection par les coccidies. En effet, bien que l'échantillonnage important des femelles laisse apparaitre un nombre d'infection plus élevé que les mâles, aucune différences significative entre les deux sexes n'a été met en évidence dans le présent travail.

➤ **Association avec Blastocystis :**

Dans l'ensemble des élevages étudiés, nos résultats ne montre aucune association entre *Eimeria* et *Blastocystis*. En revanche, ce résultat reste peu fiable car sa précision dépend de la taille de l'échantillon. En fait, pour que le résultat soit plus interprétable, il faut que l'échantillon soit plus important, ce qui n'est pas le cas pour notre étude où le nombre de cas positifs aux coccidies est (7/280), ce qui diminuerait les chances de tomber sur des individus qui sont à la fois positifs à *Eimeria* et à *Blastocystis*.

### **3.5. Discussion des résultats d'*Entamoeba* et son association avec *Blastocystis***

Les amibes sont des protozoaires constituant le sous-embranchement des Rhizopodes, caractérisés par une motilité cellulaire sans flagelles. Bien que la plupart d'entre elles soient des organismes libres, il existe un certain nombre d'amibes parasitant le tube digestif de l'homme et des animaux.

Les ruminants comme les bovins semblent être les réservoirs courants de l'espèce *Entamoeba bovis* (Noble, 1952 ; Skirnisson et Hansson, 2006)

Dans notre travail, l'incidence globale d'*Entamoeba* est de 41,79%, ce taux est le plus élevé que des autres parasites retrouvés, ce qui rejoint les études d'autres auteurs réalisées chez l'homme, et qui considèrent les amibes comme étant les parasites les plus fréquents du tube digestif de l'homme. Très peu de données de prévalence sont disponibles chez les bovins. Cependant, certains auteurs ont également signalé leur présence lors des examens microscopiques des selles. Comme, Quilez et *al.* (1996) au cours de leur étude réalisée sur les *Blastocystis* chez les bovins.

Par ailleurs, le taux d'infection retrouvé par *Entamoeba* ne semble pas être influencé par la région, aucune différence significative de prévalence n'a été calculée entre la région d'Alger et celle de Boumerdes et il en est de même pour l'influence du sexe des animaux.

En revanche, l'âge des animaux semble avoir une influence sur la prévalence de l'infection. En effet, un taux plus élevé a été observé chez les animaux âgés entre 7 et 12 mois, mais le parasite a été isolé aussi bien chez les veaux de moins d'un mois et les jeunes bovins de 2 à 6 mois ainsi que chez les adultes.

D'autre part, les diarrhées n'ont pas été attribuées à l'infection par *Entamoeba*, dans le présent travail, une incidence plus élevée a été observée chez les animaux non diarrhéiques que chez les diarrhéiques. Il convient de signaler que la plus part des amibes rencontrés chez les humains sont non pathogènes. Mais, sans nul doute, l'amibe ayant le plus d'intérêt en pathologie humaine est *Entamoeba histolytica*, responsable de l'amibose (ou amibiase) humaine.

#### ➤ Association avec *Blastocystis*

L'incidence de l'infection mixte entre les parasites *Entamoeba* et *Blastocystis* est 9,64%, bien que ce taux est assez faible comparativement au taux d'infection par *Blastocystis* seul ou par *Entamoeba* seul, mais *Entamoeba* reste le protozoaire le plus fréquemment associé à *Blastocystis* par rapport aux autres parasites étudiés dans note enquête.

# CONCLUSION

Au terme de cette enquête menée, sur 48 élevages bovins dans deux Wilayas (Alger et Boumerdes), nous avons pu constater que *Blastocystis* existe bel et bien dans notre pays, avec une fréquence de 27,5%. Cette incidence obtenue peut à priori être considérée comme représentative de la population bovine de la région.

Plusieurs facteurs peuvent être mis en cause dans l'apparition de l'infection, mais, le défaut d'hygiène reste le facteur le plus incriminé, d'autres facteurs peuvent être aussi mis en cause, en particulier, l'âge, le statut clinique et la répartition géographique.

Etant donné que d'autres parasites entéropathogène peuvent être associés à *Blastocystis*. *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Eimeria* trois protozoaires, bien connus et incriminés dans l'étiologie des diarrhées néonatales ont également été isolés et étudiés au cours de cette investigation.

Autre axe à développer à l'avenir : la diversité génétique de *Blastocystis*, il serait intéressant de génotyper les souches de *Blastocystis* isolés des bovins en Algérie pour pouvoir les replacer dans la phylogénie, toujours dans l'objectif d'apporter des preuves de la transmission du parasite de l'animal à l'homme.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

**Abe N., Nagoshi M., TAKAMI K., Sawano Y., Yoshikawa H.** A survey of *Blastocystis* sp. In livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Veterinary Parasitology*, 2002, 106, 203-212.

**Afssa** (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : (évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp.), Septembre 2002.

**Aguiar, J.I., Goncalves, A.Q., Sodre, F.C., Pereira Sdos, R., Boia, M.N., de Lemos, E.R., and Daher, R.R.** Intestinal protozoa and helminths among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of *Blastocystis hominis*. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2007, 40: 631-634.

**Allen V.H., Ridley D.S.** Further observations on the formol ether concentration technique for faecal parasites. *J. clin. Pathol.* 1970, 23: 545-546.

**Akam A., Khelef D., Kaidi R. Lafri M., Cozma V., Suteu E.** Cryptosporidiose bovine dans certaines fermes laitières de la Mitidja d'Alger. Communication : la 2<sup>ème</sup> journée des sciences vétérinaires. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, 2005.

**Amedeo.J ; Goillandeau. P ; Roger. M. F.** Etiologie des affections néonatales du veau. Incidence de la cryptosporidiose. *Bulletin des G.T.V.* 1995-N°1-B-502-pp35-42.

**Amstutz HE, Anderson DP, Armour J et al.** Le manuel vétérinaire Merck. 2nd ed. Whitehouse Station : Merck and Co., INC., 2002, 2297.

**Anofel.** Laboratory-based surveillance for *Cryptosporidium* in France, 2006-2009. *Euro Surveill*, 2010, 15: 19642.

**Antoine. H. ; Pivont. P.** Importance pratique des cryptosporidies. Cryptosporidiose du jeune ruminant. Fondation Marcel Mérieux, Lyon, 16 novembre 1984. Société française de Buiatrie.

**Apezteguia Mc., Basualdo Ja., Cordoba Ma., De Luca Mm., Minvielle Mc., Pezzani Bc.** Epidemiological survey of *Giardia* spp. and *Blastocystis hominis* in an Argentinian rural community. *Korean J. Parasitol.*, 2004, 42, 121-127.

**Arisue, N., Hashimoto, T., Yoshikawa, H., Nakamura, Y., Nakamura, G., Nakamura, F., Yano, T.A., and Hasegawa, M.** Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *J Eukaryot Microbiol*, 2002, 49: 42-53.

**Arslan M.O., Gicik Y., Erdogan H.M., Sari B.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in Diarrhoeic Calves in Kars Province, Turkey. *Turc. J. Vet. Anim. Sci.* 2001, 25: 161-164.

**Auguet T., Pedro-Botet J., Rubies-Prat J.** *Blastocystis hominis*: a controversial enteric protozoon. *J. Clin. Gastroenterol.*, 1992, 14, 88-89.

**Banaticla, J.E., Rivera, W.L.** Detection and subtype identification of *Blastocystis* isolats from wastewater samples in the Philippines. *J Water Health.* 2011, 9, 128-137.

**Baroudi D.** Etude de la cryptosporidiose bovine dans quelques régions de la Wilaya d'Alger et ses environs et l'impact sur la santé humaine. Mémoire de magistère. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, 2005 (353 pages)

- Barret, H., P.** A method for the cultivation of Blastocystis. *Ann of trop med parasitol.* 1932, 1 5, 113-116.
- Boorom, K.F., Smith, H., Nimri, L., Viscogliosi, E., Spanakos, G., Parkar, U., Li, L.H., Zhou, X.N., Ok, U.Z., Leelayoova, S., and Jones, M.S.** Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. *Parasit Vectors.* 2008, 1: 40.
- Leelayoova, S., Jones, M.S.** Oh my aching gut : irritable bowel syndrome, Blastocystis, and a symptomatic infection. *Parasit Vectors.* 2008, 1, 40.
- Boreham, P.F., Stenzel, D.J.** Blastocystis in humans and animals : morphology, biology, and epizootiology. *Adv Parasitol.* 1993, 32, 1-70
- Bouree P.** Blastocystis: commensal ou pathogène ? Etude de 590 cas et revue de la littérature. *Antibiotiques*, 2007, 9, 20-24 (81 pages)
- Bourggouin. H.** La place de la cryptosporidiose dans les maladies néonatales du veau en Corrèze. *Bulletin des GTV N°2*: 1996, pp19-41.
- Brittan, F.** Report of a series of microscopical investigations on the pathology of cholera. *London Med. Gaz.* 1849, 9: 530-542.
- Brumpt, E.** Blastocystis hominis n. sp. et formes voisines. *Bull. Soc. Pathol. Exot* 1912, 5, 725-730
- Capron M., Delgado-Viscogliosi P., Dufernez F., Edgcomb V., Gerbod D., Ho Lc., Noel C., Singh M., Sogin M., Wintjens R.** Molecular phylogenies of Blastocystis isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, 43, 348-355.
- Capron M., Delgado-Viscogliosi P., Edgcomb V., Gerbod D., Noel C., Peyronnet C., Sogin M., Viscogliosi E.** Phylogenetic analysis of Blastocystis isolates from different hosts on the comparison of small-subunit rRNA gene sequences. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2003, 126, 119-123.
- Carruthers, V.B., and Cross, G.A.** High-efficiency clonal growth of bloodstream- and insect-form *Trypanosoma brucei* on agarose plates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992, 89: 8818-8821.
- Cassidy, M.F., Stenzel, D.J., and Boreham, P.F.** Electron microscopy of surface structures of Blastocystis sp. from different hosts. *Parasitol Res.* 1994, 80: 505-511.
- Chan C., Chan W., Chen H., Chen T., Fung C., Lin C., Liu C.** Clinical characteristics and endoscopic findings associated with Blastocystis hominis in healthy adults. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2003, 69, 213-216.
- Chartier C.** Cryptosporidiose des ruminants: actualités en matière d'épidémiologie, de diagnostic et de contrôle. Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Editions Tec et Doc., 2003, pp 1559-1568.
- Chatelier N.** Blastocystis sp. en élevage de ruminants. Thèse de doctorat vétérinaire ; Université Claude Bernard, Lyon 1 ; 2004(64 pages).

- Chen, X.Q., Singh, M., Ho, L.C., Tan, S.W., Ng, G.C., Moe, K.T., and Yap, E.H.** Description of a *Blastocystis* species from *Rattus norvegicus*. *Parasitol Res.* 1997, 83: 313-318.
- Chen, X.Q., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C., Tan, S.W., and Yap, E.H.** In vitro encystation and excystation of *Blastocystis ratti*. *Parasitology.* 1999, 118 (Pt 2) : 151160.
- Chermette. R.; Boufassa-Ouzrout S.** Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite. Série technique N° 5, 2ème édition. Edité par l'office International des Epizooties, Paris, 1988. 127pages, 527 références.
- Coklin T., Farber J., Parrigton L., Dixon B.** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. *Veterinary Parasitology*, 2007, 150, 297-305.
- Coudert P., Dreyfuss G.** Les protistes digestifs parasites de l'homme. *Act. Pharm.*, 2010, 500, 17-28.
- Courouble. F.** Coccidiose et cryptosporidiose : à ne pas négliger chez les ruminants. *Bulletin des GTV.* N°17 pp43-49 2002.
- Degerli S., Celiksoz A., Kalkan K., Ozcelik S.** Prévalence of *Cryptosporidium* spp and *Giardia* spp. In cows and calves in Sivas, Turc. *J. Vet. Anim. Sci.* 2005, .29 : 995-999.
- Dogruman-Al, F., Dagci, H., Yoshikawa, H., Kurt, O., and Demirel, M.** A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 2008, 103: 685-689.
- Dogruman-Al, F., Simsek, Z., Boorum, K., Ekici, E., Sahin, M., Tuncer, C., Kustimur, S., and Altinbas, A.** Comparison of methods for detection of *Blastocystis* infection in routinely submitted stool samples, and also in IBS/IBD Patients in Ankara, Turkey. *PLoS One.* 2010, 5 : e15484.
- Dominguez-Marquez, M.V., Guna, R., Munoz, C., Gomez-Munoz, M.T., and Borrás, R.** High prevalence of subtype 4 among isolates of *Blastocystis hominis* from symptomatic patients of a health district of Valencia (Spain). *Parasitol Res.* 2009, 105: 949-955.
- Doyle, P.W., Helgason, M.M., Mathias, R.G., Proctor, E.M.** Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol.* 1990, 28, 116-121.
- Duda A.; Stenzel D.J.; Boreham P.F.L.** Detection of *Blastocystis* sp. In domestic dogs and cats *Veterinary Parasitology*, 1998, 76, 9-17
- Dunn, L.A., Boreham, P.F., Stenzel, D.J.** Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *Int J Parasitol.* 1998, 19, 43-56.
- Elwakil, H.S., Hewedi, I.H.,** 2010. Pathogenic potential of *Blastocystis hominis* in laboratory mice. *Parasitol Res.* 2010, 107, 685-689
- Eroglu, F., Koltas, I.S.** Evaluation of the transmission mode of *B. hominis* by using PCR method. *Parasitol Res.* 2010, 107, 841-845.
- Ertug, S., Dost, T., Ertabaklar, H., Gultekin, B.** [The effect of trimethoprim-sulfamethoxazole in *Blastocystis hominis* infection]. *Turkiye Parazitoloj Derg.* 2009, 33, 270-272.

- Euzeby. J.** Coccidioses des bovins. Protozoologie médicale comparée, volume II. Fondation Marcel Mérieux. Lyon, 1987. Pp257-268.
- Fayer R., Santin M., Macarisin D.** Detection of concurrent infection of dairy cattle with *Blastocystis*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Enterocytozoon* by molecular and microscopic methods. *Parasitol Res.* 2012, 111:1349–1355.
- Fischer P., Sohail M.** *Blastocystis hominis* and travelers. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 2005, 3, 33-38.
- Fleming. R. ; le personnel du MAAO.** *Cryptosporidium*: votre eau en contient-elle? Commande N°04-016 en remplacement de la fiche technique N° : 00-098 qui porte le même titre, Avril 2004.
- Gang L., Yan S., Mengjiao Z., Jixue Z., Tianyu Z., Waqas A., Huijun L., Ning J., Qijun C., Mei X., Jigang Y.** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* isolates from dairy cattle in northeast China. *Experimental Parasitology.* 2015, 154, 20–24.
- Garavelli, P.L., Scaglione, L.** *Blastocystosis*. An epidemiological study. *Microbiologica.* 1989, 12, 349-350.
- Gardner, T.B., Hill, D.R.** Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2001, 14, 114-128.
- Gaye C.** Etude d'un protozoaire parasite : *Blastocystis hominis*. 102 p. Thèse de doctorat : Pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier : 1995.
- Gillin, F.D., and Diamond, L.S.** Clonal growth of *Entamoeba histolytica* and other species of *Entamoeba* in agar. *J Protozool.* 1978, 25: 539-54 1976.
- Gillin, F.D., and Diamond, L.S.** Clonal growth of *Entamoeba* in agar : some applications of this technique to the study of their cell biology. *Arch Invest Med (Mex)* 9 Suppl. 1978, 1: 237-246.
- Gillin, F.D., and Diamond, L.S.** Clonal growth of *Giardia lamblia* trophozoites in a semisolid agarose medium. *J Parasitol.* 1980, 66: 350-352.
- Goh Tk., Howej Ngm., Zaman V.** Scanning electron microscopy of the surface coat of *Blastocystis hominis*. *Parasitol. Res.*, 1999, 85, 974-976.
- Gupta, R., and Parsi, K.** Chronic urticaria due to *Blastocystis hominis*. *Australas J Dermatol.* 2006, 47: 117-119.
- Hameed, D.M., Hassanin, O.M., and Zuel-Fakkar, N.M.** Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitol Res.* 2010, 108: 553-560.
- Hani. F. A.** Etude étiologique des diarrhées néonatales du veau et influence des conditions zootechniques. Thèse de Magistère. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, 2003.
- Haresh, K., Suresh, K., Khairul A., Saminathan, S.** Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. *Trop Med Int Health.* 1999, 4, 274-277.
- Harp. J. A; Goff. J. P.** Protection of calves with a vaccine against *Cryptosporidium parvum*. *The journal of Parasitology*, 1995, 81(1).pp54-57.

- Hirata, T., Nakamura, H., Kinjo, N., Hokama, A., Kinjo, F., Yamane, N., and Fujita, J.** Prevalence of *Blastocystis hominis* and *Strongyloides stercoralis* infection in Okinawa, Japan. *Parasitol Res.* 2007, 101: 1717-1719.
- Huetink R.E.C., Van Der Giessen J.W.B., Noordhuizen J.P.T.M., Ploeger H.W.** Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Vet. Parasitol.*, 2001, 102: 53-67.
- Huetink. R. E. C.; Van der Giesen. J. W. B; Noordhuizen. J. P. T. M et Ploeger. H. W.** Epidémiologie of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Veterinary parasitology* volume 102, issues 1-2, 3 December 2001, Pages 53-67.
- Hussein, E.M., Hussein, A.M., Eida, M.M., and Atwa, M.M.** Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol Res.* 2008, 102: 853-860.
- Henriksen S.A., Pohlenz J.F.L.** Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelson technique. *Acta vet. Scand.*, 1981, 22: 594-596
- Iguchi, A., Ebisu, A., Nagata, S., Saitou, Y., Yoshikawa, H., Iwatani, S., and Kimata, I.** Infectivity of different genotypes of human *Blastocystis hominis* isolates in chickens and rats. *Parasitol Int.* 2007, 56: 107-112.
- Jiang, J.B., He, J.G.** Taxonomic status of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Today*, 1993 9, 2-3.
- Johnson, A.M., Thanou, A., Boreham, P.F., and Baverstock, P.R.** *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. *Exp Parasitol.* 1989, 68: 283-288.
- Jones, M.S., 2nd, Ganac, R.D., Hiser, G., Hudson, N.R., Le, A., Whipps, C.M.** Detection of *Blastocystis* from stool samples using real-time PCR. *Parasitol Res.* 2008, 103, 551-557.
- Katsarou-Katsari, A., Vassalos, C.M., Tzanetou, K., Spanakos, G., Papadopoulou, C., and Vakalis, N.** Acute urticaria associated with amoeboid forms of *Blastocystis* sp. subtype 3. *Acta Derm Venereol.* 2008, 88: 80-81.
- Kaya, S., Cetin E.S., Aridogan, B.C., Arikan, S., Demirci, M.** Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation. *Turkiye Parazitoloj Derg.* 2007 31, 184-18
- Khelef D., Said M.Z., Akam A., Kaidi R., Chirila V., Cozma V. et Adjou K.T.** Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les bovins en Algérie. *Revue de médecine vétérinaire.* 2007, 5 : 206-264.
- Konig G., Muller H.E.** *Blastocystis hominis* in animals : incidence of four serogroups. *Zentralbl Bakteriolo.* 1997, 9.1.2-3.
- KtsarouKatsari, A., Vassalos, C.M., Tzanetou, K., Spanakos, G., Papadopoulou, C., Vakalis, N.** Acute urticaria associated with amoeboid forms of *Blastocystis* sp. subtype 3. *Acta Derm Venereol.* 2008, 88, 80-81
- Laatamna A.K.** Contribution à l'étude de la cryptosporidiose bovine dans quelques élevages de la Wilaya de Tiaret et la Wilaya de Bourdj Bou Arreridj. Mémoire de magistère. Institut des sciences vétérinaire, Université Ibn-Khaldoun-Tiaret, 2009.

- Lanuza, M.D., Carbajal, J.A., and Borrás, R.** Identification of surface coat carbohydrates in *Blastocystis hominis* by lectin probes. *Int J Parasitol.* 1996, 26: 527-532.
- Leelayoova, S., Rangsin, R., Taamasri, P., Naaglor, T., Thathaisong, U., Mungthin, M.** 2004. Evidence of waterborne transmission of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg.* 2004, 70, 658-662.
- Leelayoova S., Siripattanapipong S., Thathaisong, U., Naaglor T., Taamasri P., Piyaraj P., Mungthin M.** Drinking water: a possible source of *Blastocystis* spp. subtype 1 infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 2008, 79, 401-406.
- Li, L.H., Zhang, X.P., Lv, S., Zhang, L., Yoshikawa, H., Wu, Z., Steinmann, P., Utzinger, J., Tong, X.M., Chen, S.H., and Zhou, X.N.** Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China. *Parasitol Res.* 2007, 102: 83-90.
- Long, H.Y., Handschack, A., König, W., Ambrosch, A.** *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res.* 2001, 87, 1029-1030.
- Lorgeril M.** Infection à *Blastocystis hominis*: épidémiologie, physiopathologie, contrôle Thèse de doctorat en pharmacie ; Université de Limoges, Faculté de Pharmacie, 2011.
- Mac Cluskey B. J., Greiner E. C., Donovan G. A.** Patterns of *Cryptosporidium* oocyst shedding in calves and a comparison of two diagnostic methods. *Veterinary Parasitology*, 1995, 60. 185-190.
- Mak J., Init I., Khairul Anuar A., Rajah H., Ramakrishnan K., Saminathan R., Suresh K., Vellayan S., Vennila G.** *Blastocystis* in animal handlers. *Parasitol. Res.*, 1999, 85, 1032-1033.
- McClure H.M.; Strobert E.A.; Healy G.R.** *Blastocystis hominis* in a pig-tailed macaque : a potential enteric pathogen for nonhuman primates *Laboratory Animal Science*, October 1980, 30 (5), 890-894
- Mehlhorn, H.** *Blastocystis hominis*, Brumpt 1912: are there different stages or species? *Parasitol Res.* 1988, 74, 393-395.
- Meloni, D., Sanciù, G., Poirier, P., El Alaoui, H., Chabe, M., Delhaes, L., Dei-Cas, E., Delbac, F., Luigi Fiori, P., Di Cave, D., and Viscogliosi, E.** Molecular subtyping of *Blastocystis* sp. isolates from symptomatic patients in Italy. *Parasitol Res.* 2011, 3: 685-689.
- Mendonça C., Almeida A., Castro A., Delgado M.L., Soares S., Correia da Costa J.M., Canada N.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from cattle from Portugal. *Veterinary Parasitology.* 2007, 147, 47-50.
- Micheloud, D., Jensen, J., FernandezCruz, E., Carbone, J.** [Chronic angioedema and blastocystis hominis infection]. *Rev Gastroenterol Peru.* 2007, 27, 191-193.
- Mirza, H., Teo, J.D., Upcroft, J., and Tan, K.S.** A rapid, high-throughput viability assay for *Blastocystis* spp. reveals metronidazole resistance and extensive subtype-dependent variations in drug susceptibilities. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010, 55: 637-648.

- Mirza, H., and Tan, K.S.** Blastocystis exhibits inter- and intra-subtype variation in cysteine protease activity. *Parasitol Res.* 2009, 104: 355-361.
- Moe, K.T., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C., Tan, S.W., Chen, X.Q., and Yap, E.H.** Development of Blastocystis hominis cysts into vacuolar forms in vitro. *Parasitol Res.* 1999, 85: 103-108
- Moe, K.T., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C., Tan, S.W., Chen, X.Q., Ng, G.C., and Yap, E.H.** Experimental Blastocystis hominis infection in laboratory mice. *Parasitol Res.* 1997, 83: 319-325.
- Moe, K.T., Singh, M., Howe, J., Ho, L.C., Tan, S.W., Ng, G.C., Chen, X.Q., and Yap, E.H.** Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of Blastocystis hominis from human feces. *Parasitol Res.* 1996, 82: 439-444
- Moe, K.T., Singh, M., Gopalakrishnakone, P., Ho, L.C., Tan, S.W., Chen, X.Q., Yap, E.H.** Cytopathic effect of Blastocystis hominis after intramuscular inoculation into laboratory mice. *Parasitol Res.* 1998, 84, 450-454.
- Moghaddam, D.D., Ghadirian, E., Azami, M.** Blastocystis hominis and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole. *Parasitol Res.* 2005, 96, 273-275.
- Molbak K., Nielsen H., Smith H., Stensvold C.** Pursuing the clinical significance of Blastocystis – diagnostic limitations. *Trends Parasitol.*, 2009, 25, 23-29.
- Morin R.** Cryptosporidiose chez les ruminants. Thèse de doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 2002.
- Naciri M., Lacroix S., Laurent F.** La cryptosporidiose chez les jeunes ruminants non sevrés : le pouvoir pathogène de Cryptosporidium parvum. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 2007, 15-20.
- Naciri M., Lacroix., Laurent F.** La cryptosporidiose des ruminants: Diagnostic, moyens de lutte et risques pour l'homme. *L'action vétérinaire*, 2001, N°1543.pp11-18.
- Naciri. M., Lefay. M. P., Mancassola. R., Poirier. P., Chermette. R.** Role of *Cryptosporidium Parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France *Veterinary parasitology*.1999, N°85-pp245-257.
- Naciri. M. ; Lefay M. P. ; Mancassola. R ; Hougrgon. M. ; Ploly L et Chermette. R.** Efficacité d'une nouvelle formulation du lactate d'halofuginone sur la cryptosporidiose du veau nouveau-né. 1999. pp183-186. (INRA-*Accueil Tours*).
- Nagy B, Zierdt C.H., Zierdt W.S.** Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to Blastocystis hominis. *J. Parasitol.*, 1995, 81, 127-129.
- Nakamura, Y., Hashimoto, T., Yoshikawa, H., Kamaishi, T., Nakamura, F., Okamoto, K., Hasegawa, M.** Phylogenetic position of Blastocystis hominis that contains cytochrome-free mitochondria, inferred from the protein phylogeny of elongation factor 1 alpha. *Mol Biochem Parasitol.* 1996, 77, 241-245.
- Nasirudeen, A.M., and Tan, K.S.** Isolation and characterization of the mitochondrion-like organelle from Blastocystis hominis. *J Microbiol Methods*.2004, 58: 101-109.

- Nasirudeen, A.M., Tan, K.S., Singh, M., and Yap, E.H.** Programmed cell death in a human intestinal parasite, *Blastocystis hominis*. *Parasitology*. 2001, 123: 235-246.
- Navarro C., Dominguez-Marquez M.V., Garijo-Toledo M.M., Vega-Garcia S., Fernandez-Barredo S., Perez-Gracia M.T., Garcia A., Borrás R., Gomez-Munoz M.T.** High prevalence of *Blastocystis* sp. in pigs reared under intensive growing systems : Frequency of ribotypes and associated risk factors *Veterinary Parasitology*, 2008, 153, 347-358.
- Navetat. H ; Rizet C.** Diarrhée néonatale du veau quand recourir à l'antibiothérapie. Nigro, L., Larocca, L., Massarelli, L., Patamia, I., Minniti, S., Palermo, F., Cacopardo, B..A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. *J Travel Med*. 2003, 10, 128-130.
- Nimiri L., Batchoun R.** Intestinal colonization of symptomatic and asymptomatic school children with *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol*. 1994, 32, 2865-2866.
- Noble GA., Noble E.R.** Entamoebae in farm animals. *J. Parasitol*. 1952, 38.571-595.
- Noel, C., Dufernez, F., Gerbod, D., Edgcomb, V.P., Viscogliosi, P., Ho, L.C., Singh, M., Wintjens, R., Sogin, M.L., Capron, M., Pierce, R., Zenner, L., Viscogliosi, E.,** 2005. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts : implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol* 43, 348-355.
- O'Donoghue P. J.** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol*. 1995 Feb; 25(2): 139-95.
- Ok, U.Z., Girginkardesler, N., Balcioglu, C., Ertan, P., Pirildar, T., Kilimcioglu, A.A.,** Effect of trimethoprim-sulfamethaxazole in *Blastocystis hominis* infection. *Am J Gastroenterol*. 1999, 94, 3245-3247.
- Olson M. E., Guselle N. J., O'Hadley R. M., Swift M. L., Mac Allister T. A., Jelinski M. D., Morck D. W.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. *Canadian Veterinary Journal*, 1997, 38. Pp703-706.
- Ouchene N., Ouchene-Khelifi N.A., Aissi M., Benakhla A.** Prévalence de *Cryptosporidium* spp. et *Giardia* spp. chez les bovins de la région de Sétif au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 2012, 65 (3-4) : 53-56.
- Parkar U., Traub R.J., Kumar S., Mungthin M., Vitali S., Leelayoova S., Morris K., Thompson R.C.** Direct characterization from faeces by PCR and evidence of zoonotic potential. *Parasitology*, 2007, 134, 359-367.
- Parkar, U., Traub, R.J., Vitali, S., Elliot, A., Levecke, B., Robertson, I., Geurden, T., Steele, J., Drake, B., Thompson, R.C.** Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Vet Parasitol*. 2010, 169, 8-17.
- Pegelow, K., Gross, R., Pietrzik, K., Lukito, W., Richards, A.L., and Fryauff, D.J.** Parasitological and nutritional situation of school children in the Sukaraja district, West Java, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1997, 28: 173-190.

- Petrasova J., Uzlikova M., Kostka M., Petrzekova K.J., Huffman M.A., Modry D.** Diversity and host specificity of Blastocystis in syntopic primates on Rubondo Island, Tanzania International Journal for Parasitology, 2011, 41, 1113-1120.
- Poirier, P., Wawrzyniak, I., Albert, A., El Alaoui, H., Delbac, F., and Livrelli, V.** Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection and quantification of blastocystis parasites in human stool samples: prospective study of patients with hematological malignancies. J Clin Microbiol. 2011, 49: 975-983.
- Portejoie. Y.** Etiologie des diarrhées néonatales, commentaires des résultats d'analyses de différentes régions. Pathologies et chirurgies néonatales, Journées Nationales des GTV. Edité par SNGTV, Paris, 1995. pp175-177.
- Puthia, M.K., Vaithilingam, A., Lu, J., Tan, K.S.** Degradation of human secretory immunoglobulin A by Blastocystis. Parasitol Res. 2005, 97, 386-389.
- Puthia, M.K., Lu, J., Tan, K.S.** Blastocystis ratti contains cysteine proteases that mediate interleukin-8 response from human intestinal epithelial cells in an NF-kappaB-dependent manner. Eukaryot Cell. 2008, 7, 435-443.
- Puthia, M.K., Sio, S.W., Lu, J., Tan, K.S.** Blastocystis ratti induces contact-independent apoptosis, F-actin rearrangement, and barrier function disruption in IEC-6 cells. Infect Immun . 2006, 74, 4114-4123.
- Qiao Jy., Wei Zc., Yao Fr., Zhang X., Zhou Xj.** Morphology and reproductive mode of Blastocystis hominis in diarrhea and in vitro. Parasitol. Res., 2007, 101, 43-51
- Quilez J., Sanchez-Acedo C., Del cacho E., Clavel A., Causape A. C.** Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). Veterinary Parasitology, 1996, 66, 139-146.
- Quilez J. Sanchez-Acedo C, Clavel A. Causape A.C.** Occurrence of blastocystis sp. In cattle in Aragon, northeastem, Spain. Parasitol Res. 1995, 81.8.703-705.
- Rajah Salim H.R., Suresh Kumar G., Vellayan S., Mak J.W., Khairul Anuar A., Init I., Vennila G.D., Saminathan R., Ramakrishnan K.** Blastocystis in animal handlers Parasitology Research, 1999, 85, 1032-103.
- Rayan H.Z., Ismail O.A., and El Gayar, E.K.** Prevalence and clinical features of Dientamoeba fragilis infections in patients suspected to have intestinal parasitic infection. J Egypt Soc Parasitol. 2007, 37: 599-608.
- Reboisson D., Schelcher F., Foucras G.** Les cellules du colostrum : quel role dans la défense du veau nouveau-né. Nouveau praticien vétérinaire. 2008, 13-19.
- Rohela M., Suresh K., Tan Tc., Venilla Gd.** In vivo encystation of Blastocystis hominis. Parasitol. Res., 2009, 104, 1373-1380
- Saksirisampant, W., Nuchprayoon, S., Wiwanitkit, V., Yenthakam, S., and Ampavasiri, A.** Intestinal parasitic infestations among children in an orphanage in Pathum Thani province. J Med Assoc Thai 86 Suppl. 2003,2: S263-270.

- Saksirisampant W., Prownebon J., Kulkumthorn M., Yenthakam S., Janpla S., and Nuchprayoon S.** Prevalence of intestinal parasitic infections among school children in the central region of Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2006, 89: 1928-1933.
- Samuelson, J.** Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999, 43, 1533-1541.
- Santin M., Gomez-Munoz M.T., Solano-Aquilar G., Fayer R.** Development of a new PCR protocol to detect and subtype *Blastocystis* spp. from humans and animals. *Parasitol Res.* 2011, 109: 205–212.
- Schelcher F, Guillot J.** Les coccidioses. In : INSTITUT DE L'ELEVAGE, *Maladies des Bovins.* 4ème Ed. Paris: France Agricole. 2008, 132-135.
- Silberman J.D., Sogin M.L., Leipe D.D., and Clark C.G.** Human parasite finds taxonomic home. *Nature.* 1996, 380: 398.
- Singh M., Tan Sw., Yap Eh.** Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int. J. Parasitol.*, 2002, 32, 789-804.
- Singh M., Suresh K., Ho L.C., Ng, G.C., and Yap, E.H.** Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 1995, 81: 446-450.
- Sio S.W., Puthia M.K., Lee A.S., Lu J., Tan K.S.** Protease activity of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 2006, 99, 126-130.
- Skirnisson K., Hansson H.** Causes of diarrhoea in lambs during autumn and early winter in an Icelandic flock of sheep. *Icel. Agric. Sci.* 2006, 19: 43-57.
- Smith H., Suresh K.** Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2004, 23, 509-511.
- Souppart L.; Sanciú G.; Cian A.; Wawrzyniak I. ; Delbac F. ; Capron M.; Deicas E.; Boorom K.; Delhaes L.; Viscogliosi E.** Molecular epidemiology of human *Blastocystis* isolates in France *Parasitology Research*, 2009, 105, 413-421.
- Souppart L., Moussa H., Cian A., Sanciú G., Poirier P., El Alaoui H., Delbac F., Boorom K., Delhaes L., Dei-Cas E., and Viscogliosi E.** Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitol Res.* 2010, 106 : 505-511.
- Spanakos G.; Papadogiannakis E.; Kontos V.; Menounos P.; Velonakis E.; Koutis C.; Vakalis N.** Molecular screening for *Blastocystis* sp. in canine fecal samples in Greece *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 2011, 62 (3), 216-220
- Stechmann A., Hamblin K., Perez-Brocal V., Gaston D., Richmond G.S., van der Giezen M., Clark C.G., and Roger A.J.** Organelles in *Blastocystis* that blur the distinction between mitochondria and hydrogenosomes. *Curr Biol.* 2008, 18: 580-585.
- Stensvold C.R., Alfellani M.A., Nørskov-Lauritsen S., Prip K., Victory E.L., Maddox C., Nielsen H.V., and Clark C.G.** Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. *Int J Parasitol.* 2009a, 39: 473-479.

**Stensvold C.R., Christiansen D.B., Olsen K.E., and Nielsen H.V.** Blastocystis sp. Subtype 4 is Common in Danish Blastocystis-Positive Patients Presenting with Acute Diarrhea. *Am J Trop Med Hyg.* 2011, 84: 883-885.

**Stensvold C.R., Lewis H.C., Hammerum A.M., Porsbo L.J., Nielsen S.S., Olsen K.E., Arendrup M.C., Nielsen H.V. and Molbak K.** Blastocystis: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiol Infect.* 2009b, 137: 1655-1663.

**Stensvold C.R., Suresh G.K., Tan K.S., Thompson R.C., Traub R.J., Viscogliosi E., Yoshikawa H., and Clark C.G.** Terminology for Blastocystis subtypes--a consensus. *Trends Parasitol.* 2007, 23: 93-96.

**Stenzel D.J., and Boreham P.F.** Blastocystis hominis revisited. *Clin Microbiol Rev.* 1996, 9: 563-584.

**Stenzel D.J., Boreham P.F., and McDougall R.** Ultrastructure of Blastocystis hominis in human stool samples. *Int J Parasitol.* 1991, 21: 807-812.

**Suresh K.G., Tan T.C.** Predominance of amoeboid forms of Blastocystis hominis in isolates from symptomatic patients. *Parasitol. Res.*, 2006, 98, 189-193.

**Suresh K., Howe J., Ng G.C., Ho L.C., Ramachandran N.P., Loh A.K., Yap E.H., and Singh M.** A multiple fission-like mode of asexual reproduction in Blastocystis hominis. *Parasitol Res.* 1994, 80: 523-527.

**Swayne, J.G.** An account of certain organic cells peculiar to the evacuations of cholera. *Lancet.* 1849, 2 : 368-371

**Taminelli V., Eckert J., Sydlert T., Gottsteing B., Corboz L., Hofman M.** Experimental infection of calves and lambs with bovine giardia isolates. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1989, 131: 551-564.

**Tan K.S.** New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008, 21: 639-665.

**Tan K.S., and Nasirudeen A.M.** Protozoan programmed cell death--insights from Blastocystis deathstyles. *Trends Parasitol.* 2005, 21: 547-550.

**Tan K.S., Howe J., Yap E.H., and Singh M.** Do Blastocystis hominis colony forms undergo programmed cell death? *Parasitol Res.* 2001, 87: 362-367.

**Tan K.S., Singh M., and Yap E.H.** Recent advances in Blastocystis hominis research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol.* 2002, 32: 789-804.

**Tan K.S., Howe J., Yap E.H., Singh M.** Do Blastocystis hominis colony forms undergo programmed cell death? *Parasitol Res.* 2001, 87, 362-367.

**Tan K.S.** Blastocystis in humans and animals : new insights using modern methodologies. *Vet Parasitol.* 2004, 126, 121-144.

**Tan K.S.** New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008, 21, 639-665.

- Tan K.S., Mirza H., Teo J.D., Wu B., Macary P.A.** Current Views on the Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. *Curr Infect Dis Rep.* 2010, 12, 28-35.
- Tan K.S., Ng G.C., Quek E., Howe J., Ramachandran N.P., Yap E.H., Singh M.** *Blastocystis hominis*: A simplified, high efficiency method for clonal growth on solid agar. *Exp Parasitol.* 2000, 96, 9-15
- Tan S.W., Singh M., Thong K.T., Ho L.C., Moe K.T., Chen X.Q., Ng G.C., Yap E.H.** Clonal growth of *Blastocystis hominis* in soft agar with sodium thioglycollate. *Parasitol Res.* 1996, 82, 737739.
- Tan T.C., Suresh K.G.** Amoeboid form of *Blastocystis hominis* - a detailed ultrastructural in sight. *Parasitol Res.* 2006, 99, 737-742.
- Teow W.L., Ng G.C., Chan P.P., Yap E.H., Zaman V., Singh M.** A survey of *Blastocystis* in reptiles *Parasitol Research*, 1992, 78 (5), 453-455
- Termmathurapoj S., Leelayoova S., Aimpun P., Thathaisong U., Nimmanon T., Taamasri P., Mungthin M.** The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. *Parasitol Res.* 2004, 93, 445-447.
- Thathaisong U. ; Worapong J. ; Mungthin M. ; Tan-Ariya P. ; Viputtigul K. ; Sudtis A. ; Noonai A. ; Leelayoova S.** *Blastocystis* isolates from a pig and a horse are closely related to *Blastocystis hominis* *Journal of Clinical Microbiology*, March 2003, 967-975
- Trullard. P.** La Giardiose des veaux. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole vétérinaire de Nantes, France, 2002.
- Vogelberg C., Stensvold C.R., Monecke S., Ditzen A., Stopsack K., Heinrich-Grafe U., and Pohlmann C.** *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitol Int.* 2010, 59: 469-471.
- Wang W., Owen H., Traud J.R., Cuttell L., Inpankaew T., Ohmann H.B.,** Molecular epidemiology of *Blastocystis* in pigs and their in-contact humans in Southeast Queensland, Australia, and Cambodia. *Veterinary Parasitology.* 2014, 203, 264-269.
- Wawrzyniak I.** Génomique et post-génomique du parasite intestinal *Blastocystis* sp. sous-type 7. Evaluation de son pouvoir pathogène. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale Des sciences De La Vie, Santé, Agronomie, Environnement, Université Blaise Pascal, 2012.
- Windsor, J.J., Stenzel, D.J., and Macfarlane, L.** Multiple reproductive processes in *Blastocystis hominis*. *Trends Parasitol.* 2003, 19: 289-290; author reply 291-282.
- Wong, K.H., Ng, G.C., Lin, R.T., Yoshikawa, H., Taylor, M.B., and Tan, K.S.** Predominance of subtype 3 among *Blastocystis* isolates from a major hospital in Singapore. *Parasitol Res.* 2008, 102: 663-670.
- Xiao L., Feng Y.,** 2008. *Clin. Microbiol. Rev.* 24 : 110-140.
- Xiao L., Herd R.P.** Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. *Vet. Parasitol.* 1994, 55: 257-262.

- Xiao L., Herd R.P., Rings D.M.** Concurrent infections of Giardia and Cryptosporidium on two Ohio farms with calf diarrhea. *Vet. Parasitol.*1993, 51: 41-48.
- Yakoob J., Jafri W., Beg M.A., Abbas Z., Naz S., Islam M., and Khan R.**Irritable bowel syndrome : is it associated with genotypes of Blastocystis hominis. *Parasitol Res.* 2010, 106: 1033-1038.
- Yakoob J., Jafri W., Beg M.A., Abbas Z., Naz S., Islam M., and Khan R.**Blastocystis hominis and Dientamoeba fragilis in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitol Res.* 2010, 107: 679-684.
- Yakoob J., Jafri W., Jafri N., Islam M., and Asim Beg M.**In vitro susceptibility of Blastocystis hominis isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Br J Biomed Sci.* 2004, 61: 75-77.
- Yakoob J., Jafri W., Jafri N., Khan R., Islam M., Beg M.A., and Zaman V.** Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of Blastocystis hominis. *Am J Trop Med Hyg.*2004, 70: 383-385.
- Yan Y., Su S., Ye J., Lai X., Lai R., Liao H., Chen G., Zhang R., Hou Z., and Luo X.**Blastocystis sp. subtype 5 : à possibly zoonotic genotype. *Parasitol Res.* 2007, 101: 15271532
- Yoshikawa H., Abe N., and Wu Z.** PCR-based identification of zoonotic isolates of Blastocystis from mammals and birds.*Microbiology.*2004, 150: 1147-1151.
- Yoshikawa H., Kuwayama N., and Enose Y.**Histochemical detection of carbohydrates of Blastocystis hominis.*J Eukaryot Microbiol.*1995, 42: 70-74.
- Yoshikawa H., Satoh J., and Enose Y.** Light and electron microscopic localization of lipids in Blastocystis hominis.*J Electron Microsc (Tokyo).* 1995, 44 : 100103.
- Yoshikawa H., Wu Z., Kimata I., Iseki M., Ali I.K., Hossain, M.B., Zaman, V., Haque, R., and Takahashi, Y.** (2004) Polymerase chain reaction-based genotype
- Yoshikawa H., Wu Z., Pandey K., Pandey B.D., Sherchand J.B., Yanagi T., and Kanbara H.**Molecular characterization of Blastocystis isolates from children and rhesus monkeys in Kathmandu, Nepal. *Vet Parasitol.* 2009, 160: 295-300. Zaman
- Yoshikawa H., Abe N., Iwasawa M., Kitano S., Nagano I., Wu Z., Takahashi Y.**Genomic analysis of Blastocystis hominis strains isolated from two long term health care facilities. *J Clin Microbiol.* 2000, 38, 1324-1330.
- Yoshikawa H., Nagano I., Wu Z., Yap E.H., Singh M., Takahashi Y.** Genomic polymorphism among Blastocystis hominis strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes.* 1998, 12, 153-159.
- Zaman V., Howe J., and Ng M.**Ultrastructure of Blastocystis hominis cysts. *Parasitol Res.* 1995, 81: 465-469.
- Zaman V., Howe J., and Ng M.**Variation in the cyst morphology of Blastocystis hominis.*Parasitol Res.* 1997, 83: 306-308

**Zaman V., Howe J., Ng M., Goh T.K.** Scanning electron microscopy of the surface coat of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 1999, 85, 974-976.

**Zhang X., Qiao J.Y., Zhou X.J., Yao F.R., and Wei Z.C.** Morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis* in diarrhea and in vitro. *Parasitol Res.* 2007, 101: 43-51.

**Zhou X.B., Zhang X., Qiao J.Y., Cai J., Cheng S., Yuan Y., Li J.** Encystation--survival of *Blastocystis hominis* in immunocompetent mice abdomen cavity. *Parasitol Res.* 2010, 106, 13151320.

**Zierdt C.H.** *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. *Parasitol Today.* 1988, 4: 15-17

**Zierdt C.H.** *Blastocystis hominis*-past and future. *Clin Microbiol Rev.* 1991, 4: 61-79.

**Zierdt C.H.** Studies of *Blastocystis hominis*. *J Protozool.* 1973, 20, 114-121.

**Zierdt C.H.** Cytochrome-free mitochondria of an anaerobic protozoan-*Blastocystis hominis*. *J Protozool.* 1986, 33, 67-69.

# ANNEXES

**Annexe 01 : Mode opératoire de la technique de Ritchie**



**1-Déposer une noisette de Matière Fécale**



**2- Verser une quantité suffisante de Formol à 10%**



**3-Agiter le mélange à l'aide d'un agitateur en verre**



**4-Laisser reposer quelques min**



**5-Verser le surnageant dans un tube conique**



**6-Verser une quantité d'Ether (1/3 du volume du mélange)**



**7-Fermer le tube par un bouchon et agiter**



**8- Peser les tubes pour équilibrer**



**9- Centrifuger à 1500t/minutes pendant 05minutes**



**10-les 04 phases après centrifugation**



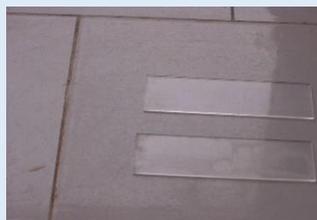
**11- Jeter le surnageant et garder le culot**



**12-Déposer 1 à 2 gouttes du culot sur le bord d'une lame**



**13- Confectionner un Frottis**



**14- Laisser sécher à l'air**

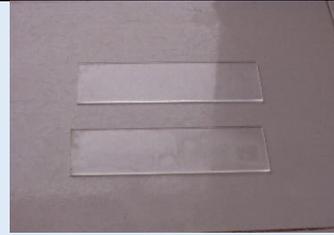


**15-Observer une goutte du culot au grossissement X40**

## Annexe 2: Mode opératoire de la technique de Ziehl-Neelsen



**1-Fixer les frottis dans du méthanol pendant 5 min.**



**2-Laisser sécher à l'air**



**3- Déposer les frottis dans de la fuschine phéniquée pendant 01 heure**



**4- Laver les lames abondamment dans de l'eau de robinet**



**5- Différencier dans del'acide sulfurique à 2%**



**6-Laver abondamment par l'eau de robinet.**



**7-Contre colorer dans du vert du Malachite à 5 %pendant 5 min.**



**8-Laver abondamment à l'eau de robinet**



**9-Laisser sécher à l'air**



**10- Observer au microscope optique au grossissement X100**

# Liste des abréviations

*B. homini* : *Blastocystis hominis*