

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE : 2011

THESE N°

**INFECTION A *BLASTOCYSTIS HOMINIS* :
EPIDEMIOLOGIE, PHYSIOPATHOLOGIE, CONTRÔLE**

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 19 Janvier 2011

Par

Maylis de LORGERIL

Née le 04 Juillet 1985 à Périgueux

EXAMINATEURS DE THESE

Pr Gilles DREYFUSS, Professeur des universités.....PRESIDENT

Pr Marie-Laure DARDE, Professeur des universités-Praticien hospitalier.....JUGE

Dr Francis COMBY, Maître de conférences.....JUGE

Dr Marie-Claire LACROIX, Docteur en Pharmacie.....JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE : 2011

THESE N°

**INFECTION A *BLASTOCYSTIS HOMINIS* :
EPIDEMIOLOGIE, PHYSIOPATHOLOGIE, CONTRÔLE**

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 19 Janvier 2011

Par

Maylis de LORGERIL

Née le 04 Juillet 1985 à Périgueux

EXAMINATEURS DE THESE

Pr Gilles DREYFUSS, Professeur des universités.....PRESIDENT

Pr Marie-Laure DARDE, Professeur des universités-Praticien hospitalier.....JUGE

Dr Francis COMBY, Maître de conférences.....JUGE

Dr Marie-Claire LACROIX, Docteur en Pharmacie.....JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**

1^{er} VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNERE**, Maître de Conférences

2^{ème} VICE-DOYEN : Monsieur Serge **BATTU**, Maître de Conférences

PROFESSEURS :

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DREYFUSS Gilles	MICROBIOLOGIE - PARASITOLOGIE - IMMUNOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE - HYDROLOGIE – ENVIRONNEMENT
ROGEZ Sylvie	MICROBIOLOGIE - PARASITOLOGIE - IMMUNOLOGIE
<u>MAITRES DE CONFERENCES :</u>	
BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BATTU Serge BEAUBRUN-GIRY Karine	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE PHARMACOTECHNIE
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
CLEDAT Dominique COMBY Francis	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
COURTIOUX Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
DELEBASSEE Sylvie	MICROBIOLOGIE - PARASITOLOGIE – IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire -Elise	PHARMACOLOGIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
JAMBUT Anne - Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
LOTFI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
MOREAU Jeanne	MICROBIOLOGIE - PARASITOLOGIE – IMMUNOLOGIE
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
ROUSSEAU Annick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
SIMON Alain	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
TROUILLAS Patrick	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
VIANA Marie - Hélène	PHARMACOTECHNIE
VIGNOLES Philippe	BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS DES
DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
---------------------------------	-----------------------------------

PROFESSEUR CERTIFIE :

MARBOUTY Jean - Michel	ANGLAIS
-------------------------------	---------

A Monsieur le Professeur Gilles Dreyfuss,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce sujet et de présider ce jury,

Pour le savoir que vous m'avez transmis au cours de mes études,

Pour vos précieux conseils et votre disponibilité,

Veillez trouver ici l'expression de ma
profonde reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Francis Comby,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de prendre place au sein de ce jury de thèse,

Pour les connaissances que vous m'avez apportées pendant mes études,

Veillez recevoir mes remerciements les plus sincères.

A Madame le Professeur Marie-Laure Dardé,

Pour l'honneur que vous me faites en prenant part à ce jury de thèse,

Veillez croire en ma plus haute considération.

A Madame le Docteur Marie-Claire Lacroix,

Pour l'honneur que vous me faites en siégeant dans ce jury de thèse,

Pour m'avoir transmis l'envie d'exercer et accordé votre confiance,

Pour m'avoir fait partager votre
expérience et votre gentillesse au cours de mon stage de fin d'étude,

Veillez trouver ici le
témoignage de ma gratitude et de ma profonde reconnaissance.

A mes parents,

Pour m'avoir permis de choisir le métier qui me plaisait,

Pour m'avoir encouragée et
soutenue pendant toutes ces années,

Je vous dédie cette thèse car c'est
grâce à vous que je la soutiens aujourd'hui.

Soyez certains de toute
ma reconnaissance, admiration et affection.

A Tanguy, Caroline et Guénaëlle,

Pour avoir été à mes côtés aux moments
importants de ma vie, m'avoir permis de ne pas oublier qui je suis,

Je vous en remercie.

A mes grands-parents,

Pour le soutien et l'éternelle affection
que vous avez toujours eus à mon égard,

Je vous adresse toute mon affection.

A mes oncles et tantes, cousins et cousines, à ma marraine, à mon parrain,

Pour m'avoir entourée tout au long de ma vie,

Veillez
recevoir mes remerciements les plus sincères.

A mes amis,

Pour tous ces agréables et inoubliables moments passés ensemble,

Veillez trouver ici le témoignage de ma sincère amitié.

A Jérémie,

Pour tout ce que tu as su m'apporter pendant ces années,

Pour avoir toujours cru en moi,

Pour ton soutien et ton amour,

Je t'en remercie.

SOMMAIRE

Introduction

Chapitre I. *Blastocystis hominis* : présentation du parasite

Chapitre II. Aspect clinique

Chapitre III. Discussion

Conclusion

INTRODUCTION

Décrit pour la première fois en 1912 par Emile Brumpt, *Blastocystis hominis* est un parasite unicellulaire vacuolé souvent retrouvé lors des examens parasitologiques des selles.

La blastocystose ou maladie de Zierdt et Garavelli est une parasitose cosmopolite : *B. hominis* est mondialement répandu, vivant principalement dans le colon et s'éliminant dans les selles de l'homme et de certains animaux

Sa classification, son cycle biologique, sa signification physiopathologique font l'objet de nombreux travaux et de nombreuses controverses ; s'agit-t-il d'un agent pathogène ou bien est-t-il simplement opportuniste ? C'est pour cette raison qu'il nous a paru intéressant de travailler sur cet énigmatique parasite.

Dans une première partie, nous présenterons le parasite : sa classification, sa morphologie, son cycle et son mode de division.

Dans la seconde partie, nous décrirons la symptomatologie ainsi que les différentes méthodologies utilisées pour le diagnostic de *B. hominis*.

Enfin, dans la troisième partie, nous discuterons de son éventuel pouvoir pathogène et de la conduite à tenir face à sa présence dans un examen de selles.

CHAPITRE I : *BLASTOCYSTIS HOMINIS* :
PRESENTATION DU PARASITE

Le contenu de cette partie est tiré des travaux de BOREHAM et STENZEL, 1996, SINGH *et al.*, 2002 et TAN, 2004.

1. TAXONOMIE

Blastocystis hominis fut longtemps considéré comme une levure saprophyte. En effet, sa grande variation de taille, l'absence de division cellulaire et 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 le classe alors parmi les protozoaires. Il présente les caractéristiques structurales et morphologiques suivantes qui permettent de le rattacher aux protozoaires (GARAVELLI, 1992) :

- absence de développement sur les milieux de cultures utilisés pour les champignons
- reproduction par division binaire ou sporulation
- émission de pseudopodes
- absence de paroi cellulaire mais présence d'une fine membrane avec des pores et des vésicules
- mitochondries et appareil de Golgi typiques des protozoaires
- noyau avec nucléole distinct et une membrane nucléaire bien délimitée
- anaérobiose stricte
- préférence pour un pH neutre ou faiblement alcalin.

En 1996, des études de biologie moléculaire (ARISUE *et al.*, 2002, COULOUX *et al.*, 2008) ont reclassé cet organisme parmi les Straménopiles, groupe hétérogène de microorganismes eucaryotes unicellulaires qui comprend des diatomées, des algues brunes et des oomycètes (figures 1 et 2).

Cependant, aujourd'hui encore, la phylogénie de *B. hominis* reste énigmatique et le sujet de nombreux travaux et de nombreuses controverses.

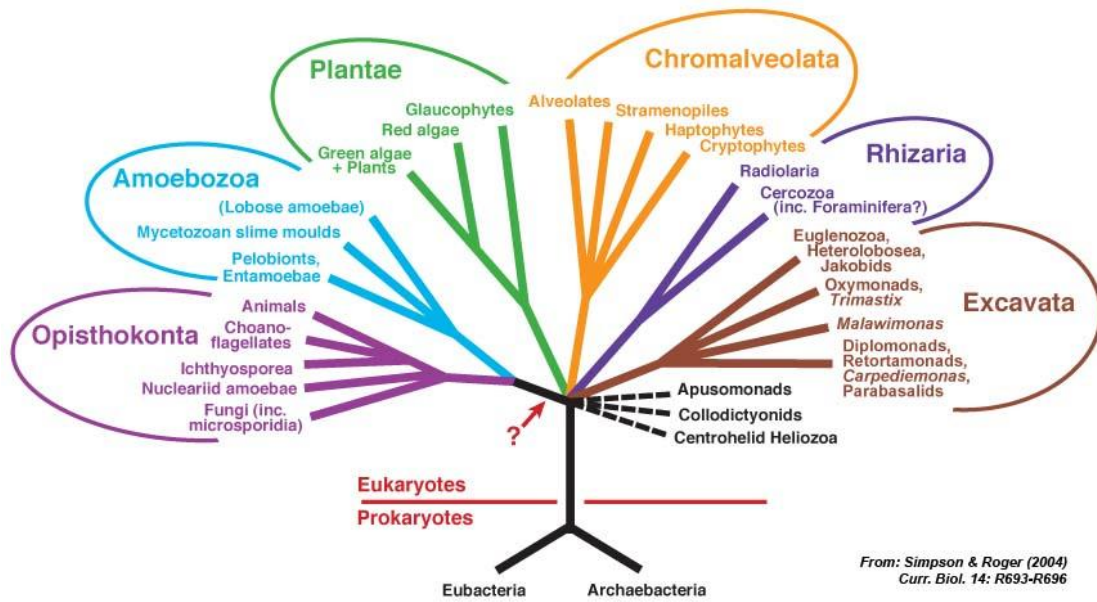


Figure 1 : arbre phylogénétique de ROGER et SIMPSON en 2004.

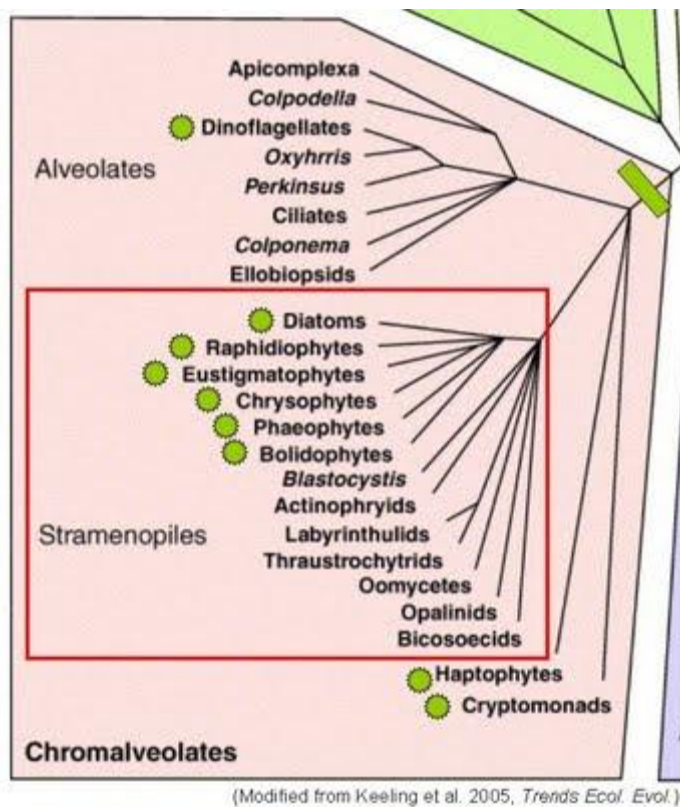


Figure 2 : arbre phylogénétique issu des recherches de BURGER *et al.* en 2005.

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 et les oiseaux ont porté le nom du mammifère ou l'oiseau 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*.

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. Les neuf sous-types de *Blastocystis* trouvés chez les mammifères et les oiseaux ont également été retrouvés chez les humains. Ce phénomène de faible spécificité d'hôtes a donné naissance à un nouveau système de classification (CLARK *et al.*, 2007) pour lequel les sous-types sont identifiés par un nombre n de 1 à 9 et non plus par un nom d'animal, d'oiseaux ou d'humain.

Il existe ainsi plusieurs espèces de *Blastocystis* mais les auteurs s'accordent à dire qu'une seule est retrouvée couramment chez l'homme, il s'agit de *Blastocystis hominis*. C'est pour cette raison que nous nous limiterons à cette seule espèce dans ce mémoire.

2. MORPHOLOGIE

Le blastocyste est un microorganisme eucaryote unicellulaire polymorphe. Il peut être identifié sous au moins quatre formes : vacuolaire, granulaire, amiboïde et kystique.

2.1. La forme vacuolaire

C'est la forme la plus fréquemment rencontrée *in vitro* et dans les selles (SURESH et TAN, 2006). Sa taille varie en moyenne entre 4 et 15 micromètres (QIAO *et al.*, 2007). Les échantillons de selles frais contiennent la forme vacuolaire sous sa plus petite taille soit environ 5 micromètres (figure 3).

C'est une cellule typiquement ronde avec une large vacuole centrale qui occupe 90% du volume de la cellule (SINGH *et al.*, 2002). La vacuole centrale contient de fines granules.

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 de la cellule est entourée d'une fine couche fibrillaire qui constitue le manteau de surface (figures 4 et 5).

D'après l'étude de SURESH et TAN de 2006, cette forme est la plus souvent rencontrée dans les isolats de selles, qu'ils soient issus de sujets symptomatiques ou non.

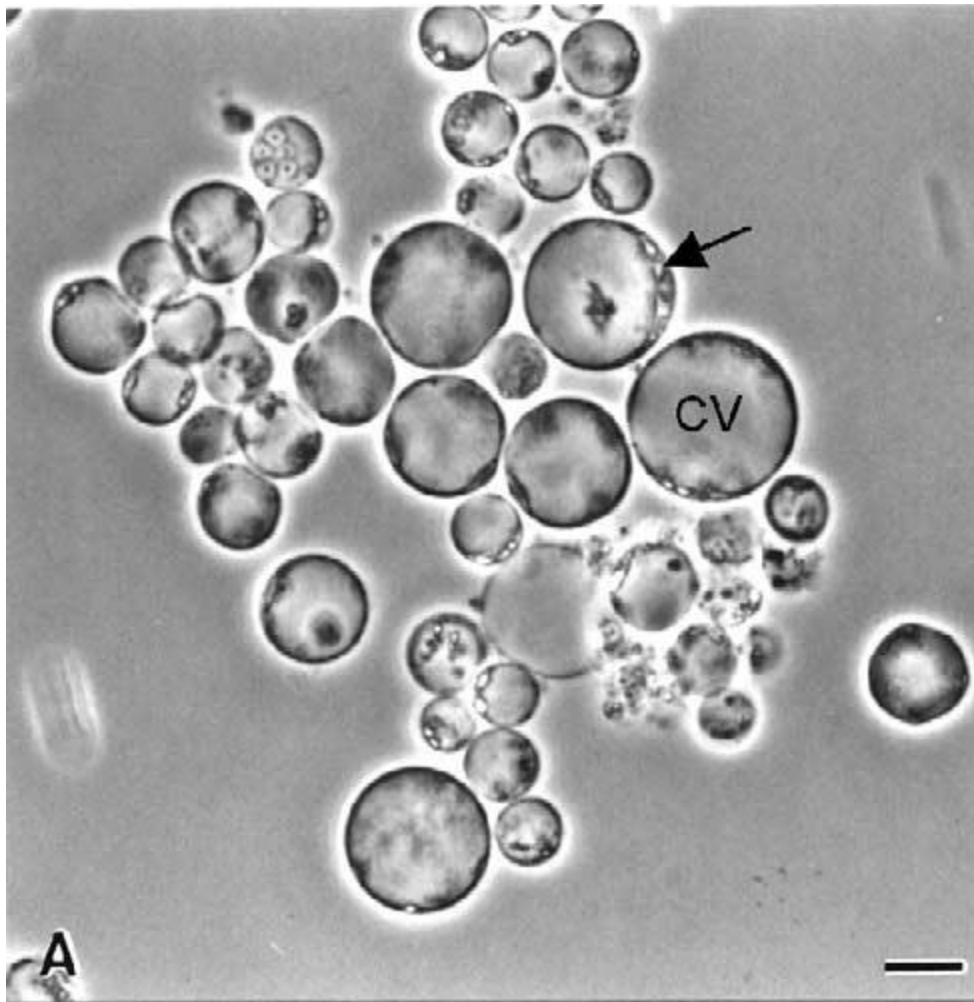
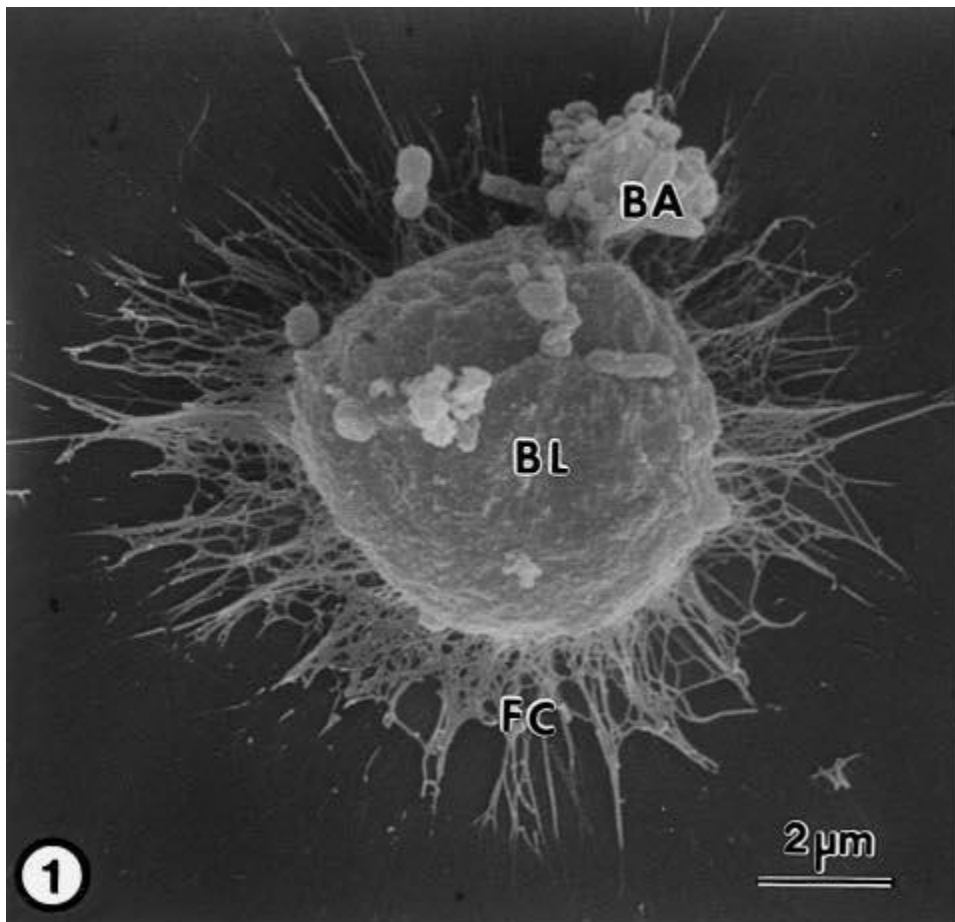
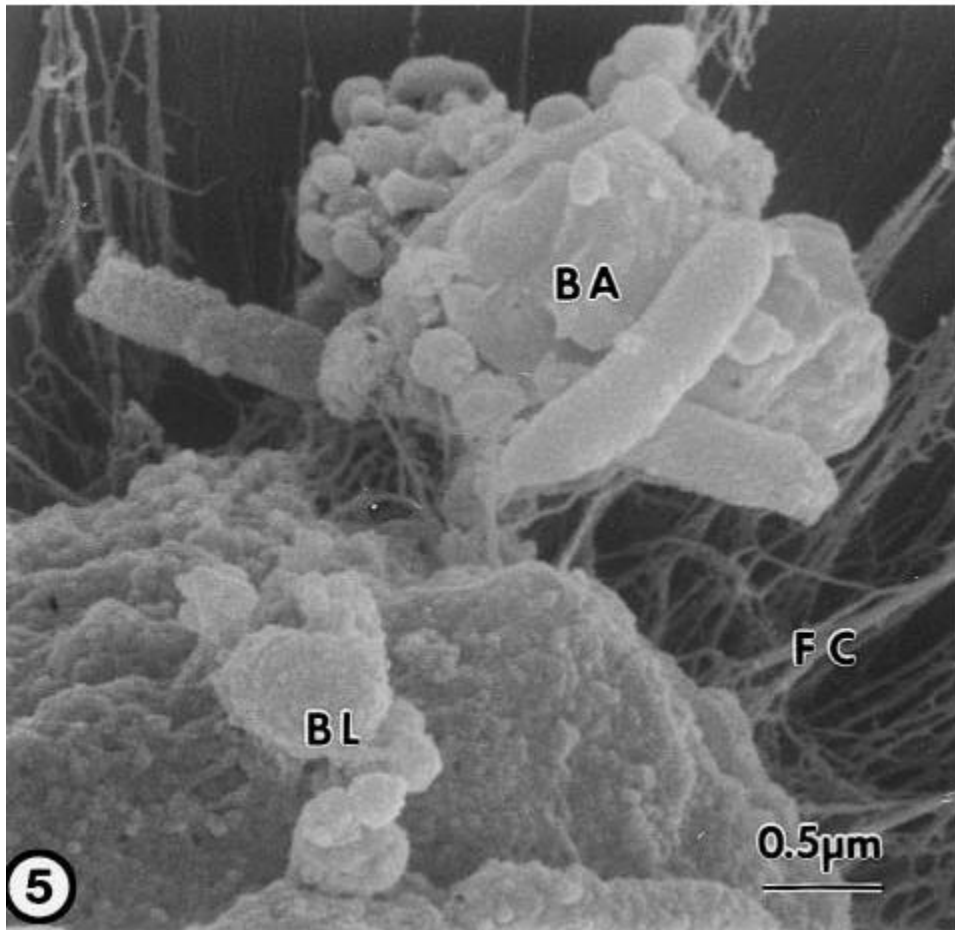


Figure 3 : forme vacuolaire de *Blastocystis hominis* d'après TAN, 2004.



Figures 4 : colonies de bactéries attachées au manteau de surface de *Blastocystis hominis*. D'après GOH *et al.*, 1999.



Figures 5 : colonies de bactéries attachées au manteau de surface de *Blastocystis hominis*. D'après GOH *et al.*, 1999.

2.2. La forme granulaire

Cette forme est rarement observée dans les selles mais en revanche on la retrouve dans les cultures *in vitro* (SURESH et TAN, 2006).

La forme granulaire présente beaucoup de similitudes morphologiques avec la forme vacuolaire, telles que la taille et la forme sphérique. La forme granulaire comporte en plus un grand nombre de granules cytoplasmiques et vacuolaires d'où elle tire son nom. Il existe trois types de granules : les granules métaboliques situés dans le cytoplasme, les granules lipidiques situés dans le cytoplasme et la vacuole centrale et enfin les granules reproducteurs situés dans la vacuole centrale (figure 6).

D'après les études de SURESH et TAN de 2006, cette forme est plus souvent rencontrée chez les sujets asymptomatiques que chez les sujets symptomatiques.

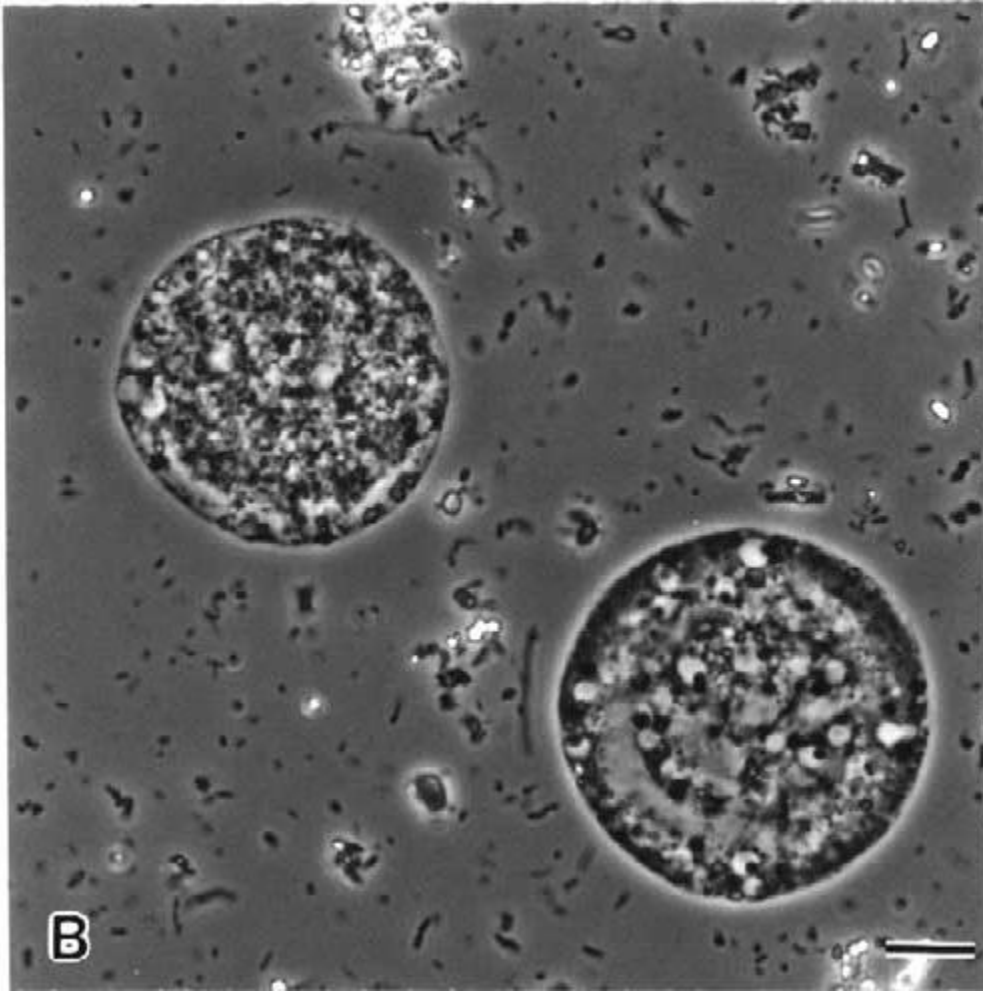


Figure 6 : forme granulaire du blastocyste d'après TAN, 2004

2.3. La forme amiboïde

Cette forme est rarement observée en culture (milieux de culture anciens ou traités par antibiotiques (SINGH *et al.*, 2002)) mais elle est retrouvée dans les selles diarrhéiques (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 (figure 7).

Elle est de petite taille qui varie entre 2,6 et 7,8 micromètres (SINGH *et al.*, 2002).

In vitro la forme amiboïde est irrégulière avec un noyau central prédominant et de multiples extensions périphériques appelées pseudopodes.

In vivo, elle est de forme ovale et la vacuole centrale, les appareils de Golgi, les mitochondries et le manteau de surface ne seraient curieusement plus présents dans cette forme (QIAO *et al.*, 2007, SINGH *et al.*, 2002).

On observe des inclusions triangulaires qui seraient issues de l'ingestion de bactéries et de fragments cellulaires, servant de réserves nutritives (QIAO *et al.*, 2007).

Cette forme permet au parasite de phagocyter les bactéries ce qui permettrait de fournir les nutriments nécessaires au processus d'enkystement (ROHELA *et al.*, 2009).

Dans une étude effectuée par les chercheurs SURESH et TAN, qui consiste à comparer les formes retrouvées dans des échantillons de selles de personnes symptomatiques et asymptomatiques infestées par *B. hominis*, il a été démontré que la forme amiboïde a uniquement été retrouvée chez les personnes symptomatiques (SURESH et TAN, 2006) et ceci de façon abondante. D'après les chercheurs, les isolats étudiés de *B. hominis* diffèrent de leur capacité à produire la forme amiboïde, forme qui pourrait contribuer à la pathogénicité de *B. hominis*. Cette étude suggère que la forme amiboïde constitue le stade pathogène dans le cycle de *B. hominis*.

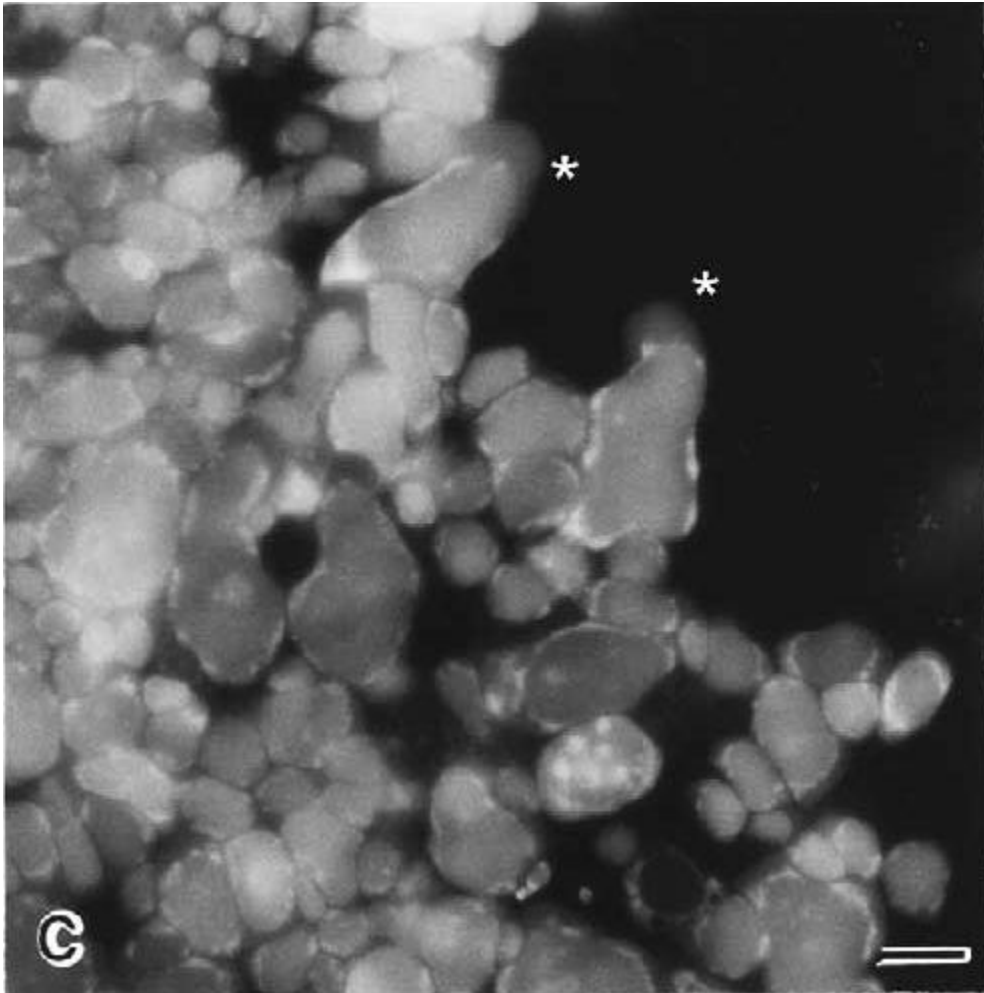


Figure 7 : forme amiboïde d'après TAN, 2004

2.4. La forme kystique

Les kystes fécaux sont sphériques à ovoïdes et sont protégés par une épaisse paroi composée de plusieurs couches (figure 8). La paroi est elle aussi entourée d'une couche fibrillaire que le kyste perd à maturité (TAN, 2004). Mesurant entre 3 et 6 micromètres, les kystes sont de plus petite taille que les autres formes citées précédemment. Le cytoplasme contient un à quatre noyaux selon le stade de développement du kyste, de multiples vacuoles ainsi que des dépôts glucidiques et lipidiques. (CHEN *et al.*, 1997, SINGH *et al.*, 2002).

La description tardive de cette forme -au début des années 1990- s'explique par le fait qu'elle a longtemps été confondue avec des débris fécaux.

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 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).

Les habitudes alimentaires, le style de vie, certains médicaments, et les réponses immunitaires de l'hôte sont des facteurs favorisant l'enkystement (ROHELA *et al.*, 2009).

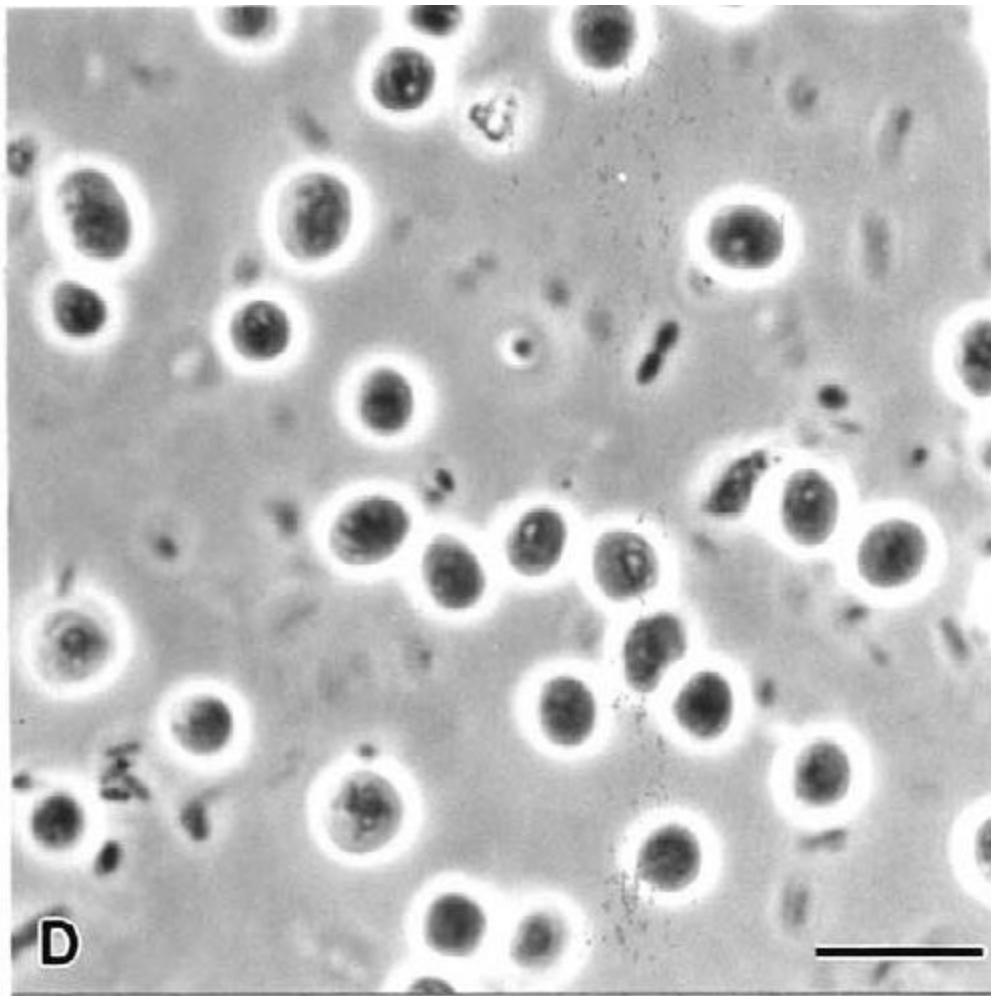


Figure 8 : forme kystique de *Blastocystis hominis* d'après TAN, 2004

2.5. Autres formes

Il existe également des formes avacuolaires, multi-vacuolaires (BOREHAM et STENZEL, 1996) et pré kystiques (ROHELA *et al.*, 2009). 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). La forme prékystique constitue une étape intermédiaire entre la forme vacuolaire et le kyste (ROHELA *et al.*, 2009).

3. STRUCTURE

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

3.1. Manteau de surface

Egalement appelé capsule, le manteau de surface forme une zone claire visqueuse autour de la cellule (figure 9).

Ce manteau présente à sa surface des filaments fibrillaires de 5 micromètres qui permettent l'adhésion des bactéries (CHEN *et al.*, 1997, GOH *et al.*, 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 (GOH *et al.*, 1999).

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

3.2. Vacuole centrale

Elle est le plus souvent unique et occupe la plus grande partie de la surface cellulaire dans les formes vacuolaires et granuleuses.

Cette grande vacuole unique est surtout observée dans les cultures. Au contraire, dans les selles, on retrouve plutôt plusieurs petites vacuoles de morphologie différentes.

Dans la forme vacuolaire, 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 forme et de dimension variables.

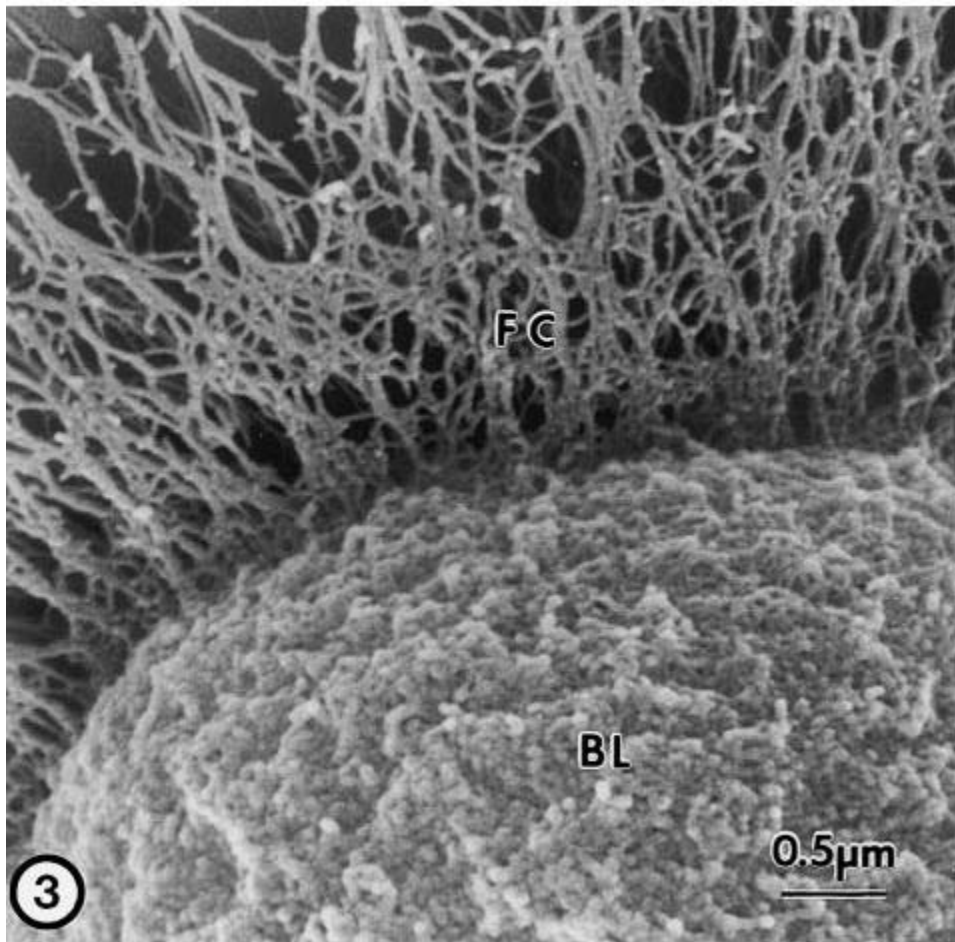


Figure 9 : Extensions fibrillaires du manteau de surface de *Blastocystis hominis* .D'après GOH *et al.*, 1999.

3.3. Membrane cytoplasmique

Le cytoplasme est bordé d'une fine membrane cytoplasmique constituée de deux feuillets. Le cryo-décapage révèle des différences entre la membrane cytoplasmique externe et interne.

En effet, la membrane externe présente une surface granuleuse, recouverte de particules de 8 à 10 nanomètres et de pores de 50 nanomètres de diamètre tandis que la membrane interne renferme de nombreuses particules intra-membranaires et des indentations.

Ces deux membranes communiqueraient directement par des systèmes pores-indentations.

3.4. Cytoplasme

On y observe tous les éléments constitutifs des eucaryotes : les mitochondries, l'appareil nucléaire, l'appareil de Golgi, le réticulum endoplasmique lisse et rugueux, les vésicules pinocytotiques et d'autres inclusions cytoplasmiques.

3.5. 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.

3.6. Appareil de Golgi

On le voit clairement au voisinage du noyau sous forme de segments tubulaires parallèles ou concentriques.

3.7. Mitochondries

Elles sont facilement reconnaissables, confinées à la périphérie du cytoplasme.

Présentes en grand nombre, leur forme et leur dimension sont très variables.

Elles sont généralement ovales et mesurent 1 micromètre de diamètre.

La matrice mitochondriale est opaque aux électrons.

Leur présence reste paradoxale pour un organisme vivant en anaérobiose.

Elles joueraient un rôle important lors de l'enkystement du parasite en fournissant l'énergie nécessaire à ce chamboulement structural.

3.8. Réticulum endoplasmique

Le réticulum lisse est réparti dans le cytoplasme.

Le réticulum endoplasmique rugueux est sous forme lamellaire, bordé de ribosomes. Il est principalement localisé autour des mitochondries et en continuité avec la membrane nucléaire.

3.9. Vésicules pinocytotiques

Les vésicules pinocytotiques sont toujours présentes, de forme et de taille variables, situées au niveau de la limitante cellulaire externe. Elles sont le plus souvent vides mais peuvent parfois contenir des débris non identifiables.

3.10. Autres inclusions

Le cytoplasme peut contenir d'autres inclusions dont les plus importantes sont les ribosomes, les lysosomes et les inclusions glycogéniques et lipidiques.

4. CYCLE

Le cycle du parasite n'a pas encore été élucidé à ce jour.

Plusieurs hypothèses ont été émises mais il existe un désaccord considérable concernant les modes de division et les différentes étapes du cycle de *B. hominis*.

Toutes les hypothèses s'accordent à dire que l'infestation débute par l'ingestion de kystes de *B. hominis*. 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 *B. hominis* décroissent, les formes kystiques, elles, s'accroissent, ce qui confirme que la forme vacuolaire 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 vacuolaire et la forme kystique qui constituent des zones d'ombre.

Quatre cycles ont été proposés :

- Cycle 1 de ZIERDT en 1973 :

La forme vacuolaire se différencierait soit en forme granulaire qui par division binaire donnerait naissance à des cellules filles vacuolaires ou alors la forme vacuolaire se transformerait en forme amiboïde qui par bourgeonnement produirait des cellules vacuolaires. Il est probable que la présence de granules ou d'inclusions dans les cellules ou bien la présence de ponts cytoplasmiques et de projections membranaires apparaissent pour diviser la vacuole centrale (BOREHAM et STENZEL, 1996).

- Cycle 2 de HO *et al.* en 1995 ou « cycle de transmission extérieure » :

La forme vacuolaire se différencierait en forme amiboïde qui donnerait ultérieurement une forme prékystique. Il se produirait ensuite une schizogonie à l'intérieur du prékyste à l'origine d'un épaissement de la paroi du kyste qui, une fois rompue, libère les formes vacuolaires filles.

- Cycle 3 de HO *et al.* en 1995 ou « cycle d'auto-infestation » :

Dans ce cycle, la forme vacuolaire se différencierait en forme multivacuolaire puis prékystique pour aboutir à la formation d'un kyste à paroi mince. Une schizogonie se produirait à l'intérieur du kyste. Les formes vacuolaires filles seraient libérées lors de la rupture de la fine paroi kystique.

- Cycle 4 de BOREHAM et STENZEL en 1993 :

Il s'agit d'une proposition bien différente de celles citées précédemment. Selon les chercheurs BOREHAM et STENZEL, 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.

Il serait également possible que la forme avacuolaire se différencie en forme amiboïde et vice versa puisque ces deux formes présentent des similitudes morphologiques.

Les chercheurs ont également observé la forme vacuolaire suite à la mise en culture des formes multivacuolaires. Les nombreuses et petites vacuoles de la forme multivacuolaire s'uniraient et s'agrandiraient pour former une large vacuole centrale. La forme vacuolaire pourrait s'enkyster ou bien se transformer en forme granuleuse. D'après ces recherches, trois formes seraient retrouvées *in vivo* ; il s'agit des formes avacuolaires, multivacuolaires et amiboïdes. Les formes vacuolaires et granulaires seraient quant à elles retrouvées qu'en culture, elles seraient les témoins d'une dégénérescence cellulaire (VDOVENKO A., 2000).

La figure 10 ci-dessous résume bien les étapes du cycle approuvées et montre que les étapes intermédiaires entre la forme vacuolaire et la forme kystique sont floues.

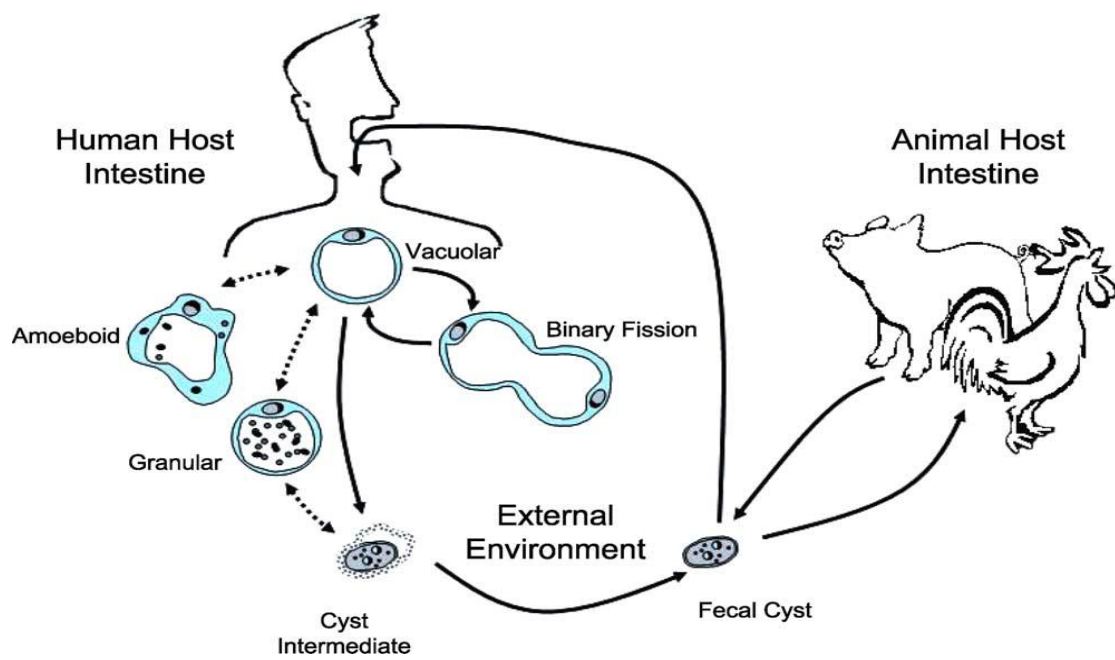


Figure 10 : cycle du blastocyste d'après TAN, 2004.

Le mode de reproduction de *B. hominis* est lui aussi très controversé. Différents modes de division ont été proposés (QIAO *et al.*, 2007) :

- Division binaire :

C'est la seule forme de reproduction qui est approuvée par l'ensemble des chercheurs. On peut l'observer *in vitro* en culture ou *in vivo* dans les selles.

La cellule parentale forme un haltère ; l'agrandissement des extrémités entraîne la division du cytoplasme et aboutit à la formation de deux cellules filles. Il semblerait que les substances nucléaires se divisent de façon égale entre les deux cellules filles ; tout comme la division cytoplasmique.

- Bourgeonnement simple ou multiple :

Ce mécanisme est observé dans les échantillons de selles frais.

Un agrandissement se forme sur un côté de la cellule mère ; il apparaît translucide et vide au microscope puis il se remplit d'une vacuole pour finalement se détacher et former une cellule fille indépendante de la cellule mère.

Il arrive parfois qu'une même cellule subisse deux ou trois agrandissements ; on parle alors de bourgeonnement multiple.

- Endosporulation :

Ce mode de division est quelquefois observé dans les selles. Il s'agit d'une division de la vacuole centrale en deux petites vacuoles filles entre lesquelles se forme une nouvelle membrane. Le cytoplasme de la cellule mère est retrouvé en intégralité chez les cellules filles.

- Plasmotomie :

En culture *in vitro*, on retrouve ce mode de division au cours du stade vacuolaire. La cellule fille est issue d'une fine extension cytoplasmique (« finger-like ») à la surface de la cellule mère. La membrane cytoplasmique ainsi que le cytoplasme sont intacts et le matériel nucléaire est retrouvé dans les deux cellules : mère et fille.

Ce mode de division est également observé chez la forme amiboïde (SURESH et TAN, 2007) sur de vieilles cultures qui sont comme nous le savons très appauvries en nutriments essentiels. Selon les chercheurs, la plasmotomie permet la survie de ce parasite puisqu'elle est capable de se produire lorsque les conditions sont hostiles.

- Fractionnement irrégulier

- Schizogonie :

Dans certains milieux de culture comme le RPMI 1640, une énorme cellule mère-quatre à cinq fois plus grande que la forme vacuolaire- a été retrouvée. A l'intérieur de cette cellule géante se trouvent plusieurs cellules filles contenant les mêmes structures nucléaires. Les chercheurs ne sont pas certains qu'il s'agisse réellement du phénomène de schizogonie, ce mécanisme correspondrait plutôt à une fission multiple.

D'après ANUAR et SURESH, en 2002, l'existence de ces nombreux modes de reproduction serait le résultat d'une adaptation du parasite qui aurait élaboré ces différentes stratégies de reproduction afin de survivre chez les hommes et certains animaux.

Les différents stades du cycle biologique semblent être influencés par les conditions de cultures ; le développement de *B. hominis* dépendrait donc de l'écosystème.

5. EPIDEMIOLOGIE

5.1. Répartition géographique

Blastocystis hominis est un parasite cosmopolite ; il fait partie des parasites les plus souvent rencontrés dans les selles de personnes symptomatiques ou saines (tableau 1). Sa fréquence moyenne d'apparition dans les selles se situe entre 10 et 20% (GARAVELLI et LIBANORE, 1993).

La distribution géographique de *B. hominis* semble universelle, les infections étant plus répandues dans les régions tropicales et subtropicales ainsi que dans les pays en développement. Les recherches de CHU *et al.*, effectuées en 2009 confirment cette observation. En effet, ils ont constaté que la prévalence de ce parasite est bien plus élevée dans les pays en voie de développement, plus particulièrement dans les régions tropicales où elle atteint les 30 à 50%, que dans les pays développés où la prévalence se situe entre 1,5 et 10%.

5.2. Hôte et réservoir

Blastocystis hominis présente une faible spécificité d'hôte ; on le retrouve aussi bien chez l'homme que chez les animaux (CAPRON *et al.*, 2003) ; il est vraisemblable que cette maladie soit une anthroponose.

L'hôte principal serait l'homme et le réservoir serait composé des animaux suivants : rats, souris, poules et dindons, oiseaux, singes, bovins, chiens, chats et cochons (HASHIMOTO *et al.*, 2004).

<i>Parasite</i>	Fréquence
<i>Blastocystis hominis</i>	20.4 %
<i>Taenia sp</i>	9.7 %
<i>Endolimax nanus</i>	6.4 %
<i>Entamoeba hartmanni</i>	5 %
<i>Trichostrongylus orientalis</i>	4.4 %
<i>Trichuris trichiura</i>	3.1 %
<i>Entamoeba histolytica</i>	2.7 %
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1.1 %
<i>Giardia duodenalis</i>	0.8 %

Tableau 1 : Prévalence des parasites intestinaux les plus courants chez les immigrantes vietnamiennes à Taïwan, élaboré à partir des travaux de CHENG *et al.*, en 2006.

5.3. Mode de transmission

La transmission se produit par la voie oro-fécale par absorption d'eau ou d'aliments souillés par des formes kystiques de *B. hominis*. Il s'agit donc d'une transmission indirecte aisée liée au péril fécal.

Il existe également une transmission directe qui est surtout rencontrée chez les homosexuels ou bien lors d'auto-infestation.

Trois types de transmission sont connus (CAPRON *et al.*, 2003) ; il s'agit de la transmission homme à homme et des deux transmissions croisées homme-animal et animal-homme.

5.4. Facteurs de risque

5.4.1. Conditions socio-culturelles

Une étude menée par APEZTEGUIA *et al.*, en 2004 a mis en corrélation les conditions socio-culturelles et environnementales et la présence de *B. hominis*. Ils ont 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*.

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.

5.4.2. Conditions immunologiques

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. D'autres études effectuées sur des sidéens ou des greffés rénaux sous immunothérapie arrivent à la même conclusion.

5.4.3. Répartition selon l'âge et le sexe

La plupart des études s'accordent à dire que *B. hominis* touche à part égale les hommes et les femmes.

Ce parasite 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).

5.4.4. Répartition selon 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.

5.4.5. Association à d'autres éléments infectieux

La virulence éventuelle de ce parasite est également soumise à diverses influences comme des perturbations concomitantes de la flore et des fonctions digestives, le syndrome du colon irritable.

On peut ainsi dire que la blastocystose n'est pas une maladie « sexe dépendante » mais qu'elle peut être influencée par l'âge des patients, leur statut immunologique, l'état de leur flore digestive ainsi que les conditions d'hygiène dans lesquels ils vivent.

CHAPITRE II : ASPECT CLINIQUE

Le contenu de cette partie repose sur les ouvrages et les articles de RIPERT, 2003, BOOROM *et al.*, 2008 et TAN, 2004.

1. SYMPTOMATOLOGIE

La pathogénicité de *B. hominis* reste encore très controversée. Pour certains auteurs, *B. hominis* n'est pas la cause d'une maladie clinique mais plutôt un parasite inoffensif, spectateur de symptômes gastro-intestinaux résultant d'autres causes. *A contrario*, d'autres auteurs décrivent ce parasite comme un pathogène gastro-intestinal. Nous approfondirons cette dualité dans la dernière partie de ce mémoire mais on considère qu'un sujet est atteint de blastocystose lorsqu'il remplit ces trois critères :

- observation d'un nombre important de *B. hominis*, supérieur à 5 par champ microscopique à l'objectif 40
- présence de signes cliniques
- absence d'autre cause connue de diarrhée

La blastocystose, aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant, peut entraîner des modifications de la biologie mais elle se manifeste essentiellement par des signes cliniques non spécifiques mais le plus souvent d'expression digestive.

1.1. 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 (signe d'une infection parasitaire mais également de manifestations allergiques, prise de médicaments, certains cancers, ...).

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

- un premier examen direct entre lame et lamelle d'un étalement mince de selles fraîches
- un second examen après concentration par des méthodes utilisées en routine.

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.

1.2. Signes cliniques

Le délai d'apparition des symptômes chez l'homme demeure inconnu. On sait toutefois que chez la souris, les symptômes apparaissent 2 jours après l'inoculation de kystes de *B. hominis* et durent deux à trois semaines (CHEN *et al.*, 1997).

La maladie humaine se manifeste de façon très variable. Il existe des personnes porteuses asymptomatiques mais il est indéniable que certains sujets

présentent des symptômes digestifs sans qu'aucun autre organisme, hormis *B.hominis*, ne soit identifiable.

Les symptômes couramment associés à la blastocystose sont non spécifiques. Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés en présence de *B. hominis* sont des signes digestifs tels que diarrhée, nausées, vomissements, douleurs abdominales et flatulence.

La diarrhée est le signe prédominant et se définit comme une émission fréquente de selles molles ou semi-liquides à liquides. Le caractère des selles est variable : glairo-sanguinolent, glairo-aqueux, riziforme ou moulé avec des traces de sang.

Les douleurs abdominales sont fréquentes et relativement modérées. Elles sont le plus souvent diffuses atteignant l'abdomen dans sa totalité ou localisées dans la fosse iliaque. Elles peuvent être spontanées ou déclenchées par la palpation ou l'émission des selles.

La flatulence est un symptôme fréquent ; il s'agit d'une émission par l'anus de gaz intestinal.

Des colites et des iléites associées à une infection à *B. hominis* ont pu être mises en évidence grâce aux biopsies.

Une altération de l'état général est souvent rencontrée. Elle se manifeste par une légère asthénie, des malaises, une anorexie et une perte de poids allant de deux à dix kilos en rapport avec la déperdition hydrique secondaire à la diarrhée.

D'autres symptômes peuvent survenir lors de la blastocystose tels que des céphalées, vertiges, brûlures d'estomac, sueurs profuses, fièvre, oppression thoracique, troubles du sommeil, constipation alternant avec des crises diarrhéiques, saignement rectal, arthrite, ténésmes, météorisme intestinal, démangeaison, urticaire et même chute de cheveux.

Blastocystis hominis engendre ainsi des symptômes digestifs mais il ne se limiterait pas qu'à la sphère intestinale. En effet, GRECO *et al.*, en 2003, ont constaté que la blastocystose était parfois associée à des manifestations cutanées telles que des éruptions cutanées (figure 11), de l'urticaire ou encore un prurit. Il s'agit dans la majorité des cas d'un prurit palmoplantaire, associé ou non à des oedèmes et des enflures. Les chercheurs ont associé *B. hominis* à ces manifestations cutanées puisque ces dernières se résorbent lorsque la blastocystose est éradiquée. Le parasite induirait une inflammation par recrutement des cellules de l'inflammation et l'accumulation de neutrophiles, éosinophiles et lymphocytes. Les toxines de *B. hominis* activeraient quant à elles le système du complément générant les anaphylotoxines C3a et C5a qui interagissent avec les récepteurs spécifiques des mastocytes et des basophiles aboutissant à la libération d'histamine à l'origine des symptômes cutanés.



Figure 11 : éruption cutanée récurrente et très prurigineuse chez un homme de 39 ans atteint de blastocystose chronique, d'après BOOROM *et al.*, 2008.

Deux équipes de chercheurs (ABRAR *et al.*, 1997 et CIRIONI *et al.*, 1999) ont mis en évidence l'implication de *B. hominis* dans le syndrome du colon irritable. Il s'agit d'un désordre gastro-intestinal très répandu caractérisé par des douleurs abdominales accompagnées de diarrhée et/ou de constipation.

Son étiologie n'est pas encore totalement établie. Après avoir pensé dans un premier temps que ce désordre était d'origine psychosomatique, il a été démontré que ce syndrome résultait d'une activation chronique du système immunitaire (ADAM *et al.*, 2007).

Ce syndrome est le seul désordre fonctionnel intestinal pour lequel une infection parasitaire est retrouvée de façon concomitante dans la moitié des cas (figure 12). Selon les travaux de ABRAR *et al.*, 1997 et CIRIONI *et al.*, 1999, *B. hominis* serait un des agents responsables de ce syndrome puisqu'ils ont observé que des taux importants de blastocystose étaient accompagnés d'une prévalence importante de syndrome du colon irritable. Cependant on peut inverser cette constatation : le syndrome du colon irritable-provoqué par un déséquilibre de la flore intestinale, par exemple- peut constituer un milieu propice à la prolifération de *B. hominis*. Dans ce dernier cas, *B. hominis* jouerait le rôle d'indicateur d'un dysfonctionnement intestinal ou d'une perturbation de l'écosystème intestinal plutôt que celui d'agent causal d'un désordre gastro-intestinal (CHAN *et al.*, 2003). On constate ainsi que les avis divergent quand il s'agit de considérer *B. hominis* comme un simple témoin du désordre intestinal ou bien sa cause.

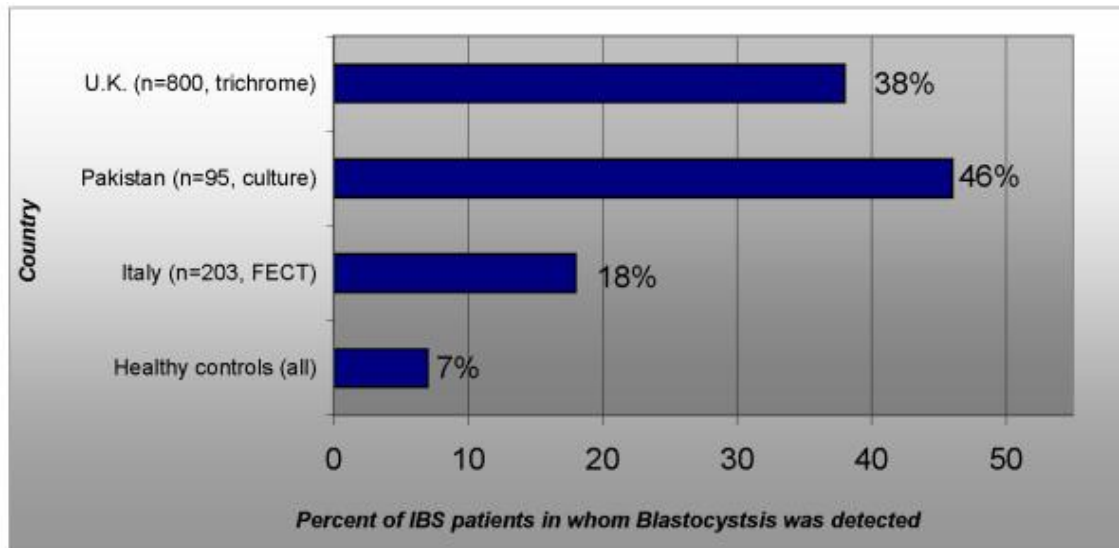


Figure 12 : Pourcentage de patients atteints du syndrome du colon irritable chez lesquels *Blastocystis hominis* a été détecté (BOOROM *et al.*, 2008).

2. DIAGNOSTIC

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

2.1. Diagnostic clinique

Les symptômes digestifs précédemment cités - tels que des douleurs abdominales, une diarrhée ou l'alternance de constipation et de diarrhée, des flatulences - sans qu'aucun autre agent pathogène n'ait été décelé doit faire suspecter une blastocystose. C'est ensuite à la biologie de confirmer ou non le portage de *B.hominis*.

2.2. Diagnostic biologique

Le parasite se recherche principalement dans les selles fraîchement émises.

2.2.1. Diagnostic 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.

2.2.1.1. Examen des selles à l'état frais

Le diagnostic de la blastocystose repose essentiellement sur l'examen parasitologique des selles fraîches. En effet, une lyse s'effectue rapidement et au bout de quelques heures, rendant l'identification impossible.

En routine, on privilégie l'examen direct au sérum physiologique. La procédure de cet examen est très simple : plusieurs prélèvements sont effectués à différents endroits de l'échantillon de selles fraîches et déposés sur une lame, puis dilués dans une goutte de soluté de NaCl à 9 pour 1000. On observe immédiatement au microscope électronique à balayage ou à contraste de phase.

Une étude brésilienne (MINE et ROSA, 2008) rapporte que c'est la

meilleure méthode pour diagnostiquer la présence de *B. hominis*. Cette même étude constate que les méthodes de coloration au trichrome ou à l'hématoxyline ferrique sont aussi efficaces que l'examen direct au sérum physiologique. Par contre, les techniques de sédimentations spontanées ou bien de flottation sur du sulfate de zinc se sont révélées inefficaces car elles ne préservent pas le matériel fécal (tableau 2).

Les différentes formes de *B. hominis* peuvent être retrouvées dans les selles. Les kystes sont prédominants. 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 (BOUREE, 2007).

L'examen parasitologique des selles requiert de la part du chercheur un « œil avisé » car les kystes peuvent être confondus avec des levures ou des débris fécaux. De plus leur petite taille rend l'identification du parasite difficile. La vigilance est donc un critère primordial lors de la lecture de l'échantillon de selles si l'on veut diminuer le nombre de résultats dits faux-négatifs.

Echantillons positifs (n = 23)

Examen direct		Flottation sur sulfate de zinc		Sédimentation spontanée		Hématoxyline ferrique		Trichrome	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
23	100	3	13,4	3	13,4	23	100	23	100

Tableau 2 : Comparaison des techniques utilisées pour diagnostiquer la présence de *Blastocystis hominis* dans les échantillons de selles chez les habitants de la région d'Araraquara au Brésil, d'après MINE et ROSA, 2008.

2.2.1.2. Coloration

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 (Merthiolate-Iode-Formol) ou le Gram colorent eux aussi avec succès le parasite (figure 13).

L'encre de Chine peut également être utilisée ; elle permet de mettre en évidence la capsule entourant *B. hominis*.

2.2.1.2.1. Coloration sur lame

- Coloration au Lugol

La solution de Lugol colore la flore iodophile en bleu noir.

- Coloration au Trichrome

La coloration trichromique met en évidence les formes vacuolaires et amiboïdes. L'alcool polyvinylique est utilisé comme fixateur. Si la coloration est réussie, les images obtenues sont d'une extraordinaire pureté.

- Coloration à l'hématoxyline

Elle nécessite deux étapes préalables : un étalement des selles sur lame suivi d'une fixation par le fixateur Duboscq-Brasil ou bien la solution acétique de Schaudinn. La coloration à l'hématoxyline peut être réalisée ; les parasites sont alors bien noirs.

Une différenciation se fera avec une solution aqueuse d'alun de fer à 1% jusqu'à apparition très nette des noyaux. L'arrêt de la différenciation s'effectue par d'abondants lavages à l'eau suivis d'une déshydratation.

- Coloration de Gram

La coloration de Gram est simple, peu onéreuse et rapide : 5 minutes environ pour réaliser les différentes étapes de la coloration.

La décoloration à l'alcool à 95°C est l'étape la plus importante. Elle consiste à laisser couler l'alcool sur le frottis tenu verticalement jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté. La recoloration peut se faire avec la fuschine ou la safranine. *B. hominis* apparaît en rose avec un halo incolore en périphérie. Cependant, du fait de l'extrême fragilité de *B. hominis*, le blastocyste peut être déformé voire lysé au cours de l'étape de fixation et de décoloration.

2.2.1.2.2. Coloration en tube

La coloration au Merthiolate-Iode-Formol constitue la principale méthode de coloration en tube.

Dans un tube à hémolyse, on introduit 0,15 ml d'une solution de Lugol à 5% auquel on y ajoute 2,35 ml d'une solution de Merthiolate-Iode-Formol. Après mélange, la coloration s'effectue en ajoutant dans le tube un échantillon de matière fécale. Les selles se déposent au fond du tube au bout d'une vingtaine de minutes et c'est la couche superficielle du sédiment qui est la plus riche en parasite.

La chromatine des noyaux est colorée en brun par l'iode et le cytoplasme apparaît rouge clair.

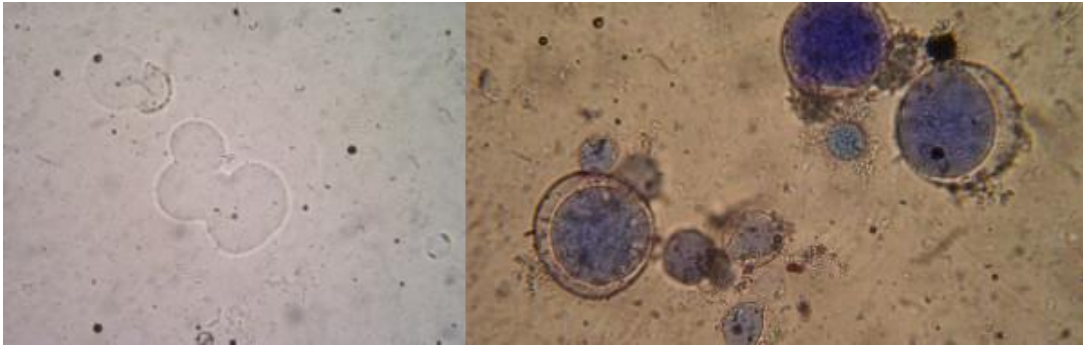


Figure 13 : Observation de *Blastocystis hominis* avec et sans coloration, d'après MINE et ROSA, 2008.

2.2.1.3. Concentration

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%.

Les techniques de concentration sont peu utilisées car elles détruisent *B. hominis*. Mais elles sont cependant nécessaires pour rechercher d'autres parasites. En effet, les symptômes présentés par le patient ne peuvent être attribués à qu'en l'absence d'autres agents pathogènes (bactéries, virus, champignons, parasites) ou d'altération fonctionnelle ou organique de l'intestin.

2.2.1.4. Culture

La culture *in vitro* du parasite est possible mais il faut que ce soit sur un milieu anaérobie puisque *B. hominis* est anaérobie stricte.

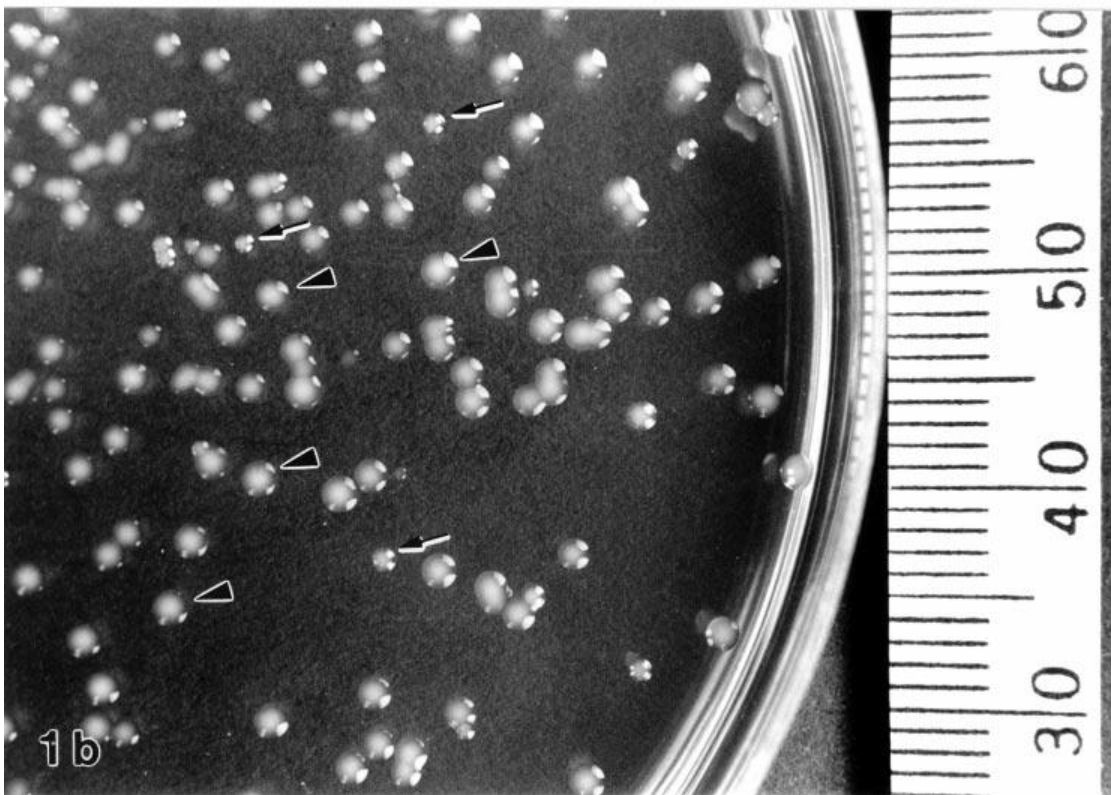
Différents milieux sont utilisables lorsque le diagnostic est incertain. Les cultures sont rapidement positives et peuvent ainsi être examinées après une incubation de 24 heures. Les milieux de cultures doivent être rapidementensemencés après le prélèvement car *B. hominis* est détruit par la réfrigération à +4°C ou si les selles sont conservées une nuit 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).

Le milieu agar solide semble être actuellement le milieu de prédilection car il obtient une excellente croissance clonale du parasite. Ce milieu est également utilisé pour la culture d'autres agents infectieux comme *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, les amibes et maintenant *B. hominis*. Ce sont HOWE *et al.*, en 1996, qui ont découvert que le milieu agar solide était une méthode simple et plus efficace que celles utilisées précédemment pour cultiver *B. hominis*. Sur ce milieu solide, le parasite construit facilement des colonies mucoïdes en forme de dômes de 3 micromètres de diamètre (figure 14 et 15) dans lesquelles les blastocystes peuvent vivre deux semaines au lieu d'une petite semaine sur les autres milieux. Chaque colonie est composée de deux parties : une région centrale en forme de dôme et une région périphérique plus aplatie, ce qui fait penser à la forme d'un œuf sur le plat (figure 16). Les vieilles colonies présentent à leur surface des projections en forme de mèche donnant un aspect spongieux et dentelé (figure 17).



Figures 14 et 15 : culture de *Blastocystis hominis* sur le milieu solide agar après 7 jours d'incubation, d'après HOWE *et al.* , 1996.

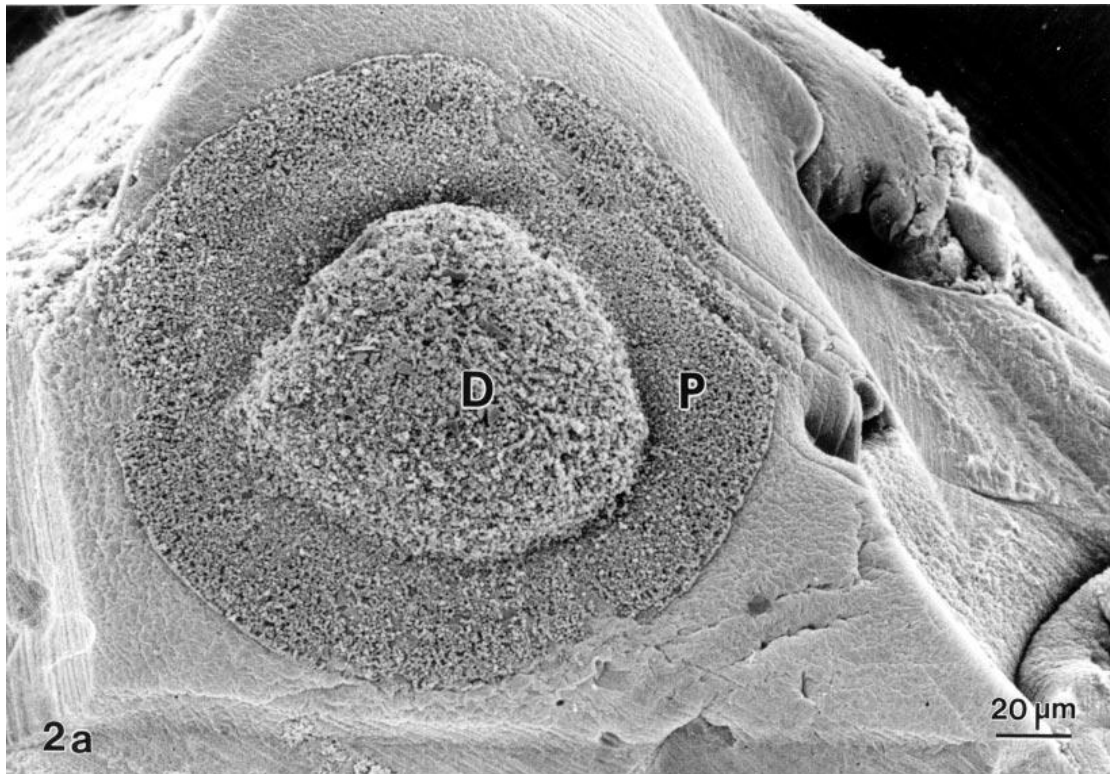


Figure 16 : colonie de *Blastocystis hominis* sur le milieu agar solide après 8 jours d'incubation. Elle est en forme d'œuf sur le plat : une région centrale en forme de dôme (D) et une périphérie aplatie (P), d'après HOWE *et al.* , 1996.

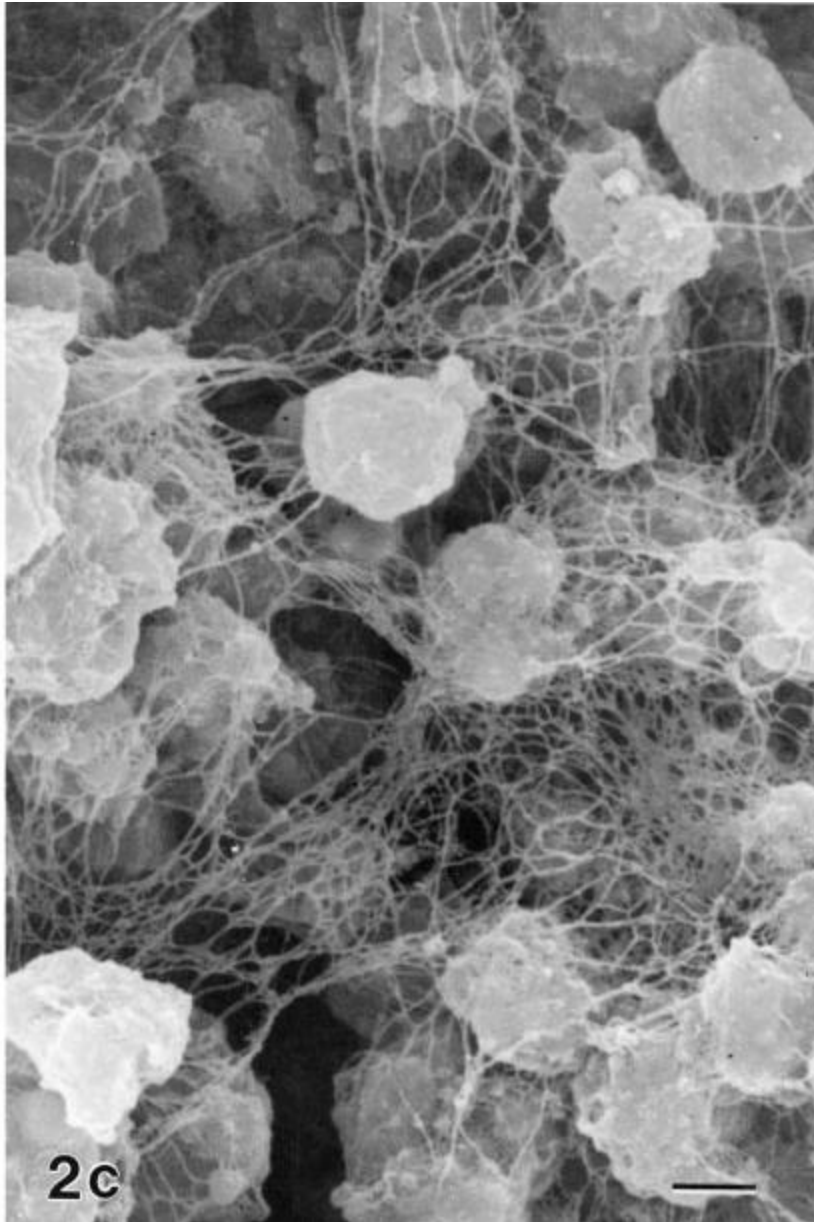


Figure 17 : colonies spongieuses de blastocystes après 10 jours d'incubation, ayant l'aspect de dentelle, d'après HOWE *et al.* , 1996.

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

Dans le milieu diphasique, 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 CaCl₂, 0,2 g de Na₂CO₃, 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 CaCl₂, 0,2 g de KCl, 0,01 g de MgCl₂, 2 g de Na₂HPO₄(H₂O)₁₂, 0,4 g de NaHCO₃ et 0,3 g de KH₂PO₄ 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.

L'intérêt de la culture axénique est d'obtenir des cultures de *B.hominis* débarrassées de la flore bactérienne. Ces cultures se font donc en présence de divers antibiotiques (ampicilline, streptomycine et colistine), en anaérobiose et à 37°C. Les milieux de BOECK et DRBOHLAV et de TP-S-I et DIAMOND sont utilisés avec succès pour ces cultures axéniques.

2.2.1.5. Amplification du génome

Il s'agit de la méthode la plus sensible pour détecter la présence de blastocyste. C'est la seule méthode qui permet de différencier les différents sous-types de *B. hominis*.

L'amplification du génome de *B. hominis*, suite à son extraction dans les échantillons de selles ou du milieu de culture, s'effectue grâce à la PCR (Polymerase Chain Reaction).

2.2.2. Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect est une technique récente car on a longtemps cru qu'il n'y avait pas de réponse humorale face à l'infestation par *Bl. hominis*.

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 *B. hominis*. Les Ig G peuvent être sériques et/ou intestinales et apparaissent après les Ig G ; 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.

CHAPITRE III : DISCUSSION

Le contenu de cette partie repose sur les articles de BOOROM, 2008 et BOUREE, 2007.

1. BLASTOCYSTIS HOMINIS : AGENT PATHOGENE OU OPPORTUNISTE ?

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

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

1.1. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan étiologique

1.1.1. Arguments favorables

Certains auteurs établissent une corrélation entre une présence abondante de *B. hominis* retrouvés dans les selles (plus de 5 blastocystes par champ microscopique) et l'apparition de troubles digestifs (BOUREE et LANCON, 2008). Lorsque aucune autre étiologie n'est retrouvée, on peut penser que *B. hominis* est bien responsable des symptômes.

Par ailleurs, il existerait des souches de *B. hominis* de pathogénicité différente en fonction de leur sous-type. Le sous-type 1 est toujours associé à des personnes symptomatiques contrairement au sous-type 2 qui lui est toujours associé à des personnes asymptomatiques (ELGUN *et al.*, 2009). Le sous-type 3, qui est le

sous-type le plus commun, et le sous-type 4 sont retrouvés aussi bien chez des personnes symptomatiques qu'asymptomatiques, à proportion égale en ce qui concerne le sous-type 3 (ATWA *et al.*, 2008). Selon ces récentes observations, la pathogénicité de *B. hominis* dépendrait non pas de l'abondance du parasite dans les selles mais plutôt de la virulence du sous-type. Le sous-type 2 constitue un génotype de *B. hominis* non pathogène (DAGCI *et al.*, 2008) alors que le sous-type 1 est pathogène. Quant au sous-type 3, il aurait un effet pathogène potentiel (SMITH *et al.*, 2008).

1.1.2. Arguments défavorables

Cependant, toutes les étiologies de diarrhées ne sont pas systématiquement recherchées. Une proportion importante de patients porteurs de *B. hominis* abrite aussi d'autres parasites entériques, agents viraux ou bactériens.

Certains pathogènes connus ne sont pas toujours recherchés. Il est donc important de faire un examen parasitologique complet, malheureusement peu réalisé en pratique. La répétition des examens des selles (par exemple trois prélèvements successifs à trois jours d'intervalle) permet de retrouver des parasites (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Endolimax nanus*) ou d'autres agents pathogènes qui peuvent expliquer les troubles digestifs (BOUREE, 2007).

Il existe également une possibilité de trouver d'autres organismes non identifiés responsables de symptômes digestifs.

Ce parasite provoque des troubles digestifs chez des personnes dont le système immunitaire est affaibli sans qu'aucune autre étiologie n'ait été retrouvée ; il aurait donc dans ce cas là un caractère opportuniste.

D'autres auteurs n'établissent pas de relations entre *B. hominis* et les symptômes (FAIRLEY *et al.*, 2005).

Ce parasite est retrouvé chez les personnes en bonne santé et est généralement considéré comme un commensal puisque sa présence dans les selles de sujets asymptomatiques peut atteindre une fréquence de 16% (GAYE, 1995).

1.2. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan thérapeutique

1.2.1. Arguments favorables

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. On peut affirmer cela à condition d'avoir vérifié qu'aucun autre agent pathogène ni atteinte fonctionnelle ou organique n'ait été retrouvé.

1.2.2. Arguments défavorables

Il est 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).

Si les symptômes disparaissent après le traitement mais que *B. hominis* est toujours présent, c'est qu'il existe d'autres facteurs déterminant la pathogénicité tels que des virus ou des bactéries.

1.3. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan physiopathologique

1.3.1. Arguments favorables

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* (LU *et al.*, 2005). 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).

Certains auteurs indiquent que la prolifération du parasite crée un déséquilibre de la flore intestinale qui serait à l'origine des troubles (PHILLIPS et ZIERDT, 1976).

1.3.2. Arguments défavorables

Certaines affections peuvent entraîner des perturbations de la fonction intestinale et favoriser le développement de *B. hominis*. Le parasite a alors l'opportunité de se développer : le contexte est alors favorable à l'apparition d'une symptomatologie.

Certains 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 (CHAN *et al.*, 2003).

Un statut immunitaire altéré (corticothérapie au long cours, SIDA...) est favorable au développement de différents micro-organismes comme *B. hominis*. Ceci renforce l'idée que ce parasite se comporte comme un opportuniste ; profitant de l'immunodéficience de son hôte pour proliférer et entraîner des désordres intestinaux. Prenons comme exemple la pandémie du SIDA : elle a favorisé la recrudescence de nombreux organismes et a augmenté leur vaste potentiel d'action. De nombreux rapports ont observé la présence de *B. hominis* chez des sidéens, qui se manifeste par des désordres intestinaux tels que la diarrhée. Le traitement au métronidazole a permis un contrôle du parasite et un retour à une fonction intestinale normale. Ces données prouvent l'existence du caractère opportuniste de *B. hominis* et son implication dans les épisodes diarrhéiques observés dans les maladies immunodéficientes.

1.4. Conclusion

La pathogénicité de *B. hominis* reste actuellement très controversée. D'après certains auteurs (CHAN *et al*, 2003, BOREHAM et STENZEL, 1996, FAIRLEY *et al.*, 2005), le parasite n'est pas la cause d'une maladie clinique mais plutôt un parasite commensal inoffensif chez des patients atteints de symptômes gastro-intestinaux, résultant d'autres causes, tandis que d'autres auteurs (LU *et al.*, 2005, MOLBAK *et al.*, 2009) le décrivent comme un pathogène gastro-intestinal. Ainsi, avant d'affirmer la responsabilité de *B. hominis* dans la survenue de troubles digestifs, il faut toujours rechercher une pathologie associée infectieuse, organique ou fonctionnelle. La difficulté d'exclure toutes les autres causes des symptômes signifie que le rôle de *B. hominis* en tant qu'agent causal de maladie chez l'homme demeure indéfini. Rappelons cependant que des protozoaires comme *Cryptosporidium spp.* et les microsporidies, qui étaient autrefois considérés comme non pathogènes ou faiblement pathogènes, sont maintenant reconnus comme des organismes capables de causer des maladies, en particulier chez les patients immunodéprimés.

Des critères de pathogénicité ont été ainsi déterminés (BOUREE, 2007) :

- 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*.

A l'heure actuelle, il est impossible de se prononcer pour ou contre la pathogénicité de *B. hominis* même si les récentes études tendent à décrire le blastocyste plus comme un opportuniste qu'un agent pathogène.

2. TRAITEMENT

La nécessité d'un traitement systématique en cas de découverte du parasite est discutée puisque le rôle pathogène de *B. hominis* est controversé. En pratique, le traitement médicamenteux ne se justifie que s'il existe une symptomatologie clinique.

Témoin d'une alimentation souillée et pouvant cacher une autre parasitose associée ou des entérovirus et bactéries pathogènes, la présence du blastocyste doit inciter le clinicien à prescrire des antiseptiques digestifs associés à un traitement spécifique anti-*B. hominis*.

Un grand nombre de médicaments peuvent être actifs sur *B. hominis*.

Le métronidazole (Flagyl®) est le médicament le plus largement prescrit et le plus approprié : il est efficace, peu coûteux, utilisable par voie orale ou parentérale. La posologie recommandée chez l'adulte est de 750 mg à 1g, 3 fois par jour pendant 5 à 10 jours. Chez l'enfant, la dose est de 50mg/kg/jour en trois prises. Le métronidazole est un dérivé 5-nitro-imidazole qui agit en modifiant la structure de l'ADN des parasites. Il permet une disparition rapide des cas de maladie diarrhéique et une élimination des symptômes de façon progressive chez les patients souffrant de maladie chronique. Ce médicament est également très efficace contre les bactéries anaérobies qui sont souvent associées à la présence de *B. hominis*.

Sa résorption digestive est rapide et ses taux sont efficaces en moins d'une heure. Il se concentre dans le foie où il est oxydé, glycuco-conjugué avant d'être éliminé essentiellement par voie rénale. Ses effets indésirables sont mineurs :

- troubles digestifs bénins (nausées, vomissements, diarrhée)
- saveur métallique dans la bouche
- coloration rouge-brunâtre des urines
- effet antabuse
- céphalées et vertiges
- rarissimes convulsions
- troubles cutanés avec sécheresse des muqueuses
- leucopénie modérée, spontanément réversible

Le métronidazole sera contre-indiqué en cas d'hypersensibilité aux imidazolés ou à l'un des excipients, en cas de traitement concomitant par disulfirame ou contenant de l'alcool et en cas de porphyrie hépatique. Il n'est pas conseillé lors des trois premiers mois de grossesse mais aucun effet tératogène chez l'homme n'a été rapporté. On évitera de l'administrer chez la femme allaitante (LE JEUNNE, VITAL DURAND, 2009).

Cependant, on observe des niveaux variables de résistance au métronidazole selon les différents isolats de *B. hominis* (HARESH *et al.*, 1999).

Des médicaments apparentés imidazolés tels que le tinidazole (Fasigyne®), le secnidazole (Secnol®) et l'ornidazole (Tibéral®) ont la même activité que le métronidazole, mais ces produits de seconde génération ont une cinétique telle qu'elle permet d'espacer les prises. Ils peuvent être prescrits pour traiter une blastocystose mais des cas de résistance ont également été observés.

Le cotrimoxazole (association de triméthoprimine et de sulfaméthoxazole = Bactrim®) est lui aussi très efficace ; il permet une éradication presque complète du parasite (BALCIOGLU *et al.*, 1999).

Sa résorption digestive est rapide et importante, la métabolisation est hépatique et l'élimination est essentiellement urinaire. Les effets indésirables sont nombreux :

- réactions allergiques (urticaire, érythème maculo-papuleux, œdème de Quincke, hyperthermie, syndrome de Lyell, choc anaphylactique et réaction anaphylactoïde)
- troubles hématologiques : neutropénie réversible en 7 jours après l'arrêt du traitement
- troubles digestifs : anorexie, nausées, vomissements, diarrhée
- troubles hépatiques : hépatites cholestatiques, augmentation des transaminases et de la bilirubine
- troubles rénaux : altération de la fonction rénale, néphropathie interstitielle, cristallurie
- neuropathie

Cette association médicamenteuse sera contre-indiquée en cas d'insuffisance rénale ou hépatique sévère, de porphyries, de déficit en G6PD, d'anémie mégaloblastiques par carence en acide folique, de dyscrasies sanguines et d'hypersensibilité aux sulfamides ou au triméthoprime. Elle est également contre-indiquée lors de la grossesse et de l'allaitement, chez le prématuré et le nouveau-né (LE JEUNNE, VITAL DURAND, 2009).

Bactrim® est utilisé lorsque les infections sont résistantes au métronidazole.

Deux nouveaux antiprotozoaires : le nitazoxanide et le diacétyl-nitazoxanide seraient également actifs sur *B. hominis* (VDOVENKO et WILLIAMS, 2000, KABIL *et al.*, 2005). Ces chercheurs émettent toutefois la possibilité que ces deux molécules agissent plutôt sur d'autres causes de diarrhées persistantes...

Il est également conseillé de prendre en complément une flore substitutive afin de réensemencer la flore digestive suite à l'épisode diarrhéique.

Un échec thérapeutique peut s'observer si les symptômes ne sont pas liés à la présence de *B. hominis* mais à d'autres agents pathogènes identifiés ou non.

3. PREVENTION

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 puisque en Europe- et dans les autres pays industrialisés-, les règles d'hygiène de l'eau et de l'alimentation sont strictes et encadrées par une législation garantissant une sécurité maximale des populations.

3.1. 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* (MAK *et al.*, 1999).

3.2. 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.

3.3. 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.

CONCLUSION

Blastocystis hominis est un parasite cosmopolite énigmatique qui fait l'objet de nombreux travaux et controverses. A l'heure actuelle, sa classification, son cycle ainsi que son rôle pathogène propre constituent des zones d'ombre mais il est désormais reconnu que *B. hominis* est un parasite colique, témoin d'une alimentation souillée.

On le retrouve fréquemment au cours d'examens parasitologiques de selles, sans que l'on sache bien interpréter sa présence. Est-t-il responsable des symptômes cliniques ou bien est-t-il le reflet d'une infection secondaire à un élément pathogène non identifié qui modifie l'écologie intestinale et lui permet de proliférer ? Cette étude ne nous permet pas de nous prononcer sur l'éventuel pouvoir pathogène de *B. hominis* mais propose une conduite à tenir pratique devant la découverte de ce parasite dans les selles.

Chez les sujets symptomatiques, on peut considérer *B. hominis* comme un élément pathogène responsable de la symptomatologie clinique s'il est retrouvé en grand nombre et qu'aucune autre étiologie connue de diarrhée et d'autres troubles digestifs (bactérie, parasite, virus) n'a été décelée. Il convient d'instaurer un traitement : le métronidazole (Flagyl®) à raison de 1,5 à 3g/j pendant 5 à 10 jours, associé à un traitement symptomatique des différents troubles digestifs.

Chez une population asymptomatique, il faudrait d'abord considérer *B. hominis* comme un commensal du tube digestif. Sa découverte, même en grand nombre, lors d'un examen coproparasitologique chez un sujet n'ayant aucun signe clinique, n'implique aucun traitement.

Le rôle du pharmacien d'officine face à la découverte d'une blastocystose chez un de ses patients consiste à le rassurer, lui rappeler les conseils hygiéno-diététiques basiques (lavage des mains et des aliments) puisqu'il s'agit d'une maladie manu-portée, témoin d'une alimentation souillée.

BIBLIOGRAPHIE

ABRAR N., AHMED A., BAQAI R., HUSSAIN R., JAFERI W., ZAMAN V., ZUBERI S. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1997, **56**, 301-306.

ADAM B., BREDACK C., DOWNIE-DOYLE S., DREW P., HEINZEL S., LESTER S., LIEBREGTS T., ROTH A., SMITH E., TALLEY N.J. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. Gastroenterol., 2007, **132**, 913-920.

ANUAR A., SURESH K. Multiple reproductive processes in *Blastocystis*. Trends Parasitol., 2002, **18**, 528.

ARISUE N., HASHIMOTO T., YOSHIKAWA H., NAKAMURA F., NAKAMURA G., NAKAMURA Y., YANO T., HASEGAWA M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of Stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. J. Eukaryot. Microbiol., 2002, **49**, 42-53.

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.

ATWA M., EIDA M., HUSSEIN A., HUSSEIN E. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. Parasitol. Res. 2008, **102**, 853-860.

AUGUET T., PEDRO-BOTET J., RUBIES-PRAT J. *Blastocystis hominis* : a controversial enteric protozoon. J. Clini. Gastroenterol., 1992, **14**, 88-89.

BALCIOGLU C., ERTAN P., GIRGINKARDESLAR N., KILIMCIOGLU A., OK U., PIRILDAR T. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole in *Blastocystis hominis* infection. Am. J. Gastro., 1999, **94**, 3245-3247.

BOOROM K., JONES M., LEELAYOOVA S., LI L-H., NIMRI L., OK U., PARKAR U., SMITH H., SPANAKOS G., VISCOGLIOSI E., ZHOU X-N. Oh my aching gut : irritable bowel syndrome, *Blastocystis*, and asymptomatic infection. Parasites and Vectors, 2008, **1**, 40.

BOREHAM PFL., STENZEL DJ. *Blastocystis* in humans and animals : morphology, biology and epizootiology. Adv. Parasitol., 1993, **32**, 1-70.

BOREHAM PFL., STENZEL DJ. *Blastocystis hominis* revisited. Clin. Microbiol., 1996, **9**, 563-584.

BOUREE P. *Blastocystis* : commensal ou pathogène ? Etude de 590 cas et revue de la littérature. Antibiotiques, 2007, **9**, 20-24.

BOUREE P., LANCON A. *Blastocystis*, pathogène ou simple « indicateur » d'une inflammation digestive ? Option Bio, 2008, **398**, 16.

BRUMPT E. *Blastocystis hominis* N. sp. et formes voisines. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1912, **5**, 725-730.

BURGER G., DURNFORD D., GRAY M., KEELING P., LANG B., LEE R., PEARLMAN R., ROGER A. The tree of eukaryotes. Trends Ecol. Evol., 2005, **20**, 670-676.

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.

CAPRON M., DELGADO-VISCOGLIOSI P., DUFRERNEZ 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.

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.

CHEN HS., HO LC., HOWE J., MOE KT., NG GC., SIWGH M., TAN SW., YAP EH. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. Parasitol. Res., 1997, **83**, 319-325.

CHENG HS., HAUNG ZF., KUO TC., LAN WH., SHIN JW. Epidemiology of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in a Vietnamese female immigrant population in Southern Taiwan. Kaohsiung J. Med. Sci., 2006, **22**, 166-170.

CHU FY, LEE SD, LICY, LIN YS, PENG YJ, SU FH, SU YM, TANG HF. *Blastocystis hominis* infection in long-term care facilities in Taiwan : prevalence and associated clinical factors. Parasitol. Res., 2009, **105**, 1007-1013.

CIRIONI O., FIORENTINI A., FORTUNA M., GIACOMETTI A., SCALISE G. Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., 1999, **18**, 436-439.

CLARK C., STENSVOLD C., SURESH G., TAN SW., THOMPSON R., TRAUB R., VISCOGLIOSI E., YOSHIKAWA H. Terminology for *Blastocystis* subtypes-a consensus. Trends Parasitol., 2007, **23**, 93-96.

COULOUX A., DELBAC F., DIOGON M., EL ALAOUI H. , ROUSSEL M., TAN S.W., TEXIER C., VIVARES C., WAWRZYNIAK I., WINCKER P. Complete circular DNA in the mitochondria-like organelles of *Blastocystis hominis*. Int. J. Parasitol., 2008, **38**, 1377-1382.

COUDERT P., DREYFUSS G. Les protistes digestifs parasites de l'homme. Act. Pharm., 2010, **500**, 17-28.

DAGCI H., DEMIREL M., DOGRUMAN-AL F., KURT O., YOSHIKAWA H. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of *Blastocystis hominis*. Parasitol. Res., 2008, **103**, 685-689.

ELGUN G., EROGLU F., GENÇ A., KOLTAS I.S. Identification of *Blastocystis hominis* isolates from asymptomatic and symptomatic patients by PCR. Parasitol. Res., 2009, **105**, 1595-1596.

FAIRLEY C.K., HELLARD M.E., LEDER K., SINCLAIR M.I., WOLFE R. No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. J. Gastroenterol. Hepatol., 2005, **20**, 1390-1394.

FISCHER P., SOHAIL M. *Blastocystis hominis* and travelers. Travel Medicine and Infectious Disease, 2005, **3**, 33-38.

GARAVELLI P.L. Acquisitions récentes sur *Blastocystis hominis* et la blastocystose. Bull. Soc. Pathol. Exot., 1992, **10**, 21-26.

- GARAVELLI P.L., LIBANORE M. *Blastocystis hominis* and blastocystosis (Zierdt-Garavelli disease). Ital. J. Gastroenterol., 1993, **25**, 33-36.
- GAYE C. Etude d'un protozoaire parasite : *Blastocystis hominis*. 102 p. Thèse de doctorat : Pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier : 1995.
- GOH TK., HOWEJ NGM., ZAMAN V. Scanning electron microscopy of the surface coat of *Blastocystis hominis*. Parasitol. Res., 1999, **85**, 974-976.
- GRECO V., LEGHISSA P., VALSECCHI R. Cutaneous lesions in *Blastocystis hominis* infection. Acta Dermatol. Venereol., 2003, **84**, 322-323.
- HASHIMOTO T., MORIMOTO K., SINGH M., WHU Z., YOSHIKAWA H. Problems in speciation in the genus *Blastocystis*. Trends Parasitol., 2004, **20**, 251-255.
- HARESH K., KHAIRUL ANUAR A., SAMINATHAN S., SURESH K. Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. Trop. Med. Int. Health, 1999, **4**, 4, 274-277.
- HO L.C., NG G.C., SINGH M., SURESH K., YAP E.H. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. Parasitol. Res., 1995, **81**, 446-450.
- HOWE J., NG GC., QUEK E., RAMACHANDRAN N.P., SINGH M., TAN K, YAP E.H. *Blastocystis hominis*: A simplified, high-efficiency method for clonal growth on solid agar. Exp. Parasitol., **96**, 9-15.
- KABIL S.M., ROSSIGNOL J.F., SAID M., SAMIR H., YOUNIS A.M. Effect of nitazoxanide in persistent diarrhea and enteritis associated with *Blastocystis hominis*. Clin. Gastroenterol. Hepatol., 2005, **3**, 987-991.
- KOLTAS S., PAYDAS S., SAHIN B., TASOVA Y. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. Acta Med. Okayama, 2000, **54**, 133-136.
- LE JEUNNE C., VITAL DURAND D. Dorosz, Guide pratique des médicaments. Lonrai : Maloine, 2008. 1815 p.
- LU J., PUTHIA M., TAN K., VAITHILINGAM A. Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. Parasitol. Res., 2005, **97**, 386-389.
- 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.

MINE JC., ROSA JA. Frequency of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in stool samples examined at the Parasitology Laboratory of the School of Pharmaceutical Sciences at the São Paulo State University, Araraquara. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2008, **41**, 565-569.

MOLBAK K., NIELSEN H., SMITH H., STENSVOLD C. Pursuing the clinical significance of *Blastocystis* – diagnostic limitations. Trends Parasitol., 2009, **25**, 23-29.

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.

PHILLIPS B., ZIERDT C.H. *Blastocystis hominis* : pathogenic potential in human patients and in gnotobiotics. Exp. Parasitol., 1976, **39**, 358-364.

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.

RIPERT Christian. Blastocystose. In *Epidemiologie des maladies parasitaires opportunistes*. Cachan : Editions Médicales Internationales, 2003, p. 389-394.

RIVERA W., SANTOS H. Kinetic analysis of antibody responses of *Blastocystis hominis* in sera and intestinal secretions of orally infected mice. Parasitol. Res., 2009, **105**, 1303-1310.

ROHELA M., SURESH K., TAN TC., VENILLA GD. *In vivo* encystation of *Blastocystis hominis*. Parasitol. Res., 2009, **104**, 1373-1380.

ROGER A., SIMPSON A. The real “kingdoms” of eukaryotes. Curr. Biol., 2004, **20**, 693-696.

SINGH M., TAN SW., YAP EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. Int. J. Parasitol., 2002, **32**, 789-804.

SMITH H., SURESH K. Comparaison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2004, **23**, 509-511.

SMITH H., SURESH K., TAN T.C. Phenotypic and genotypic characterization of *Blastocystis hominis* isolates implicates subtype 3 as a subtype with pathogenic potential. Parasitol. Res., 2008, **104**, 85-93.

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.G., TAN T.C. Evidence of plasmotomy in *Blastocystis hominis*. Parasitol.

Res., 2007, **101**, 1521-1525.

TAN K. *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. Vet. Parasitol., 2004, **125**, 121-144.

VDOVENKO A. *Blastocystis hominis* : origin and significance of vacuolar and granular forms. Parasitol. Res., 2000, **86**, 8-10.

VDOVENKO A., WILLIAMS J.E. *Blastocystis hominis* : neutral red supravital staining and its application to in vitro drug sensitivity testing. Parasitol. Res., 2000, **86**, 573-581.

ZIERDT C.H. Studies of *Blastocystis hominis*. J. Protozool., 1976, **20**, 114-121.

ICONOGRAPHIE

BOOROM K., JONES M., LEELAYOOVA S., LI L-H., NIMRI L., OK U., PARKAR U., SMITH H., SPANAKOS G., VISCOGLIOSI E., ZHOU X-N. Oh my aching gut : irritable bowel syndrome, *Blastocystis*, and asymptomatic infection. Parasites and Vectors, 2008, **1**, 40.

BURGER G., DURNFORD D., GRAY M., KEELING P., LANG B., LEE R., PEARLMAN R., ROGER A. The tree of eukaryotes. Trends Ecol. Evol., 2005, **20**, 670-676.

CHEN HS., HO LC., HOWE J., MOE KT., NG GC., SIWGH M., TAN SW., YAP EH. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. Parasitol. Res., 1997, **83**, 319-325.

CHENG HS., HAUNG ZF., KUO TC., LAN WH., SHIN JW. Epidemiology of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in a Vietnamese female immigrant population in Southern Taiwan. Kaohsiung J. Med. Sci., 2006, **22**, 166-170.

GOH TK., HOWEJ NGM., ZAMAN V., Scanning electron microscopy of the surface coat of *Blastocystis hominis*. Parasitol. Res., 1999, **85**, 974-976.

HOWE J., NG GC., QUEK E., RAMACHANDRAN N.P., SINGH M., TAN K, YAP E.H. *Blastocystis hominis*: A simplified, high-efficiency method for clonal growth on solid agar. Exp. Parasitol., **96**, 9-15.

MINE JC., ROSA JA. Frequency of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in stool samples examined at the Parasitology Laboratory of the School of Pharmaceutical Sciences at the São Paulo State University, Araraquara. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2008, **41**, 565-569.

ROGER A., SIMPSON A. The real “kingdoms” of eukaryotes. Curr. Biol., 2004, **20**, 693-696.

TAN K. *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. Vet. Parasitol., 2004, **125**, 121-144.

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	9
INTRODUCTION	10
CHAPITRE I : <i>BLASTOCYSTIS HOMINIS</i> : PRESENTATION DU PARASITE	11
1. TAXONOMIE	12
2. MORPHOLOGIE	15
2.1. La forme vacuolaire	15
2.2. La forme granulaire	19
2.3. La forme amiboïde	21
2.4. La forme kystique	23
2.5. Autres formes	25
3. STRUCTURE.....	26
3.1. Manteau de surface	26
3.2. Vacuole centrale	26
3.3. Membrane cytoplasmique.....	28
3.4. Cytoplasme	28
3.5.Appareil nucléaire	28
3.6. Appareil de Golgi	28
3.7. Mitochondries.....	29
3.8. Réticulum endoplasmique	29
3.9. Vésicules pinocytotiques	29
3.10.Autres inclusions	29
4. CYCLE.....	30
5. EPIDEMIOLOGIE	35
5.1. Répartition géographique	35
5.2. Hôte et réservoir	35
5.3. Mode de transmission.....	37
5.4. Facteurs de risque	37
5.4.1. Conditions socio-culturelles	37
5.4.2. Conditions immunologiques.....	37
5.4.3. Répartition selon l'âge et le sexe	38
5.4.4. Répartition selon la saison	38
5.4.5. Association à d'autres éléments infectieux.....	38

CHAPITRE II : ASPECT CLINIQUE.....	39
1. SYMPTOMATOLOGIE	40
1.1. Signes biologiques.....	41
1.2. Signes cliniques	41
2. DIAGNOSTIC.....	47
2.1. Diagnostic clinique	47
2.2. Diagnostic biologique.....	47
2.2.1. Diagnostic direct.....	47
2.2.1.1. Examen des selles à l'état frais	47
2.2.1.2. Coloration.....	50
2.2.1.2.1. Coloration sur lame.....	50
2.2.1.2.2. Coloration en tube	51
2.2.1.3. Concentration.....	53
2.2.1.4. Culture	53
2.2.1.5. Amplification du génome	59
2.2.2. Diagnostic indirect.....	59
 CHAPITRE III : DISCUSSION.....	 61
1. <i>BLASTOCYSTIS HOMINIS</i> : AGENT PATHOGENE OU OPPORTUNISTE ?.....	62
1.1. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan étiologique.....	62
1.1.1. Arguments favorables.....	62
1.1.2. Arguments défavorables	63
1.2. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan thérapeutique	64
1.2.1. Arguments favorables.....	64
1.2.2. Arguments défavorables	64
1.3. Discussion sur l'éventuel pouvoir pathogène sur le plan physiopathologique	64
1.3.1. Arguments favorables.....	64
1.3.2. Arguments défavorables	65
1.4. Conclusion.....	66
2. TRAITEMENT	68
3. PREVENTION	71
3.1. Education sanitaire	71
3.2. Assainissement du milieu	71
3.3. Hygiène alimentaire.....	72
 CONCLUSION	 73
 BIBLIOGRAPHIE	 75
 ICONOGRAPHIE.....	 81
 TABLE DES MATIERES	 82

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

RESUME

Blastocystis hominis, micro-organisme unicellulaire cosmopolite, est un parasite énigmatique qui fait l'objet de nombreux travaux et controverses. A l'heure actuelle, sa classification, son cycle ainsi que son rôle pathogène propre constituent des zones d'ombre mais il est désormais reconnu que *B. hominis* est un parasite colique, témoin d'une alimentation souillée.

On le retrouve fréquemment au cours d'examens parasitologiques de selles, sans que l'on sache bien interpréter sa présence. Cette étude ne nous permet pas de nous prononcer sur l'éventuel pouvoir pathogène de *B. hominis* mais propose une conduite à tenir pratique devant la découverte de ce parasite dans les selles.

Chez une population asymptomatique, il faudrait d'abord considérer *B. hominis* comme un commensal du tube digestif. Sa découverte, même en grand nombre, lors d'un examen coproparasitologique chez un sujet n'ayant aucun signe clinique, n'implique aucun traitement.

Chez les sujets symptomatiques, on peut considérer *B. hominis* comme un élément pathogène responsable de la symptomatologie clinique s'il est retrouvé en grand nombre et qu'aucune autre étiologie connue de diarrhée et d'autres troubles digestifs (bactérie, parasite, virus) n'a été décelée. Il convient d'instaurer un traitement : le métronidazole (Flagyl).

DISCIPLINE

PARASITOLOGIE

MOTS-CLES

Blastocystis hominis

Taxonomie

Epidémiologie

Rôle pathogène

Contrôle

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE

UNIVERSITE DE LIMOGES, Faculté de Pharmacie

2 rue du Docteur Marcland

87000 Limoges