

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE CONSTANTINE 3  
FACULTE DE MEDECINE DE CONSTANTINE  
DEPARTEMENT DE MEDECINE

**THESE**  
**POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES**  
**MEDICALES**

**TITRE**

**RELATION AMOËBOSE ET RECTOCOLITE-ULCERO-  
HEMORRAGIQUE**

**Présentée par :**

**Docteur Badreddine ALLOUACHE**  
Maître assistant en Parasitologie-mycologie

**JURY**

<b>-Mr le Professeur Hamrioui B.</b> <b>Faculté de médecine d'Alger</b>	<b>Président</b>
<b>-Mr le Professeur Fendri A.H</b> <b>Faculté de médecine de Constantine</b>	<b>Directeur de thèse</b>
<b>-Mr le Professeur Touabti A.</b> <b>Faculté de médecine de Setif</b>	<b>Membre</b>
<b>-Mme le Professeur Bachi F.</b> <b>Faculté de médecine d'Alger</b>	<b>Membre</b>
<b>-Mr le Professeur Boussouf N.</b> <b>Faculté de médecine de Constantine</b>	<b>Membre</b>
<b>-Mr le Professeur Hammada T.</b> <b>Faculté de médecine de Constantine</b>	<b>Membre</b>

## **PARTIE THEORIQUE :**

<b>I-INTRODUCTION</b> .....	1
<b>II-AMŒBOSE OU AMIBIASE</b>	
1-Définition.....	3
2-Historique .....	3
3-Classification des amibes.....	5
4-Etude du parasite.....	7
4-1-Réservoir du parasite .....	7
4-2- Morphologie des amibes parasites de l'homme .....	7
4-2-1-Microscopie optique .....	7
4-2-1-1- <i>Entamoeba histolytica histolytica</i> .....	7
4-2-1-2- <i>Entamoeba histolytica minuta</i> .....	8
4-2-1-3-kyste d' <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i> .....	8
4-2-2- Microscopie électronique .....	12
4-3- Cycle évolutif .....	12
4-3-1-Cycle non pathogène .....	12
4-3-2-Cycle pathogène.....	13
4-4-Multiplication .....	15
4-5-Capacité d'agression .....	15
4-6-Capacité de survie .....	15
4-7-Déplacement, habitat et nutrition .....	15
4-8-Localisation anatomique des amibes .....	16
4-9- Différence de souches .....	17
4-9-1-Composition enzymatique .....	17
4-9-2-Composition antigénique .....	18
4-9-3-Différences génétiques .....	18
4-9-4-Mécanismes de virulence .....	19
5-Physiopathologie .....	20
6-Mode de contamination .....	21

7-Facteurs favorisants .....	22
8-Clinique .....	23
8-1-Amœbose intestinale aigue ou dysenterie amibienne.....	23
8-2-Formes cliniques .....	24
8-2-1-Amœbose colique maligne .....	24
8-2-2-Formes mono symptomatiques .....	24
8-2-3-Formes hémorragiques .....	24
8-2-4-Amœbome .....	24
8-3-Complications .....	25
8-3-1-La colite post-amibienne .....	25
8-3-2- Les perforations intestinales .....	25
8-3-3-Occlusion .....	26
9- Diagnostic différentiel .....	26
10-Diagnostic biologique.....	27
10-1- Examens d'orientation .....	27
10-2-Examens parasitologiques .....	27
10-2-1-Examen macroscopique .....	28
10-2-2-Examen microscopique .....	29
10-2-3-Les cultures .....	30
10-3-Résultats de l'examen parasitologique .....	31
10-4-Diagnostic différentiel à l'examen microscopique des selles.....	32
10-5-Détection d'antigènes amibiens.....	32
10-6-Diagnostic sérologique .....	32
10-6-1-Techniques utilisant les antigènes solubles.....	32
10-6-1-1-Test au latex .....	32
10-6-1-2-Hémagglutination indirecte (HAI).....	33
10-6-1-3-Double diffusion en gel d'agarose .....	33
10-6-1-4-Immunoélectrophorèse .....	33
10-6-1-5-ELISA (« enzyme linked immunoassay »).....	33

10-6-2-Technique utilisant des antigènes figurés.....	34
10-6-3-Recherche des antigènes sériques .....	35
11- Thérapeutique .....	36
11-1-Médicaments spécifiques .....	36
11-1-1-Amœbicides tissulaires .....	36
11-1-1-1-Metronidazole (Flagyl®) et les autres 5-nitro-imidazoles (Flagentyl®, Tiberall®, Fasiogyne®) .....	36
11-1-1-2-Emétine .....	37
11-1-1-3-Chloroquine (nivaquine®) .....	37
11-1-2-Amœbicides de contact .....	38
11-1-2-1-Oxyquinolones iodées (en France : Direxiode®) .....	38
11-1-2-2-Oxyquinolones non iodées (en France : Intetrix®).....	38
11-1-2-3-Sulfate de paromomycine .....	38
11-1-2-4-Autres amœbicides de contact .....	39
11-2-Traitements des diverses formes cliniques .....	39
11-2-1-Crise de dysenterie amibienne .....	39
11-2-2-Colite post amibienne .....	40
11-2-3-Amœbome .....	40
11-2-4-Traitement des porteurs sains .....	40
12-Prophylaxie .....	41

### **III-RECTOCOLITE-ULCERO-HEMORRAGIQUE**

1-Introduction-définition .....	42
2-Clinique .....	43
3-Formes cliniques .....	43
3-1- Formes mineures .....	43
3-2- Formes modérées .....	43
3-3- Les formes sévères .....	44

3-4- Les manifestations extra-digestives .....	44
4-Diagnostic .....	45
4-1-Diagnostic d'orientation .....	45
4-2-Diagnostic positif .....	45
4-2-1- L'anatomo-pathologie .....	45
4-2-1-1-Aspects macroscopiques .....	45
4-2-1-2- Aspects microscopiques .....	46
4-2-3- Radiologie .....	48
4-2-3-1- Abdomen sans préparation (ASP) .....	48
4-2-3-2- Lavement baryté .....	48
4-2-3-3- Echographie et TDM abdominale .....	49
4-2-3-4- Imagerie par résonance magnétique (IRM) .....	49
4-2-3-5- Endoscopie .....	50
4-2-4- Biologie .....	50
4-3-Diagnostic différentiel .....	51
4-3-1-Maladie de Crohn (MC) .....	51
4-3-2- Autres maladies coliques .....	54
4-3-2-1- Colites infectieuses.....	54
4-3-2-2- Colite ischémique .....	54
4-3-2-3- Les hémorroïdes et les fissures anales.....	54
4-3-2-4- Le cancer rectocolique .....	55
4-3-2-5- L'ulcère solitaire du rectum .....	55
4-3-2-6- La schistosomose colique .....	55
4-3-2-7- Autres pathologies iatrogènes .....	55
5-Physiopathologie .....	55
5-1- Fonction de la barrière épithéliale .....	56
5-2- Agents infectieux .....	56
5-3- La réponse immunitaire .....	56
5-3-1- Activation des voies de transduction .....	57

5-3-2 - Production des cytokines et des chimiokines .....	58
5-3-2-1- Classification des chimiokines et des cytokines .....	58
5-3-2-2- Cytokines, chimiokines et MICI .....	58
5-3-3- Augmentation de l'expression des molécules d'adhésion .....	58
5-3-4 - Inhibition des mécanismes d'apoptose .....	59
5-3-5 - L'autophagie et les MICI .....	59
5-3-6 - Rupture de tolérance .....	59
6- Etiopathogénie .....	60
6-1- Facteurs infectieux .....	60
6-1-1- Les bactéries .....	60
6-1-2- Les virus .....	60
6-1-3- Les levures .....	60
6-1-4- Les helminthes.....	61
6-2- Facteurs environnementaux .....	61
6-3- Facteurs médicamenteux .....	62
6-4- Autres facteurs .....	62
7- Evolution .....	62
8- Traitement .....	63
8-1- Traitement médical .....	63
8-1-1- Les salicylés .....	63
8-1-2- Les corticoïdes .....	64
8-1-3- Les immunosuppresseurs .....	64
8-1-3-1- L'azathiopurine (AZA) et 6-mercaptopurine.....	64
8-1-3-2- Ciclosporine .....	64
8-2- Traitement chirurgical .....	65

## **PARTIE PRATIQUE**

1- Problématique et Objectifs de notre travail .....	66
2-Patients et Méthodes .....	67
2-1-Population étudiée .....	67
2-2-Population source .....	67
2-3-Critères d'inclusion .....	67
2-4-Critères d'exclusion .....	67
2-5-Collecte des données.....	67
2-6-Méthodes.....	69
2-6-1-Collecte des échantillons .....	69
2-6-2-Examen direct .....	69
2-6-3-Méthodes de concentration .....	71
2-6-4- Techniques de coloration .....	71
2-6-5-Les cultures .....	73
2-6-6-Recherche des copro-antigènes .....	74
2-6-7- Etude bactériologique des selles .....	76
2-6-8- Rectosigmoidoscopie .....	76
2-6-9-Anatomo-pathologie.....	76
2-6-10- Suivi thérapeutique.....	78
2-6-11-Méthodes statistiques .....	79
3- Résultats .....	81
3-1- Résultats des examens directs des selles (à l'état frais et après coloration) .....	81
3-2-Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct .....	82
3-3- Résultats après concentration des selles .....	83
3-4-Répartition des parasites retrouvés après concentration.....	84
3-5-Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct .....	85
3-6-Répartition des parasites retrouvés après cultures .....	85

3-7-Répartition des malades aux antécédents de RCUH (connus d'être atteints de RCUH) associée ou non à une amœbose .....	87
3-8-Répartition des malades sans antécédents de RCUH (sans diagnostic précis).....	87
3-9-Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH .....	88
3-10-Recrutement des cas de RCUH.....	89
3-11-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon le sexe .....	90
3-12-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les tranches l'âge .....	91
3-13-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon leurs origines .....	92
3-14-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les années d'étude .....	93
3-15-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques .....	94
3-16-Les malades atteints d'amœbose .....	95
3-17-Répartition des cas d'amœbose selon la méthode de diagnostic .....	96
3-18-Répartition des cas d'amœbose en fonction de leurs associations ou non à la RCUH .....	97
3-19-Répartition des cas d'amœbose selon le sexe .....	97
3-20-Répartition des cas d'amœbose selon les tranches d'âge .....	98
3-21-Répartition des cas d'amœbose selon leur lieu de résidence .....	99
3-22-Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude .....	100
3-23-Répartition des cas d'amœbose selon les services d'origine.....	101
3-24-Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes suivant leur étiologie.....	101
3-25-Statistiques analytiques.....	103

3-25-1-Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints de RCUH	103
3-25-2-Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints d'amœbose	103
4-Discussion	105
5-Conclusion	113

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n° 1</b> : Caractères distinctifs des amibes parasites du tube digestif.....	11
<b>Tableau n° 2</b> : Diagnostic différentiel entre Maladie de Crohn et RCUH.....	52
<b>Tableau n° 3</b> : Répartition des malades suivant leurs antécédents .....	81
<b>Tableau n° 4</b> : Résultats des examens directs des selles .....	81
<b>Tableau n° 5</b> : Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct .....	82
<b>Tableau n° 6</b> : Résultats après concentration des selles .....	83
<b>Tableau n° 7</b> : Répartition des résultats après concentration .....	84
<b>Tableau n° 8</b> : Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct ...	85
<b>Tableau n° 9</b> : Répartition des parasites retrouvés après cultures .....	85
<b>Tableau n° 10</b> : Nombre d'amibes appartenant au complexe <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i> selon les techniques de diagnostic utilisées.....	86
<b>Tableau n° 11</b> : Répartition des malades aux antécédents de RCUH (connus d'être atteints de RCUH) associée ou non à amébose .....	87
<b>Tableau n° 12</b> : Répartition des malades sans antécédents de RCUH (sans diagnostic précis) présentant ou non une amébose.....	87
<b>Tableau n° 13</b> : Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH .....	88
<b>Tableau n° 14</b> : Total des cas de RCUH recrutés.....	89
<b>Tableau n° 15</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amébose selon le sexe .....	90
<b>Tableau n° 16</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amébose selon les tranches d'âge .....	91
<b>Tableau n° 17</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amébose selon leurs origines .....	92
<b>Tableau n° 18</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amébose selon les années d'étude .....	93

<b>Tableau n° 19:</b> Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques .....	94
<b>Tableau n° 20 :</b> Répartition des patients présentant une amœbose colique .....	95
<b>Tableau n° 21:</b> Répartition des cas d'amœbose selon la méthode de diagnostic .....	96
<b>Tableau n° 22:</b> Répartition des cas d'amœbose en fonction de leurs associations ou non à RCUH .....	97
<b>Tableau n° 23:</b> Répartition des cas d'amœbose selon le sexe .....	97
<b>Tableau n° 24 :</b> Répartition des cas d'amœbose selon les tranches d'âge .....	98
<b>Tableau n° 25 :</b> Répartition des cas d'amœbose selon leur lieu de résidence...	99
<b>Tableau n° 26:</b> Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude .....	100
<b>Tableau n° 27:</b> Répartition des cas d'amœbose par consultation .....	101
<b>Tableau n° 28 :</b> Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes.....	101
<b>Tableau n° 29 :</b> Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints de RCUH .....	103
<b>Tableau n° 30 :</b> Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints d'amœbose .....	103

## LISTE DES GRAPHES

<b>Graphe n° 1</b> : Résultats des examens directs des selles .....	81
<b>Graphe n° 2</b> : Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct .....	82
<b>Graphe n° 3</b> : Résultats après concentration des selles.....	83
<b>Graphe n° 4</b> : Répartition des parasites retrouvés après concentration.....	84
<b>Graphe n° 5</b> : Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct...	85
<b>Graphe n° 6</b> : Répartition des parasites retrouvés après cultures .....	86
<b>Graphe n° 7</b> : Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH.....	88
<b>Graphe n° 8</b> : Total des cas de RCUH recrutés.....	89
<b>Graphe n° 9</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon le sexe .....	90
<b>Graphe n° 10</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les tranches d'âge .....	91
<b>Graphe n° 11</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les années d'étude .....	93
<b>Graphe n° 12</b> : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques .....	94
<b>Graphe n° 13</b> : Répartition des patients présentant une amœbose colique ...	95
<b>Graphe n° 14</b> : Répartition des cas d'amœbose en fonction de leurs associations ou non à la RCUH .....	97
<b>Graphe n° 15</b> : Répartition des cas d'amœbose selon le sexe .....	98
<b>Graphe n° 16</b> : Répartition des cas d'amœbose selon les tranches d'âge .....	99
<b>Graphe n° 17</b> : Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude .....	100
<b>Graphe n° 18</b> : Répartition des cas d'amœbose par consultation .....	101

<b>Grappe n° 19</b> : Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes suivant leur étiologie.....	102
<b>Grappe n° 20</b> : Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes en absence d'antécédents de RCUH et d'amœbose.....	102

## **PARTIE THEORIQUE**

## **I-INTRODUCTION :**

Depuis plus d'une vingtaine d'années, l'amœbose a été soupçonnée d'être incriminée parmi les facteurs inaugurant la Récto-Colique-Ulcéro-Hémorragique (RCUH) ou du moins l'aggravant si elle a été déjà déclarée [6, 23].

En effet, plusieurs observations ont relevé l'existence d'épisodes d'amœbose dans les antécédents de malades atteints de RCUH [13, 35, 84, 152].

Par ailleurs, la persistance de troubles colitiques importants malgré le traitement de l'amœbose et la disparition des amibes pathogènes à l'examen parasitologique a été longtemps décrite sous le nom de colite post-dysentérique ou post-amibienne alors qu'il s'agissait d'une RCUH [96, 117, 136].

La ressemblance des syndromes cliniques et des lésions endoscopiques des deux maladies a fait que plusieurs surinfections amibiennes ont été confondues avec des poussées de la maladie inflammatoire colique et inversement [46]. Seul l'examen parasitologique des selles et/ou l'examen anatomo-pathologique sur des biopsies permettent de faire le diagnostic différentiel entre les deux affections [2, 6, 20, 32].

En effet, la RCUH est une maladie inflammatoire et ulcéreuse touchant aussi le rectum et le côlon. Elle évolue par poussées successives [151].

En l'absence d'étiopathogénie connue, sa définition reste descriptive et le diagnostic de rectocolite hémorragique repose sur un faisceau d'arguments cliniques et anatomo-pathologiques [6, 94].

Sur le plan thérapeutique et en absence d'examen parasitologique, la corticothérapie prescrite par voie générale ou locale peut être responsable de véritables flambées d'amœbose. C'est pour cette raison que plusieurs auteurs préconisent la prescription systématique d'un traitement anti-amibien pour les malades atteints de RCUH, chez qui la parasitologie des selles serait en faveur d'une amœbose [207].

L'interférence de l'amœbose intestinale particulièrement fréquente a pu faire surestimer l'intensité de la poussée en majorant le syndrome dysentérique et détériorant l'état général du malade ; les résultats souvent spectaculaires du traitement amœbicide seul en sont une preuve. Ce qui a poussé plusieurs auteurs à se pencher sur ce problème [32].

Des études nationales et internationales ont montré que l'association des deux pathologies était fréquemment retrouvée entraînant le patient dans un cercle vicieux [8, 9, 13, 33, 35].

Cependant aucune étude statistique nationale n'a été faite dans ce domaine. En Algérie les pathologies coliques d'origine parasitaires ou inflammatoires sont fréquentes. Elles constituent le principal motif des consultations gastro-intestinales [31].

Les demandes de parasitologie des selles émanant du service d'hépatogastro-entérologie et des consultations spécialisées ont permis de mettre en évidence à plusieurs reprises *Entamoeba histolytica* parasite responsable du syndrome dysentérique. La fréquence de ce parasite chez des malades atteints d'un processus inflammatoire intestinal a attiré notre attention [8, 9].

Après recherche bibliographique nous avons remarqué qu'aucune étude scientifique pluridisciplinaire n'a été faite dans notre pays pour évaluer le risque de contamination parasitaire chez les malades atteints de RCUH qui à notre avis constituent une population à risque. Ce dernier doit être évalué par des méthodes statistiques précises et par la même occasion redéfinir les critères de guérison chez ces patients.

## II-AMŒBOSE OU AMIBIASE

### 1-Définition :

L'amœbose est l'état dans lequel l'organisme humain héberge *Entamoeba histolytica*, avec ou sans manifestations cliniques, 1903 ; syn. *E.dysenterie* (dénomination faite par Councilman et Lafleur, 1891) [148,171].

Il s'agit d'une protozoose intestinale qui peut métastaser par voie sanguine ou lymphatique et envahir d'autres tissus. Dans ce cas le foie étant l'organe le plus fréquemment atteint [155, 160].

Avec environ 50 millions de cas d'amœbose invasive et [40,000 à 100,000] de décès/ans, l'amœbose est la seconde cause de mortalité par infection parasitaire à travers le monde, après le paludisme [105, 130, 158, 159].

Près de 500 millions d'individus à travers le monde, soit 10% surtout dans les pays en voie de développement sont porteurs de kystes du complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* [130]. Elle est cosmopolite et sévit principalement entre les 40° parallèles [166].

Elle est sévère particulièrement en Extrême-Orient, on la retrouve également au Moyen-Orient, en Afrique du Nord, en Afrique noire surtout dans les régions humides, et en Amérique latine.

L'amœbose infestation est largement répandue dans les cinq continents [148].

Des thérapeutiques nouvelles ont été mises au point par Charmot et al, faisant appel aux imidazolés [14].

Actuellement, les travaux de recherche se dirigent vers l'étude des aspects immunologiques de l'amibe pathogène ainsi que ses zymodèmes [182, 189].

### 2-Historique :

En 1861, Dutrouleau décrivait la dysenterie endémique des régions tropicales, affection distinguée par ses manifestations cliniques et ses lésions anatomiques.

L'agent pathogène a été découvert par Losch en 1875 dans les selles et les ulcérations coliques d'un jeune malade à Pétrogard.

En 1890, les travaux de Lutz et ceux de Councilman et Lafleur, établissent la différence entre dysenterie bacillaire et la diarrhée muco-sanglante de la dysenterie amibienne.

Quick et Roos en 1893 découvraient la forme kystique et précisaient le mode de transmission de la maladie [150].

En 1893, Kruse et Pasquale différencient l'amibe saprophyte *Entamoeba coli* de l'amibe dysentérique pathogène [123, 171].

Schaudinn en 1903 établit la différence morphologique entre ces deux amibes et crée la dénomination d'*Entamoeba histolytica*.

Walker et Sellar ont complété le cycle évolutif du parasite entre 1911 et 1913.

En 1922, Rogers codifie le traitement à base d'émétine.

En 1925, Emile Brumpt décrit *Entamoeba dispar* et l'hypothèse qu'il existe deux d'amibes morphologiquement indistinguables mais qui diffèrent par leur aptitude à envahir les tissus [171].

En 1925, première mise en culture des amibes par Boeck.

*Entamoeba histolytica* est la dénomination définitivement acceptée et seule retenue, lors de la réunion de la commission internationale de la nomenclature en zoologie en 1954. L'amibe *Entamoeba coli* a été considérée comme espèce à part entière [150].

En 1941, l'amibe *Entamoeba moshkovskii* morphologiquement identique à *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*, a été isolé dans les eaux usées de Moscou et est aujourd'hui considéré comme une amibe libre occasionnellement hébergé par l'homme. Une autre espèce d'amibes, la souche *Entamoeba histolytica* Laredo (dont le nom vient de la ville américaine où l'espèce a été isolée la première fois chez homme), a la même morphologie qu'*Entamoeba histolytica* et est considérée comme une variante non pathogène de cette dernière.

En 1957, Burrows distingue *Entamoeba hartmanni*.

En 1961, Diamond a cultivé pour la première fois des amibes sur milieu axénique.

En 1991, barycentre Clark et L.S. Diamond ont utilisé des méthodes de biologie moléculaire pour démontrer que la souche Laredo d'*Entamoeba histolytica* est identique à *Entamoeba moshkovskii* [229].

*Entamoeba Polecki* a été identifiée pour la première en 1912 en Tchécoslovaquie par Von Prowazek dans les échantillons de selles de deux étudiants de Kampuchea. Caractéristiques, les kystes uninucléés ont été trouvés-à plusieurs reprises dans des échantillons de selles provenant de ces étudiants. Suite à ces cas, *Entamoeba Polecki* a été constatée à plusieurs reprises dans les excréments de porcs. D'autres cas humains ont depuis été signalés jusqu'en 1949. La plupart des chercheurs croient, cependant, que de nombreux cas humains ont existé pendant cette période et que les infections étaient asymptomatiques.

En 2012, a été isolée l'amibe *Entamoeba bengladeshi* dans la région de Dhaka au Bangladesh.

Les méthodes modernes d'imagerie, les techniques sérologiques de plus en plus fiables ont facilité le diagnostic de l'amébose hépatique et les autres localisations tissulaires du parasite.

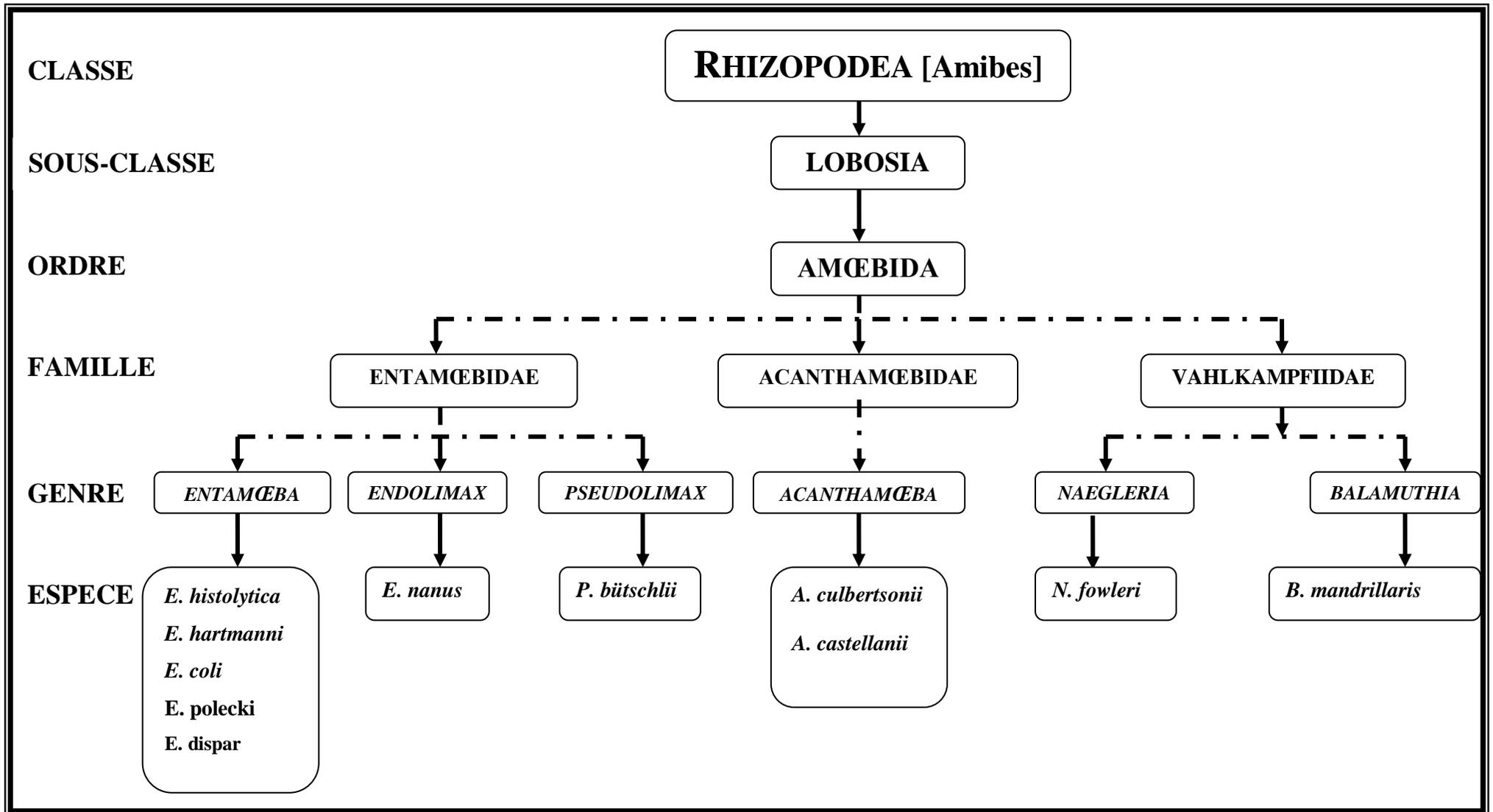
Ces dernières années, l'analyse génétique par l'étude des enzymes, des différentes souches d'amibes provenant de diverses régions tropicales ou tempérées, a remis à l'honneur la notion de souches pathogènes d'*Entamoeba histolytica* qui avaient été suspectée sur des notions épidémiologiques et cliniques dès 1925 par Brumpt (*Entamoeba dispar*, souche non pathogène d'*Entamoeba histolytica*) [150].

### 3-Classification des amibes:

*Entamoeba histolytica* se situe dans le règne animal des protozoaires, sous-embanchement des sarcotina, classe des Rhizopodea se déplaçant à l'aide de pseudopodes arrondis à leur extrémité, ordre des Amoebida, famille des Entamoebidae. Ce groupe d'amibe au corps massif possède un noyau renfermant un caryosome ou endosome (formation dépourvue d'ADN) [148].

A l'intérieur de cette famille, le genre *Entamoeba* se caractérise par un noyau vésiculeux, renfermant un petit caryosome central ou subcentral et une chromatine périphérique. Leurs formations kystiques contiennent de 1 à 8 noyaux et parfois une ou plusieurs inclusions sidérophiles ou chromidiums, qui disparaissent à maturité.

Quatre espèces peuvent parasiter l'intestin de l'homme, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba coli* et *Entameoba hartmanni* mais seule l'espèce *histolytica* est impliquée dans l'amébose [148]. (Voir figure n°1)



SOURCE : Moulinier C. ; parasitologie et mycologie médicales (éléments de morphologie et de biologie). Edition Lavoisier 2003. p30 [143].

Figure n° 01 : Classification des amibes.

#### 4-Etude du parasite:

##### 4-1-Réservoir du parasite:

L'homme est pratiquement le seul à pouvoir héberger le parasite.

La prévalence des porteurs de kystes est élevée dans les couches socio-économiques basses, chez les handicapés mentaux (institutions), chez les sujets âgés et chez les homosexuels. La durée du portage parasitaire est plus longue avec les souches pathogènes [14, 18, 148].

##### 4-2- Morphologie des amibes parasites de l'homme:

Les amibes sont des organismes microscopiques unicellulaires. La forme végétative est irrégulière et se déplace à l'aide de pseudopodes. La majorité des organites cellulaires sont invisibles sans coloration. Cependant plusieurs colorations permettent de faire ressortir principalement la structure nucléaire [18].

##### 4-2-1-Microscopie optique :

*Entamoeba histolytica* se présente sous 3 formes :

4-2-1-1- *Entamoeba histolytica histolytica* : présente un contour très irrégulier, elle est mobile à déplacement unidirectionnel.

Sa taille varie de 20 à 40  $\mu$ .

Son cytoplasme se divise en :

- L'endoplasme granuleux contenant de nombreuses vacuoles digestives remplies d'inclusions alimentaires, de bactéries et surtout d'hématies plus ou moins digérées. On observe après coloration un seul noyau, arrondi, renfermant un corpuscule plus ou moins volumineux appelé : caryosome ou endosome entouré d'une chromatine périphérique régulière. L'identification des différentes espèces repose généralement sur l'aspect microscopique du noyau, facilement mis en évidence par coloration.
- L'ectoplasme est clair, hyalin et très réfringent. La distinction entre l'ectoplasme et l'endoplasme est bien marquée.

Les pseudopodes se constituent de la manière suivante : il apparaît un prolongement hyalin formé d'abord de l'ectoplasme dans lequel se vide rapidement l'endoplasme attirant avec lui les autres organites cellulaires et le noyau, l'amibe paraît ainsi couler à la surface de la lame de verre, se déplaçant comme une limace.

Une fois le pseudopode rempli, l'amibe prend une forme arrondie avant que n'apparaisse un nouveau pseudopode dans la continuité du premier et le processus se reproduit [14, 37].

#### 4-2-1-2- *Entamoeba histolytica minuta* :

Sous espèce remise en cause par plusieurs auteurs, cette forme vit en commensal au niveau du tube digestif, elle est retrouvée en dehors des phases aiguës de l'amébose, chez les porteurs sains et chez les convalescents. Sa taille est plus petite de 15-25  $\mu$  de diamètre, de forme plus arrondie avec une différenciation entre l'ectoplasme et l'endoplasme.

Les formes minuta ont la même structure générale que les formes *histolytica* mais leur cytoplasme est dépourvu d'hématies.

Elle vit dans la lumière intestinale, de débris alimentaires et de bactéries. Elle se multiplie par scissiparité, elle peut être éliminée sous cette forme dans les selles ou se transformer en forme invasive *Entamoeba histolytica* dans le meilleur des cas s'enkyster.

Avant de s'enkyster, l'amibe s'immobilise, s'arrondit, évacue de son cytoplasme toutes les inclusions et devient plus petite, formant un pré-kyste.

#### 4-2-1-3-kyste d'*Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*:

La forme kystique ou forme de résistance est immobile, entourée d'une coque épaisse et réfringente. Elle ne se nourrit pas et son cytoplasme est hyalin et homogène.

Le kyste est bien arrondi et mesure 8 -15  $\mu$ m de diamètre, entouré d'une double coque (invisible à l'état frais mais se dédoublant avec l'emploi d'une technique de concentration en un contour externe fin et un contour interne épais, noir, réfringent). Les plus jeunes des kystes sont les plus grands et contiennent parfois une vacuole.

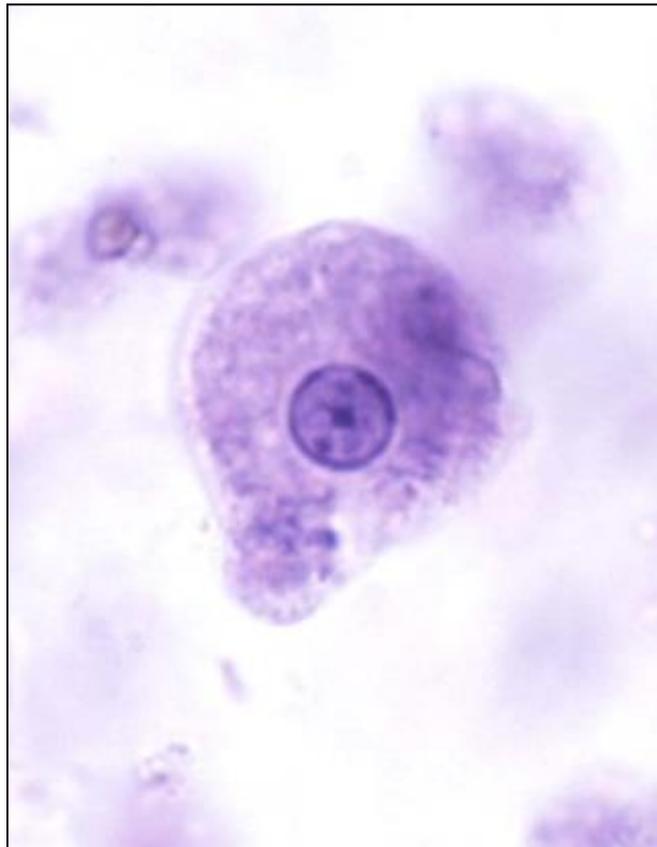
A l'état frais, Le cytoplasme apparaît réfringent, vide et peut renfermer parfois un ou plusieurs cristoïdes ou chromidiums, incolores après coloration des kystes au Lugo ou au MIF. Par contre, ces éléments peuvent être colorés par l'hématoxyline ferrique.

Les cristoïdes sont allongés et présentent des extrémités arrondies leur donnant un aspect trapu, en saucisse ou en cigare.

Le kyste présente la forme de dissémination et de résistance de la maladie pouvant survivre plusieurs jours dans le milieu extérieur quand les conditions

sont favorables (humidité et température moyenne : pays chauds et humides)  
[37]. (Voir Tableau n°1).

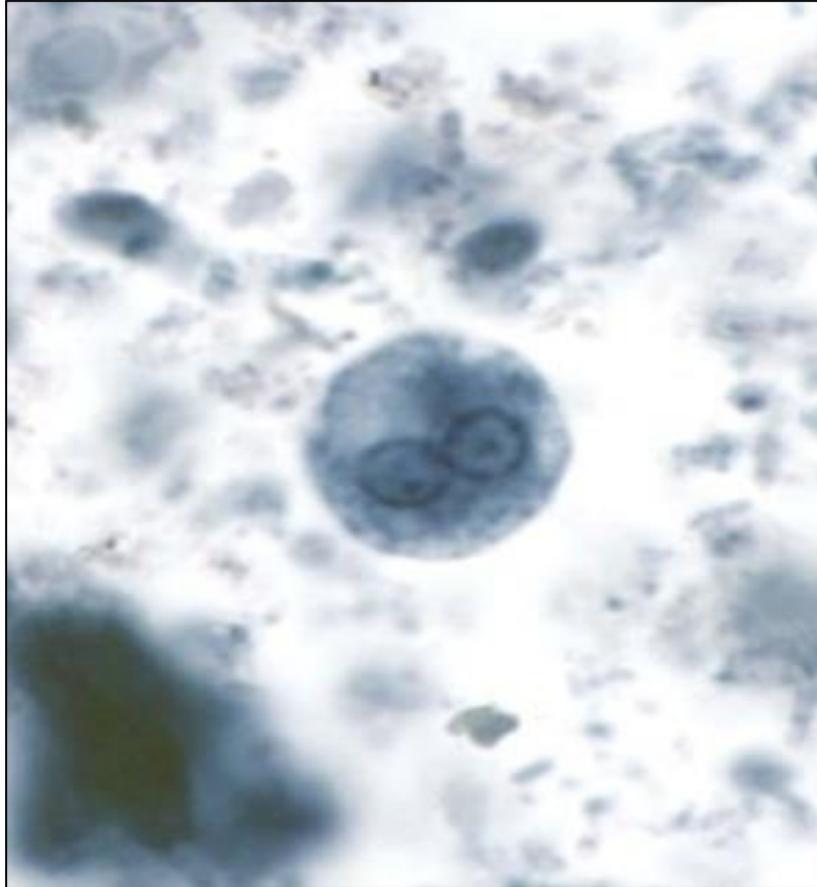
Photo 1 : forme végétative *Entamoeba histolytica histolytica*



Source :

<http://www.search.ask.com/pictures?o=APN10371&gct=SB&q=entamoeba%20histolytica>

Photo 2 : *Entamoeba histolytica* : forme prékystique à 2 noyaux.



Source :  
<http://www.search.ask.com/pictures?o=APN10371&gct=SB&q=entamoeba%20histolytica>

**Tableau n° 01:** Caractères distinctifs des amibes parasites du tube digestif.

RHIZOPODES	Dimensions du trophozite	Pseudopodes	Vacuoles	Noyau	Kyste
<i>Entamoeba histolytica</i> <i>histolytica</i>	20 à 40 µm	1 seul pseudopode à 1 a fois et effilé	Petites Hématies +	Peu visible Caryosome fin central Chromatine périphérique	Pas de kystes
<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Minuta</i>	15 à 25 µm	Idem	Petites	Peu visible à frais	10 à 15 µm. 4 noyaux Chromidium épais à bouts arrondis
<i>Entamoeba Coli</i>	20 à 30 µm (formes naines 10 à 15 µm)	1 seul à la fois Large arrondi	Grosse	Visible à frais Caryosome épais, excentré Chromatine périphérique épais et irrégulière	15 à 25 µm 8 noyaux Chromidiums fins en forme d'aguiilles
<i>Entamoeba Hartmanni</i>	5 à 10 µm		Petites	Peu visible Gros caryosome Irrégulier et excentré Chromatine périphérique épaisse et irrégulière	3 à 8 µm 4 noyaux Chromidium épais bouts arrondis
<i>Endolimax Nanus</i>	5 à 12 µm	En forme de boule	Petites	Peu visible Caryosome gros irrégulier et excentré Chromatine périphérique absente	6 à 10 µm Ovoïde, rectangulaire 4 noyaux
<i>Pseudolimax bütschlii</i>	10 à 15 µm	Longs en doigts de Gant	Nombreuses	Peu visible Caryosome gros entoure de granules Central ou excentré	8 à 12 µm Formes très diverses 1 vacuole iodophile 1 seul noyau.
<i>Dientamoeba fragilis</i> Appartient au phylum des Mastigophora	5 à 20 µm Anisométrie Caractéristique	Courts et frangés		2 noyaux parfois non visibles Caryosome central formé de granules	Pas de kystes
<i>Entamoeba polecki</i>	12 à 20 µm	Arrondis	Grosses	Gros : ¼ du trophozoïte. Caryosome excentré (# <i>E.histolytica</i> )	10 à 15 µm. Chromodiums nombreux Présence d'une masse d'inclusion, 1 seul noyau

SOURCE : Moulinier c. ; parasitologie et mycologie m2dicales (éléments de morphologie et de biologie. édition Lavoisier 2003. p30 [143].

#### 4-2-2- Microscopie électronique:

Les amibes *Entamoeba histolytica histolytica* sont dotées d'un réticulum endoplasmique peu développé. Elles sont dépourvues de mitochondrie ainsi que d'appareil de Golgi. La fonction mitochondriale paraît être assurée par de fines granulations.

Les mouvements amiboïdes sont liés à la présence de protéines contractiles identiques à l'actine et à la myosine, qui en se polymérisant forment les micro-filaments.

#### 4-3- Cycle évolutif : (Voir figure n°2)

Le cycle évolutif d'*Entamoeba histolytica* est double :

- Un cycle non pathogène, chez les porteurs sains.
- Un cycle pathogène, chez les malades atteints d'amœbose.

##### 4-3-1-Cycle non pathogène :

Appelé aussi cycle d'infestation, il correspond à la présence asymptomatique de l'amibe dans la lumière colique. Une fois ingéré, les kystes arrivent dans l'estomac où leur coque va être lysée par les sucs digestifs libérant une amibe méta-kystique à 4 noyaux, au niveau du colon. Chaque noyau se divise en deux. Les 8 noyaux ainsi formés s'entourent de cytoplasme aboutissant à 8 petites amibes de type minuta vivant dans la lumière intestinale.

La taille de ces parasites varie de 15 à 20 $\mu$  avec un cytoplasme rempli de vacuoles. Elles se nourrissent de bactéries ou de déchets et se multiplient activement par scissiparité.

Quand les conditions du milieu intestinal deviennent défavorables, ces formes minuta commencent à s'arrondir pour aboutir à des formes pré-kystiques. Ces dernières se distinguent par une vacuole cytoplasmique et une membrane épaisse. Après deux divisions nucléaires on observe la formation des kystes murs à 4 noyaux.

Ces kystes sont rejetés dans les selles, assurant ainsi la dissémination de l'amibe dans le milieu extérieur. La présence de l'amibe minuta et des kystes dans l'intestin correspondent à l'amœbose infestation ne provoquant aucune altération de la muqueuse intestinale.

#### 4-3-2-Cycle pathogène :

Les causes du passage des amibes minuta aux formes hématophages restent encore mal connues. Ce passage peut se produire sous l'influence de certains facteurs :

On distingue principalement deux types de facteurs :

- Extrinsic : liés à l'hôte à savoir : modification de la flore bactérienne du côlon, affections virales, abaissement du pH et enfin existence de petits foyers hémorragiques au niveau du côlon. L'état immunitaire du porteur a souvent été évoqué.
- Intrinsèques : sont certainement les caractères liés au parasite et qui peuvent être en rapport avec la virulence de la souche et à son équipement enzymatique. Les adhésines et les lectines sont des antigènes spécifiques qui ont pu être mis en évidence à la surface des formes pathogènes. Elles jouent un rôle dans la liaison amibe-cellule intestinale.

Sur le plan morphologique, les formes minuta vont augmenter de taille les pseudopodes deviennent plus nombreux et plus importants aboutissant à un déplacement ordonné. La forme minuta se transforme ainsi en forme agressive d'*Entamoeba histolytica histolytica* capable de produire des enzymes histolytiques leur permettant de traverser par effraction la muqueuse provoquant l'amébose intestinale aiguë.

Après envahissement des différentes couches histologiques de la paroi colique, les amibes passent le plus souvent dans les capillaires mésentériques et ainsi vont être véhiculées par le système porte vers le foie où elles provoquent des abcès réalisant l'amébose hépatique.

Une fois ce premier foyer métastatique dépassé, et par l'intermédiaire des veinules sus hépatiques elles gagnent la circulation sanguine donnant d'autres métastases hépatique, cérébrale, rénale, splénique et autres.

L'atteinte pulmonaire peut se faire à travers le diaphragme provoquant des abcès de la base droite du poumon.

Ces formes d'*Entamoeba histolytica histolytica* ne s'enkystent jamais.

Certains auteurs pensent que les formes pathogènes intestinales peuvent revenir vers la forme minuta sous l'influence de facteurs inconnus et redonner des kystes [18,19, 70, 123, 146, 148].

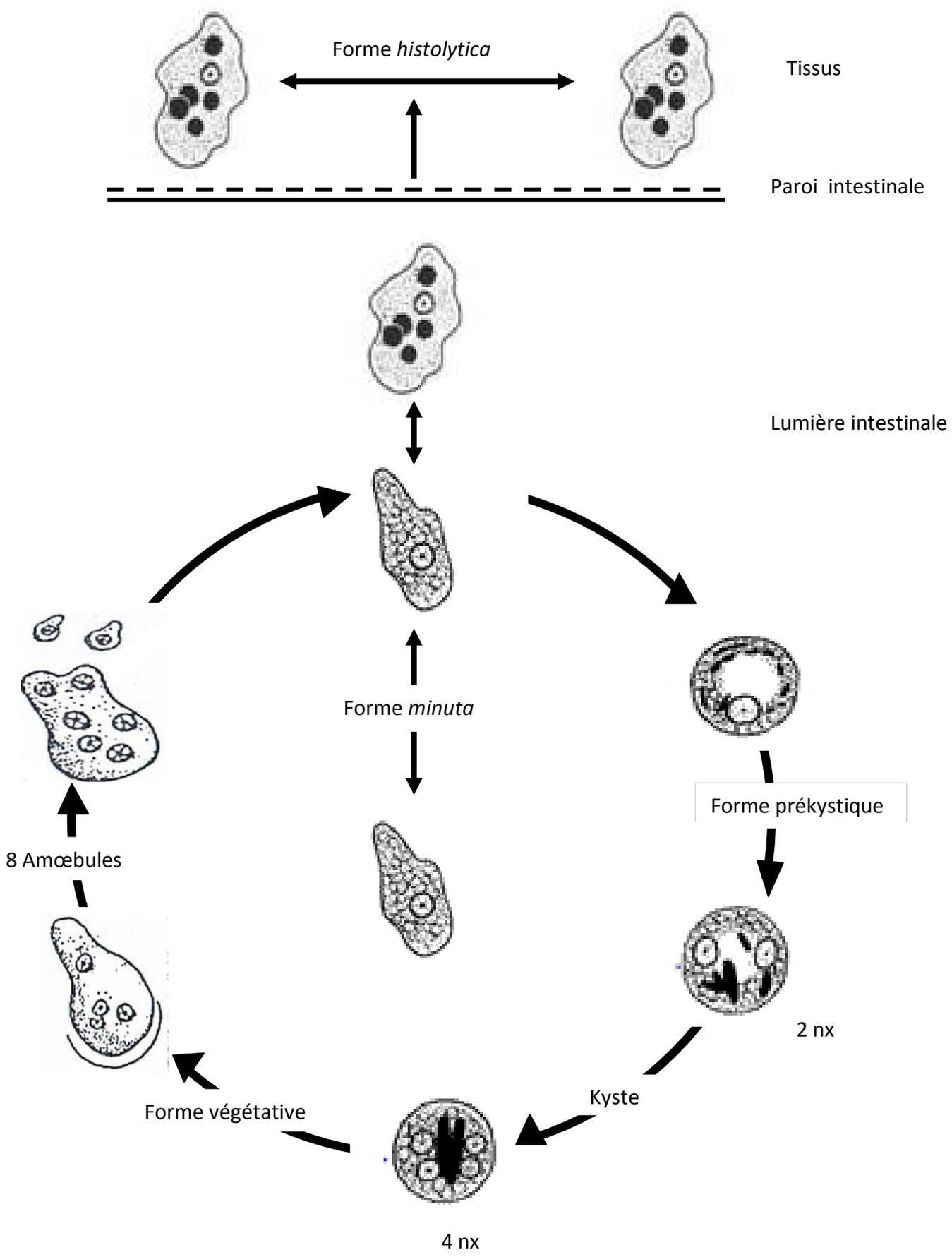


Figure n°2 : Cycle évolutif d'*Entamoeba histolytica*

#### 4-4-Multiplication :

La reproduction par bipartition se fait à un rythme calme chez les formes minuta et plus accéléré chez les formes *histolytica*. Ces dernières ont à leur disposition des matériaux plus énergétiques qui leur permettent une activité accrue [150].

#### 4-5-Capacité d'agression :

Les observations faites in vitro ont montré qu'en une heure, des trophozoites *histolytica* (de culture axénique) mis en contact d'une culture de cellules épithéliales en couche monocellulaire sur un support pouvaient détruire ce tissu par adhésion et lyse des cellules. La capacité d'agression sera développée en détails dans le sous chapitre mécanisme de virulence [65].

#### 4-6-Capacité de survie :

La forme kystique assure la transmission du parasite d'un individu à un autre en passant par le milieu extérieur. Le kyste peut en effet rester viable à l'extérieur de l'hôte pendant un temps variable suivant les conditions qui lui sont offertes. Il résiste mal à la dessiccation.

Les kystes sont détruits rapidement (en quelques minutes) dans une solution aqueuse d'iode à 200 ppm (partie par million) dans l'acide acétique dilué (vinaigre) de même que par l'exposition à une température supérieur à 68°C.

La congélation à moins (-) 10°C les tue en 24 heures.

Parmi les antiseptiques, le crésyl est très actif tandis que le formol dilué et les hypochlorites (eau de javel) le sont moins [101,171].

#### 4-7-Déplacement, habitat et nutrition:

Le déplacement des amibes est rapide et orienté dans une direction donnée. Les mouvements amiboïdes s'effectuent grâce à la formation d'un pseudopode unidirectionnel précédé par la formation transitoire et rapide de multiples petits pseudopodes inefficaces car n'entraînant aucun déplacement du protozoaire.

Le refroidissement du milieu entraîne le ralentissement puis arrêt du mouvement, puis l'amibe s'arrondit.

Une température supérieure à 40° stimule la formation anarchique de pseudopodes sans déplacement du parasite.

La nutrition est assurée par phagocytose de bactéries, de grains d'amidon pour les formes minuta alors que les formes *histolytica* se nourrissent des leucocytes et surtout des globules rouges ; si bien que l'amibe se retrouve dans un environnement hémorragique. L'absence d'hématies à l'intérieur du cytoplasme

d'une amibe n'est donc pas incompatible avec le diagnostic d'*Entamoeba histolytica histolytica*, si celle-ci est retrouvée au sein d'un tissu ou d'un foyer de nécrose [150].

Précédée par l'adhésion de l'amibe à la particule ou à la cellule sanguine grâce à des léctines, la phagocytose est suivit par la lyse des particules alimentaires englobées dans la vacuole de phagocytose dans laquelle se déversent les enzymes protéolytiques contenues dans les lysosomes.

Au niveau du caecum, les formes minuta vivent et se déplacent lentement tandis que les formes kystiques qui sont immobiles se forment dans la lumière colique. Grâce à sa capacité de sécréter des enzymes protéolytiques, la forme *histolytica* hématophage va traverser la muqueuse colique pour gagner la sous muqueuse en passant soit par la jonction entre deux cellules en entraînant la lyse de celles-ci, soit par passage à travers une cellule par migration trans-cytoplasmique et la conséquence en est la formation d'une ulcération d'abord punctiforme puis plus étendue et une surinfection par des bactéries intestinales.

Dans la sous muqueuse, les amibes hématophages provoquent la lyse des parois des veinules constituant ainsi des lésions hémorragiques [148, 150, 171].

#### 4-8-Localisation anatomique des amibes:

Les formes végétatives d'*Entamoeba histolytica* hématophage se multiplient dans la muqueuse et la sous muqueuse de la paroi du côlon et du rectum. De par cette localisation, les parasites peuvent essaimer par voie sanguine ou lymphatique dans d'autres organes tels que le foie, poumon, cerveau ...

La forme végétative non pathogène, appelée forme minuta à cause de sa taille plus petite, ainsi que la forme kystique, se trouvent dans la lumière du gros intestin où ils trouvent les conditions favorables à leur développement : anaérobiose relative, température de 35° à 40°C, pH légèrement acide: 6,1 à 6,6 potentiel redox régulé par la flore bactérienne normale, enfin la présence de substances phagocytibles et débris alimentaires [13, 109, 69, 148, 171].

#### 4-9- Différence de souches :

On retrouve dans la littérature plusieurs hypothèses devant les comportements différents des divers isolats d'*Entamoeba histolytica* parmi les plus importantes nous citons :

1°) *Entamoeba histolytica* est une espèce unique qui provoque des lésions de la muqueuse intestinale avec ou sans manifestations cliniques.

2°) *Entamoeba histolytica* est un complexe de deux espèces morphologiquement identiques dont l'une seulement est pathologique.

3°) *Entamoeba histolytica* comprend un nombre inconnu de souches différentes, commensales ou pathogènes. Récemment, un grand nombre de souches différentes ont été isolées : elles diffèrent par leur spectre isoenzymatique (zymodème) et leur pouvoir pathogène

[17, 37, 88, 120, 121, 133, 148, 171, 205, 213, 215, 216].

#### 4-9-1-Composition enzymatique :

Une étude des souches d'*Entamoeba histolytica* chez des malades et des porteurs sains a permis de différencier les souches pathogènes des non pathogènes en utilisant une technique électrophorétique sur acétate de cellulose qui différencie les souches par leur profil iso-enzymatique [133].

Les souches qui possèdent le même profil forment une population homogène ou zymodème [127].

Pour différencier entre ces groupes, 6 enzymes ont été utilisés: l'hexokinase, phosphoglucomutase, peptidase, glucose phosphate isomérase, L malate NADP oxydo-réductase, et le NADP diaphorase [138].

Jusque là, 24 zymodèmes ont été différenciés parmi dans les souches d'amibes, 7 entre eux sont potentiellement pathogènes et ont été isolés des cas d'amébose intestinale ou extra-intestinale (II, VI, VII, XI, XII, XIII, XIV).

Les zymodèmes (I, III, IV, V, VIII, XI, X, XV, XVI, XVII et XVIII) ont été isolés chez de simples porteurs sains d'amibes [87, 134 , 157, 221].

#### 4-9-2-Composition antigénique:

La virulence des souches *d'Entamoeba histolytica* semble être liée à la présence de glycoprotéine antigénique à leur surface.

L'immuno-électrophorèse a permis d'isoler 14 fractions antigéniques distinctes chez *Entamoeba histolytica*, une de ces fractions est présente dans des souches pathogènes et de plus, il semble que les amibes isolées de lésions extra-intestinales possèdent une fraction antigénique constamment absente chez les amibes provenant de formes intestinales pures. La plus importante de ces fractions se trouve à la surface de l'amibe. C'est une lectine d'adhérence au galactose, de 260 kd (Galactose/N acetyl Galactosamine : hétéromère de 260 KDa constitué d'une sous-unité lourde de 170 KDa et d'une autre légère de 31 – 35 KDa, associées de façon non covalente à une sous-unité intermédiaire de 150 KDa), isolée chez la plus part des malades (95%) ayant une amébose invasive.

Cette lectine permet l'adhésion d'*Entamoeba histolytica* aux cellules épithéliales; c'est le premier stade de l'invasion.

Des essais effectués avec des anticorps antilectine se sont avérés efficaces pour prévenir le caractère invasif des amibes en utilisant la lectine comme cible du vaccin. Les amibes *histolytica* pathogènes possèdent une grande capacité à résister à la réponse immunitaire cellulaire

Par une technique ELISA, ces protéines antigéniques peuvent être reconnues par des anticorps monoclonaux pour différencier les espèces pathogènes des non pathogènes [34,70, 82, 130, 221].

#### 4-9-3-Différences génétiques :

L'étude des acides nucléiques a pu démontrer qu'il existait des différences génomiques entre les souches pathogènes et non pathogènes.

Il est à noter que certains gènes responsables de la synthèse d'enzymes de types cystéinases: EhCP1, EhCP2 présents chez *Entamoeba histolytica* sont absents chez *Entamoeba dispar*.

La biologie moléculaire a pu confirmer la non pathogénicité des souches *Entamoeba dispar*.

De plus certaines séquences d'ARN ribosomal ont aussi montré des différences entre les souches [68, 110, 113, 115, 187, 188, 228].

#### 4-9-4-Mécanismes de virulence:

La virulence des souches d'amibes pathogènes se fait selon les mécanismes suivants: l'adhésion des amibes aux cellules hôtes, la pénétration dans la muqueuse, la cytolysse des cellules de l'hôte et la résistance de l'amibe aux défenses immunitaires.

-L'adhésion: les amibes *histolytica* hématophages adhèrent à la paroi des cellules épithéliales de l'intestin par l'intermédiaire de la lectine qui reconnaît la galactosamine des cellules parasitées.

Le mucus intestinal joue un rôle important dans la protection de l'intestin contre l'agression amibienne et cela par inhibition de l'adhésion par l'intermédiaire des résidus galactosamine.

-La pénétration: les amibes pathogènes pénètrent la muqueuse intestinale grâce aux enzymes protéolytiques (la cystéine protéinase codée par 3 gènes: le ACP1 présent seulement dans les souches pathogènes et les gènes ACP2 et ACP3 qui sont retrouvés dans toutes les souches).

La thiol protéinase est absente dans les souches non pathogènes.

Les amibes pénètrent par effraction la paroi intestinale et se déplacent grâce à leur mobilité à travers les couches cellulaires.

Les pseudopodes de ces amibes peuvent détacher mécaniquement les cellules épithéliales de leurs supports.

Lors de la pénétration des tissus par les amibes *histolytica*, il se produit une augmentation de la concentration en  $H_2O_2$  et en  $O_2$ , produite par les cellules phagocytaires activés pour se protéger contre l'invasion des micro-organismes.

Les micro-organismes pathogènes possèdent des enzymes tels que l'alkylhydroperoxyde-réductase(AHPs) et le superoxyde-dismutase ( $SOD_5$ ) qui ont pour rôle d'inactiver ces métabolites oxygénés agissant pour les détruire [171].

-La cytolysse: après pénétration, les cellules cibles sont phagocytées et détruites par les toxines ou protéinases secrétées par les amibes virulentes, entraînant ainsi une augmentation de la mobilité et du pouvoir de phagocytose [9,27, 36, 113, 135, 138, 206].

## 5-Physiopathologie :

Les trophozoïtes appartenant aux zymodèmes pathogènes adhèrent à la paroi colique par l'intermédiaire des léctines qui les protègent en même temps de l'action de lyse par le complément.

Les cellules intestinales sont tuées et détruites en quelques minutes suite à la formation de pores dans leur membrane cytoplasmique. Cette destruction de la paroi et la sortie des contenus cytoplasmiques sont à l'origine des diarrhées contenant dans certains cas des lambeaux entiers de muqueuse et de sang.

La production d'enzymes protéolytiques (cystéines protéinases) par les amibes entraîne la formation de multiples ulcérations (muqueuse congestive, rouge parsemée de lésions en coup d'ongle ou en carte géographique) ainsi que de plages de nécrose qu'on retrouve à l'endoscopie, favorisant la diffusion des parasites dans la muqueuse et la sous-muqueuse colique. Une réaction inflammatoire locale se produit avec recrutement des leucocytes. Parfois même on observe des perforations intestinales qui seront à l'origine de péritonites.

La poursuite de l'infection et la diffusion éventuelle à d'autres tissus dépendent en partie de l'insuffisance de la réponse immunitaire locale de l'hôte ; provoquant ainsi le passage à la chronicité et la dissémination de la maladie (rôle aggravant des corticoïdes pouvant être prescrit lors de poussées de MICI).

Au cours de l'invasion de la paroi colique, toujours grâce aux enzymes protéolytiques, les amibes peuvent entraîner des effractions de la microvascularisation et ainsi diffuser par voie hématogène dans le système porte. C'est à ce stade que le malade devient fébrile.

Une fois dans la glande hépatique, les amibes adhèrent à la paroi des capillaires et détruisent le parenchyme hépatique de façon centrifuge, réalisant des abcès amibiens du foie. Ces derniers sont à l'origine des douleurs de l'hypochondre droit exacerbées par la palpation. L'atteinte hépatique est toujours secondaire à une contamination colique, mais elle peut apparaître à distance de l'épisode dysentérique qui peut ne pas être retrouvée à l'anamnèse [126, 202, 228].

#### 6-Mode de contamination :

L'amœbose intestinale est une parasitose transmise par voie orale par l'intermédiaire des kystes émis dans les selles ce qui la classe parmi les maladies dues au péril fécal [148].

Cette parasitose se contracte par ingestion de kystes d'*Entamoeba histolytica* contaminant les légumes mal cuits, les fruits, les salades mal lavées ou l'eau de boisson [171].

D'autres localisations peuvent avoir différents modes de contaminations parmi lesquels :

La voie sexuelle est observée chez les homosexuels provoquant des lésions péniennes.

La voie transcutanée (ulcérations de la région périnéale et rectale) compliquant une localisation intestinale peut constituer une porte d'entrée du parasite.

Cette voie peut se rencontrer lors de fistules anales ou après ponction (iatrogène) [148]. Dans ces cas, ces infestations se font par des formes végétatives et non par l'intermédiaire de kystes.

La contamination se fait aussi à partir des muqueuses lors de pratiques oro-anales [148].

## 7-Facteurs favorisants :

Les facteurs favorisants l'infestation sont nombreux parmi lesquels nous citerons : l'absence d'hygiène fécale, l'utilisation agricole d'engrais humain, l'absence d'hygiène individuelle (mains sales).

D'autres agents peuvent avoir un rôle dans la dissémination des kystes comme l'abondance des mouches qui transportent passivement les kystes des selles sur les aliments.

Les climats chauds et humides prolongent la survie des kystes dans le milieu extérieur. La survie de ces derniers est variable en fonction des conditions hygrométriques et de la température. C'est ainsi qu'ils résistent deux semaines dans des supports humides à 18 °C (selles, sol etc.), dans l'eau à température ambiante plusieurs mois. La chaleur (supérieure à 60°C) ainsi que la dessiccation les détruisent. Par ailleurs, il est important de souligner que les kystes meurent rapidement (en quelques minutes) dans une solution aqueuse d'iode à 200 ppm (partie par million) dans l'acide acétique dilué (vinaigre). La congélation à moins (-) 10°C les tue en 24 heures.

Parmi les antiseptiques, le grésil est très actif tandis que le formol dilué et les hypochlorites (eau de javel) le sont moins. Ces kystes résistent bien, aux faibles concentrations, à l'eau de Javel utilisée usuellement pour la stérilisation des eaux de boisson [148].

## 8-Clinique :

L'amœbose est une maladie qui revêt plusieurs aspects cliniques. En effet, le parasite peut atteindre plusieurs organes et par conséquent déterminer à chaque fois une symptomatologie différente. Cependant le point commun de toutes ces localisations reste la porte d'entrée qui est majoritairement intestinale. Compte tenu du contexte de notre étude nous nous intéresserons à l'amœbose intestinale aigue [50,70].

### 8-1-Amœbose intestinale aigue ou dysenterie amibienne :

L'amœbose intestinale aigue est due à la présence dans la lumière des formes *histolytica histolytica*. La clinique est liée à la colonisation de la paroi colique par les formes parasitaires dans laquelle elles creusent des ulcérations plus étendues en profondeur qu'en surface [150].

La symptomatologie de la dysenterie amibienne typique est souvent d'apparition brutale. Elle est caractérisée par la triade :

- Epreinte : c'est une douleur abdominale prenant tout le cadre colique s'accompagnant d'une envie d'aller à la selle.
- Diarrhée importante. Les selles sont nombreuses (10 à 15 par jour) faites de glaires et de sang et qui deviennent rapidement afécales, évoluant vers l'apparition des classiques crachats rectaux.
- Ténésmes se sont des contractures douloureuses du sphincter anal se traduisant par des tensions s'accompagnant souvent de faux besoins [70].

L'état général du malade est souvent conservé. Il est apyrétique sans signes de déshydratation profonde. L'apparition de la fièvre signe la survenue de localisations métastatiques.

L'examen clinique retrouve un abdomen sensible à la palpation et un colon érectile et spasmé. Le foie est de volume normal.

Au touché rectal on ne retrouve ni tuméfaction ni masse. Le doigtier ramène du sang et de la glaire [150].

## 8-2-Formes cliniques :

### 8-2-1-Amœbose colique maligne :

C'est une forme rare qui touche généralement les femmes enceintes, les accouchées et les malnutris [70, 148].

Elle est caractérisée cliniquement par des diarrhées importantes et fréquentes aboutissant à un écoulement quasi permanent de selles glairo-hémorragiques. Les urines sont rares avec parfois, une fièvre et une altération de l'état général.

A l'examen on retrouve une hypersensibilité du cadre colique. Les muscles abdominaux sont très contractés, la paroi devient dure, tendue et douloureuse. L'hépatomégalie est inconstante si elle existe, elle est douloureuse associée à un sub-ictère.

Le toucher rectal retrouve un anus béant et une ampoule rectale vide et douloureuse [168].

### 8-2-2-Formes monosymptomatiques :

Se sont des formes frustes qui évoluent plus facilement vers la chronicité. Dans ces cas on ne retrouve qu'une diarrhée : 4 à 8 selles par jour qui ne sont pas toujours sanglantes associées à des douleurs abdominales moins violentes.

En quelques jours, la crise cède après un traitement correctement suivi [171].

### 8-2-3-Formes hémorragiques :

Le maître symptôme dans ces formes est l'abondance des glaires qui deviennent carrément hémorragiques. Les rectorragies peuvent être graves par leur abondance dans certains cas elles peuvent être mortelles. Elles sont dues, à un saignement en nappe due à l'ouverture d'un vaisseau sanguin [150].

### 8-2-4-Amœbome :

C'est une tumeur inflammatoire du côlon, qui apparaît progressivement après une amœbose aigue et parfois même d'une façon inaugurale.

En plus de la triade classique on remarque une fièvre avec altération de l'état général.

L'examen clinique, retrouve à la palpation une tumeur ferme mal circonscrite et douloureuse [148,168].

### 8-3-Complications:

Les complications de l'amœbose intestinale sont de nos jours de plus en plus rares on les retrouve dans les pays vivant en dessous du seuil de pauvreté. La négligence d'un épisode diarrhéique expose le malade à des complications quelques fois très tardives. Le terrain est un facteur très important dans la genèse de ces complications [69,108].

#### 8-3-1-La colite post-amibienne :

Elle est caractérisée par les manifestations cliniques qui apparaissent après des crises répétées d'amœbose aiguë qui peuvent persister alors que bien souvent les amibes ont disparu de la lumière colique, ce qui explique la difficulté d'attribuer à la parasitose la responsabilité des troubles.

La symptomatologie observée est généralement due à l'existence de cicatrices scléro-inflammatoires au niveau du côlon et au dysfonctionnement neurovégétatif de l'intestin.

Cette colite peut se manifester par un tableau de colite avec des douleurs continues ou intermittentes plus ou moins violentes et bien limitées, associées à des troubles du transit à type d'alternance diarrhée constipation. Ces troubles digestifs peuvent souvent s'accompagner d'une asthénie, une adynamie avec parfois un amaigrissement.

L'examen physique retrouve parfois une défense abdominale notamment aux angles coliques [69, 108, 227].

#### 8-3-2- Les perforations intestinales :

Elles peuvent siéger sur n'importe quel segment du gros intestin.

Uniques ou multiples, elles surviennent généralement de façon brutale, et se traduisent par une péritonite aiguë due à une perforation d'un organe creux ; elle se traduit par une douleur abdominale intense et généralisée, des signes de paralysie intestinale à type de vomissements et arrêt des matières et des gaz [65,70].

A l'examen clinique on remarque une altération de l'état général avec fièvre et une contracture de la paroi abdominale.

Le diagnostic de la péritonite aiguë localisée, plus difficile que celui de la péritonite aiguë généralisée, nécessite des examens radiologiques complémentaires à l'aide desquels on peut orienter le diagnostic à savoir :

-Une échographie abdominale d'urgence peut objectiver dans ce cas, un épanchement intra-péritonéal localisé pouvant combler les différents récessus péritonéaux.

-La tomodensitométrie (Scanner) : peut mettre en évidence un pneumopéritoine associé le plus souvent à un épanchement.

### 8-3-3-Occlusion :

Complète ou partielle, l'occlusion peut être due à la propagation péri viscérale des phénomènes inflammatoires ou à une péritonite localisée. Les douleurs abdominales en cas d'occlusion s'accroissent. L'apparition de vomissements, ballonnement abdominal et l'arrêt des matières et des gaz font évoquer le diagnostic [148].

### 9- Diagnostic différentiel clinique:

Il se pose avec toutes les pathologies entraînant un syndrome dysentérique. Dans les cas de dysenteries bacillaires ou balantidiennes la symptomatologie est plus bruyante avec des selles plus nombreuses, avec fièvre et signes de déshydratation.

Les formes diarrhéiques ont un éventail diagnostique plus étendu, puisqu'elles font discuter toutes les diarrhées bactériennes, mycosiques, virales, et même parasitaires. La mise en évidence des amibes à l'examen parasitologique des selles confirme le diagnostic et élimine toute équivoque. Il ne faut pas perdre de vue que les associations amœbo-bacillaires sont possibles.

L'amœbome pose le problème de diagnostic différentiel avec les tumeurs coliques, parfois celui d'une tuberculose iléo-cæcale. La rectocolonoscopie permet d'apprécier et de rechercher les signes de malignité macroscopiquement lorsqu'il s'agit de tumeurs cancéreuses. De plus, l'analyse anatomopathologique des biopsies pratiquées sur ces lésions permet de poser le diagnostic de certitude de la maladie en cause.

## 10- Diagnostic biologique :

Le diagnostic de certitude de l'amébose intestinale comme dans toutes les parasitoses cavitaires repose principalement sur la découverte et la mise en évidence du parasite. Cependant cette éventualité n'est pas toujours aisée car le parasite ne se retrouve pas de manière continue dans l'intestin. Dans ces cas on a recours à des techniques d'enrichissement, de cultures et même à des méthodes indirectes à la recherche d'antigènes parasitaires coprologiques [3, 14, 15, 19, 130, 131, 137, 156, 172].

### 10-1- Examens d'orientation :

Ils sont représentés surtout par les examens physiques et endoscopiques. Les fréquentes maladies inflammatoires de l'intestin ont fait que la rectoscopie ou la colonoscopie sont des examens de plus en plus utilisés. Ils permettent de faire des prélèvements indispensables au diagnostic de ces processus inflammatoires et même parasitaires [14,148].

En cas d'amébose, la rectoscopie révèle une muqueuse congestive, rouge, parsemée de lésions en coup d'ongle ou en carte géographique. Dans les formes évoluées la sous muqueuse présente des abcès en <<bouton de chemise>>. Ces micro-abcès vont provoquer l'accélération du péristaltisme intestinal et l'hypersécrétion des glandes à mucus voisines.

Tout ce processus va être à l'origine de décollements de la muqueuse intestinale en lambeaux, provoquant ainsi le syndrome dysentérique de l'amébose intestinale aigue avec émission de selles glairo-sanglantes dans lesquelles pullulent les formes végétatives d'amibes [49, 148, 178, 179].

L'endoscopie est contre indiquée en cas d'amébose suraiguë [2].

Parmi les examens radiologiques, le lavement baryté retrouve un rétrécissement concentrique du côlon réalisant une sténose surmontée d'une dilatation ou bien une amputation partielle ou totale d'un segment. Lors de colite spasmodique le lavement baryté révèle des images en « piles d'assiettes ». Une image en « tuyau de plomb » est retrouvée en cas de colite atonique [60, 83, 150].

### 10-2-Examens parasitologiques :

Se sont les examens de certitude qui permettent de visualiser le parasite et de poser un diagnostic sur des aspects morphologiques. Cependant dans le cas de l'amébose intestinale la confirmation du diagnostic nécessite la recherche des

antigènes coprologiques qui complète l'examen direct car il y a des espèces différentes mais morphologiquement identiques (*E. histolytica* et *E. dispar*) [121, 130].

L'examen le plus simple qui permet une orientation diagnostique est la parasitologie des selles. Cependant, certaines précautions de prélèvement doivent être prises pour multiplier les chances de mettre en évidence les parasites à savoir :

- le prélèvement doit être réalisé avant toute médication spécifique.
- arrêt de certains médicaments gênant l'observation microscopique : les charbons, l'huile de Paraffine, les suppositoires et produits de contraste.
- un régime pauvre en fibre doit être observé : éviter la consommation des féculents, légumes verts, fruits (poires, fraises, bananes) 48 heures avant l'examen.
- les selles doivent être émises dans un récipient propre.
- le prélèvement doit être effectué au niveau du laboratoire ou ramené le plus rapidement possible avant son refroidissement ou son dessèchement pour observer les formes végétatives vivantes.

Dans les cas où le malade est dans l'impossibilité de faire ses selles à la demande ou se déplacer, on a recours à des méthodes palliatives de conservation qui consistent à conserver les selles dans un fixateur (formol à 5%, MIF, fixateur polyvinylique de Brook et Goldman, l'alcool polyvinylique PVA) [130].

En cas de réception de plusieurs selles en même temps (services d'hospitalisation) il faut toujours commencer par les selles liquidiennes ou glairo-sanglantes susceptibles de contenir des formes végétatives les autres sont conservées dans une étuve réglée à 37° ne pas omettre de rajouter de l'eau physiologique pour éviter leur dessèchement [19].

Le parasite peut être recherché dans d'autres produits pathologiques à l'occasion d'une rectoscopie, exemple : biopsie ou une aspiration à la pipette du contenu rectal [154].

#### 10-2-1-Examen macroscopique :

Bien que souvent négligé, l'examen macroscopique représente une étape importante dans l'examen parasitologique des selles. En effet, il suffit à lui seul pour poser le diagnostic dans certaines situations.

L'examen macroscopique relève certains caractères :

-la consistance de la selle : elle est fonction de la teneur en eau et de la vitesse du transit. Les selles peuvent avoir plusieurs aspects : moulées dures, moulées souples, pâteuses non moulées, fermes en partie et très molles en d'autres, liquides hétérogènes ou liquides homogènes.

-la couleur : elle est liée à la transformation de la bilirubine en stercobiline et témoigne de l'abondance et de la qualité du flux biliaire. Cette couleur peut être jaune ou ocre, en rapport avec la présence de bilirubine et de stercobilinogène, ou décolorée, liée à un obstacle sur les voies biliaires. La couleur noire en peut être en rapport avec la présence de sang digéré ou un médicament à base de charbon.

-Enfin, il permet aussi de rechercher des éléments d'origine parasitaire, tel que l'adulte d'*Ascaris lumbricoïdes*, anneaux *tænia* et la femelle d'*Enterobius*.

L'examen macroscopique permet également d'observer la présence d'éléments anormaux comme le sang ou le mucus.

10-2-2-Examen microscopique :

La recherche des amibes à l'examen direct se fait sur une première préparation à l'eau physiologique qui permet d'observer surtout le mouvement et le déplacement des amibes et une deuxième sur une préparation au lugol qui fait ressortir certaines structures iodophiles. (Voir annexe n°1).

La reconnaissance des amibes se fait sur des critères morphologiques déjà décrits dans le chapitre de la description du parasite. Ces structures morphologiques peuvent être mises en évidence par des colorations spécifiques ce qui permet de faire le diagnostic différentiel avec les autres amibes du tube digestif.

L'examen microscopique proprement dit comporte obligatoirement deux étapes, un examen direct et au moins deux techniques de concentration.

Examen direct à l'état frais:

Pour les selles glairo-sanguinolentes et diarrhéiques : prélever un fragment (de la glaire) à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur, déposer sur une lame propre, recouvrir d'une lamelle.

Pour les selles plus ou moins molles : diluer dans un verre à pied une noix de selles dans de l'eau physiologique.

Après avoir bien homogénéisé, sur une lame porte objet on dépose deux gouttes de la suspension à chaque extrémité, dans l'une d'elles on rajoute une goutte de lugol, on recouvre d'une lamelle et on lit en zig-zag à l'objectif X10 puis X40.

Pour mieux préserver la mobilité de l'amibe, on utilise de préférence un microscope à platine chauffante dans le cas échéant on chauffe à 37°C la solution de dilution.

En général cet examen suffit pour la mise en évidence des formes *histolytica* qui sont grandes, vivaces souvent abondantes et bourrées d'hématies à condition d'examiner aussitôt les selles après leur émission.

Quel que soit le résultat de l'examen direct on doit obligatoirement le compléter par des techniques de concentrations qui consistent à diminuer la quantité de débris dans les selles rendant plus visibles et plus concentrés les parasites dans un échantillon réduit. Les principales techniques utilisées dans le cas d'amébose sont des techniques physico-chimiques telles que les techniques : de Bailenger utilisant une solution acéto-acétiques. (Voir annexe n°2), technique de Ritchie modifiée qui utilise le formol à 10% (Voir annexe n°3) et le Merthiolate Iode Formol ou MIF concentration (Voir annexe n°4).

Des colorations spécifiques permettent de faire le diagnostic différentiel avec les autres amibes du tube digestif. Les principales sont la technique de Kohn (Voir annexe n°5), celle de l'hématoxyline ferrique (Voir annexe n°6) enfin celle utilisant le Trichrome (Voir annexe n°7).

Certaines colorations extemporanées peuvent être aussi utilisées comme :

L'éosine qui colore en rose le fond de la préparation, la coloration de Bailenger qui fait ressortir les structures nucléaires en noir et le cytoplasme et les corps sidérophiles en rouge (Voir annexe n°8).

L'examen microscopique permet aussi d'avoir une idée sur l'état de digestion des aliments, il montre: des fibres musculaires bien digérées appelées corps de Nothnagel, de la cellulose non digestible représentée par des poils et des vaisseaux spiralés et de l'amidon si régime riche en féculents [71].

### 10-2-3- Les cultures :

Généralement, on utilise des milieux de culture polyxénique et axénique :

-Les milieux polyxéniques où les amibes se multiplient en présence de bactéries du tube digestif.

Depuis plus de 60 ans, ces milieux de cultures étaient utilisés comme moyen de diagnostic pour de nombreux prélèvements : selles, pus d'abcès, produits d'aspiration bronchique et prélèvements par rectoscopie.

Les milieux les plus utilisés sont le milieu de Dobell Laidlaw et le milieu de Jones [51, 52, 53, 54, 55, 56].

Ils sont à base de produits biologiques (sérum de cheval, albumine d'œufs..), additionnés d'éléments figurés tels que les grains d'amidon utilisés comme source d'énergie. (Voir annexe n°09-10)

-Les milieux de cultures axéniques :

Les amibes se développent en l'absence de tout autre micro-organisme vivant.

Nous citons comme exemple le milieu de Diamond utilisé depuis 1961 (Voir annexe n°09-10) [51, 124].

Les inconvénients des milieux axéniques sont :

-la nécessité d'utiliser un sérum animal.

-l'axénisation laborieuse nécessite le passage obligatoire par une phase d'adaptation sur culture xénique qui peut être rendue plus facile par l'utilisation de bactéries atténuées par irradiation.

-l'impossibilité d'induire l'enkystement des amibes en culture [51, 52, 134].

Il est à noter qu'un examen négatif n'élimine pas totalement le diagnostic d'amébose. Il faut savoir répéter les examens plusieurs fois, généralement on pratique trois parasitologies des selles (à deux jours d'intervalle) avant de conclure à une amébose peu probable.

10-3-Résultats de l'examen parasitologique :

-Sur des matières fraîchement émises (crachat rectal, des selles liquides et de couleur non homogène, des selles muqueuses: mucus abondant blanc-jaunâtre avec des traces de sang, des selles), se fera la recherche de formes végétatives ou trophozoites invasives (*histolytica*) ou sur un échantillon dans les ulcérations rectales lors d'une rectoscopie.

C'est le cas généralement de malades atteints d'amébose intestinale aigüe.

-Chez les porteurs sains, on recherchera dans les selles d'aspect normal, les kystes à quatre (4) noyaux et plus rarement les trophozoites de *minuta*.

Les kystes sont bien mis en évidence par les méthodes diphasiques d'enrichissement (Ritchie: Formol-éther, Bailenger: Tampon acéto-acétique, MIF: Merthiolate-Iode-Formol).

Certains auteurs ont préconisé l'administration de purgatif salins pour favoriser l'expulsion des kystes (méthode non recommandable chez les sujets au côlon fragilisé).

#### 10-4-Diagnostic différentiel à l'examen microscopique des selles:

-Les amibes recherchées par examen microscopique peuvent être confondues avec:

-Les globules de graisses

-Les cellules végétales

-Les vaisseaux spiraux du bois qui sont réfringents et affaiblement ronds

-Les grains d'amidon [15].

#### 10-5-Détection d'antigènes amibiens:

Les antigènes solubles des amibes *histolytica* sont recherchés dans les selles et les autres prélèvements en utilisant des anticorps monoclonaux par un test ELISA ou Western Blot [92,187,188, 215, 216].

La recherche des coporo-Ag dans les selles est plus sensible que l'examen parasitologique et permet de différencier *E.histolytica* d'*E.dispar* (Voir annexe n°11) [93, 112, 119, 215, 216].

#### 10-6-Diagnostic sérologique :

Une quinzaine de tests sérologiques ont été appliqués au diagnostic de l'amœbose. Seuls ceux dont les réactifs ont été commercialisés sont couramment utilisés dans les laboratoires de routine.

Les antigènes, figurés ou solubles, sont actuellement presque toujours préparés à partir de cultures axéniques dans le milieu de Diamond [203, 210].

#### 10-6-1-Techniques utilisant les antigènes solubles :

##### 10-6-1-1-Test au latex :

Le réactif commercialisé est constitué de particules de latex colorées, sensibilisées par l'antigène total d'*E. histolytica*. La réaction s'effectue sur lame, par simple mélange d'une goutte de réactif avec une goutte de sérum dilué au 1/5. En cas de réaction positive, on observe un liseré coloré à la périphérie. En l'absence d'anticorps la suspension reste homogène.

Sa facilité d'emploi en a fait un test attractif pour les laboratoires non spécialisés. On lui a parfois reproché son manque de spécificité. Sur ce point les réactifs de

nouvelle génération sont en nette amélioration. Cependant il est souhaitable d'associer ce test non quantitatif à l'une des techniques citées ci-dessous.

#### 10-6-1-2-Hémagglutination indirecte (HAI) :

Le principe est le même que pour le test au latex, le support pour les antigènes solubles étant constitué par des hématies lyophilisées.

Cette technique quantitative est spécifique et très sensible, le seuil significatif se situant aux alentours de 1/128. Son principal inconvénient, du moins en zone d'endémie, est la longue persistance de titres parfois élevés.

#### 10-6-1-3-Double diffusion en gel d'agarose :

Le principe est simple. Antigène et anticorps diffusent à la rencontre l'un de l'autre au sein d'un gel d'agarose. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'arcs de précipitation.

Cette technique, non quantitative, est longue (2 à 3 jours) et consomme beaucoup d'antigènes ; mais elle est sensible et spécifique.

#### 10-6-1-4-Immunoélectrophorèse :

Dérivée de la double diffusion (la diffusion des antigènes et des anticorps est accélérée et canalisée par électrophorèse) cette méthode est spécifique et considérée par les spécialistes comme l'une des meilleures pour le diagnostic des formes intestinales invasives aussi bien que pour celui des localisations hépatiques.

Une de ses variantes, l'électrophorèse sur acétate de cellulose, est beaucoup plus économe en antigène et rapide. La possibilité de mettre en évidence la continuité d'arcs de précipitation avec ceux d'un sérum de référence apporte un gain de spécificité.

#### 10-6-1-5-ELISA (« Enzym linked immuno Sorbent Assay ») :

Cette technique est très utilisée pour le diagnostic des parasitoses, du fait qu'elle peut être automatisée. Son intérêt est plus limité en ce qui concerne l'amébose bien qu'elle ait fait l'objet de nombreuses publications qui s'accordent toutes pour reconnaître sa remarquable spécificité.

#### 10-6-2-Technique utilisant des antigènes figurés :

L'immunofluorescence indirecte :

C'est la technique la plus répandue, elle est quantitative, rapide et les réactifs utilisés sont commercialisés sous forme d'une suspension d'*Entamoeba histolytica* lyophilisées provenant de cultures polyxéniques ou mieux axéniques. Son utilisation sur le terrain se heurte à la nécessité d'avoir un microscope à ultraviolets (UV). C'est pourquoi le remplacement du révélateur fluorescent par un antisérum marqué par la peroxydase a été proposé.

Toutes les publications font état de sa reproductibilité, spécificité et sensibilité. Son seuil significatif se situe aux alentours de 1/100°.

L'interprétation des résultats se heurte à l'absence de standardisation. Il n'existe pas de sérum étalon et les titres varient d'un laboratoire à l'autre.

D'une manière générale il est recommandé de toujours utiliser deux techniques complémentaires (par exemple hémagglutination et immunofluorescence). En outre un résultat isolé est parfois difficile à interpréter. En cas de doute on effectuera un second examen 15 jours plus tard.

Dans l'amébose-infestation asymptomatique, les tests immunologiques sont généralement négatifs : ils ne peuvent donc servir au dépistage des porteurs sains.

Dans les amébooses invasives les résultats varient en fonction des formes cliniques et des techniques utilisées.

Les formes purement intestinales s'accompagnent dans 80 à 90 % des cas d'un taux faible à modéré d'anticorps sériques. Des taux élevés peuvent être notés lors d'amébooses dysentériques. Cependant, le diagnostic de ces dernières est essentiellement parasitologique et en général ne requiert pas l'aide de l'immunologie.

Au contraire dans les formes extra-intestinales la sérologie est souvent déterminante. Ainsi dans l'amébose hépatique, elle est fortement positive dans près de 100 % des cas après quelques jours d'évolution. Les taux sont statistiquement plus élevés dans l'amébose pré suppurative que dans les abcès collectés [148].

Dans l'amébose le taux des anticorps est habituellement faible.

La guérison s'accompagne d'une négativation, ou plus fréquemment d'une diminution, parfois lente, des titres. Cette décroissance varie avec les techniques

dont certaines (immunoélectrophorèse, immunofluorescence) sont plus adaptées que d'autres au suivi thérapeutique [148].

#### 10-6-3-Recherche des antigènes sériques :

Elle s'effectue à l'aide d'anticorps obtenus chez le lapin, soit associés à un radiomarquage, soit couplés à la peroxydase. Les résultats obtenus dans l'amébose hépatiques sont intéressants mais la technique n'est pas encore utilisée en pratique courante [89, 148].

11- Thérapeutique :

11-1-Médicaments spécifiques :

Il existe deux catégories d'amœbicides : les amœbicides tissulaires et les amœbicides de contact [40,44,59,148].

11-1-1-Amœbicides tissulaires :

Ils diffusent au sein des parenchymes et détruisent les amibes *histolytica* in situ :

11-1-1-1-Metronidazole (Flagyl®) et les autres 5-nitro-imidazoles (Flagentyl®, Tiberall®, Fasiqyne®) :

Concernant le (Flagyl®), la posologie est de 30 à 50 mg/kg /j pendant 10 jours, pour les autres 5-nitro-imidazoles elle est de 1 à 5 jours, soit donc 6 à 8 comprimés par jour en prise fractionnée dans la journée pour un adulte (30 à 40 mg/kg/j chez l'enfant).

Tous ces composés sont commercialisés sous forme de comprimés à 500mg (et 250mg pour le Flagyl®), de poudre granulée ; pour les enfants (Flagentyl®), de suspension buvable. Ces produits existent sous forme de solutés injectables (Flagyl® en flacon de 500mg /100ml ; Tiberall® en ampoules de 125, 500 et 1000mg, réservés à l'usage hospitalier) [6, 148].

Dans les formes graves d'amébose hépatique le Flagyl® est utilisé en perfusion, à raison de 3 perfusions de 500mg/j chez l'adulte (30 à 40 mg/kg/jour chez l'enfant).

Dans l'organisme humain la demi-vie du métronidazole est de 6 à 11 heures. Celles de l'ornidazole (Tiberall®), du tinidazole (Fasiqyne®) et du secnidazole (Flagentyl®) sont en moyenne respectivement de 14, 12 et 13 heures.

Les 5-nitro-imidazoles sont bien tolérés, les effets secondaires sans gravité, on peut avoir : nausées, vomissements, diarrhées, sensation d'amertume, tremblement des extrémités, intolérance à l'alcool. En outre l'association à l'Antabuse® (traitement anti-alcool) est contre indiquée (risque de confusion mentale). Une neutropénie a parfois été signalée ainsi que de rares accidents neurologiques. Expérimentalement une action mutagénique et carcinogène a été mise en évidence. Ces effets n'ont jamais été constatés chez l'homme, chez lequel le Métronidazole est employé depuis plus de 30 ans [14, 15, 40].

### 11-1-1-2-Emétine :

C'est un alcaloïde de l'ipéca qui est de moins en moins utilisé. Moins toxique son dérivé synthétique la 2-déhydroémétine dont la toxicité est faible, demeure toujours employé [70,148].

Cet inhibiteur de la synthèse protéique dont le site d'action a pu être déterminé de façon précise au niveau des ribosomes, code l'élongation de la chaîne peptidique de la protéine S 14.

Cette action s'exerce non seulement sur les protozoaires mais également sur les cellules des métazoaires, y compris les mammifères, ce qui explique la toxicité élevée de l'émétine.

La 2-déhydroémétine se présente sous forme de comprimés, rarement utilisés du fait des intolérances digestives, et de solution injectable qui s'administre par voie sous cutanée ou intramusculaire (préférable) à raison de 1mg /kg/j en 2 injections quotidiennes pendant 10 jours, soit 1cg/kg par cure. Dans les cas particulièrement graves on peut atteindre la dose de 2 mg/kg/j.

Si une nouvelle cure s'impose, il faut impérativement respecter un délai de 15 jours en raison des risques d'accumulation. Pour l'émétine (abandonnée) les doses étaient les mêmes mais le délai entre deux cures était de 45 jours.

La 2-déhydroémétine est elle aussi toxique mais elle présente l'avantage d'avoir une demi-vie deux fois plus courte.

Les effets secondaires sont fréquents, notamment en cas de surdosage et d'emploi prolongé (effet cumulatif) : troubles digestifs, cardiaques (douleurs, troubles de la repolarisation, inversion de l'onde T), musculaires, nerveux (polynévrites). En outre, l'injection sous-cutanée peut provoquer des réactions à type d'urticaire généralisée et des lésions eczémateuses locales.

Ces risques imposent un protocole d'administration rigoureux et une surveillance clinique et électrocardiologique quotidienne pendant toute la durée du traitement.

### 11-1-1-3-Chloroquine (Nivaquine®) :

Ce produit n'est pas utilisé comme amœbicide en France. En revanche les Anglo-Saxons l'emploient dans l'amœbose hépatique en raison de sa forte affinité pour le parenchyme hépatique où la concentration est de 10 à 700 fois supérieure à la concentration sanguine.

Son mode d'action sur l'amibe n'a pas été étudié, ce qui contraste avec l'abondance des travaux consacrés à son action antiplasmodique.

Les doses pour l'adulte sont de 600mg/j (soit 6 comprimés) pendant 2 jours puis de 300mg/j (soit 3 comprimés) pendant 2 semaines. A cette posologie, les effets secondaires (maux de tête, diarrhées, prurit, troubles de l'accommodation) sont rares.

#### 11-1-2-Amœbicides de contact :

Les amœbicides de contact, administrés par voie buccale, ne sont pas absorbés au niveau de l'intestin et n'agissent que sur les formes *minuta* intraluminales et les kystes.

Ils sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques [148].

##### 11-1-2-1-Oxyquinolones iodées (En France : Direxiodé®) :

Leur mode d'action est inconnu. Leur demi-vie est d'environ 12heures. Les effets secondaires (éruptions, maux de tête, nausées) sont rares dans les traitements de courte durée. En revanche des neuropathies très graves (SMON= « subacute-myelo-optic-neuropathy ») et irréversibles ont été observées à la suite de prises prolongées.

Commercialisé sous forme de comprimés à 210mg, le Direxiodé® s'administre à raison de 6 à 8 comprimés par jour en 3 prises chez l'adulte, de 5 à 10 mg /kg/jour chez l'enfant, pendant 20 jours.

A noter que ce médicament iodé perturbe les tests d'exploration thyroïdienne pendant 6 mois.

##### 11-1-2-2-Oxyquinolones non iodées (En France : Intetrix®) :

L'Intetrix® est présenté sous forme de gélules à 300mg.

La posologie chez l'adulte est de 4 gélules par jour pendant 10 jours.

Ce désinfectant polyvalent (il est également antibactérien et antimycosique) donne de bons résultats. Ne pas utiliser de façon prolongée.

##### 11-1-2-3-Sulfate de paromomycine :

C'est un antibiotique du groupe des aminosides, peu absorbé au niveau de l'intestin. Il se pourrait qu'il n'agisse pas directement sur l'amibe mais par modification de la flore intestinale associée.

Les capsules d'Humatin® ou le sulfate de paromomycine n'est plus commercialisé que sous forme de granulés pour suspension buvable (Humagel®).

Dans l'amœbose les doses usuelles chez l'adulte sont de 1,50g (50mg/kg chez l'enfant) par jour en 3 prises durant 4 à 10 jours. La négativation des selles est obtenue dans 83 à 95 % des cas. Les effets secondaires sont à type de troubles gastro-intestinaux discrets chez 15 à 20% des sujets traités.

#### 11-1-2-4-Autres amoebicides de contact :

Aux Etats-Unis, les dérivés de l'acétanilide, notamment la furoate de diloxanide (Furamide®) sont fréquemment prescrit et sont commercialisés sous forme de comprimés à 500mg.

La posologie usuelle pour un adulte est de 3 comprimés par jour durant 10 jours, 80% des patients traités se plaignent de flatulences et, plus rarement, de nausées [40, 148].

#### 11-2-Traitements des diverses formes cliniques :

##### 11-2-1-Crise de dysenterie amibienne :

Le traitement d'attaque, qui doit être instauré le plus tôt possible, on a recours aux amœbicides tissulaires, c'est-à-dire actuellement aux 5-nitro-imidazoles. Généralement la guérison est rapide : les signes cliniques s'amendent en 2 à 3 semaines, l'examen des selles se négative en 3 à 4 jours, les lésions se cicatrisent en 2 à 3 semaines. Contrairement à ce qu'on croyait au début de leur utilisation, les 5-nitro-imidazoles sont peu actifs sur les formes intraluminales, ce qui impose, une fois la crise jugulée, le relais par les amœbicides de contact tel le Direxiodé® (cure de 3 semaines). La négativation des selles doit être surveillée tout au long des traitements et à distance.

En cas d'échec, certains auteurs préconisent encore le recours à la 2-déhydroémétine (2mg/kg/j) bien que la commercialisation de formes injectables de 5-nitro-imidazole ait considérablement diminuée l'intérêt de ce produit.

Au traitement spécifique est souvent associé un traitement adjuvant : anti-diarrhéique (Imodium®), antibiotique (tétracyclines, Rovamycine® à raison de 2g/j chez l'adulte), pansement intestinaux (kaolin), antispasmodique.

### 11-2-2-Colite postamibienne :

Le traitement est essentiellement symptomatique : charbon, kaolin, antispasmodique (Scopolamine ou Buscopan), éventuellement antidiarrhéique (Lopramide ou Imodium) ou au contraire purgatif (huile de paraffine, mucilages).

Des épisodes intercurrents d'infections intestinales sont justifiables des antibiotiques ou des antimycosiques en fonction de l'agent en cause.

Le principal volet du traitement est l'observance d'un régime pauvre en résidus (fruits et légumes verts à éviter) et excluant les aliments difficiles à digérer (lait, graisses, sauces, plats épicés).

### 11-2-3-Amœbome :

Le traitement médical (5-nitro-imidazoles) de première intention peut donner d'excellents résultats.

Dans le cas où le diagnostic est préopératoire, ce qui de plus en plus rare en raison de l'utilisation de l'endoscopie, le traitement doit être mis en œuvre après exérèse.

### 11-2-4-Traitement des porteurs sains :

Du fait de l'existence pour certains de souches (ou espèces) non pathogènes, c'est-à-dire incapables de se transformer en formes *histolytica*, le traitement systématique des porteurs de kystes et de formes *minuta* est actuellement contesté [70].

Pour certains auteurs comme : P. Aubry, N. Leger et M. Danis l'utilisation des amœbicides de contact continue à s'imposer non seulement chez les malades en période de rémission mais également chez leurs proches [14,148].

## 12-Prophylaxie :

Il est important de rappeler que la dysenterie amibienne se contracte par ingestion de kystes de l'amibe dysentérique.

En zone d'endémie, la prévention de l'amœbose est aléatoire et difficile à réaliser. Elle fait partie des règles générales appliquées contre le péril fécal et contre le péril hydrique.

Il est important de savoir que toutes les affections microbiennes ou parasitaires négligées de l'intestin font le lit de l'amœbose.

-La prophylaxie individuelle consiste donc à éviter d'ingérer ces kystes et à maintenir l'organisme humain dans un bon état général, qui lui permettra de lutter contre les germes qu'ils peuvent absorber.

Dans les pays chauds, où la maladie est endémique, l'eau de boisson sera bouillie, et les légumes consommés crus seront soigneusement lavés à l'eau bouillie ou avec une solution faible de permanganate de potasse.

Les aliments seront mis à l'abri des insectes, notamment des mouches qui pourraient les souiller.

Il ne faut pas omettre de se laver les mains avant chaque repas et on doit éviter tout contact direct ou indirect avec des malades ou des porteurs d'amibes.

Les conditions de bien-être et une bonne alimentation permettraient d'éviter les affections intestinales ou autres, qui affaiblissent l'organisme et prédisposent à l'amœbose.

-La prophylaxie générale, étant donné qu'on sait que l'homme est pratiquement le seul réservoir du parasite, consiste, dans les pays où la dysenterie amibienne est endémique, à traiter les malades, les convalescents et les porteurs sains et à désinfecter leurs selles.

En outre, les malades doivent être isolés et tous les objets qui ont été en contact avec eux doivent être désinfectés.

Enfin il faut interdire aux porteurs d'amibes toutes les professions où l'homme manipule des matières alimentaires, surtout celles de cuisinier et de boulanger.

Il n'existe pas de chimio-prophylaxie de l'amœbose pour les sujets séjournant en zone endémique. On pourra conseiller aux voyageurs de courte durée la prise d'un amœbicide de contact.

L'amélioration des conditions socio-économiques contribue à diminuer nettement la prévalence de la maladie [24, 150, 169].

### **III-RECTOCOLITE-ULCERO-HEMORRAGIQUE :**

#### **1-Introduction-définition :**

La rectocolite hémorragique est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI), caractérisée par des poussées aiguës et des périodes de rémission [211].

Elle se manifeste essentiellement par une diarrhée hémorragique, associée parfois à une fièvre et douleurs abdominales.

Son incidence reste stable avec des différences raciales et ethniques [139,195,200,201].

Bien que l'étiologie exacte de cette affection reste obscure, les progrès récents réalisés dans le domaine de la génétique et de l'immunologie contribuent à une meilleure compréhension de la physiopathologie de la RCUH et des MICI en général [63].

Le diagnostic des MICI repose sur un faisceau d'arguments cliniques et anatomo-pathologiques [207,209].

L'utilisation des corticoïdes dans le traitement des poussées et de la mesalazine dans la prévention des rechutes, a amélioré la qualité de vie des malades [111].

Le traitement chirurgical de la RCUH indiqué surtout dans les formes graves et invalidantes, a été rendu possible grâce à deux techniques, la colectomie totale avec anastomose ileorectale et la proctocolectomie avec anastomose ileoanale [5, 6, 63].

La prévalence de la RCUH est d'environ 50/100000 habitants en Europe et en Amérique du Nord, elle est plus importante en Europe centrale et méridionale ainsi qu'en Amérique du Nord, plus faible en Amérique du Sud, en Asie et en Afrique. Certaines publications récentes ont rapporté des chiffres élevés en moyen Orient et en Amérique Latine [22,57,83,86,114,116,139,173,176].

En Algérie, à ce jour, l'épidémiologie de la RCUH est mal connue.

Kermouni Serradj a rapporté les aspects épidémiologiques et anatomocliniques des MICI au niveau de la région du grand Alger, de 1981 à 1985. Cette étude a révélé que la prévalence de la RCUH est de 6,22/100000 habitants [101].

Balamine A., à l'occasion d'une journée d'étude sur les MICI (Alger 2013), a ramené que l'incidence de la RCUH était de 1,38 cas pour 100000 habitants (2003-2006) avec une prévalence de  $20,7.10^5$ .

Dans une récente publication Hammada T. et all a révélé que l'incidence globale des MICI est de 2,79/100000 habitants au niveau de la wilaya de Constantine avec un indice variant de 3,45 à 9,83 pour la RCUH [76].

En Tunisie, une étude similaire a révélé une l'incidence globale de la RCUH de 1,3 à 3,3 [129].

## 2-Clinique :

La diarrhée est souvent le symptôme initial, elle peut être modérée, matinale ou postprandiale. Une alternance diarrhée constipation peut exister.

Le début de la maladie peut être insidieux avec quelques rectorragies et une augmentation progressive du nombre de selles sans altération de l'état général.

Le début peut être également brutal avec fièvre, diarrhées sanglante, mucopurulente et douleurs abdominales.

Parfois, il peut s'agir d'une forme compliquée d'emblée avec hémorragie rectale massive.

Des circonstances déclenchantes de la maladie comme une infection intestinale aigue, amœbose ou une antibiothérapie, sont parfois retrouvées. Très souvent, on note un choc psychologique.

Le tableau clinique est variable selon l'étendue de l'atteinte recto colique et de la gravité de la poussée [22, 28, 90,180, 217].

## 3-Formes cliniques :

### 3-1- Formes mineures:

Ce sont les formes les plus fréquentes, elles sont en relation avec une localisation rectale, recto sigmoïdienne et parfois pancolique, caractérisées par des rectorragies constantes avec ou sans glaires, émises une fois par jour.

Les douleurs abdominales peuvent être présentes.

L'examen clinique est fréquemment normal, bien que la majorité des patients qui présente une proctite continuent à avoir une maladie localisée au rectum, une extension de la maladie vers le côlon proximal peut se rencontrer [74, 97].

### 3-2- Formes modérées:

Correspondent à des atteintes recto colique gauches, parfois plus étendues.

Les signes cliniques observés sont dominés par de nombreuses émissions glairo-sanglantes quotidiennes avec des faux besoins parfois associées à un ténésme, des épreintes ou de simples coliques soulagées par des émissions anales.

L'abdomen est parfois sensible à la palpation.

Une fébricule (39°) vespérale est souvent observée.

Dans ces deux formes, le diagnostic différentiel se fait souvent avec les colites infectieuses qu'il faut éliminer par la coproculture et la parasitologie des selles [63, 218].

### 3-3- Les formes sévères:

Dans ces formes, le tableau clinique regroupe, les signes suivantes: émission de selles glairo-sanglantes qui sont très fréquentes, de violentes coliques abdominales, fièvre, amaigrissement, pâleur, tachycardie, hypotension orthostatique et souvent des manifestations extradigestives. Le ténesme et l'incontinence fécale sont fréquemment retrouvés.

L'examen clinique retrouve un abdomen douloureux et une muqueuse labourée d'ulcération au toucher rectal. Le doigtier ramène du sang [10 ,21, 177].

### 3-4- Les manifestations extra-digestives:

Les manifestations ostéo-articulaires sont les plus fréquentes (25%), représentées le plus souvent par le rhumatisme périphérique et rarement par le rhumatisme axial (pelvispondylite) qui peut évoluer parfois indépendamment de la maladie.

L'association avec l'érythème noueux est la manifestation cutanéomuqueuse la plus fréquemment retrouvée. Les manifestations oculaires sont dominées par les atteintes du segment antérieur de l'œil (sclérite antérieure et épiscérite, uvéite antérieure) alors que les atteintes postérieures (papillite, choroïdite) sont plus rares. Quelques cas de vascularite rétinienne ont été décrits.

Les lésions orbitaires avec exophtalmie, myosite, cellulite, atteinte palpébrale et lacrymales ont aussi été rapportées.

Les manifestations hépatiques sont représentées par la stéatose hépatique, la cholangite sclérosante primitive et les hépatites granulomateuses [174].

## 4-Diagnostic :

### 4-1-Diagnostic d'orientation :

Chez un malade, une RCUH est suspectée devant une diarrhée glairo-sanguinolente rebelle à tout traitement anti-diarrhéique, évoluant depuis plusieurs mois avec une copro-parasitologie négative éliminant une cause bactérienne et/ou parasitaire.

L'examen clinique peut ramener parfois quelques signes cliniques rarement associés : un abdomen douloureux à la palpation, amaigrissement et quelques signes cutanés.

Une anémie peut aussi être mise en évidence, sur laquelle peut se rajouter des troubles hydro-électro-lytiques.

### 4-2-Diagnostic positif :

Il est basé en plus des données cliniques sur : les signes endoscopiques, anatomo-pathologiques, radiologiques et biologiques.

#### 4-2-1- L'anatomo-pathologie:

Il n'existe pas de critère anatomo-pathologique spécifique de la RCUH, certains aspects macroscopiques et microscopiques sont évocateurs du diagnostic.

Quatre faits essentiels sont à souligner dans la RCUH :

- la diffusion de la maladie qui ne laisse pas d'intervalle de muqueuse saine ;
- la constance de l'atteinte rectale ;
- l'évolution par poussées successives et l'extension rétrograde du rectum vers le cæcum ;
- la prépondérance des lésions de la muqueuse et de la sous-muqueuse tandis que les plans musculaires et la sous-séreuse sont peu ou pas intéressés [91,178].

#### 4-2-1-1-Aspects macroscopiques:

L'examen macroscopique offre des renseignements intéressants à l'examen des pièces opératoires.

##### 4-2-1-1-1- Etude des pièces fermées :

Les raccourcissements du colon sont presque constants. Son calibre est variable, souvent rétréci, donnant un aspect tubulé, avec une paroi épaissie mesurant 1 à 3 cm avec une lumière colique réduite, le plus souvent inférieur à 2 cm.

En cas de colectasie, le colon est parfois très dilaté avec une paroi très fine.

La coexistence de ces deux aspects est possible [64, 142, 149].

La séreuse est congestive sur un segment plus étendu que celui des lésions muqueuses.

Les ganglions sont légèrement modifiés ou normaux.

Les vaisseaux mésentériques sont intacts.

4-2-1-1-2- Etude des pièces ouvertes :

La répartition topographique est comme suit : rectum toujours atteint, pancolite 30%, rectocolite gauche étendue au transverse 14%, rectocolite gauche 24%, rectosigmoïde 23%, proctite 9%.

Le caractère congestif et hémorragique est évident.

Le côlon contient des caillots de sang et des débris nécrotiques.

La muqueuse est dépourvue de plissements rouges violacés avec des lésions diffuses.

La limite des lésions n'est pas nette dans les formes limitées au côlon gauche avec une congestion de la muqueuse qui diminue progressivement.

Les ulcérations sont arrondies, superficielles et à bords décollés, disséminées sur une muqueuse dont les plis transversaux ont disparu. Ces ulcérations peuvent former des sillons longitudinaux.

L'aspect des îlots de la muqueuse entre ces ulcérations évoque un champ fraîchement labouré.

Les lésions peuvent être confluentes et mettent à nu une sous muqueuse recouverte de fausses membranes ne laissant persister que quelques reliquats muqueux.

Les accidents de reliefs sont la conséquence des ulcérations et sont constitués des restes de muqueuse oedématiée et hémorragique surélevée, constituant parfois un aspect de pseudopolypes en pavés. D'autres sont plus importants, formant des pseudopolypes digitiformes ou en pont de 1 à 4 cm de long [115, 118].

4-2-1-2- Aspects microscopiques :

La muqueuse est lésée la première et reste la membrane la plus atteinte au cours de l'évolution de la maladie.

L'épithélium de surface est constamment atteint, il s'agit d'une altération du cytoplasme cellulaire qui devient vacuolisé au pôle basal des cellules. L'atteinte de plusieurs cellules voisines dessine une bande claire sous-nucléaire qui soulève l'épithélium.

A un stade plus avancé, plusieurs cellules se détachent de la basale, réalisant un décollement épithélial délimitant une petite cavité pleine d'hématies et de polynucléaires.

Il peut y avoir une abrasion partielle ou totale intéressant tout un lambeau de muqueuse. La réépithélialisation des abrasions successives aboutit à la régénération d'un épithélium anormal avec irrégularité de hauteur des cellules qui sont dédifférenciées et basophiles.

Les glandes sont rarement indemnes, elles peuvent être en hypersécrétion ou en hyposécrétion ou perdent même toute fonction sécrétante. Leur aspect histologique est modifié : différenciation, nombreuses mitoses, basophilie. Toutes ces altérations sont le résultat de remaniements successifs. La régénération donne un aspect ramifié et irrégulier, en arborisation.

Les abcès cryptiques fréquemment retrouvés, sont caractéristiques et comptent parmi les premiers signes de la maladie.

Les cryptes atteintes sont remplies de débris nécrotiques et de polynucléaires altérés avec des cellules en bordure modifiée.

La desquamation de certaines cellules dans la lumière des glandes met en contact l'abcès avec le chorion muqueux et aboutit à la formation des ulcérations.

Le chorion est toujours altéré de façon majeure. Les troubles vasculaires sont constants. La congestion est importante, avec parfois une simple dilatation des capillaires sous épithéliaux et à un degré de plus, ils constituent de véritables puits capillaires sous épithéliaux.

La fragilité vasculaire est représentée par des hémorragies interstitielles.

L'œdème est souvent associé à la congestion vasculaire. L'infiltrat inflammatoire souvent important est l'un des stigmates essentiels de la maladie. C'est un infiltrat lymphoplasmocytaire et éosinophile étendu à toute la muqueuse, souvent associé à une hyperplasie lymphoïde.

L'existence d'amas de polynucléaires au niveau des lésions traduit la surinfection.

La musculaire muqueuse base sur laquelle repose la sous muqueuse, est toujours dissociée par l'œdème et l'infiltrat inflammatoire. Elle peut disparaître sous une muqueuse pathologique qui recouvre d'anciennes ulcérations.

La sous muqueuse est très inflammatoire avec quelques microabcès [183].

Elle constitue le fond des ulcérations. Elle est congestive, œdémateuse et parsemée d'infiltrats inflammatoires superficiels et péri vasculaires.

Plus tard, elle devient fibreuse contenant des amas lymphoïdes et des altérations nerveuses ou vasculaires.

Dans les formes les plus graves, la musculature peut contenir des infiltrats inflammatoires ou exceptionnellement une dissociation fibreuse au contact d'une ulcération cicatrisée.

La séreuse est généralement respectée, parfois elle est hypervascularisée.

Les plexus de Meissner et d'Auerbach sont le plus souvent intacts.

Les lymphocytes sont hyperplasiques au niveau de la muqueuse et la sous muqueuse surtout rectale avec une hypertrophie ganglionnaire rarement importante [4, 38].

#### 4-2-3- Radiologie:

Actuellement, la radiologie est devenue un complément de l'endoscopie [184,185].

##### 4-2-3-1- Abdomen sans préparation (ASP):

Il met en évidence un aspect épaissi et nodulaire de la paroi colique avec des images aériques dessinant un côlon tubulé et raccourci avec perte des haustrations et arrondissements des angles.

L'ASP peut révéler aussi une colectasie qui constitue avec la perforation une contre-indication à l'opacification barytée et à l'endoscopie [74].

##### 4-2-3-2- Lavement baryté :

Le lavement baryté est pratiqué après une préparation par vidange colique et un régime sans résidus.

Le lavement baryté permet de mettre en évidence des signes précoces pour évaluer l'extension des lésions.

Au cours des formes graves, on peut proposer l'utilisation d'un produit hydrosoluble radio-opaque car la baryte pourrait aggraver la poussée et favorise la colectasie [74].

##### 4-2-3-2-1- Stade précoce de la maladie :

Est caractérisé par des anomalies du tonus: hypotonie, diminution de la longueur du côlon, diminution d'expansibilité avec des haustrations festonnées qui peuvent disparaître à un stade avancé.

Des rebords irréguliers marqués par des images d'altération sous forme de fines spicules, traduisant la présence d'ulcération plus ou moins profondes.

Au décours des premières poussées, ces anomalies peuvent être réversibles [74].

#### 4-2-3-2-2- Stade intermédiaire :

Les ulcérations marginales sont plus profondes, mesurant plus de 2 cm.

La pénétration de la baryte au fond de l'ulcération donne un aspect en bouton de chemise (signe commun avec l'amœbose).

Les ulcérations peuvent parfois être confluentes réalisant une dissection intramurale qui, au plan radiologique se traduit par une image de pneumatose colique sur les clichés de l'ASP, et une image en double contours sur des clichés en réplétion.

On peut obtenir des images en double contour après une opacification.

En évacuation, l'œdème de la muqueuse réalise des images en empreintes de pousse.

L'ampoule rectale perd son aspect joufflu et devient fusiforme.

L'espace pré-sacré est alors élargi, mesurant plus de 15 cm.

#### 4-2-3-2-3- Stade chronique de la maladie :

Les signes caractéristiques sont le raccourcissement de l'intestin, l'effacement de la courbure des anses, le rétrécissement de la lumière intestinale et la rigidité de la paroi.

L'intestin revêt un aspect symétrique, dépourvu d'haustrations tubulaires avec disparition du liseré muqueux.

Bien que les sténoses soient peu fréquentes, elles ont lorsqu'elles existent, une lumière circulaire et des extrémités fusiformes.

Une sténose excentrée doit faire suspecter une néoplasie associée [41, 175, 220].

#### 4-2-3-3- Echographie et TDM abdominale:

Ces examens sont peu importants dans le diagnostic de RCUH car il existe rarement une extension extramurale.

On peut observer lors des poussées aiguës, une stratification pariétale correspondant au rehaussement de la muqueuse, de la sous muqueuse et de la musculuse [218].

#### 4-2-3-4- Imagerie par résonance magnétique (IRM):

L'entéro-IRM est une technique performante pour l'analyse de la paroi intestinale, notamment dans le cadre des MICI.

Son intérêt principal est de dresser une cartographie précise des lésions avant un geste interventionnel lors d'une poussée inflammatoire chez un patient connu

porteur de la maladie, pour rechercher les complications et adapter la thérapeutique [218].

#### 4-2-3-5- Endoscopie:

##### 4-2-3-5-1- Rectoscopie et coloscopie :

Une rectoscopie complétée par une coloscopie, doit être effectuée lors de la première consultation surtout lorsqu'il s'agit de la première poussée ou si la symptomatologie clinique suggère une aggravation.

La muqueuse se caractérise par une couleur rouge vif, avec disparition du réseau vasculaire normal, avec un aspect granité des ulcérations superficielles, dans les formes de gravité mineurs modérées [98].

Dans les formes graves, il existe des ulcérations étendues souvent profondes avec un maximum de décollements muqueux [38, 63, 74].

Des coloscopies de surveillance tous les deux ans après dix ans d'évolution, associées à des biopsies étagées du colon au rectum sont recommandées [178, 218].

##### 4-2-3-5-2- Chromocoloscopie :

Est d'une grande valeur dans la détection des lésions pré-néoplasiques.

Il existe deux chromocoloscopies :

-La chromocoloscopie ciblée où seules les lésions suspectes sont colorées et la chromocoloscopie où le colon est entièrement exposé au colorant.

-L'intégration de la chromocoloscopie dans la surveillance de la dégénérescence de la RCUH et la maladie de Crohn améliorera l'efficacité du dépistage des dysplasies et des cancers [85,185].

##### 4-2-3-5-3- Endoscopie confocale :

Technique utilisant des coloscopes conventionnels à optique grossissante ou zoom endoscopie permettant de déceler des anomalies tissulaires in vivo au sein de la muqueuse colique [85].

##### 4-2-4- Biologie :

La biologie peut mettre en évidence et apprécier le degré de l'anémie, de l'hyperleucocytose, l'hypoprotidémie et de l'hypoalbuminémie ainsi que détecter d'éventuels troubles hydro-électrolytiques [85].

Un examen parasitologique des selles, un examen bactériologique et virologique, permet d'éliminer une colite parasitaire ou infectieuse [149].

La présence dans le sérum des malades, des anticorps anti cytoplasme des polynucléaires neutrophiles n'est ni constante ni spécifique pour le diagnostic de la RCUH.

#### 4-3-Diagnostic différentiel :

##### 4-3-1-Maladie de CROHN (MC) :

Les symptômes de la RCUH et de la Maladie CROHN (MC) peuvent être similaires. La diarrhée est le signe clinique dominant dans les deux maladies ; cependant, elle est de nature hémorragique chez plus de 90% des cas de RCUH. Les douleurs abdominales sont plus fréquentes dans la MC (95%) et de localisation droite.

La fièvre et l'altération de l'état général avec perte de poids, l'atteinte du grêle et les lésions anales (75%) sont fréquentes dans la MC.

L'aspect endoscopique peut aider à faire la distinction entre ces deux pathologies.

Dans la RCUH, il ya toujours une continuité lésionnelle et l'atteinte rectale est quasi-constante. L'atteinte iléale est pratiquement absente et, si elle existe, elle est sous forme d'une iléite par reflux, chez moins de 10% des cas, la muqueuse est fragile, hémorragique et granitée, rarement boursouflée ; dans la MC colique, il existe des fissurations et la muqueuse est fréquemment boursouflée. Les ulcérations aphtoïdes habituellement absentes dans la RCUH alors qu'elles sont présentes dans la MC [63].

Les fistules anales et les lésions péri-anales sont très importantes et fréquentes dans la MC.

L'examen histologique permet aussi de faire le diagnostic différentiel entre les deux maladies : dans la RCUH, l'inflammation est localisée à la muqueuse et à la sous-muqueuse ; elle n'est transmurale que dans la colite fulminante.

Dans la MC, l'inflammation est transmurale alors dans la RCUH l'hypervascularisation est intense et l'œdème est modéré. Les abcès cryptiques sont très fréquents dans la RCUH et la sécrétion de mucus très altérée.

La présence d'un granulome pseudo-sarcoïdique confirme le diagnostic [63].  
(Voir Tableau n° 2)

Tableau n° 2 : Diagnostic différentiel entre Maladie de Crohn et RCUH

	<b>Maladie de CROHN</b>	<b>RCUH</b>
<b>Incidence (/an)</b>	3/100 000 habitants	- 3/100 000 habitants
<b>Sexe ratio F/H</b>	0.9	0.5
<b>Prédisposition génétique</b>	Chromosome 16 +++	Terrain génétique +
<b>Facteurs d'environnements</b>	Tabac : facteur délétère. Maladie de Crohn augmentées Infectieux : non prouvé	Tabac : facteur bénéfique
<b>Topographie</b>	1- anus, rectum, colon 2- grêle, duodénum, estomac 3- duodénum atteinte discontinue	1- Rectum toujours atteint 2- Colon Atteinte continue
<b>Macroscopie Type :</b>	1- Intervalles de muqueuse saine 2- Asymétrie (bord mésentérique de l'intestin +++) 3- Hétérogénéité lésionnelle 4- Erythème en plaque ou en bande 5- Ulcération Aphtoïde. Superficielle. Profonde 6- Fistules / Sténoses / sclérolipomatose	Pas d'intervalle de muqueuse saine  Homogénéité des lésions :  1- Aspects granité, fragile (sang en nappe) 2- Pus, glaires 3- Ulcération
<b>Microscopie</b>	Infiltrat Lymphoplasmocytaire Granulome tuberculoïde ? 10 % Conservation de la mucosécrétion	Infiltrat de PN=> cryptites Congestion (puits capillaires) Diminution de la mucosécrétion
<b>Age</b>	27 ans (6-83 ans) Entre l'âge de 10 et 40 ans les	36 ans (4-83 ans)

	femmes sont plus touchées	
<b>Symptômes</b>	<p>En fonction de la localisation.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Douleurs coliques (colon)</li> <li>2- Koenig (intestin grêle)</li> <li>3- Ano-périnéales</li> <li>4- Diarrhée (parfois sanglante)</li> <li>5- Fièvre</li> <li>6- Anorexie, amaigrissements</li> <li>7- Signes systémiques : <ul style="list-style-type: none"> <li>→ Articulation, os</li> <li>→ Œil, peau, foie</li> </ul> </li> </ol>	<p>Signes cliniques :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Faux besoins</li> <li>2- Emission de glaires sanglante</li> <li>3- Fièvre</li> <li>4- Tachycardie, pâleur</li> </ol>
<b>Cancérisation</b>	Cancer (grêle, colon) : risque peu important. Ne nécessitant pas de surveillance spécifique)	<p>Risque relatif important</p> <p>Dépend de l'âge de survenue et de l'étendue</p> <p>Surveillance des formes anciennes plus de 15 ans</p> <p>Etendue par coloscopie systématique</p>
<b>Evolutions</b>	Profil évolutif plus sévère	Profil évolutif moins sévère
<b>Complications</b>	<p>fistules :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Ano-périnéales</li> <li>2- Recto-vaginales</li> <li>3- Entéro-entérales</li> <li>4- Entéro-cutanées</li> <li>5- Entéro-vésicales</li> </ol> <p>Abcès (anus, abdominal)</p> <p>Perforation (en péritoine libre)</p> <p>Sténose (iléale)</p> <p>Hémorragie (rare)</p> <p>Délabrement sphinctérien anal</p> <p>incontinence</p> <p>Dénutrition</p> <p>Retard staturo-pondéral</p> <p>Retard pubertaire (enfant)</p> <p>Grêle court (résections étendues)</p>	<p>Colectasie</p> <p>(dilatation/paralyse)</p> <p>Perforation</p> <p>Hémorragie profuse</p>

Source : Hammada T. et al [76].

#### 4-3-2- Autres maladies coliques :

##### 4-3-2-1- Colites infectieuses :

Les colites infectieuses à *Shigella*, *Salmonella*, *Entamoeba*, *Giardia* peuvent se présenter selon le même tableau qu'une RCUH, mais n'ont généralement pas d'évolution chronique.

La rectoscopie permet l'écouvillonnage rectal et des biopsies à visée histologique, bactériologique et parasitaire dans ces cas, elles ne montrent jamais de distorsion de l'architecture glandulaire ou d'infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire.

En revanche, la présence d'un infiltrat riche en polynucléaires et parfois l'abcès cryptique, est très évocatrice de colite infectieuse.

La coloscopie peut donner en cas d'infection avec *Shigelle* ou *Campylobacter* les mêmes aspects lésionnels que ceux de la RCUH.

En cas d'amébose, il existe en coloscopie des ulcérations en coup d'ongle sur une muqueuse saine de 5 à 15 mm de diamètre, recouvertes d'un exsudat jaunâtre. Elles sont localisées le plus souvent dans le caecum et le côlon ascendant et dans les biopsies on retrouve toujours des amibes hématophages [1, 22, 73].

##### 4-3-2-2- Colite ischémique :

Elle survient dans la majorité des cas chez les sujets âgés de plus de 60 ans.

La cause exacte n'est pas décelée chez plus de 75% des patients mais un terrain ischémique peut être présent.

En endoscopie, l'atteinte est segmentaire et les lésions sont fréquemment localisées à gauche (35%), au colon ascendant, au sigmoïde, au colon droit, au transverse et au rectum (5%).

L'aspect endoscopique précoce est celui d'une muqueuse de couleur bleu foncé, violacée, œdémateuse et hémorragique.

La biopsie révèle des lésions de nécrose de coagulation avec disparition des glandes. [1, 22].

##### 4-3-2-3- Les hémorroïdes et les fissures anales :

La présence de rectorragies peut prêter à confusion. Dans ce cas l'anuscopie est utile [1, 22, 132].

#### 4-3-2-4- Le cancer rectocolique :

Doit être bien sûr éliminé devant la présence d'une diarrhée et de rectorragies chez un patient âgé de plus de 45 ans [1, 22, 61].

#### 4-3-2-5- L'ulcère solitaire du rectum :

Il se présente comme une ulcération très creusante, hémorragique et totalement isolée, et dans le rectum : à cet endroit, cette lésion est parfois secondaire à des traumatismes ou à des troubles majeurs de la défécation [1, 22].

#### 4-3-2-6- La schistosomose colique :

Est caractérisée par la présence de pseudopolypes identiques à ceux retrouvés dans les MICI [1, 22].

#### 4-3-2-7- Autres pathologies iatrogènes :

Comme la rectite radique, ou secondaire au glutaraldéhyde après coloscopie, les rectites médicamenteuses (Di-Antalvic) peuvent également se présenter avec une diarrhée ou une rectorragie, mais dans ce cas, l'histoire clinique de la maladie rend le diagnostic aisé [1, 22].

### 5-Physiopathologie :

Les MICI se caractérisent par des anomalies de la régulation de la réponse immunitaire au sein de la muqueuse intestinale dont la conséquence est une inflammation de la muqueuse, résultat d'une cascade d'événements cellulaires.

De nombreux arguments, d'ordre clinique, épidémiologique et expérimentaux suggèrent, l'intervention des facteurs entre autres microbiens, dans la genèse ou la pérennisation des lésions.

L'implication de ces facteurs peut s'envisager selon trois modalités; un agent pathogène spécifique persistant serait à l'origine des MICI, mais cette hypothèse est peu probable ; des agents infectieux non spécifiques bactériens ou viraux pourraient initier l'inflammation intestinale qui serait ensuite entretenue par des mécanismes d'auto-immunité.

Les MICI pourraient enfin être liées à une rupture de tolérance du système immunitaire intestinal vis-à-vis de tout ou une partie de la propre flore intestinale saprophyte [22, 43].

### 5-1- Fonction de la barrière épithéliale:

Les cellules intestinales forment une barrière aux antigènes par jonctions intercellulaires très serrées et par la production des peptides antimicrobiens pour l'élimination des bactéries et pour la sécrétion des interleukines 8(IL8) pour le recrutement des polynucléaires neutrophiles aux sites des infections.

Depuis la découverte de Toll Like Receptor (TLR), l'immunité intestinale innée est devenue un important sujet de recherche dans l'immunité intestinale.

La destruction des jonctions intercellulaires peut causer une augmentation de la perméabilité intestinale et la translocation bactérienne.

Wehkamp et al ont rapporté que l'activité anti-microbienne est basse dans les MICI associées en particulier à des lésions iléales. Cela pourrait être en rapport avec la baisse de production des défensines par les cellules de Paneth [76].

### 5-2- Agents infectieux:

Pendant longtemps, le déséquilibre de la flore bactérienne a été évoqué dans les MICI. Des recherches récentes ont révélé une prévalence élevée de l'Escherichia Coli adhérente-invasive (ECAI) appartenant au groupe phylogénique 132+D, dans les biopsies des muqueuses normales et pathologiques, chez les malades atteints de MICI [99].

Takaishi et al ont rapporté un déséquilibre de la microflore saprophyte du tube digestif des patients présentant une MICI [76].

Des études suggèrent que des espèces commensales induisent et perpétuent les divers états inflammatoires de la muqueuse intestinale chez des souris génétiquement prédisposés [76].

### 5-3- La réponse immunitaire:

Les patients prédisposés génétiquement à avoir une MICI, présentent une dysrégulation de la réponse immunitaire de la muqueuse colique dirigée contre des constituants de la flore intestinale.

Ce phénomène de dysrégulation est caractérisé par des anomalies de la réponse immunitaire innée et spécifique [22, 43].

-Pour la réponse innée, il ya d'abord une activation des voies de transduction (voies NF $\kappa$ B et des kinases de stress) qui activera la production des médiateurs inflammatoires (cytokines et chimiokines), ces derniers seront impliqués dans le recrutement de nouvelles cellules inflammatoires sanguines dans la paroi intestinale, cela par la surexpression des molécules d'adhérence, provoquant la

formation, dans la paroi intestinale, d'un infiltrat de cellules inflammatoires activées [63,74].

Un autre mécanisme caractérisé par une inhibition de l'apoptose, entrainera l'augmentation de la survie de ces cellules pro-inflammatoires dans la muqueuse intestinale, ce qui va assurer donc la chronicité de l'inflammation.

-Dans la réponse immunitaire spécifique, il existe dans la muqueuse intestinale, des lymphocytes T particuliers appelés *lymphocytes T régulateur* dont l'activation entrainera une rupture de la tolérance de cette muqueuse vis-à-vis de sa propre flore intestinale.

5-3-1- Activation des voies de transduction:

Les deux principales voies de transduction du signal impliqué dans les phénomènes inflammatoires sont les voies de NFkB et des Kinases de stress activées par des protéines mitogènes appelées MAPK (Mitogen-activated Protein Kinase).

Après activation de la cellule intestinale, une cascade de phosphorylation entraîne la translocation du NFkB du cytoplasme vers le noyau de la cellule où il se fixe sur l'ADN et induit l'expression de nombreux gènes impliqués dans la production de cytokines inflammatoires, des chimiokines et des molécules d'adhésion.

Ce facteur est considéré comme un élément clef dans l'initiation d'une réaction inflammatoire systémique, mais pourrait avoir également un rôle protecteur en fonction des stades évolutifs de la maladie.

L'activation des MAPK par des facteurs de stress sera à l'origine de trois facteurs: extracellular-activated Protein Kinase (ERK), P35 et jun Kinase (jnk); qui vont pouvoir passer dans le noyau de la cellule et activer des gènes impliqués dans la réaction inflammatoire.

Dans les MICI plusieurs travaux ont mis en évidence une augmentation de l'activation des voies de NFkB et des MAPK dans la muqueuse intestinale et plusieurs essais thérapeutiques inhibant ces voies ont été réalisés, chez des malades atteints de MC et de RCUH. Cependant, les résultats sont décevants, surtout pour le BIRB 796 (inhibiteur de MAPK) chez cette population de malades. Cette absence d'efficacité peut s'expliquer par la dualité fonctionnelle de l'activation de la voie NFkB par les cellules épithéliales intestinales, capables d'induire une inflammation systémique mais de protéger également l'intestin des

phénomènes apoptotiques provoqués par des facteurs physiques, chimiques ou infectieux.

### 5-3-2 - Production des cytokines et des chimiokines:

#### 5-3-2-1- Classification des chimiokines et des cytokines:

Les cytokines sont des protéines de faibles poids moléculaire impliquées dans la communication entre les cellules et qui sont exprimées à l'état physiologique dans les cellules intestinales.

Trois grands groupes ont été caractérisés: les cytokines inflammatoires et anti-inflammatoires et les cytokines immunorégulatrices.

La balance entre les cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) et anti-inflammatoires (IL-1 RA, IL-10, TGF $\beta$ ) gère localement l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire.

Récemment Hue et al et Kulberg et al ont attribué l'hyperproduction des cytokines inflammatoires chez des modèles de colite expérimentale, à l'activation des cellules Th17 par l'interleukine 23 (IL23).

Les cytokines immunorégulatrices interviennent dans la susceptibilité et la résistance aux agents infectieux, dans les mécanismes allergiques et dans la régulation des cytokines inflammatoires.

Les chimiokines définissent un sous groupe d'une cinquantaine de médiateurs, impliqué dans le recrutement et l'activation des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles dans les tissus.

Les cytokines agissent sur les cellules cibles en se fixant sur les récepteurs spécifiques TLR (Toll Like Receptor) qui vont activer une cascade d'événements intracellulaires (NF $\kappa$ B et MAPK) [63, 74].

#### 5-3-2-2- Cytokines, chimiokines et MICI:

Les cytokines inflammatoires TNF $\alpha$ , IL6 et IL1 $\beta$  sont impliquées dans les lésions intestinales au cours des MICI.

La principale source de TNF $\alpha$  sont les macrophages localisés dans la lamina propria de l'intestin, les granulomes, les centres germinatifs, les follicules lymphoïdes ainsi que dans la graisse mésentérique des patients atteints de MICI.

#### 5-3-3- Augmentation de l'expression des molécules d'adhésion :

Au cours des MICI, les lésions intestinales sont caractérisées par une infiltration de la muqueuse par des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes qui vont

adhérer aux cellules endothéliales intestinales via différents récepteurs de surface appelés molécules d'adhésion.

#### 5-3-4 - Inhibition des mécanismes d'apoptose:

Dans la RCUH, il existe une diminution de l'apoptose de certains lymphocytes présents dans la lamina propria responsables des mécanismes inflammatoires, cette diminution de l'apoptose est multi factorielle mettant en jeu l'IL6 produite essentiellement par les macrophages et les lymphocytes.

Récemment une nouvelle étude a mis en évidence une nouvelle fonction de l'azathioprine qui a un effet anti NF $\kappa$ B sur les lymphocytes et une activité apoptotique en transformant au niveau cellulaire un signal essentiel à l'induction de la réponse immunitaire en une mort cellulaire par apoptose, cette nouvelle propriété de l'azathioprine pourrait expliquer l'efficacité de ce traitement au cours des MICI [63, 74].

#### 5-3-5 - L'autophagie et les MICI:

Les progrès récents à travers les études génétiques ont révélé des nouveaux gènes de susceptibilité pour les MICI appelés : AutophagyRelated Gene16-Like1 (ATG16LI) et IRGM (Immunity-related GTPase family M) qui sont associés à l'autophagie : mécanisme de stabilisation de l'homéostasie cellulaire.

La différence entre autophagie et apoptose est que cette dernière élimine les cellules mortes alors que l'autophagie détruit les cellules vivantes.

L'association entre ces gènes d'autophagie et les MICI, conforte l'hypothèse qu'une réponse immunitaire innée anormale en réponse à des agents pathogènes intracellulaires contribue dans la pathogénie des MICI [11, 83].

#### 5-3-6 - Rupture de tolérance:

Des mécanismes faisant intervenir l'immunité spécifique (adaptative) ou innée (naturelle), peuvent participer à une rupture de la tolérance vis-à-vis des antigènes luminaux (alimentaires ou bactériens).

Des anomalies de l'immunité spécifique faisant intervenir des lymphocytes régulateurs T sont décrites au cours des MICI et sont à l'origine d'une réponse immunitaire active dirigée contre des antigènes de sa propre flore bactérienne [11, 83].

## 6- Etiopathogénie :

L'étiopathogénie exacte de la RCUH reste obscure. Cependant, beaucoup de facteurs pourraient intervenir d'une façon directe ou indirecte dans la pathogénèse de la maladie [161].

### 6-1- Facteurs infectieux :

#### 6-1-1- Les bactéries :

Les cultures en milieu aérobie et anaérobie du contenu colique ont montré que la flore intestinale est trouvée parfois normale avec parfois, une augmentation du débit fécal de streptocoque du groupe D ou d'*Escherichia coli* [11, 83, 202].

Les agglutines dirigées contre les antigènes d'*Escherichia* sont plus fréquemment retrouvées chez les malades atteints de RCUH que les sujets sains avec absence de corrélation entre le taux de ces Anticorps et l'évolution de la RCUH [90,180].

#### 6-1-2- Les virus :

De nombreuses études ont montré que le rôle des virus dans la pathogénie de la RCUH est prépondérant.

Chez les sujets atteints de RCUH, les anticorps anti-cytomégalovirus sont notés avec une très grande fréquence que chez les sujets témoins.

Kruiningen et al rapportent le rôle des virus dans la pathogénie des MICI par la mise en évidence par PCR des DNA et RNA viraux dans l'intestin des malades atteints de RCUH.

Au cours du traitement immunosuppresseur, Il a été noté que le cytomégalovirus peut compliquer une MICI préexistante [86,165].

#### 6-1-3- Les levures :

Le développement des maladies inflammatoires du côlon est associé à l'apparition dans le sérum des patients, des anticorps antisaccharomyces *cerivciae* (ASCA) qui ont été objectivés chez 50% à 60% des malades atteints de MICI [90, 165, 196].

Des études cliniques et expérimentales ont démontré que l'oligo-mannose qui supporte la formation des ASCA peut être libéré par le *Candida albicans* (CA) dans le tissu humain, suggérant l'immunogénéicité du *Candida albicans* pour les ASCA [90, 163, 197].

#### 6-1-4-Les helminthes:

Actuellement, l'hypothèse communément admise pour expliquer le développement des maladies inflammatoires chroniques intestinales est une dysrégulation de la réponse immunitaire muqueuse dirigée contre des éléments de la flore intestinale, survenant chez des patients génétiquement prédisposés. La maladie de Crohn est fréquente dans les pays industrialisés où la prévalence des helminthiases est faible et réputée rare dans les pays en voie de développement où la majorité des individus sont exposés à ce parasite. De ces constatations agrandi l'hypothèse de l'hygiène : une moindre exposition aux agents infectieux ne permettrait pas un bon développement de notre système immunitaire dans l'enfance. Les helminthes, dont *Trichuris suis*, atténuent l'intensité de la réponse immunitaire chez l'homme et dans des modèles de colites inflammatoires expérimentales. La maladie de Crohn est classiquement associée à une réponse immunitaire de type T-helper (Th1) excessive. Les helminthes empêchent le développement d'une réponse Th1, induisent un profil cytokinique de type Th2 et stimulent les lymphocytes T régulateurs. Sur ces arguments immunologiques, les helminthes ont été proposés dans le traitement de la maladie de Crohn.

Quelques essais cliniques ont suggéré l'efficacité et la bonne tolérance d'une exposition aux helminthes dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales. Sa tolérance à long terme reste inconnue [104].

#### 6-2- Facteurs environnementaux :

Les examens histologiques ont montré la présence des éosinophiles, mastocytes dégranulés dans le chorion et ascension du taux d'histamine dans la muqueuse rectale qui font évoquer l'existence d'une allergie alimentaire.

Les émulsifiants et les stabilisateurs entrant dans l'industrie alimentaire et le sucre fin, sont aussi incriminés mais aucune étude épidémiologique n'a pu établir de relation entre ces additifs alimentaires et la RCUH.

Il est admis actuellement que l'intolérance au lait de vache observée au cours de certaines poussées de RCUH ne dépend pas du déficit transitoire ou permanent en lactase intestinale [21,63].

Le rôle du tabac comme agent protecteur au cours de la RCUH a été démontré [74].

Une étude cas témoins a montré que l'exposition passive au tabac chez des jeunes de moins de 15 ans et dont le père ou la mère fumait, diminuait de 50% le risque ultérieur de développer une RCUH [50, 83, 196].

### 6-3- Facteurs médicamenteux :

-Les contraceptifs oraux : une étude cas témoins portant sur 406 femmes atteintes de MICI a montré un risque relatif de 1,1 pour la RCUH [22].

-Une antibiothérapie prolongée a été souvent incriminée comme facteur déclenchant d'une crise de RCUH.

### 6-4- Autres facteurs:

-Le rôle des prostaglandines dans la pathogénie de la RCUH, a retenu l'attention de plusieurs auteurs depuis la mise en évidence d'une augmentation du taux de prostaglandines dans les selles, les urines et le sang veineux drainant le côlon chez les patients porteurs de RCUH.

Il a été aussi démontré une augmentation de l'activité de la prostaglandine-synthétase à partir des biopsies rectales, faites au cours des poussées de RCUH, comparée au résultat obtenu chez des sujets ayant un syndrome du côlon irritable.

-Le rôle pathogénique des facteurs psychiques est controversé [25,48].

## 7- Evolution :

la RCUH évolue souvent par poussée entrecoupées de remissions.

Lors de ces poussées, des complications peuvent survenir à savoir la colectasie, la perforation colique et les hémorragies digestives profuses qui constituent des urgences chirurgicales.

L'évolution de la RCUH peut augmenter le risque d'adénocarcinome rectal [2]. Elle reste imprévisible, ces dernières années, certaines études ont pu apporter aux patients des informations rassurantes y compris dans les formes étendues de la maladie [63, 198].

## 8-Traitement :

### 8-1- Traitement médical :

Dans l'incertitude étiologique, le traitement médical est essentiellement symptomatique.

Dans l'immédiat le traitement médical a pour but de restaurer un équilibre nutritionnel, d'interrompre l'hémorragie, la diarrhée, l'infection, de corriger l'anémie, l'hypoprotéinémie et le déséquilibre hydro électrolytique [47, 212].

A long terme, son but est de diminuer la fréquence des poussées évolutives [11, 219].

#### 8-1-1-Les salicylés :

La sulfasalazine (salazopyrine) est composée de deux molécules, le 5-aminosalicylate (5-ASA) qui est responsable de l'activité thérapeutique, et la sulfapyridine responsable de la majorité des effets secondaires.

Un (1) g de sulfasalazine contient 400 mg de 5-ASA et a une action directe sur les lésions.

Le 5-ASA à une action anti-inflammatoire par plusieurs mécanismes ; stimulation de la production des prostaglandines, une action antiradicaux libres, une réduction de la libération de l'interleukine -1 et une inhibition de la réponse chimiotactique aux leucotriènes.

La mésalazine commercialisée sous le nom (Pentasa) existe en comprimés de 250 mg et 500 mg, sous forme de suspension rectale de 1g et de suppositoires de 1g et aussi sous le nom de (Rowasa) qui existe en comprimés de 250mg et 500mg et aussi en suppositoires de 0,5g.

Le Pantasa libère le 5-ASA dans le duodénum et le côlon et Rowasa libère le 5-ASA dans l'iléon terminal.

L'alsalazine (Dipentum) analogue de la sulfasalazine couplant le 5-ASA à un véhicule autre que la sulfapyridine pour accroître la tolérance.

C'est des gélules de 250mg, libérant le 5-ASA dans le côlon et permettant à plus de 98% de 5-ASA d'arriver dans le côlon après la prise orale.

Les salicylés sont indiqués dans le traitement des poussées de RCUH ainsi que dans le maintien de la rémission [12, 45, 47].

Dans la RCUH distale en poussée, la mésalazine est donnée par voie rectale sous forme de suppositoires, de lavements ou de mousses.

Le 5-ASA est aussi très efficace sous forme de lavements dans la RCUH distale.

Dans les formes plus étendues de RCUH, la Sulfasalazine : 4 à 6g /j par voie orale donne une amélioration clinique en 4 à 6 semaines.

L'association 5-ASA oral à 1,6 g/ l et en lavement (4g, 2 fois/ semaine) donne un taux de maintien en rémission à 12 mois de 72% contre 39% pour le seul 5-ASA oral [63].

#### 8-1-2-Les corticoïdes:

Sont plus efficaces dans le traitement des poussées de RCUH qu'elle que soit sa localisation anatomique.

Les corticoïdes inhibent la production des paramètres de la réaction inflammatoire.

L'hydrocortisone et le prédnisolone par voie générale et rectale à la dose de 40 à 60 mg sont efficaces dans le traitement des poussées de RCUH.

Le metasulfobenzoate de prédonisolone (Solupred) est peu absorbé lors d'administration rectale, de ce fait, il est prescrit en lavement comme suit : 40 mg dissous dans 60 à 100 ml d'eau. Une forme de budésonide à raison de 10mg/j per os a donné une amélioration symptomatique et endoscopique voisine de celle observée avec le prednisolone et surtout une meilleure tolérance [66, 95, 72].

Les corticoïdes, par voie orale (1mg /kg/j de prédnisolone) ou locale restent le traitement de base des poussées de RCUH.

#### 8-1-3-Les immunosuppresseurs :

L'usage de ces médicaments reste marginal dans le traitement de la RCUH.

##### 8-1-3-1-L'azathiopurine (AZA) et 6-mercaptopurine :

C'est deux molécules provoquent une diminution progressive du taux de leucocytes, une macrocytose et inhibent les différents mécanismes immunologiques. La posologie est de 2,5 mg/kg/j pour L'AZA et de 1,5mg/kg/j pour la 6-MP.

Leur indication se limite à une RCUH rebelle au traitement, pour laquelle une proctocolectomie totale apparaît comme un geste excessif [102, 153, 190, 191].

##### 8-1-3-2-Ciclosporine :

Leur indication se limite au traitement des formes sévères de RCUH résistant aux corticoïdes. Sa posologie est de 4mg/ kg/j [74,170].

Dans les formes réfractaires de RCUH est utilisé le Métsulfobenzoate de prednisolone (Solupred) en application topique, à la dose de 40 mg dissous dans 60 à 100 ml d'eau/j. L'association de 5-ASA (2g) et du butyrate (100 ml, 80 mmol/L en solution) en lavements, 2 fois/j, peut également être utilisée [212].

#### 8-2-Traitement chirurgical :

La proctocolectomie totale avec confection d'un réservoir iléal anastomosé à l'anus, est l'intervention la plus fréquemment utilisée en cas d'échec du traitement médical des poussées graves de RCUH ainsi de celui de ses formes chroniques invalidantes.

Ce geste chirurgical peut être pratiqué au cours des hémorragies profuses et des perforations ainsi que dans le traitement des dysplasies sévères.

La proctocolectomie permet à la fois la guérison définitive de la maladie et la conservation d'un anus artificiel [78, 153, 162, 199].

## **PARTIE PRATIQUE**

## **1- Problématique et Objectifs de notre travail :**

La RCUH est une maladie inflammatoire du colon dont les étiologies ne sont pas très bien recensées. Plusieurs études ont permis de soupçonner l'amœbose d'être à l'origine du processus inflammatoire de la maladie ou du moins des complications et rechutes de la RCUH.

Jusqu'à aujourd'hui, plusieurs questions restent posées auxquelles nous allons essayer de trouver des réponses et solutions.

L'amœbose est-elle à l'origine d'un processus inflammatoire déclenchant ou favorisant une RCUH ?

L'amœbose serait-elle une complication ou du moins une pathologie associée à la RCUH ?

En Algérie, la pathologie colique d'origine parasitaire ou inflammatoire constitue le motif le plus fréquent de consultation médicale.

Notre étude prospective a pour objectifs de :

- Déterminer dans quelle proportion l'amœbose est à l'origine de la RCUH ou de ses poussées.
- Evaluer par des tests statistiques l'association de ces deux pathologies en calculant l'Odds ratio.
- Définir les critères de guérison de l'amœbose chez des malades atteints de RCUH.

De ce fait, une équipe pluridisciplinaire a été sensibilisée pour atteindre les différents buts. Par ailleurs plusieurs techniques biologiques ont été mises au point pour confirmer les diagnostics à savoir : les cultures de selles sur le milieu de Dobell et Laidlaw et le Test ELISA corp-Antigène.

## **2-Patients et Méthodes :**

### 2-1-Population étudiée :

L'échantillon de notre étude est représenté par l'ensemble des malades adressés par les différentes consultations d'hépatogastro-entérologie, médecine interne, maladies infectieuses ainsi que celles des établissements privés après avoir sensibilisé nos confrères à propos des objectifs de ce travail, durant la période allant de janvier 2007 au 31 Décembre 2011.

### 2-2-Population source :

Une population de 500 patients présentant des diarrhées glairo-sanguinolantes a été recrutée durant la période d'étude.

### 2-3-Critères d'inclusion :

Le seul critère d'inclusion dans notre étude est : tout malade présentant une diarrhée glairo-sanguinolente avec ou sans antécédent de Recto-Colite Ulcéro-Hémorragique (RCUH) dont l'âge était supérieur à 16 ans quelque soit le sexe.

### 2-4-Critères d'exclusion :

Ont été exclu de notre étude les malades aux antécédents de :

- Colite radique.
- Colite ischémique.
- Ulcère solitaire du rectum.
- Lymphome ou cancer intestinal.
- Maladie cœliaque.
- Tuberculose intestinale.
- Maladie de Crohn.

### 2-5-Collecte des données :

Une fiche de renseignements a été pré établie et remplie pour chaque malade se présentant au laboratoire sur laquelle sont mentionnés :

- Nom et prénoms, âge, adresse, numéro du téléphone et profession du malade ainsi que ses antécédents médico-chirurgicaux.
- L'observation clinique.
- Les résultats des examens biologiques (bilan biochimique, coproculture et parasitologie des selles).

-Résumé de comptes rendus des examens radiologiques : abdomen sans préparation (ASP), rectoscopie, coloscopie, fibroscopie digestive haute ainsi qu'un transit baryté.

-Conclusions de l'examen anatomopathologique des pièces biopsiées.

-Résultats des cultures de selles.

-Recherche des copro-Ag par la technique ELISA copro-Ag.

Cette fiche de renseignements (questionnaire) a été validée après une enquête pilote.

(Voir annexe n°12).

## 2-6-Méthodes :

### 2-6-1-Collecte des échantillons :

Les selles sont recueillies au laboratoire dans des récipients secs et propres et observées immédiatement après leurs émissions.

### 2-6-2-Examen direct :

-Un examen macroscopique consistant à rechercher des éléments anormaux visibles à l'œil nu présents dans la selle à savoir : la présence du mucus, glaire, sang, éléments parasitaires et autre. On note aussi la consistance et la couleur de la selle.

-Un examen microscopique comportant :

- Un examen direct à l'état frais de selles glairo-sanguinolentes dans une goutte d'eau physiologique : permettant d'observer vivants les parasites et leur mobilité principalement les formes végétatives des protozoaires.
- Un examen au lugol à 5% : permettant de colorer la chromatine des noyaux des kystes de certains parasites et les organites cellulaires iodophiles (Voir annexe n°1).

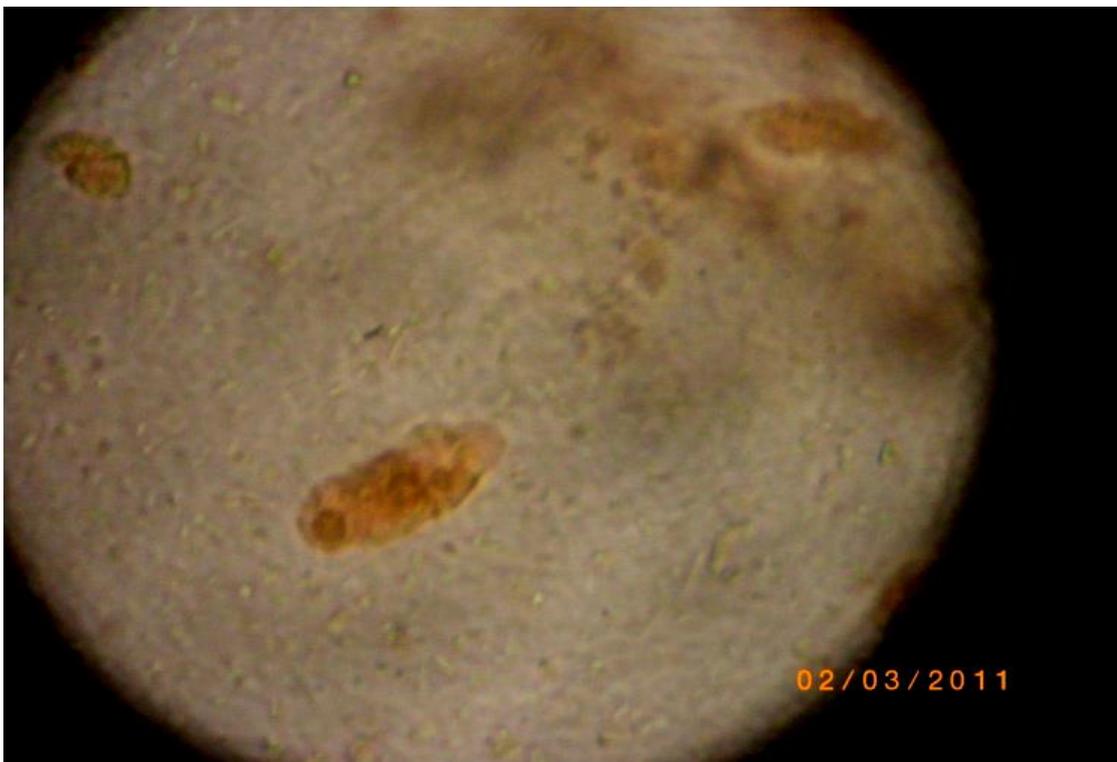
Pour cela on dépose à chacune des extrémités d'une lame porte-objet une goutte d'eau physiologique et une goutte de lugol, dans lesquelles on délaye un petit fragment de la selle (glairo-sanguinolente) prélevée à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur suivant la consistance du prélèvement. On recouvre chaque préparation d'une lamelle.

Dans certains cas, on a utilisé la coloration de Bailenger extemporanée qui consiste à remplacer le lugol par un colorant faisant ressortir le cytoplasme des amibes en rouge et les structures nucléaires en noir (Voir annexe n°5). Cette technique a été utilisée pour les selles comprenant des formes suspectes.

Les étalements ne doivent pas être ni trop chargés ni pauvres en matières fécales pour une meilleure observation.

La lecture se fait en zig-zag, de gauche à droite et de haut en bas à l'objectif X10 puis X40 si le grossissement de l'objet est insuffisant pour visualiser les caractères morphologiques.

Photo n° 3 : Forme végétative d'*Entamoeba histolytica* hématophage.  
Grossissement X 40



Source : photo prise au laboratoire de parasitologie du CHU de Constantine

### 2-6-3-Méthodes de concentration :

Quelque soit le résultat de l'examen direct on a pratiqué à tous les prélèvements une concentration. Elle a pour but de diminuer les débris des matières fécales et réunir dans un faible volume les éléments parasitaires.

Les méthodes de concentration utilisées sont les techniques diphasiques :Bailenger pour les selles fraîches et Ritchie modifiée pour les selles formolées.

Le principe de base de ces techniques est de séparer les parasites des autres particules suivant la balance hydrophile-lipophile de chaque élément. Après centrifugation les débris fécaux lipophiles vont se retrouver au niveau de la phase organique représentée par de l'éther et les parasites vont se déposer au niveau du culot de centrifugation.

Parmi les nombreuses techniques diphasiques c'est celle de Bailenger qui a été utilisée dans notre étude, utilisant le tampon acéto-acétique à pH 5 comme solvant aqueux et l'éther (Voir annexe n°2).

Pour les selles formolées, cette technique a été remplacée par celle de Ritchie simplifiée dans laquelle le tampon acéto-acétique est remplacé par de l'eau formolée à 10%(Voir annexe n°3).

En cas de selles positives nous avons opté pour la technique de concentration au cop-color qui met en évidence les kystes d'amibes en les colorant en jaune,jaune-orange sur fond bleu (Voir annexe n°13).

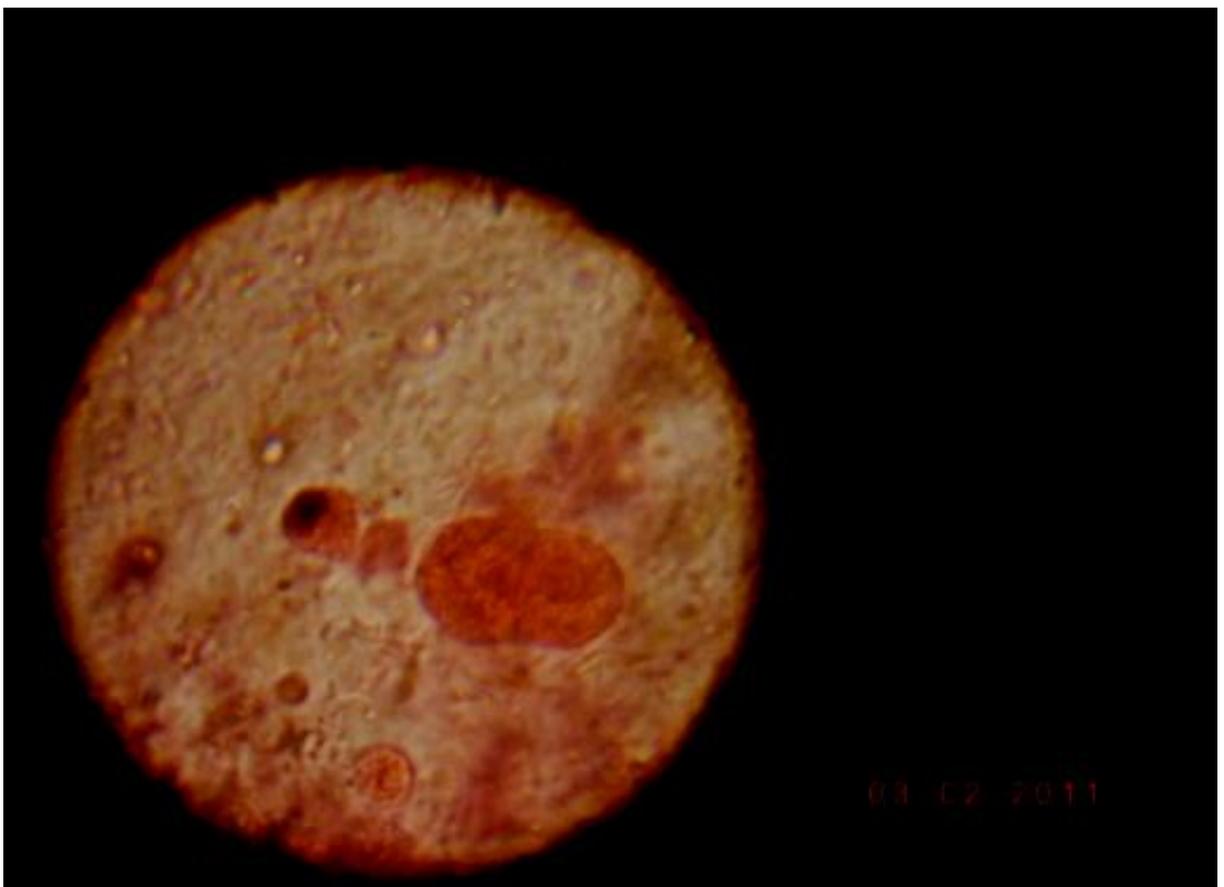
#### 2-6-4-Techniques de coloration :

Les colorations ont concernées toutes les selles positives. Elles permettent de faire ressortir certaines structures parasitaires invisibles à frais afin de faire le diagnostic différentiel entre les amibes du tube digestif.

Nous avons pratiqué deux colorations :

- La coloration au MIF (Merthiolate Iode Formol) qui colore le cytoplasme des formes végétatives et kystiques des amibes en rouge clair alors que la chromatine des noyaux apparait en brun. (Voir Annexe n° 14).
- La coloration de Kohn (Noir Chlorazol) : elle colore le cytoplasme des amibes en gris clair sur fond grisâtre et les structures nucléaires en noir (Voir annexe n°5).

Photo n° 2 : Forme végétative  
d'Entamoebahistolytica/Entamoebadispar (colorée au MIF).  
Grossissement X100



Source : Photo prise au laboratoire de parasitologie du CHU de Constantine

#### 2-6-5-Les cultures :

La mise en culture des selles nous a paru une étape essentielle pour le diagnostic de l'amébose mais qui n'a jamais été pratiquée dans notre laboratoire. Le milieu utilisé a été celui de Dobell-Laidlaw (Voir annexe n° 09-10).

Les selles négatives à l'examen direct et après concentration, ont été toutes cultivées systématiquement sur milieu de Dobell-Laidlaw.

Avant cette étape, chaque prélèvement de selles a été scindé en deux pots. Un pour une éventuelle culture et l'autre destiné à être congelé et qui serait testé au réactif ELISA pour mettre en évidence les Ag d'*Entamoeba histolytica* si le premier échantillon est revenu en faveur d'une amibe *histolytica* après mise en culture.

La préparation des milieux de culture est faite de la manière suivante :

Préparation de la phase solide: nous avons procédé nous même aux prélèvements de sang sur des chevaux et parfois même en cas d'absence sur des ânes (absence de sérum de cheval dans le commerce).

Phase liquide constituée par le sérum de cheval dilué dans une solution de Ringer.

L'amidon de riz a été rajouté au moment de l'ensemencement.

Avant l'ensemencement, il faut stériliser les instruments même s'il s'agit de cultures de selles contenant de la flore bactérienne intestinale. Les bactéries présentes dans le milieu sont pour la plupart du temps utiles. Cependant, il serait tout à fait néfaste à la culture d'introduire de nouveaux germes, qui rapidement submerge la culture et entraîne la perte des amibes.

Ensemencement : les milieux de cultures sont tout d'abord réchauffés au voisinage de 37°C avant leur utilisation.

On prélève, en plusieurs points, à l'aide d'une spatule rigide, une parcelle de selle à examiner à l'aide d'une pipette (à laisser refroidir après stérilisation à la flamme).

On porte le prélèvement au fond du tube, sans remettre tout l'amidon en mouvement.

Une fois ensemencés, les tubes sont placés dans l'étuve à 37°C.

Lecture : une première lecture est faite au bout de 24 heures puis une seconde lecture 48 plus tard. On prélève un peu de liquide au contact du sédiment d'amidon de riz et du plan de sérum coagulé.

L'identification des parasites est faite par l'examen direct et l'emploi des techniques de colorations.

#### 2-6-6-Recherche des copro-antigènes :

Cette recherche d'antigène est destinée aux selles présentant des formes d'*Entamoeba histolytica* et/ou *dispar* et ne présentant pas d'hématies intracytoplasmiques.

La technique ELISA copro-antigène (E. HISTOLYTICAI) utilise pour la détection rapide de l'adhésine d'*Entamoeba histolytica* contenue dans les spécimens fécaux (Galactose/N acetyl Galactosamine : hétéromère de 260 KDa constitué d'une sous-unité lourde de 170 KDa et d'une autre légère de 31 – 35 KDa, associées de façon non covalente à une sous-unité intermédiaire de 150 KDa). D'après Merens A. et al, la sensibilité de cette technique est égale à celle

de la PCR et a en plus l'avantage d'utiliser un matériel peu coûteux (Voir annexe n°11).

Dans notre travail, nous avons respecté les consignes du fabricant (Voir annexe n° 11) et travaillé sur des selles fraîchement émises et d'autres congelées.

La technique à été réalisée en plusieurs étapes :

-Mélanger au vortex l'échantillon de selles à tester (laisser décongeler les spécimens qui ont été congelés).

-Préparer un tube pour la dilution de chaque échantillon de selles et y attribuer un numéro.

-Ajouter 400 µl de diluant à chaque tube.

-Mélanger les échantillons au vortex (pour les selles liquidiennes, transférer 400 µl de spécimen de selles au tube après l'avoir bien mélanger au vortex).

-Mélanger les spécimens une 2<sup>e</sup> fois pendant 10 secondes avant de les transférer au puits de microtitration.

-Pour chaque analyse, ont été réservés deux puits de contrôle l'un positif et l'autre négatif.

-Rajouter une goutte (50 µl) de conjugué (chapeau rouge) au deux puits de contrôle ainsi qu'aux puits pour les échantillons de patients.

-Ajouter une goutte (50 µl) de réactif pour contrôle positif (chapeau noir) au puits pour contrôle positif et 100µl de contrôle négatif au puits pour contrôle négatif.

-Transférer 200 µl de chaque spécimen dilué au puits d'analyse.

-Couvrir les puits (la plaque) d'une feuille d'adhésine et l'incuber à la température du laboratoire pendant deux heures.

-Après l'étape de nettoyage, ajouter deux gouttes (100 µl) de substrat (chapeau bleu) à chaque puits, puis tapoter doucement les puits au départ puis cinq minutes plus tard.

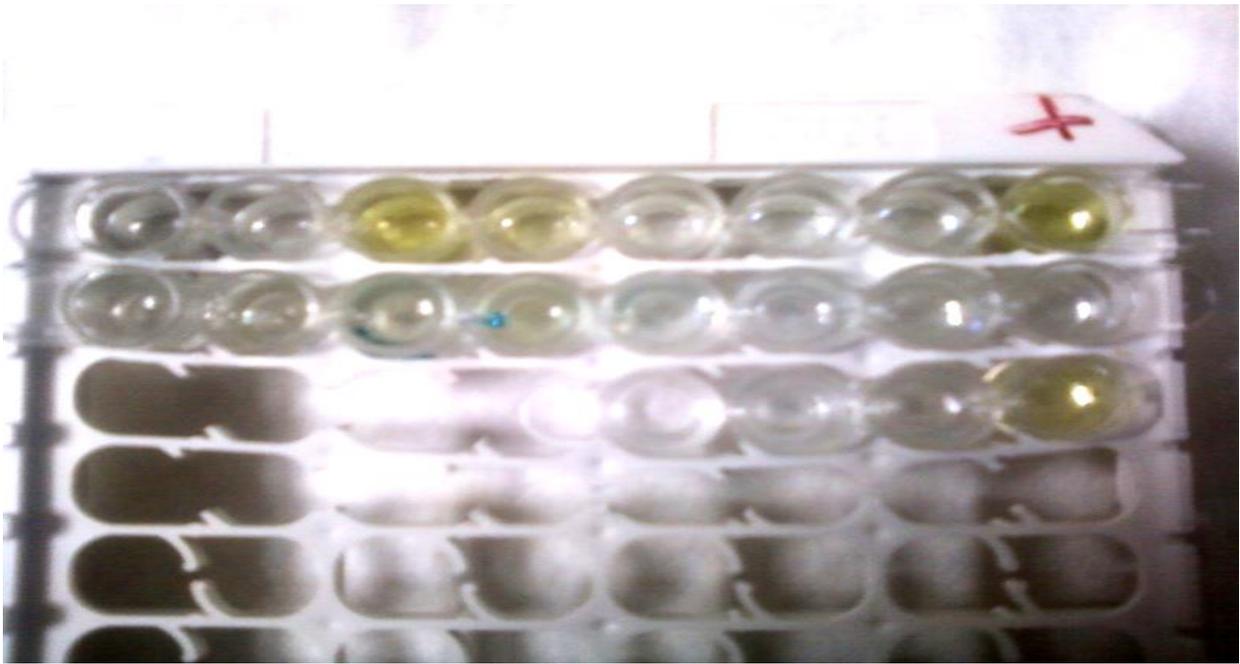
-Incuber les puits à température ambiante pendant 10 minutes.

-Ajouter une goutte (50 µl) de solution d'arrêt (chapeau jaune) à chaque puits.

-Tapoter les puits (plaque) doucement puis attendre deux minutes avant la lecture.

L'addition de la solution d'arrêt convertit la couleur bleue en une couleur jaune qui peut être dosée en mesurant la densité optique à 450 nm par un lecteur microplaque ELISA (Voir : Photo n° 5).

Photo n° 5 : Résultats du test ELISA copro-Ag (les échantillons positifs sont représentés en jaune).



Source : Photo prise au laboratoire de parasitologie du CHU de Constantine

Le test été validé quand la densité optique entre témoin positif et témoin négatif était supérieure à 0,5 et était considéré comme positif tout échantillon dont la densité optique était supérieur à 0,05.

#### 2-6-7- Etude bactériologique des selles :

Pour éliminer les diarrhées bactériennes chez les malades aux antécédents de RCUH qui ont présenté des diarrhées glairo-sanguinolentes, un examen bactériologique a été réalisé sur les échantillons de selles de ces patients.

Au laboratoire de microbiologie, les selles de ces malades sont incubées à 37° sur milieu HECTOEN. Après 24 heures, les germes sont identifiés par examen macroscopique et microscopique (coloration de Gram) des cultures.

#### 2-6-8-Rectosigmoidoscopie :

La rectosigmoidoscopie a été utilisée pour confirmer le diagnostic de RCUH chez des patients :

- Aux antécédents de RCUH associée à une amœbose présentant encore des diarrhées glairo-sanguinolentes après avoir été traités par du métronidazoles.
- Présentant une amœbose isolée et ayant gardé la même symptomatologie après le traitement.
- Ceux dont la parasitologie des selles était négative.

L'examen endoscopique a utilisé un endoscope souple afin :

- d'explorer tout le colon pour apprécier la topographie des lésions et juger de leur sévérité.

- de prélever des fragments de tissus pour un éventuel examen anatomopathologique.

- de suivre l'évolution de la cicatrisation des muqueuses surtout après traitement.

Une endoscopie interventionnelle peut être aussi indiquée dans certaines RCUH sténosantes.

En cas de biopsies, ces dernières sont adressées au laboratoire d'anatomopathologie pour confirmer ou infirmer une éventuelle RCUH.

#### 2-6-9-Anatomo-pathologie :

L'examen anatomo-pathologique a été utilisé pour renforcer le diagnostic de RCUH soupçonné lors de l'examen endoscopique.

Parvenu en anatomo-pathologie, les prélèvements sont mis dans un flacon contenant du formol à 10% pendant quelques heures puis mises en cassettes numérotées.

Comme deuxième étape, on fait passer pendant 16 heures les prélèvements dans un appareil constitué de bacs contenant des solvants à savoir, l'éthanol (déshydratation),

le xylène (éclaircissement) et la paraffine (imprégnation).

Après, mise des prélèvements dans un moule sur lequel est mentionné un numéro.

La coupe des biopsies pratiquée grâce à un microtome, puis le produit est étalé sur lame. Les lames sont colorées au HES (hématoxyline éosine safran).

Le montage des lames consiste à fixer lame et lamelle par une résine.

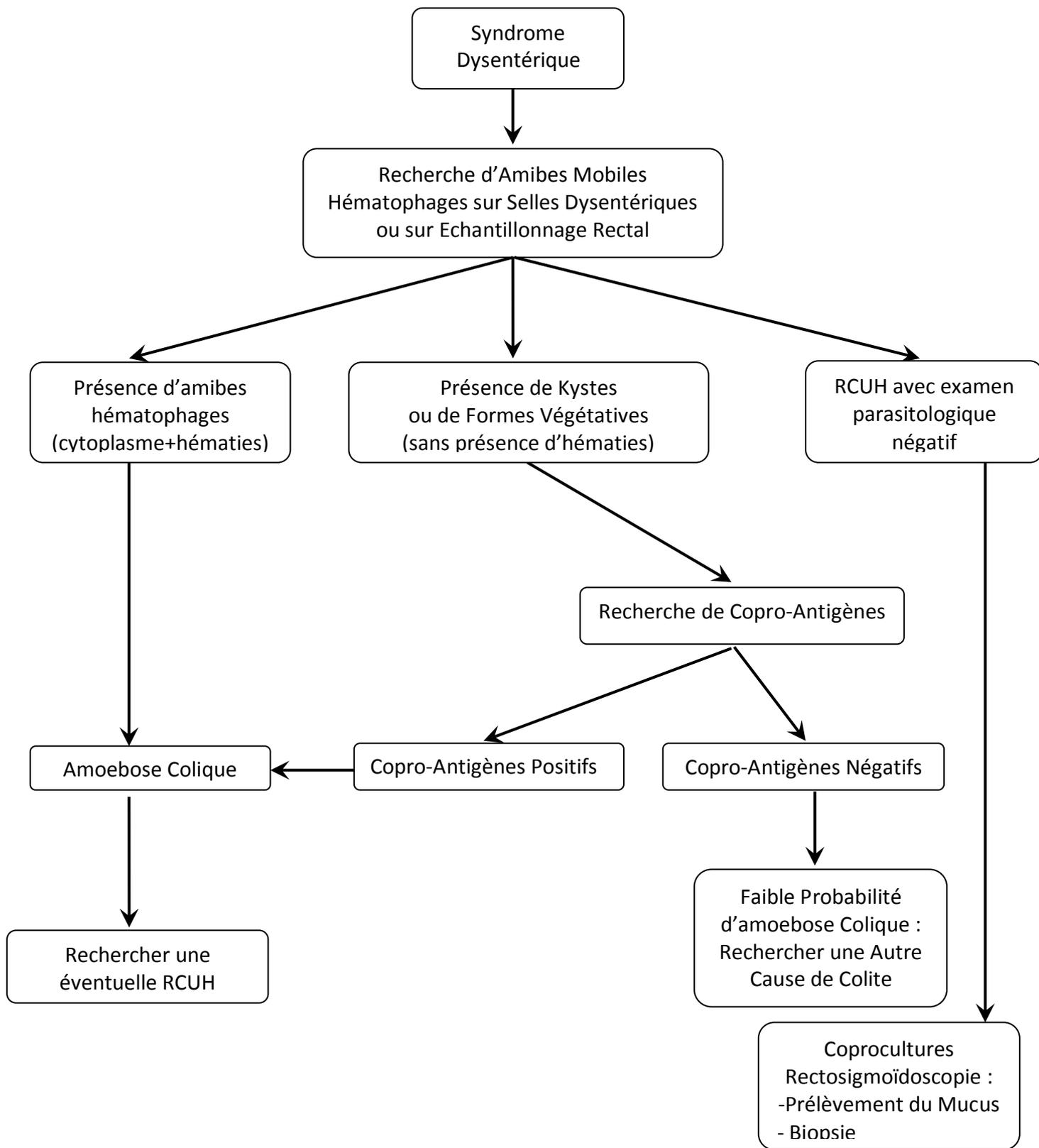


Figure n° 3 : Algorithme diagnostique devant une suspicion clinique d'amoebose colique SOURCE : Merens A. INTERET ET LIMITES DU DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE DE

L'AMIBIASE. Med Trop 2005 : 65 :167-175

#### 2-6-10- Suivi thérapeutique :

Tous les malades présentant une amœbose confirmée ont été traité par le métronidazole à raison de 30 à 40 mg/Kg/j pendant 10 jours par voie orale. La voie intraveineuse a été préconisée aux malades qui n'ont pas pu supporter les effets secondaires du traitement oral.

Des parasitologies des selles de contrôle ont été pratiquées à un et sept jours après l'arrêt du traitement.

Tous les malades dont les contrôles sont négatifs et qui présentent encore des signes cliniques (diarrhées glairo-sanguinolentes) ont été adressés au service de gastro-entérologie pour recto-coloscopie avec biopsies.

Parmi ces malades, certains aux antécédents de RCUH ont développé une poussée de leur maladie inflammatoire associée donc à une amœbose.

Les autres patients, leur amœbose a été inaugurale de leur RCUH.

Les malades dont les examens parasitologiques des selles étaient négatifs ont été dirigés vers le service de gastro-entérologie pour les mêmes examens cités ci-dessus. C'est ainsi que des malades connus pour leur antécédents de RCUH étaient en fin de compte en poussée, d'autres ont découvert leur recto-colite. Les autres malades restant ont présentés d'autres étiologies diverses (maladie de Crohn, tuberculose, maladie cœliaque, cancers digestifs etc..).

#### 2-6-11-Méthodes statistiques :

Il s'agit d'une étude épidémiologique transversale ayant un double objectif : descriptive et analytique.

Pour notre étude statistique, a été utilisé l'Excel 2007 comme classeur des données et analyse ainsi que le logiciel Epi info3 et Epi info7.

Les résultats ont été présentés sous forme de tableaux et de diagrammes avec l'étude de la distribution des fréquences selon les caractéristiques épidémiologiques des personnes, de temps et du lieu selon les antécédents, les caractéristiques cliniques, biologiques, radiologiques, anatomopathologiques et parasitologiques. Des indicateurs de morbidité étaient calculés telle que la prévalence de l'amibiase et de la RCUH à Constantine.

Nous avons calculé le test statistique comme le Chi 2, le petit (p) et l'odds ratio pour analyser la relation de l'amibiase et de la RCUH.

- $\chi^2$  (Khi carré) ou Chi carré : Test de liaison permettant de vérifier s'il existe une relation entre le risque d'exposition et la maladie.

Si  $> 3,84$  : Liaison statistiquement significative entre la maladie et le risque d'exposition et il y a moins de 5 chances sur 100 que la distribution résulte du hasard, c'est-à-dire alpha (ou la probabilité pour le  $X^2$ ) est égale ou inférieure à 0,05 pour un nombre de degrés de liberté (ddl) égal à (1) ce qui est le cas pour cet outil de calcul statistique de (deux lignes et deux colonnes).

Selon la table du  $X^2$  avec ddl = 1 :

$-X^2 \geq 0,0158$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,90$

$-X^2 \geq 0,445$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,50$

$-X^2 \geq 1,074$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,30$

$-X^2 \geq 1,642$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,20$

$-X^2 \geq 2,706$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,10$

$-X^2 \geq 3,841$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,05$

$-X^2 \geq 5,412$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,02$

$-X^2 \geq 6,635$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,01$

$-X^2 \geq 10,827$  , la probabilité alpha (ou degré de signification p)  $\leq 0,001$

La formule utilisée dans cet outil pour calculer  $X^2$  est une formule personnelle :

$$X^2 = \{ [A * T - (A+B) * (A+C)]^2 / T \} * [1 / (A+C) + 1 / (B+D)] * [1 / (A+B) + 1 / (C+D)]$$

Il existe d'autres formules comme :

$$X^2 = [(A * D - B * C)^2 * T] / [(A+B) * (C+D) * (A+C) * (B+D)]$$

-Odds Ratio (Rapport des cotes) :

$$OR \text{ (ou RC)} = A * D / B * C$$

Utilisé dans les enquêtes de cohorte et dans les enquêtes de type (cas/témoins) marquées par l'impossibilité de mesurer les risques de la maladie chez les sujets exposés et les non-exposés ; dans ces situations, l'Odds Ratio va permettre d'estimer le risque relatif.

L'Odds Ratio (OR) est toujours supérieur au risque relatif (RR), sauf si la maladie est rare et le risque relatif (RR) n'est pas très élevé, dans ces cas-là, l'OR et le RR sont très voisins.

-Prévalence d'une maladie (P) :

A un moment donné, la prévalence d'une maladie, c'est la proportion des individus atteints de la maladie étudiée par rapport au nombre total d'individus (malades et non malades) dans la population étudiée.

Elle est calculée par la formule suivante :

$$P = (A+C) / (A+B+C+D) = (A+C) / T$$

L'intervalle de confiance (IC) à 95 % pour (P) =  $P \pm \{ [P(1-P)] / T \}^{1/2}$

-L'incidence d'une maladie (I) :

Pendant un intervalle de temps donné, l'incidence d'une maladie, c'est la proportion des individus nouvellement atteints par la maladie étudiée par rapport au total d'individus présents dans la population étudiée (qui peut être un an, une décennie...).

### 3- Résultats :

Au cours des cinq années, cinq cents malades présentant des diarrhées glairo-sanguinolente sont été colligés. Une démarche diagnostique a été adoptée afin de prendre en charge correctement les patients. Parmi eux 85 avaient des antécédents de RCUH (étaient connus d'être atteints de RCUH).

**Tableau n° 3 : Répartition des malades suivant leurs antécédents**

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
Avec Antécédents de RCUH	85	17,0%
Sans antécédents de RCUH (sans diagnostic précis)	415	83,0%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100%</b>

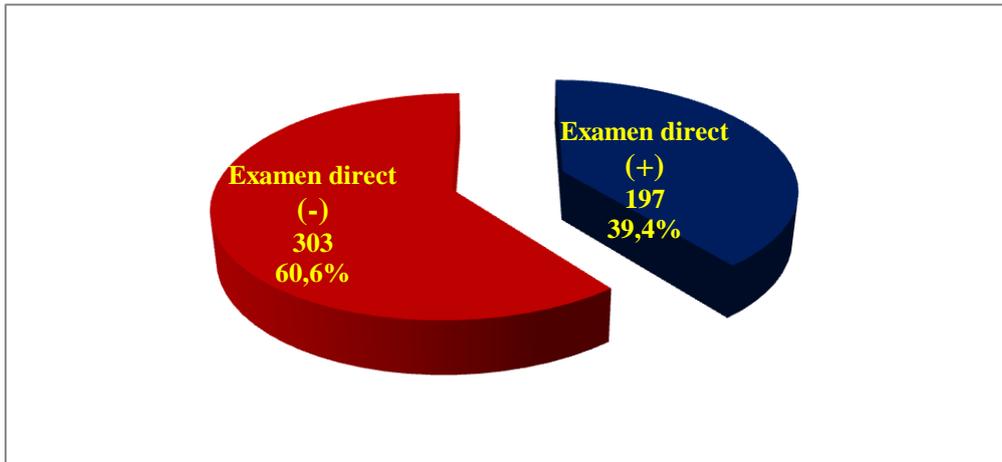
$p < 10^{-6}$

3-1-Résultats des examens directs des selles (à l'état frais et après coloration):

**Tableau n° 4 : Résultats des examens directs des selles**

<b>Technique</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
Examen direct (+)	197	39,4%
Examen direct (-)	303	60,6%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100%</b>

$p < 4 \times 10^{-6}$



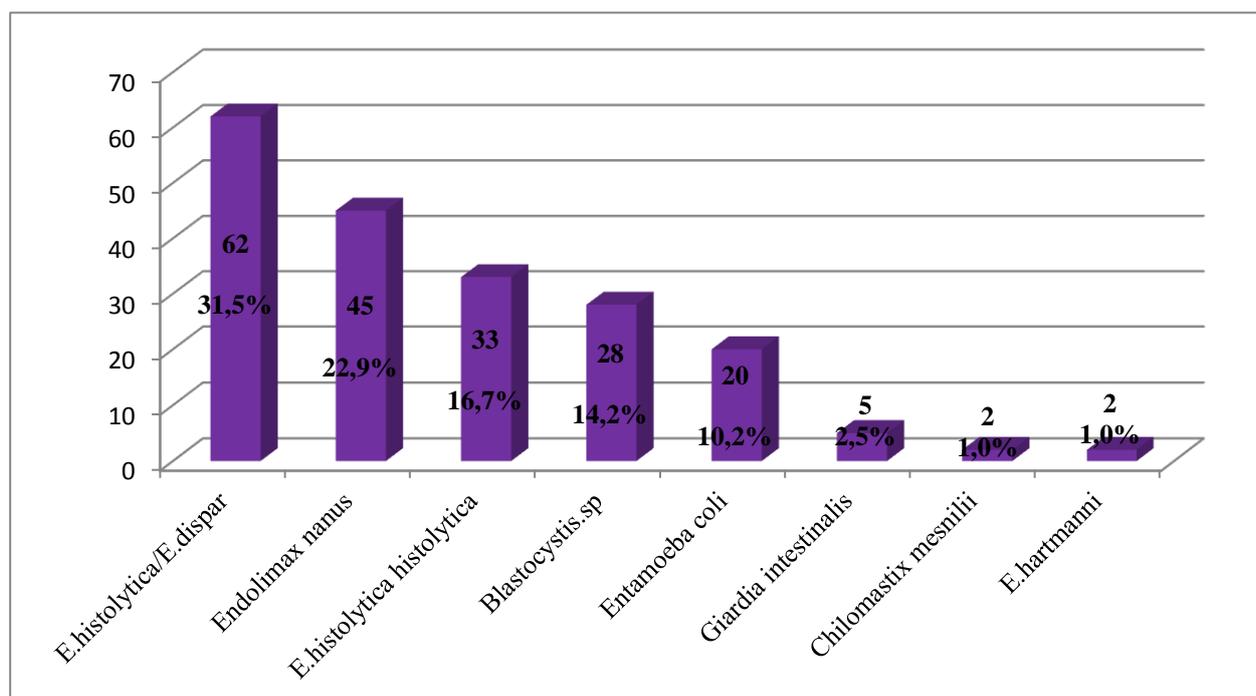
**Graphe n°1** : Résultats des examens directs des selles

Sur les 500 échantillons de selles glairo-sanguinolentes acheminées vers notre laboratoire, 197 se sont avérées positives après examen direct avec un taux de 39,4%.

### 3-2-Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct:

**Tableau n° 5 :** Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct

Parasites isolés	Nombres de cas	Taux
<i>E.histolytica/E.dispar</i>	62	31,5%
<i>Endolimax nanus</i>	45	22,9%
<i>E.histolytica histolytica</i>	33	16,7%
<i>Blastocystis.sp</i>	28	14,2%
<i>Entamoeba coli</i>	20	10,2%
<i>Giardia intestinalis</i>	5	2,5%
<i>Chilomastix mesnili</i>	2	1,0%
<i>E.hartmanni</i>	2	1,0%
<b>Total</b>	<b>197</b>	<b>100%</b>



**Graph n° 2 :** Répartition des résultats selon le parasite isolé à l'examen direct.

Sur un total de 197 selles positives à l'examen direct (à l'état frais et après coloration), le complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* a été isolé chez 62 malades.

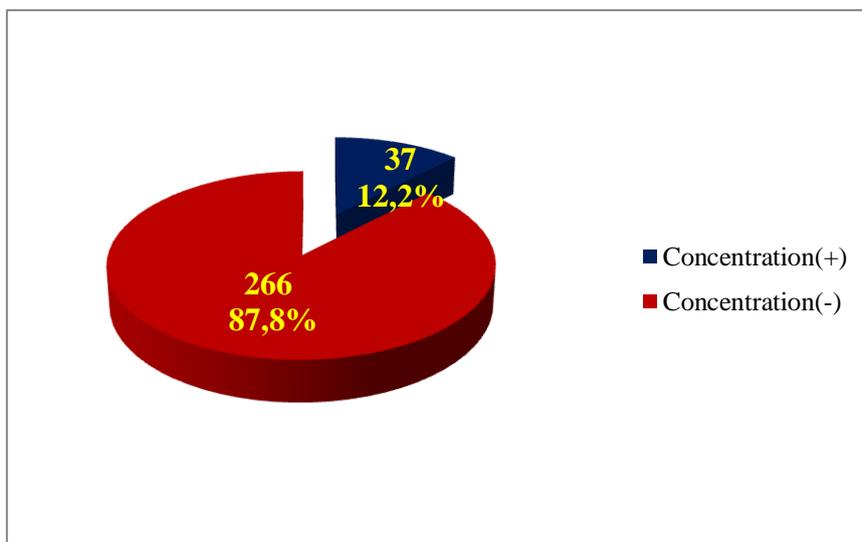
Le diagnostic d'amébose intestinale a été posé à l'examen direct chez 33 patients par la mise en évidence de formes hématophages.

### 3-3- Résultats après concentration des selles :

**Tableau n° 6:** Résultats après concentration des selles

<b>Technique</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
Concentration(+)	37	12,2%
Concentration(-)	266	87,8%
<b>Total</b>	<b>303</b>	<b>100%</b>

$p < 10^{-6}$



**Graphique n° 3 :** Résultats après concentration des selles

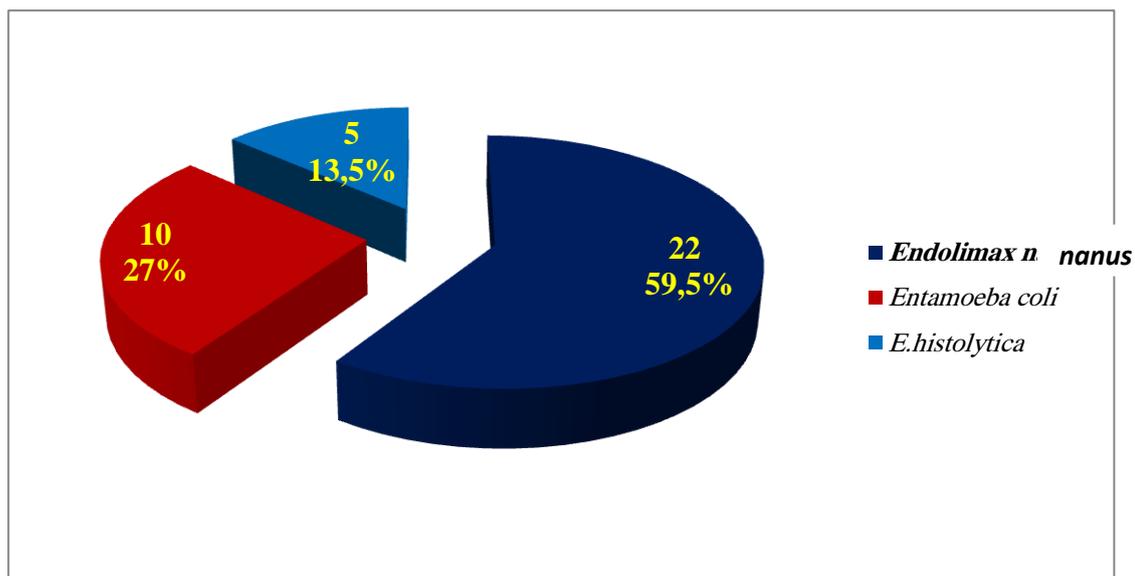
La concentration des selles négatives à l'examen direct, a permis de retrouver des formes parasitaires et redresser le diagnostic dans 37 selles, soit donc 12,2%.

### 3-4-Répartition des parasites retrouvés après concentration:

**Tableau n °7** : Répartition des parasites retrouvés après concentration

Parasites isolés après concentration des selles	Nombre de cas	Taux
<i>Endolimax nanus</i>	22	59,5%
<i>Entamoeba coli</i>	10	27,0%
<i>E.histolytica/E.dispar</i>	5	13,5%
<b>Total</b>	37	100%

p = 14



**Graphe n°4** : Répartition des parasites retrouvés après concentration

Les parasites isolés après l'emploi des techniques de concentration étaient répartis de la manière suivante :

- *Endolimax nanus* dans 22 échantillons soit 59,5%.
- *Entamoeba coli* dans (10) dix échantillons
- *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* dans 5 échantillons de selles soit 13,5%.

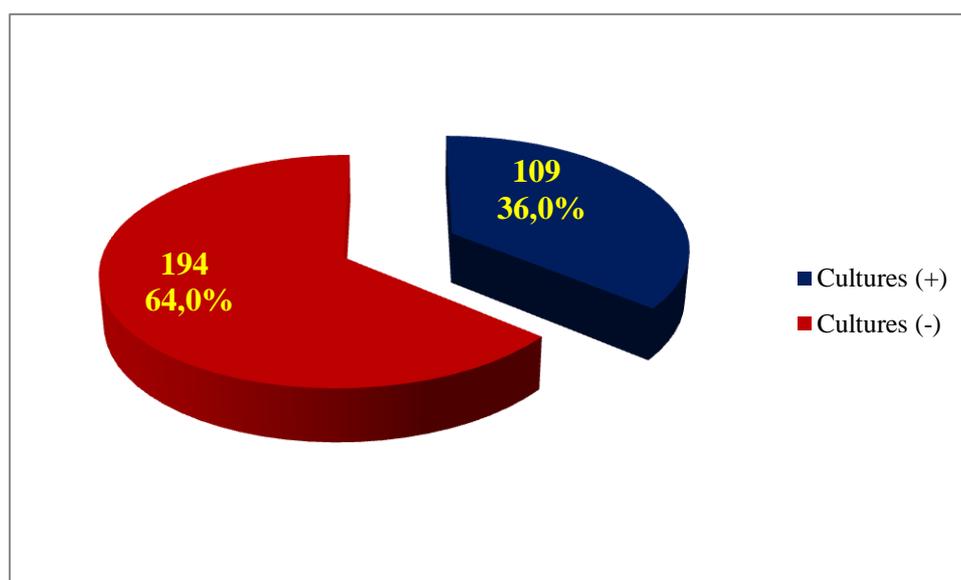
Tous les parasites retrouvés après concentration étaient des amibes sous leurs formes kystiques.

### 3-5-Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct :

**Tableau n° 8** : Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct

Technique	Nombre de cas	Taux
Cultures (+)	109	36,0%
Cultures (-)	194	64,0%
<b>Total</b>	<b>303</b>	<b>100%</b>

$$p = 2 \times 10^{-6}$$



**Graphique n° 5** : Résultats des cultures des selles négatives à l'examen direct

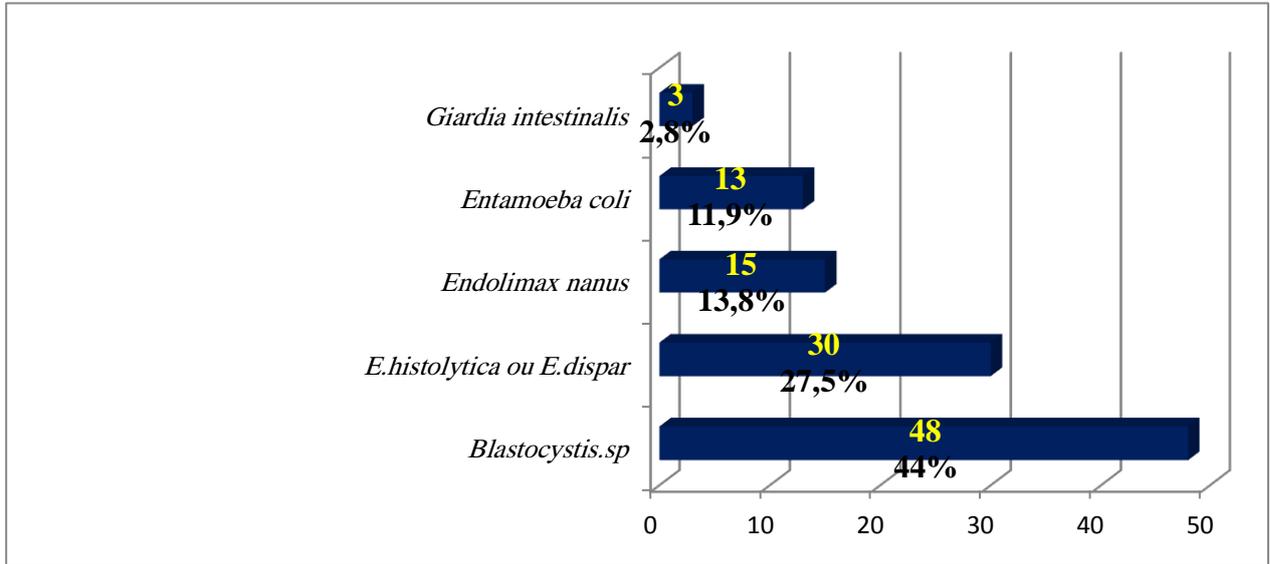
Parmi les 303 selles négatives à l'examen direct, 109 d'entre elles étaient positives après cultures sur milieu de Dobell et Laidlaw, représentant un taux non négligeable de 36%.

### 3-6-Répartition des parasites retrouvés après cultures :

**Tableau n° 9** : Répartition des parasites retrouvés après cultures

Parasites isolés après cultures des selles	Nombre de cas	Taux
<i>Blastocystis.sp</i>	48	44,0%
<i>E.histolytica ou dispar</i>	30	27,5%
<i>Endolimax nanus</i>	15	13,8%
<i>Entamoeba coli</i>	13	11,9%
<i>Giardia intestinalis</i>	3	2,8%
<b>Total</b>	<b>109</b>	<b>100%</b>

p = 5



**Graphe n° 6 :** Répartition des parasites retrouvés après cultures

Le *Blastocystis.sp* a été le parasite le plus retrouvé dans les cultures avec un taux de 44%.

Le nombre d'*Entamoeba histolytica* ou *dispar* après cultures était de 30 selles.

**Tableau n° 10 :** Nombre d'amibes appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* selon les techniques de diagnostic utilisées :

Technique utilisée	Complexe <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i> Nombre de cas	Taux
Examen direct	62	63,9%
Concentration	5	5%
Cultures	30	31%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

Au total, toutes techniques confondues, nous avons récolté 97 complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*.

3-7-Répartition des malades aux antécédents de RCUH (connus d'être atteints de RCUH) associée ou non à une amœbose :

**Tableau n° 11** : Répartition des malades aux antécédents de RCUH (connus d'être atteints de RCUH) associée ou non à une amœbose:

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
RCUH Amœbose(+)	39	45,9%
RCUH Amœbose(-)	46	54,1%
<b>Total</b>	85	100%

p = 45

Parmi les patients aux antécédents de RCUH (85cas), 39 ont développé une amœbose, représentant un taux de 45,9%.

3-8-Répartition des malades sans antécédents de RCUH (sans diagnostic précis) :

**Tableau n°12** : Répartition des malades sans antécédents de RCUH (sans diagnostic précis) présentant ou non une amœbose

<b>Patients sans ATCD de RCUH</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
présentant une Amœbose	36	8,7%
Ne présentant pas d'Amœbose	379	91,3%
<b>Total</b>	415	100%

p < 10<sup>-6</sup>

Les malades sans antécédents (sans diagnostic précis) de RCUH ayant présenté une amœbose étaient au nombre de 36 cas.

Les patients présentant des selles glairo-sanguinolentes et n'ayant aucun rapport avec l'amœbose ou la RCUH étaient de 379 cas.

Après traitement des 36 malades présentant une amœbose et sans antécédents de RCUH (mais non connus atteints de RCUH), seuls six (6) patients n'ont pas répondu au traitement ; ces derniers ont bénéficié alors d'une rectoscopie de contrôle qui a objectivé une RCUH évolutive.

Ce qui a augmenté le nombre de patients atteints de RCUH à 91 (85+6) cas.

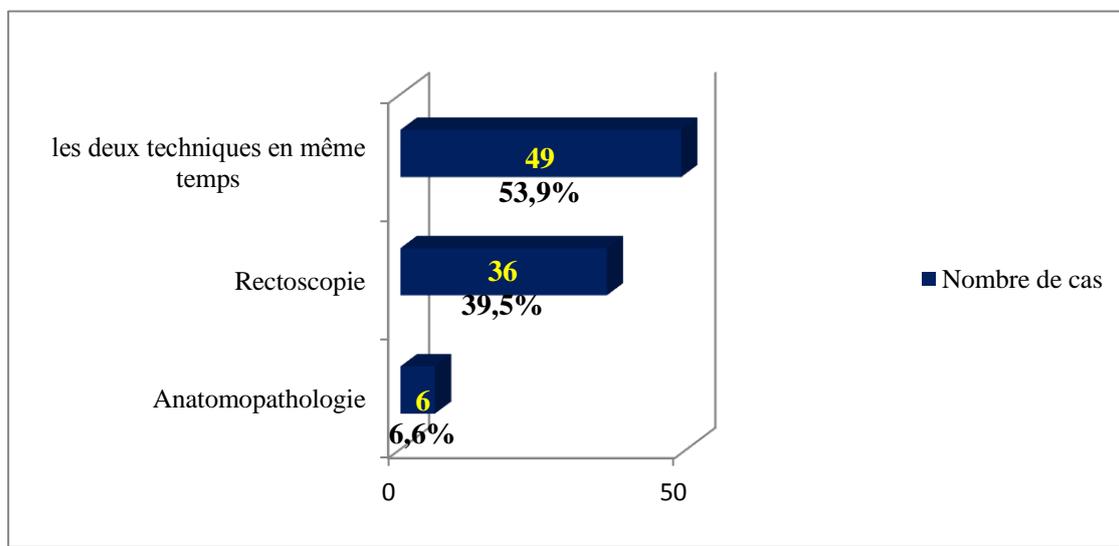


### 3-9-Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH :

**Tableau n° 13** : Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH

Examen	Nombre de cas	Taux
Anatomopathologie	6	6,6%
Rectoscopie	36	39,5%
les deux techniques en même temps	49	53,9%
<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>

p = 3,3



**Graphe n° 7** : Techniques utilisées ayant contribué au diagnostic positif de la RCUH

Le diagnostic de la RCUH a été confirmé par :

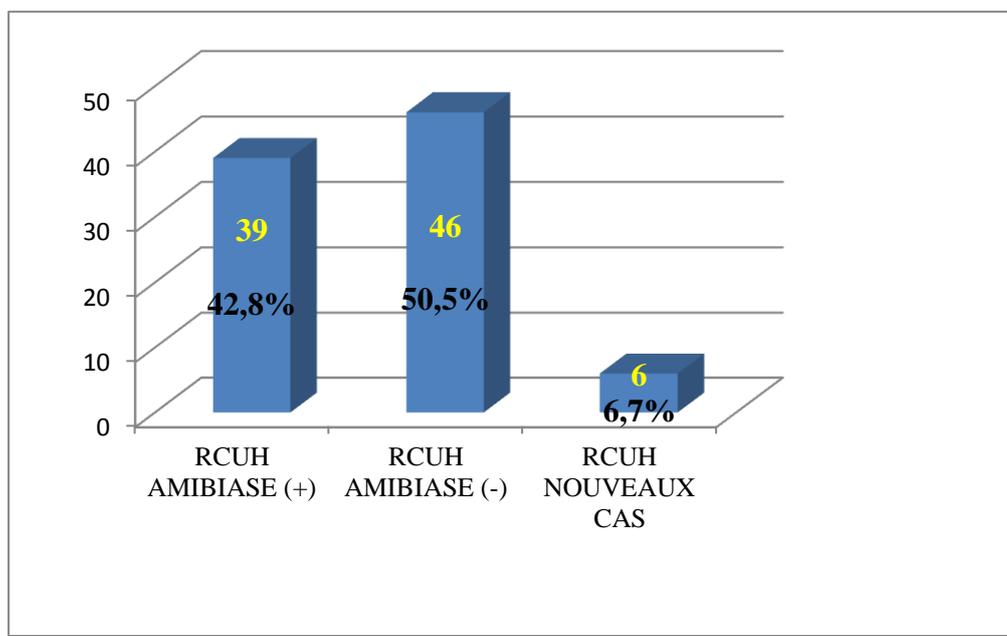
- La rectoscopie chez 36 patients (poussées inflammatoires) chez qui les lésions étaient typiques.
- L'anatomopathologique pour 6 malades.
- L'utilisation des deux techniques associées pour 49 cas soit 57,64%.

### 3-10-Recrutement des cas de RCUH :

**Tableau n° 14 : Total des cas de RCUH recrutés**

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
RCUH AMŒBOSE (+)	39	42,8%
RCUH AMŒBOSE (-)	46	50,5%
RCUH NOUVEAUX CAS	6	6,7%
<b>TOTAL</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>

p = 6



**Graphe n° 8 : Total des cas de RCUH recrutés**

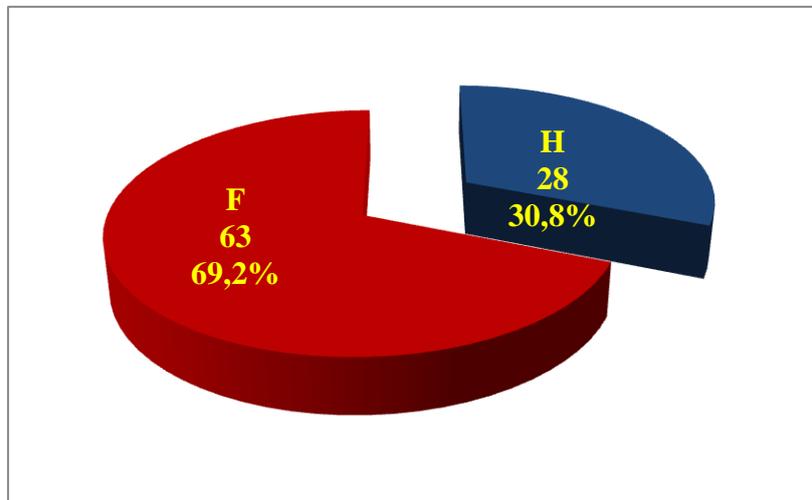
Parmi la population totale étudiée (500), nous avons recensé 91 patients présentant une RCUH soit 18,2%, dont 45 cas étaient associés à une amébose, représentant un taux de 49,5% (42,8% anciens cas de RCUH versus 6,7% nouveaux cas).

3-11-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon le sexe :

**Tableau n° 15** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon le sexe

Patients	Nombre	Taux
Féminin	63	69,2%
Masculin	28	30,8%
Total	91	100%

$p = 7 \times 10^{-4}$



**Graphique n° 9** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon le sexe

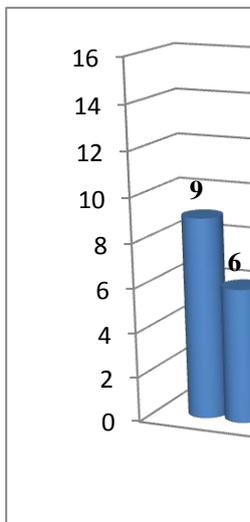
Dans notre étude, chez les malades présentant une RCUH, le pourcentage de patients de sexe féminin était de 69,2 %.

Il est nettement élevé par rapport à celui des malades de sexe masculin, avec un sexe ratio H:F de 0,44.

3-12-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les tranches l'âge :

**Tableau n° 16** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les tranches d'âge

<b>Agés</b>	<b>Nombre de patients</b>	<b>Taux</b>
<20	9	9,9%
[20-25[	6	6,6%
[25-30[	11	12,0%
[30-35[	15	16,5%
[35-40[	9	9,9%
[40-45[	8	8,8%
[45-50[	6	6,6%
[50-55[	9	9,9%
[55-60[	5	5,5%
[60-65[	5	5,5%
65 et plus	5	5,5%
<b>Non spécifiés</b>	3	3,3%
<b>Total</b>	91	100%



**Graphe n° 10** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les tranches d'âge

L'âge de notre cohorte de malades atteints de RCUH était compris entre 17 et 72 ans.

La prédominance de la RCUH a été notée chez l'adulte jeune, sachant que 28,5% des patients sont entre 25 et 34 ans.

L'âge moyen était de 38,9±16,32.

3-13-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon leurs origines :

**Tableau n° 17** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon leurs origines :

<b>Adresse</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
CONSTANTINE	74	81,3%
MILA	4	4,4%
JIJEL	3	3,3%
OUM-BOUAGHI	2	2,2%
SIKIKDA	2	2,2%
BATNA	1	1,1%
M'SILA	1	1,1%
GUELMA	1	1,1%
ADRESSE INDETERMINEE	3	3,3%
<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>

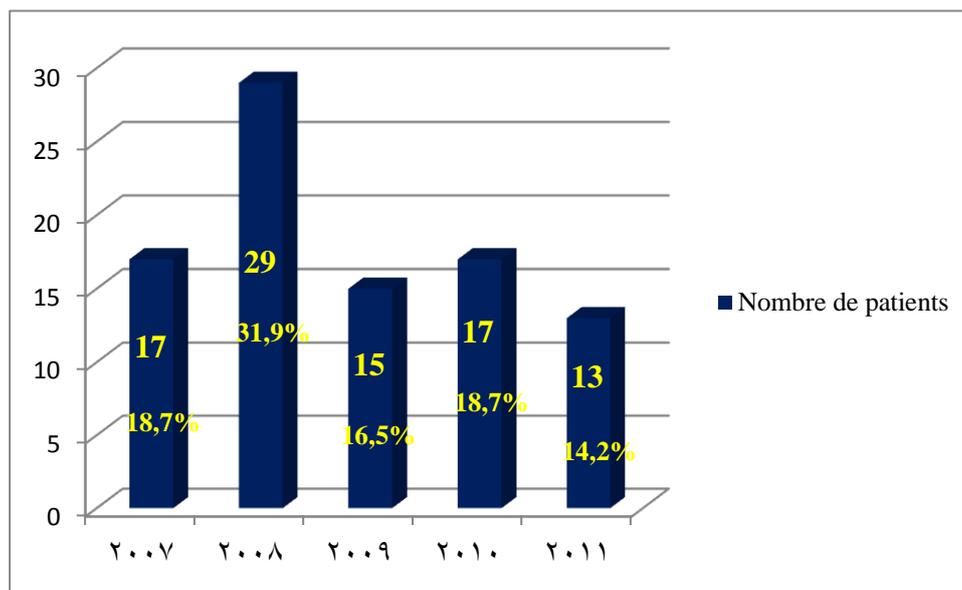
La majeure partie de nos malades atteints de RCUH habitaient la wilaya de Constantine avec 74 cas soit 81,3%. Ce qui était prévisible vu la proximité du lieu du CHU.

3-14-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les années d'étude :

**Tableau n° 18** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les années d'étude :

Années d'étude	Nombre de patients	Taux
2007	17	18,7%
2008	29	31,9%
2009	15	16,5%
2010	17	18,7%
2011	13	14,2%
<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>

p = 59



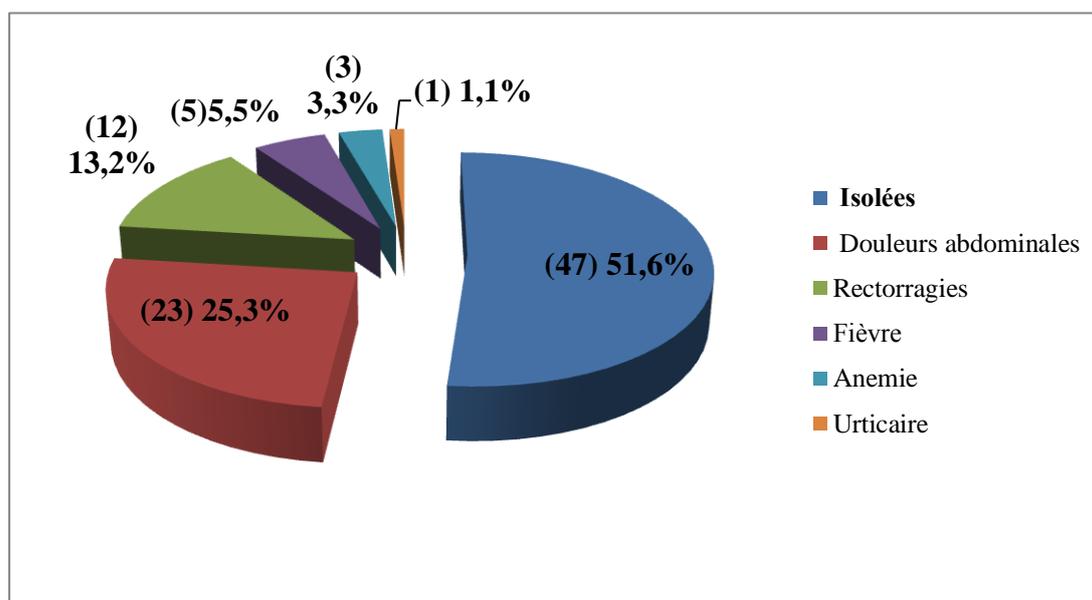
**Graphe n° 11** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les années d'étude

Un taux de recrutement de nos échantillons était plus important durant l'année 2008 avec 31,9%, le plus faible a été observé en 2011 avec 14,2%.

3-15-Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques :

**Tableau n° 19** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques

<b>Diarrhées glairo-sanguinolentes associée à :</b>	<b>Nombre</b>	<b>Taux</b>
isolées	47	51,6%
Douleurs abdominales	23	25,3%
Réctorragies	12	13,2%
Fièvre	5	5,5%
Anémie	3	3,3%
Urticaire	1	1,1%
<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>100%</b>



**Graphique n° 12** : Répartition des cas de RCUH associés ou non à une amœbose selon les signes cliniques

Les diarrhées glairo-sanguinolentes étaient l'un des critères d'inclusions de notre population d'étude isolées chez 47 patients. Chez les 48,4% des malades nous avons rencontré une association avec principalement les douleurs abdominales. D'autres signes étaient aussi retrouvés à savoir les rectorragies, la fièvre, l'anémie et un cas d'urticaire orientait du service de dermatologie.

La diarrhée glairo-sanglante était le critère d'inclusion principal de nos patients dans (51,6%). Ce signe était isolé. A signaler qu'à côté des signes digestifs qui

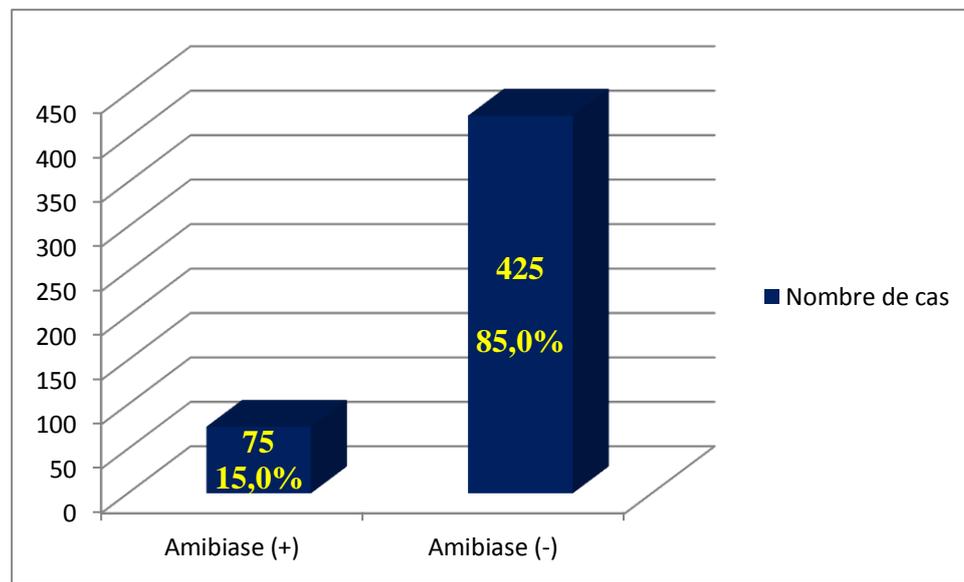
étaient dans la majorité des cas intriqués, on a noté un cas d'urticaire qui fut orienté du service de dermatologie.

3-16-Les malades atteints d'amœbose :

**Tableau n ° 20** : Répartition des patients présentant une amœbose colique :

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
Amœbose (+)	75	15,0%
Amœbose (-)	425	85,0%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100%</b>

$p < 10^{-6}$



**Graphe n ° 13** : Répartition des patients présentant une amœbose colique :

Parmi la population totale de notre étude, 75 patients (15%) ont présenté une amœbose colique.

### 3-17-Répartition des cas d'amœbose selon la méthode de diagnostic :

**Tableau n° 21** : Répartition des cas d'amœbose selon la méthode de diagnostic

<b>Technique-Confirmation</b>	<b>Nombre de selles infestées d'amibes pathogènes</b>	<b>Taux</b>
<b>Examen direct</b> : Présence d'hématies intra-cytoplasmiques	<b>33</b>	44%
<b>ELISA</b> : après concentration	<b>2</b> (sur 5 selles+)	2,7%
<b>ELISA</b> : sur selles congelées positives sur milieu de culture	<b>18</b> (sur 30 selles +)	24%
<b>ELISA</b> : sur les complexes ( <i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> ) mis en évidence à l'examen direct	<b>22</b> (sur 62 selles +)	29,3%
<b>Total</b>	<b>75</b>	100%

p = 13

Les 75 cas d'amœbose ont été diagnostiqués par :

-l'examen direct (à l'état frais et après coloration) a pu confirmer une amœbose chez 33 patients par mise en évidence de globules rouges dans le cytoplasme des formes végétatives d'*Entamoeba histolytica histolytica*.

-la mise en évidence des copro-antigènes par ELISA a permis d'affirmer ou d'infirmer le diagnostic d'amœbose. Elle a décelée des copro-Antigènes dans deux selles positives après concentration (2 cas/5).

Sur les selles congelées et qui étaient positives après cultures sur milieu de Dobell-Laidlaw 18/30 malades ont été positifs au test. Enfin dans les prélèvements contenant des formes végétatives du complexe d'*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, cette technique nous a permis de confirmer le diagnostic d'amœbose chez 22 malades sur 62.

Grâce à la technique ELISA on a pu authentifier donc 55 amibes *Entamoeba dispar* (3 selles positives après concentration, 12 selles positives après mise en culture et 40 selles appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba*

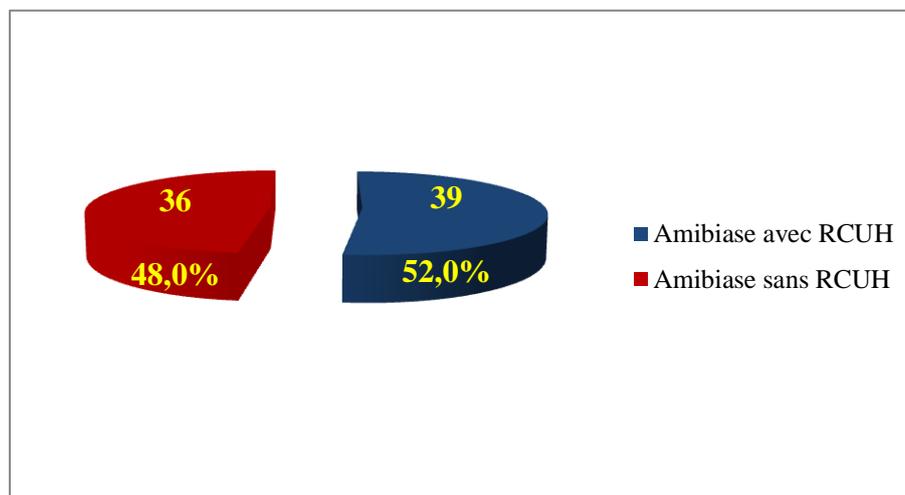
*dispar*) dans 97 selles (5 selles positives après concentration, 30 selles positives après mise en culture et 62 selles appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*).

3-18-Répartition des cas d'amébose en fonction de leurs associations ou non à la RCUH :

**Tableau n° 22** : Répartition des cas d'amébose en fonction de leurs associations ou non à la RCUH

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
Amébose avec RCUH	39	52,0%
Amébose sans RCUH	36	48,0%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>

p= 75



**Graphique n° 14** : Répartition des cas d'amébose en fonction de leurs associations ou non à la RCUH

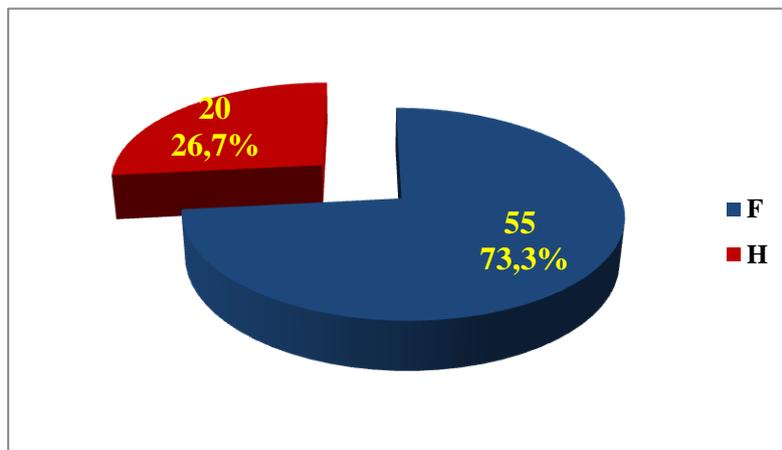
Sur un total de 75 patients présentant une amébose colique, 39 malades avaient une RCUH associée. Le reste présentait une amébose intestinale isolée.

### 3-19-Répartition des cas d'amœbose selon le sexe :

**Tableau n° 23** : Répartition des cas d'amœbose selon le sexe :

Patients	Nombre de cas	Taux
Féminin	55	73,3%
Masculin	20	26,7%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>

$p = 10^{-4}$



**Graphique n°15**: Répartition des cas d'amœbose selon le sexe :

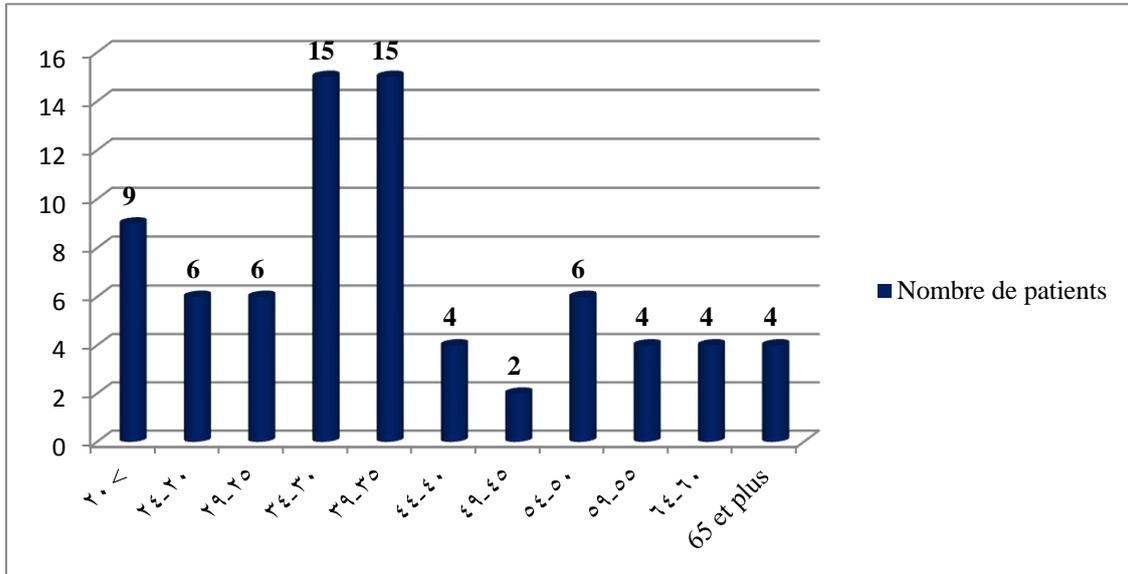
Le sexe ratio (H:F) était de l'ordre de 0,36.

### 3-20-Répartition des cas d'amœbose selon les tranches d'âge:

**Tableau n°24** : Répartition des cas d'amœbose selon les tranches d'âge

Age	Nombre de patients	Taux
< 20	9	12%
[20-25[	6	8,0%
[25-30[	6	8,0%
[30-35[	15	20,0%
[35-40[	15	20,0%
[40-45[	4	5,3%
[45-50[	2	2,8%
[50-55[	6	8,0%

[55-60[	4	5,3%
[60-65[	4	5,3%
65 et plus	4	5,3%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>



**Graph 16 :** Répartition des cas d'amébose selon les tranches d'âge

La limite d'âge des patients infestés par *Entamoeba histolytica histolytica* 16 et 73 ans, avec prédominance des sujets jeunes (30 – 39).

L'âge moyen :  $34 \pm 15,54$

3-21-Répartition des cas d'amébose selon leur lieu de résidence :

**Tableau n° 25 :** Répartition des cas d'amébose selon leur lieu de résidence :

Adresse	Nombre de cas	Taux
CONSTANTINE	62	82,7%
MILA	4	5,3%
SKIKDA	3	4,0%
OUM-BOUAGHI	2	2,7%
M'SILA	1	1,3%

TOUGOURT	1	1,3%
ADRESSES INDETERMINEES	2	2,7%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>

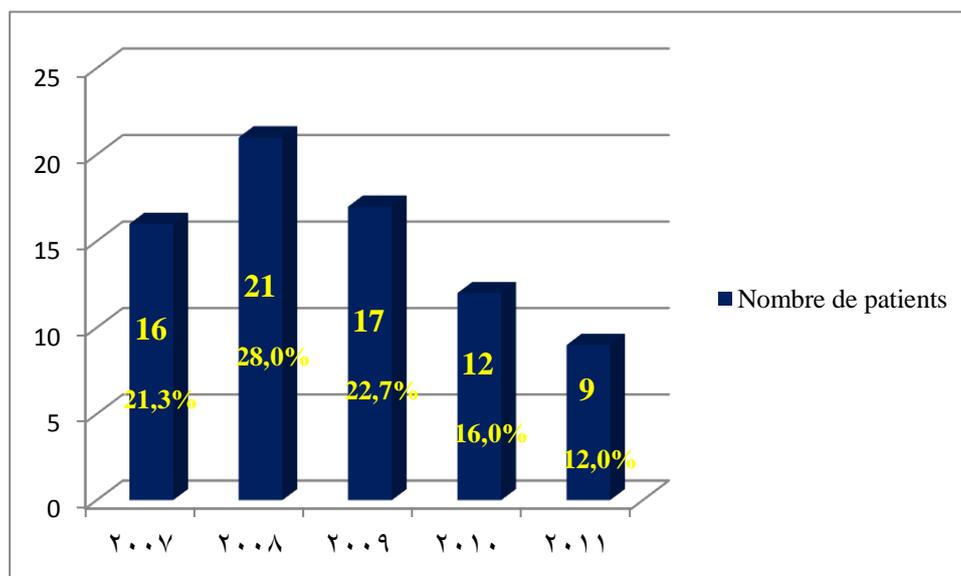
La plus part des patients présentant une amœbose intestinale résidaient dans la wilaya de Constantine avec 62 cas soit 82,7%.

3-22-Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude :

**Tableau n° 26** : Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude

Années d'étude	Nombre de patients	Taux
2007	16	21,3%
2008	21	28,0%
2009	17	22,7%
2010	12	16,0%
2011	9	12,0%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>

p = 82



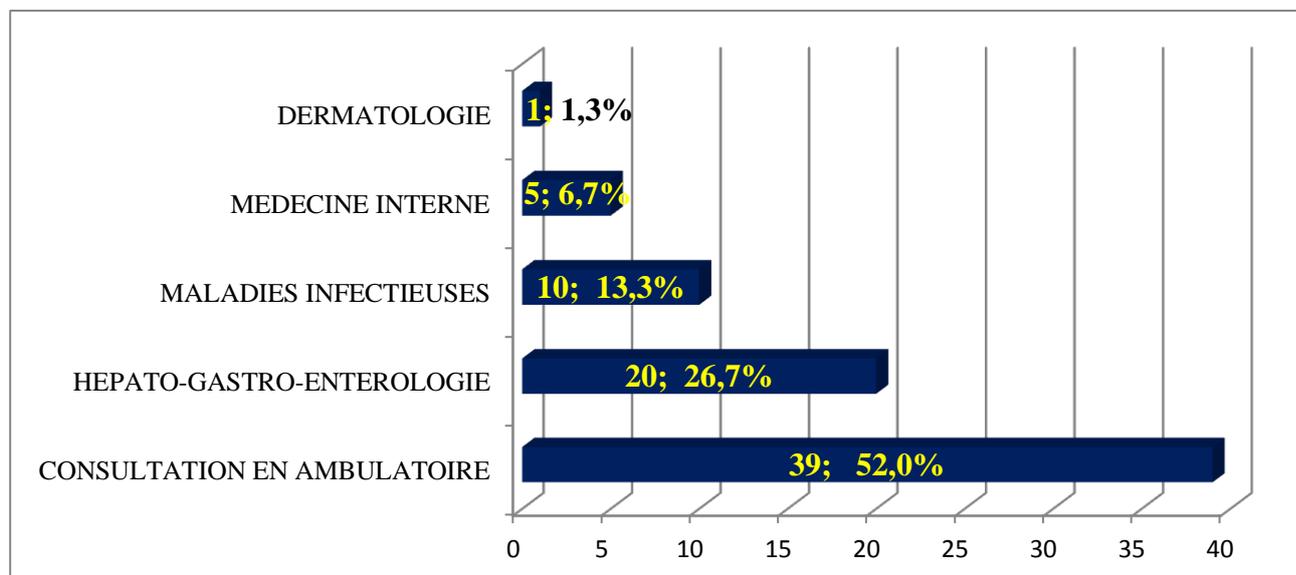
**Graphe n° 17** : Répartition des cas d'amœbose selon les années d'étude

En 2008, on a recruté le nombre le plus important de malade (21 cas).

### 3-23-Répartition des cas d'amœbose selon les services d'origine :

**Tableau n° 27** : Répartition des cas d'amœbose selon les services d'origine :

Service d'orientation	Nombre de cas	Taux
CONSULTATION EN AMBULATOIRE	39	52,0%
HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE	20	26,7%
MALADIES INFECTIEUSES	10	13,3%
MEDECINE INTERNE	5	6,7%
DERMATOLOGIE	1	1,3%
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>100%</b>



**Graphique n° 18** : Répartition des cas d'amœbose selon les services d'origine

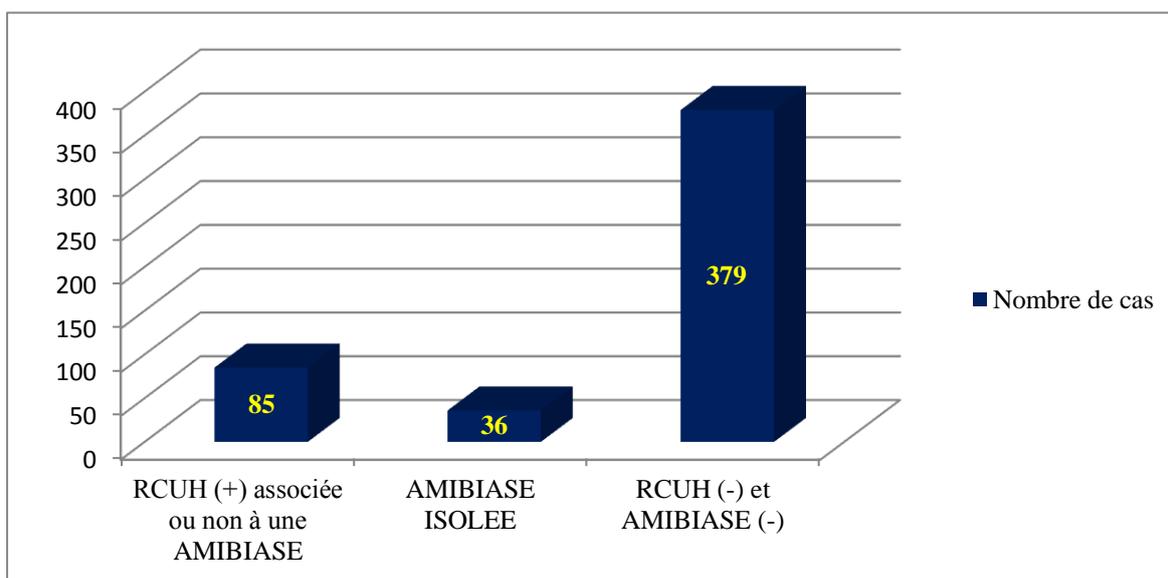
La majorité des malades présentant une amœbose nous ont été adressés par des praticiens hors CHU suivie par le service d'hépatogastro-entérologie et celui des maladies infectieuses.

### 3-24-Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes suivant leur étiologie :

**Tableau n° 28** : Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes suivant leur étiologie

<b>Patients</b>	<b>Nombre de cas</b>	<b>Taux</b>
RCUH (+) associée ou non à une AMŒBOSE	85	17,0%
AMŒBOSE ISOLEE	36	7,2%
RCUH (-) et AMŒBOSE (-)	379	75,8%
<b>Total</b>	<b>500</b>	<b>100%</b>

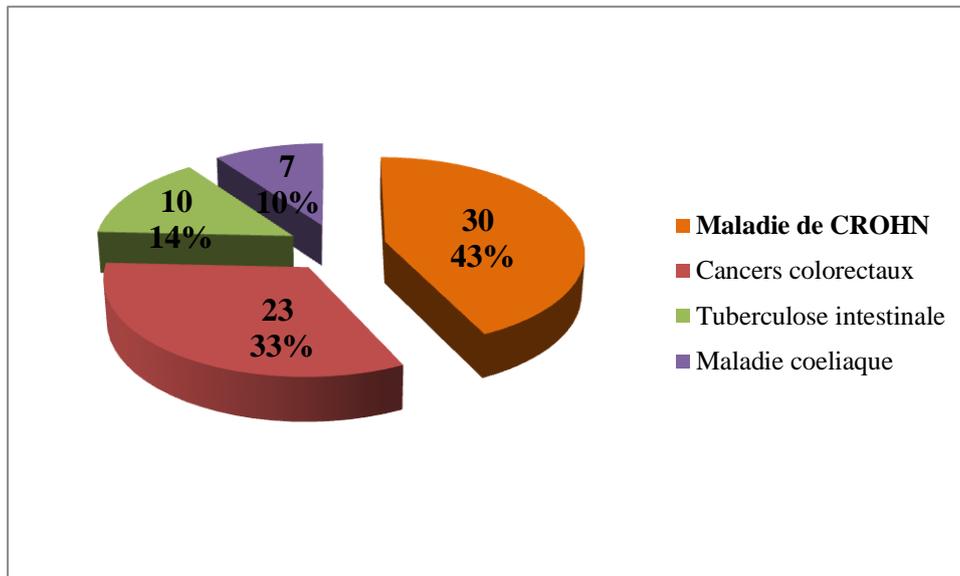
$p < 10^{-6}$



**Graphe n° 19** : Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes suivant leur étiologie

Parmi nos 500 patients, présentant une diarrhée glairo-sanglante, 379 cas n'avaient ni amœbose ni RCUH. En effet, ces patients ont été orientés au service d'hépatogastro-entérologie où seulement 167 patients ont adhéré aux explorations endoscopiques.

Les explorations endoscopiques ont mis en évidence 30 cas de maladie de Crohn (43%), 23 cas de cancers colorectaux (33%), 10 cas de tuberculose intestinale (14%) et 7 cas de maladie cœliaque (10%).



**Graphique n° 20** : Répartition des cas de diarrhées glairo-sanguinolentes en absence d'antécédents de RCUH et d'amébose

3-25-Statistique analytique :

3-25-1-Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints de RCUH:

**Tableau n° 29** : Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints de RCUH:

EXPOSITION	MALADIE		TOTAL
	RCUH (+)	RCUH (-)	
AMÉBOSE (+)	39	36	75 (15%)
AMÉBOSE (-)	46	379	425 (85%)
TOTAL	85 (17%)	415 (83%)	500 (100%)

Odds ratio (OR) = 8,93 (IC : 5,17 - 15,42)

$X^2 = 76,6$

$p < 10^{-6}$

3-25-2-Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints d'amébose:

**Tableau n° 30** : Calcul de l'Odds ratio chez la population de malades atteints d'amébose:

<b>EXPOSITION</b>	<b>MALADIE</b>		<b>TOTAL</b>
	AMÈBOSE (+)	AMÈBOSE (-)	
RCUH (+)	39	46	85 (17%)
RCUH (-)	36	379	415 (83%)
<b>TOTAL</b>	<b>75 (15%)</b>	<b>425 (85%)</b>	<b>500 (100%)</b>

Odds ratio (OR) = 8,93 (IC : 5,17 - 15,42)

$X^2 = 76,6$

$p < 10^{-6}$

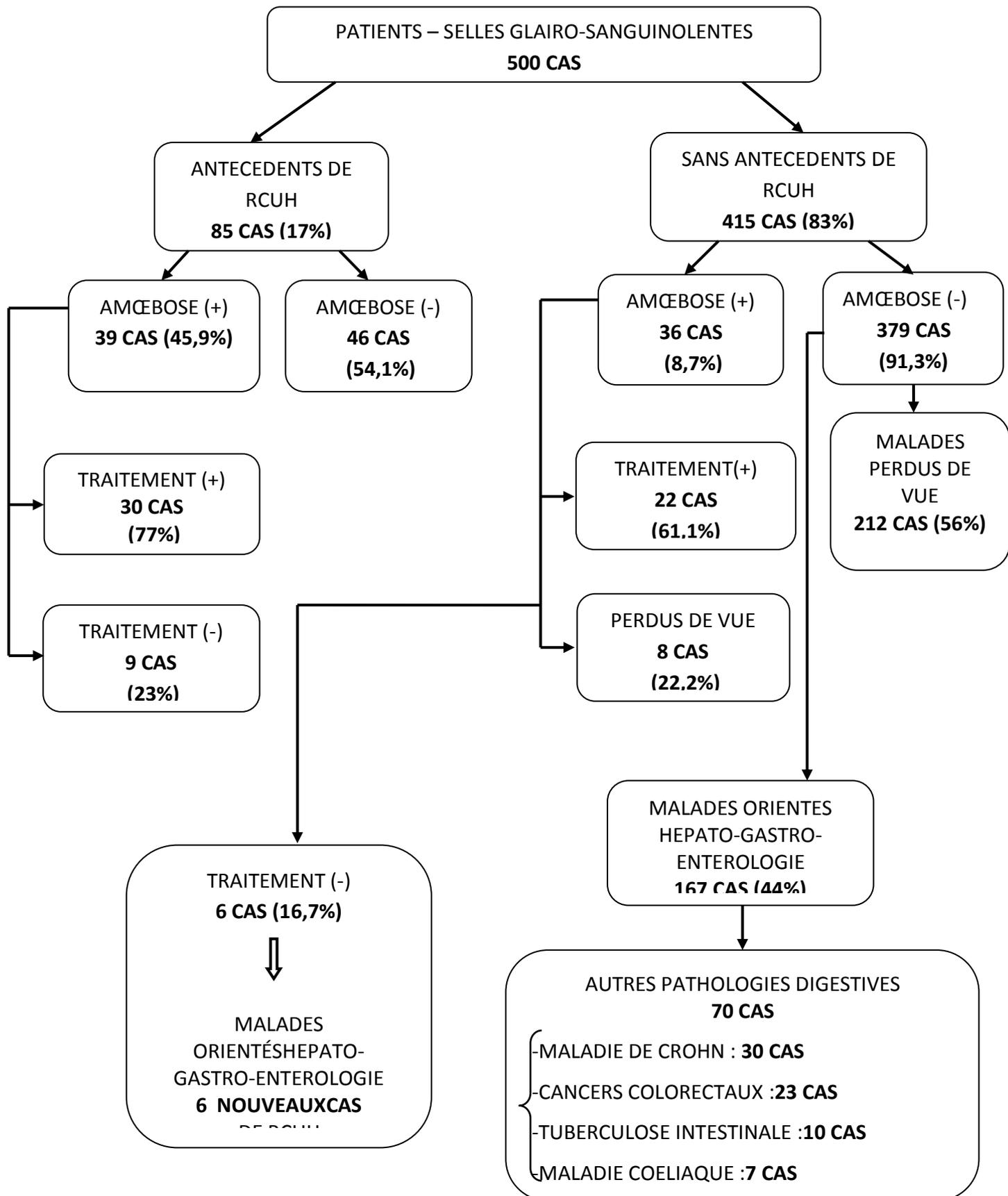


Figure n°4 : RESUME : prise en charge des malades

#### **4-Discussion :**

L'objectif principal de notre étude était de déterminer dans quelle proportion ces deux maladies peuvent s'associer rendant plus complexe le diagnostic et la prise en charge de la RCUH qui sert de lit pour une greffe amibienne.

L'association amœbose intestinale et recto-colite ulcéro-hémorragique (RCUH) a fait l'objet de plusieurs travaux à l'échelle internationale [7, 29, 42, 101, 167, 194, 222]. En Algérie aucune étude ne s'est vraiment intéressée à la relation de ces deux pathologies.

La persistance de troubles coliques importants après traitement de l'amœbose était regroupée sous le syndrome de colite post-dysentérique ou post-amibienne englobant plusieurs pathologies sous jacentes parmi lesquelles figure la RCUH.

En effet, plusieurs cas de RCUH ont été observés dans les suites immédiates ou lointaines d'une amœbose intestinale et vis versa. Il se pourrait que l'amœbose joue un rôle d'allergène local, après une cytotoxicité des cellules épithéliales coliques [30, 31]. Cette situation implique une corticothérapie dans le traitement de la RCUH pouvant être responsable de véritables flambées de l'amœbose. Ce qui revient à dire que même s'il y a association des deux pathologies, la chronologie des prescriptions est très importante [222].

Nous avons colligé au cours de notre étude 500 malades présentant une diarrhée glairo-sanglante sur une période de cinq années, ce qui correspond à un malade tous les quatre jours. Pour atteindre notre objectif, nous avons sensibilisé plusieurs collègues dans différents services dont les principaux sont ceux de l'hépto-gastro-entérologie et des maladies infectieuses.

En plus des praticiens de notre CHU, nous avons contacté plusieurs médecins exerçant dans des secteurs sanitaires ainsi qu'une grande partie de praticiens privés.

Afin d'améliorer le diagnostic, tous les prélèvements ont été effectués au niveau du laboratoire à l'exception des patients incapables de se déplacer. Les selles fraîchement émises ont été observées immédiatement après leur émission. Cette mesure nous a permis de retrouver des formes végétatives hématophages qui ne résistent pas dans le milieu extérieur. Nous avons remarqué que leur durée de vie en dehors du colon est très courte (moins de cinq minutes), après quoi elles finissent par éclater et disparaître du prélèvement.

L'examen direct des selles, a mis en évidence plusieurs parasites. Nous avons dénombré 197 selles positives correspondant à plus du 1/3 des selles observées (39,4%) (Tableau 5). En cas de présence d'amibes on a eu recours aux colorations

qui nous ont permis de mettre en évidence certaines structures cellulaires et surtout dans certains cas des hématies plus ou moins digérées dans le cytoplasme.

Les travaux ayant les mêmes critères d'inclusions que les nôtres sont rares voir exceptionnels. Les seuls travaux maghrébins ont concerné la coprologie parasitaire d'une manière générale. Des travaux effectués au Maghreb se sont intéressés à des populations cibles bien définies dont les critères d'inclusion sont complètement différents de ceux de notre échantillon mais qui nous permettent d'avoir une idée sur les prévalences des parasites intestinaux dans la région. C'est ainsi qu'une enquête effectuée à l'hôpital de Kenitra de 1999 à 2005 (Maroc), par l'auteur ELGAMRI Y. et al a déterminé un taux de selles positives de 14,15% sur 4285 examens de selles de personnes avec ou sans symptomatologie clinique [62].

Par ailleurs, à l'institut Pasteur de Tunis, une étude sur une période de dix années a permis de retrouver un taux de 13,5% de selles positives de sujets travaillant dans le domaine de la restauration donc cliniquement sains [192].

Toujours, sur une population de malades tout azimut se présentant au laboratoire, 18,6% ont présenté des selles positives dans la région d'Orang Asli en Malaisie [204].

Notre résultat se rapproche de celui retrouvé par Windell.L et al (en 2006), qui ont retrouvé un taux de selles positives de 38,40% lors d'une étude réalisée aux philippines dans l'état de Manille dans un Hôpital Psychiatrique chez des patients présentant des troubles du transit [223]. La correspondance du taux est due aux critères d'inclusions qui sont proches de ceux de notre échantillon.

Récemment, dans la région d'Ankara en Turquie, une étude réalisée par NazmiyeUIKu TUZEMEN et al, sur un échantillon de 1049 demandes de parasitologie de selles un taux de 33,74% de positivité a été constaté [208]. Lors d'une enquête réalisée par Alver O. et al toujours en Turquie durant l'année 2009-2010 sur 2686 prélèvements de selles, le taux de selles positives a été de 7,3%.

Nous constatons donc que dans un même pays, la prévalence diffère d'une région à une autre sous l'influence des conditions socio-économiques et climatiques [208].

A ces 197 selles positives à l'examen direct on doit rajouter les 37 selles qui se sont positivées après concentration, ce qui nous ramène à un taux de 46,8% du total des 500 malades (Tableau 6).

Dans ce cadre, il nous a été impossible de comparer notre résultat relatif aux techniques de concentrations avec d'autres travaux car dans la majorité des études, les auteurs assimilent les concentrations avec l'examen direct.

*Endolimax nanus* est le parasite le plus fréquemment retrouvé après concentration. Seuls 5 prélèvements se sont positivés par la découverte d'amibes appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* après concentration (Graphe 4).

Les cultures ont redressé le diagnostic pour 109 prélèvements initialement négatifs (303) correspondant à un taux de 36,0% (Tableau 8). Le *Blastocystis* a été majoritairement retrouvé dans les milieux de culture avec un taux de 44,0% (Tableau 9). Le complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* ne représente que 27,5% des cultures positives (Tableau 9).

Ce qui nous montre bien que les cultures sont un moyen de diagnostic très important en coprologie parasitaire. D'autant plus que les milieux de Dobell et Laidlaw peuvent être préparés aisément au niveau des laboratoires en routine.

Lors de l'étude citée ci-dessus réalisée en Turquie par Tuzemen, les cultures positives n'ont représenté que 12,9% du total de l'échantillon [208].

Parmi tous les prélèvements positifs à l'examen direct 62 malades sur 197 étaient porteur d'amibes appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* représentant un taux de 31,5% (Tableau 5).

Au total 97/500 malades ont hébergé dans leur colon ce complexe cité ci-dessus équivalent à un taux global de 19,4% (Tableau 10).

Notre résultat est beaucoup plus élevé par rapport à celui retrouvé au laboratoire de parasitologie du CHU Mustapha Bacha d'Alger, lors d'une étude faite par Paugam A. et Hamrioui B., qui sur 108 patients ont mis en évidence 54 protozoaires dont neuf (9) appartenaient au complexe *E.histolytica/E.dispar* [156].

Selon une étude faite à l'institut de Jawahrlal en Inde (Bhattacharya et al), l'examen parasitologique des selles (examen direct, coloration, concentration et cultures) ramène pour la coinfection *E.hsitolyitca/E.dispar* un résultat de 17,80%. Un taux sensiblement proche du nôtre [24].

L'étude faite aux Phillipines par Windell L. et al a retrouvé un taux de 38,05% de ce complexe. Ce pourcentage par contre nous semble exagéré [223].

Parmi tous les parasites isolés, *Entamoeba histolytica* a été mise en évidence (par les différentes techniques réunies) dans 15% de notre échantillon correspondant à 75 cas de tout notre recrutement (Tableau 20).

La recherche des copro-antigènes par l'ELISA nous a permis de faire le diagnostic différentiel entre *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*. Cette technique a été utilisée sur des selles fraîches et congelées (positives après culture). L'ELISA a différencié parmi les 97 complexes des deux amibes : 42 *Entamoeba histolytica* et 55 *Entamoeba dispar* (Tableau 21).

Comparé à d'autres études le nombre d'*Entamoeba dispar* a toujours été plus élevé que celui d'*Entamoeba histolytica* mais à des taux se rapprochant plus ou moins de celui de notre étude, confirmant ainsi nos résultats.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a montré en 1997 que la plupart des cas humains à infection avec *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* sont réellement des *Entamoeba dispar* (Petri et al. 2002) [157].

L'étude réalisée au CHU Mustapha Bacha d'Alger a montré que sur les 9 complexes seulement 2 étaient identifiées comme des *Entamoeba histolytica* les sept autres étaient des *Entamoeba dispar* soit donc 64,81% [156].

Toujours, avec la méthode ELISA copro-Ag, l'étude iranienne réalisée par Hooshyar H. en 2004 a identifié des taux très éloignés d'*Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* respectivement 7,9% et 92,1%, Iran [79]. Au cours de l'année 2013, au Brésil, Rafael vital dos SANTOS et al sur un échantillon de selles de 82 patients habitant Ariquemes avait isolé le complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* à un taux de 61% (50/82) et le test ELISA a mis en évidence les Ag d'*Entamoeba histolytica* chez 30 malades soit donc 36,6% [164].

Même la PCR confirme cette constatation. En effet, après l'emploi de la PCR, les amibes isolées étaient identifiées comme *Entamoeba histolytica histolytica* dans 30,20% du complexe lors d'une étude faite à l'institut de Jawahrlal en Inde [24].

En Tunisie, l'équipe du laboratoire de parasitologie de l'institut Pasteur, a réalisé une étude portant sur le parasitisme intestinal (Guidam.R et al). Sur 48 cas, la PCR a pu mettre en évidence *Entamoeba dispar* chez 31 sujets soit donc 64,54% et *Entamoeba histolytica* chez 17 patients soit 35,41% [75].

Par ailleurs, parmi les 500 patients, nous avons recruté 85 cas de sujets réputés d'être atteints de RCUH représentant 17% de tout l'échantillon (Tableau 3). Le diagnostic de leur maladie inflammatoire a été posé par des examens anatomopathologiques effectués sur des biopsies guidées par des rectoscopies à un taux de 53,9% (Tableau 13).

Plusieurs études ont rapporté que le diagnostic de la RCUH est facilité par l'examen anatomopathologique dans environ 40% des cas voire même 77% si l'examen est réalisé par un anatomopathologiste expérimenté [106, 218].

L'association : antécédent de RCUH et amébose a été observée dans 39 cas. Elle représente un taux de 45,9% qui sans ce travail de recherche systématique de parasites auraient été étiquetés comme des poussées de leur maladie inflammatoire résistantes au traitement (Tableau 11).

Dans notre pays, nous n'avons pas pu comparer nos chiffres avec ceux d'autres régions par l'inexistence d'étude similaire.

En Turquie, dans les régions dites de haut niveau socio-économique, la prévalence de l'amébose chez une population de malades atteints de RCUH était de 32,20% [7], contre 58,60% chez les patients habitants des régions à bas niveau socio-économique ; sachant qu'il pourrait exister une amébose asymptomatique chez les sujets atteints de RCUH [7].

Une étude de la prévalence de l'amébose chez les sujets atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Benabdellah Rym et al) [20], où les auteurs ont pu objectiver à l'examen microscopique couplé à la PCR que la fréquence de l'amébose chez 88 patients de la population étudiée, était de l'ordre de 14,80%.

Le nombre très réduit de travaux sur l'association de ces deux pathologies, a poussé beaucoup d'auteurs à considérer ces malades comme étant des amibiens jusqu'à preuve anatomopathologique prouvant leur maladie inflammatoire intestinale (Aliye.S) [7].

En Suède, cette prévalence amébose-RCUH ne dépassait pas les 6,17% [7].

En Turquie, en 2003, dans l'étude d'Ustun et al, cette prévalence a été estimée de 10% [7].

Cette différence de prévalence des deux pathologies montre que la surinfection parasitaire au cours des MICI reste faible dans les pays froids où le parasite (*Entamoeba histolytica*) ne retrouve pas toutes les conditions pour son développement. En plus du fait que les populations sont d'un niveau socio-économique plus élevé que celle des pays tempérés et tropicaux.

Etant donné que les deux pathologies provoquent la même symptomatologie, des examens complémentaires sont nécessaires pour le diagnostic différentiel. En effet, les diarrhées glairo-sanglantes critère d'inclusion de notre population d'étude ont été retrouvées isolément chez 47 patients représentant un taux de 51,6% des malades atteints de RCUH. Si on associe les douleurs abdominales qui font partie de la sémiologie des deux maladies, notre taux s'élèvera à 76,9%. Ce qui prouve bien que le diagnostic différentiel clinique est pratiquement impossible à faire.

Il est à souligné que lors de notre étude, 6 cas d'amébose résistante au traitement anti-amibien ont révélé une RCUH ignorée et diagnostiquée après biopsie et étude anatomo-pathologique ramenant notre taux d'association entre les deux pathologies à 49,5% (Tableau 13) et (Tableau 14). L'amébose peut donc être inaugurale d'une RCUH. Cette constatation nous interpelle sur le fait que toute amébose ne répondant pas à un traitement aux imidazolés doit être contrôlée par un examen rectoscopique pour éliminer une RCUH sous-jacente.

L'étude en fonction du sexe a déterminé un sexe ratio de 0,36. Le sexe féminin semble plus exposé à l'amœbose puisqu'il représente plus de 73% probablement cette différence est due au fait que les femmes manipulent plus souvent les crudités pouvant être infestées par des kystes. Il est à noter que selon une étude récente portant sur les indicateurs épidémiologiques des MICI dans la région de Constantine, la RCUH est très fréquente chez le sexe féminin [76]. Dans notre étude, le sexe féminin est plus exposé à la RCUH puisqu'il représente plus de 69% des malades présentant une maladie inflammatoire de l'intestin, augmentant ainsi le risque de surinfection parasitaire.

Dans la plus majorité des études portant sur l'amœbose les résultats montrent une prédominance de la population féminine chez les amibiens. Nous citerons comme exemple : Aliye S. en Turquie où le sexe ratio H:F était de 0,72 [7]. ELGAMRI Y. au Maroc ramène presque les mêmes chiffres (H:F de 0,89) en faveur d'une prédominance féminine [62].

En IRAN, 2004, Hooshyar H. et al, a abouti à la remarque avec un sexe ratio de 0,63 [79].

L'âge des patients de notre population d'étude varie entre 16 et 73 ans.

L'âge de la majorité des malades atteints d'amœbose est compris entre 30 et 39 représentant 40% du total. C'est surtout l'adulte jeune qui est exposé de même pour nos patients atteints de RCUH puisque la classe modale suivant l'âge se situe entre 30 et 34 ans (taux de 16,5%). C'est ainsi que les âges des deux pathologies se recoupent. Selon les données de la littérature la RCUH est très fréquente chez les sujets dont l'âge est situé entre 20 et 30 ans pour les deux sexes avec un pic entre 35 et 39 ans [35, 60, 67, 101, 129, 201].

La même constatation a été faite par l'étude de Ngui et al, Malaisie [147].

Pour Valadores Perieraau, Brésil, la prédominance de l'amœbose est infantile [210].

Les sujets de moins de 18 ans étaient les plus concernés par l'amœbose d'après les résultats de ELGAMRI Y. (Kenitra 2013) [62].

Naoyoshi Nogata au Japona publié en 2012, que la tranche la plus atteinte était entre 35 et 55 ans avec un âge moyen de 43 ans [145].

L'année 2008 est celle où nous avons diagnostiqué le plus de malades atteints d'amœbose, car c'est aussi celle où le recrutement était le plus important. Seule explication qui nous paraît plausible.

Le lieu de résidence le plus dominant est celui de Constantine car la majorité des patients ont été orientés surtout par les consultations en ambulatoire privées et publiques de la même ville.

Le service d'hépto-gastro-entérologie et celui des maladies infectieuses viennent respectivement en 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> position.

Une tranche importante de malades présentant une diarrhée et n'ayant pas d'antécédent de RCUH et chez lesquels nous n'avons pas retrouvé d'amibes ont été adressés au service d'hépto-gastro-entérologie pour une recherche étiologique de leur diarrhée. Ces patients représentent plus des trois quart de notre échantillon (75,8%). Malheureusement, ceux qui se sont rendus au service sus cité étaient au nombre de 167 tous les autres (212 cas) ont été perdus de vue ou bien ont refusé de se soumettre à un examen endoscopique. Plusieurs pathologies ont été diagnostiquées lors d'examens endoscopiques chez ces malades (Figure 4).

La première cause de ces diarrhées est une autre maladie inflammatoire à savoir la maladie de Crohn avec un taux de 43%, suivi des cancers colorectaux avec 33%, les 24% restant des 167 malades présentaient une maladie cœliaque, tuberculose intestinale (Figure 4).

Tous les malades atteints d'autres pathologies intestinales n'ont pas développé une amébose au cours de l'évolution de leur maladie. En effet, nous avons remarqué que même les malades présentant une maladie de Crohn ne sont pas exposés au même risque de complication parasitaire que ceux aux antécédents de RCUH.

Nous avons remarqué que 39 sur les 85 patients présentant une RCUH ont greffé sur leur intestin des *Entamoeba histolytica*. Certains patients ont vu le diagnostic étiologique de leur maladie inflammatoire orienté par la découverte du parasite au niveau de leurs selles. Avant notre étude toute modification du transit était considérée comme reprise évolutive de leur maladie inflammatoire intestinale. De ce fait, des traitements spécifiques de RCUH étaient institués à tort et sans résultat, aboutissant à des conclusions hâtives de poussées résistantes au traitement.

Un simple examen parasitologique des selles peut déjà orienter le clinicien sur l'évolution de la RCUH. Suivant les résultats parasitologiques, le choix du traitement peut être aisément décidé : soit traiter la surinfection parasitaire, soit il s'agit d'une authentique poussée inflammatoire et le traitement sera donc dans

ce cas là approprié et documenté. Par ailleurs, tout amibien après traitement de la parasitose doit être contrôlé par un examen rectoscopique surtout s'il ne répond pas aux anti-amibiens.

Compte tenu de ce qui précède, les malades se plaignant de diarrhée glairo-sanguinolente doivent suivre un circuit bien défini afin d'établir un diagnostic étiologique précis de cette symptomatologie en commençant par l'examen le plus simple la parasitologie des selles.

Par ailleurs, le nombre important de protozoaires n'appartenant pas au complexe *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* retrouvés dans notre étude (68,5% de toutes les parasitologies de selles positives) nous interpelle sur le fait que ces parasites pourraient être aussi à l'origine d'une poussée de RCUH en déclenchant des processus immunologiques ce qui reste à démontrer par des études ultérieures.

L'étude statistique nous a confirmé, l'association ou la relation entre l'amébose et la RCUH c'est ainsi que : un patient présentant une RCUH a un risque relatif multiplié par 8 de faire une amébose. Le calcul de l'Odds ratio a été estimé à 8.93 (IC 5,17-15,42 indicateur indirect du Risque Relatif dans les études rétrospectives).

Le test de khi2 (76,6) nous a confirmé la liaison et l'interdépendance des deux entités cliniques.

Cette association à double sens, interpelle le praticien à soupçonner une RCUH devant toute amébose biologiquement détectable surtout après un échec thérapeutique et inversement, tout diagnostic de RCUH doit être complété par un examen parasitologique à la recherche de l'amibe pathogène éliminant ou confirmant une éventuelle association des deux maladies.

## 5-Conclusion :

Notre étude a contribué d'une part à la recherche des amibes appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* ainsi qu'à l'identification des parasites *histolytica* par différentes méthodes diagnostiques et de rechercher des signes de poussées effectives chez des malades atteints de RCUH ou d'en faire son diagnostic et ce chez une population de 500 patients présentant des diarrhées glairo-sanguinolentes.

Les résultats ont pu montrer que la prévalence de l'amœbose a été estimée à 15% et que celle des RCUH était de 17%.

L'association amœbose intestinale et recto-colite ulcéro-hémorragique (RCUH) a fait l'objet de plusieurs travaux à l'échelle internationale.

En Algérie aucune étude ne s'est vraiment intéressée à la relation de ces deux pathologies.

La persistance de troubles digestifs après traitement de l'amœbose était regroupée sous le syndrome de colite post-dysentérique ou post-amibienne ainsi que plusieurs pathologies sous jacente parmi lesquelles figure la RCUH.

Par ailleurs, plusieurs cas de RCUH ont été observés dans les suites immédiates ou lointaines d'une amœbose intestinale et vis versa. Il se pourrait que l'amibe joue un rôle d'allergène local, après une cytotoxicité des cellules épithéliales coliques.

*Entamoeba histolytica* a été mise en évidence par les différentes techniques réunies 75 fois correspondant à 15% de tous les cas de diarrhées glairo-sanguinolentes.

Parmi les 85 patients étudiés (17%) présentant une RCUH, dont le diagnostic positif a été posé par la présence conjointe d'un faisceau d'arguments anamnestiques, cliniques et morphologiques (radiologie, endoscopie, anatomo-pathologie), l'association RCUH et amœbose a été observée chez 39 cas (45,9%).

Sans la recherche systématique de parasites, tous ces patients auraient été étiquetés comme résistants au traitement conventionnel ; d'autant plus que le diagnostic différentiel clinique est pratiquement impossible à faire.

Le suivi des malades a permis de rechercher d'autres pathologies en particulier des RCUH méconnues chez des malades qui présentaient une amœbose

inaugurale compliquant une RCUH. Ce diagnostic a été soupçonné suite à la persistance des signes cliniques après traitement antiamibien.

Cette constatation nous interpelle sur le fait que toute amœbose ne répondant pas aux imidazolés ; doit être systématiquement orienté vers la consultation d'hépto-gastro-entérologie.

Ces maladies sont intriquées tant sur le plan clinique qu'évolutif ; puisque l'une peut aisément compliquer l'autre. La similitude des deux pathologies s'étend aussi sur le plan épidémiologique pour les deux maladies principalement pour le sexe et l'âge.

En effet, dans les deux cas le sexe féminin est plus exposé. De même pour l'âge, c'est toujours l'adulte jeune qui est le plus atteint. Les malades dont l'âge est compris entre 30 et 39 ans représentent 40% des amibiens et 26,4% des cas de RCUH.

La majorité de nos patients a été orienté par les consultations en ambulatoire privés par rapport à celles du publiques. Cela nous pousse à sensibiliser les collègues des différents services à commencer par orienter les malades vers le laboratoire de parasitologie avant d'entamer tout traitement (antiamibien, ou anti-inflammatoire et immuno-suppresseur).

Plusieurs malades ont vu étiqueter l'étiologie de leur symptomatologie grâce au circuit du malade qu'on a imposé aux praticiens. C'est ainsi que la première cause des diarrhées glairo-sanguinolentes est une autre maladie inflammatoire à savoir la maladie de Crohn (43%), suivi des cancers colorectaux (33%), la tuberculose intestinale (14%) et la maladie cœliaque (10%).

La constatation qui a immédiatement attiré notre attention, est que tous les patients atteints de ces dernières pathologies intestinales n'ont à aucun moment développé une amœbose au cours de l'évolution de leur maladie y compris ceux chez qui on a découvert une maladie de Crohn.

Par conséquent, les causes d'une surinfection amibienne ne dépendent pas des lésions intestinales et les sujets présentant d'autres maladies inflammatoires ne sont pas exposés au même risque de complication parasitaire que ceux aux antécédents de RCUH. D'autres phénomènes immunologiques pourraient donc intervenir dans la greffe parasitaires et non les lésions histopathologiques in situ.

Les résultats de l'étude analytique statistique (l'Odds ratio a été estimé 8,93 IC 5,17-15,42) ont pu évaluer la relation entre l'amœbose et la RCUH. Un patient

présentant une RCUH à un risque relatif multiplié par 8 de faire une amœbose et de la même manière qu'un amibien a de chance de développer une RCUH.

Par ailleurs, le nombre important de protozoaires autres qu'*Entamoeba histolytica histolytica* retrouvés dans notre étude (68,5%) nous interpelle sur le fait que ces parasites pourraient avoir aussi une relation avec l'émergence ou l'entretien des poussées de RCUH, d'ailleurs certaines études sur le *Blastocystis.sp* ont montré que ce parasite était pathogène chez "les malades à colon sensible".

Au terme de notre étude nous avons pu faire ressortir qu'il existe une relation étroite entre la RCUH et l'amœbose comme l'ont prouvé les tests statistiques. Cette dernière pourrait être inaugurale de la maladie inflammatoire intestinale dans certains cas. Grâce à la contribution d'une équipe pluridisciplinaire nous avons défini le circuit ou prise en charge de ces malades ainsi que les critères de guérison de l'amœbose chez les patients atteints de RCUH.

Il serait judicieux que les médecins intervenant dans la prise en charge de la RCUH de demander un examen parasitologique à chaque consultation des malades présentant des signes de poussées.

Pour améliorer le diagnostic parasitologique il est impératif de développer toutes les techniques et les moyens qui vont nous permettre de mettre en évidence les parasites intestinaux ainsi que la mise au point des réactions qui vont faciliter le diagnostic différentiel entre les deux amibes appartenant au complexe *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*.

A l'issu de notre modeste travail, plusieurs questions se sont posées :

Quels sont les phénomènes physiopathologiques qui sont à l'origine de l'association de ces deux maladies ?

Quel est le rôle des autres parasites dans l'évolution de la RCUH ?

Des études immunologiques, parasitologiques et même génétiques (principalement la détermination par PCR des génomes responsables des surinfections) pourraient faire la lumière sur toutes ces interrogations et seraient d'un apport certain dans la prévention et la prise en charge effective de ces pathologies.

## **Bibliographie :**

1-Abakar-Mahmat A, Filippi J, Pradier C, Dozol A, Hebuterne X. Incidence des maladies inflammatoires Cryptogénétiques intestinales en Corse en 2002 et 2003 *Gastroenterol Clin Biol* 2007 31:1098-1103.

2-Abbas MA, Mulligan DC, Ramzan NN, Blair JE, Smilack JD, Shapiro MS, Lidner TK, Olden KW. Colonic perforation in unsuspected amebic colitis. *Dig Dis Sci*.2000 Sep;45(9):1836-41.

3-[Abdel-Dayem M](#), [Al Zou'bi R](#), [Hani RB](#), [Amr ZS](#). Microbiological and parasitological investigation among food handlers in hotels in the Dead Sea area, Jordan. [J Microbiol Immunol Infect](#). 2013 Aug 8. pii: S1684-1182(13)00105-9. doi: 10.1016/j.jmii.2013.06.001.

4-Abreu MT, Harpaz N. Diagnosis of colitis: making the initial diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:295-301.

5-Achkar JP, Duerr r. The expanding universe of inflammatory bowel disease genetics. *Current opinion in Gastroenterology* 2008 ; 24 : 429-434.

6-Aghazadeh R, Zali MR, Bahari A, Amin K, Ghahghaie F, Firouzi F. Inflammatory bowel disease in Iran: A revue of 457 cases. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 1691-1695.

7-Aliye.S, Can.D, Halil.A. Prevalence and importance of amebic infestation in patients with Ulcerative Colitis in Two regions in Turkey. *Revue: 18 August 2008 Digestive Diseases and sciences*.

8-Amboise Thomas. P, Serodiagnostic de l'amibiase par un test rapide d'agglutination de particules de Latex sensibilisées. Resultats de 462 examens et comparaison à la reaction d'IFI indirect , *Bultin de la société de pathologie exotique* (1974),67 ,156 .

9-Anbar, M., Bracha, R., Nuchamowitz, Y., Li, Y., Florentin, A. and Mirelman, D. Involvement of a SINE element in the epigenetic transcriptional silencing of the amoebapore gene in *Entamoeba histolytica*. *Eukaryotic Cell* 2005, 4: 1775-1784.

- 10-Anderson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendicectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001 ; 345 (3) : 344 (11) :808-814.
- 11-Ardizzone S, Prorro GB. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J intern Med* 2002 ; 252 : 475-496. *Microbiol* 40:340–344.
- 12-Aubé AC, Cherbut C, Galmiche JP ; Acides gras à chaîne : rôle en photogénie intestinale et potentiel thérapeutique en gastro-entérologie. *Hepato-Gastro* 1995; 5 :447-455.
- 13-Aubry.P. 2004, Amibiase-RCUH.
- 14-Aubry P. Amibiase. Editions techniques. *Encycl. Med. Chir.* (Paris-France), Thérapeutique. 1994. 25-062-A-10, 10 p.
- 15-Bailenger. Coprologie parasitaire et fonctionnelle. 1982. Edit. 52, rue d'Arcachon. F- 33000 Bordeaux . 288-324.
- 16-Barrios-Ceballos, M.P., Martinez-Gallardo, N.A., Anaya-Velazquez, F., Mirelman, D. and Padilla-Vaca, F. A novel protease from *Entamoeba histolytica* homologous to members of the S28 serine proteases . *Exp. Parasitol* 2005. 110, 270-275.
- 17- Beck DL, Boettner DR, Dragulev B et al. Identification and gene expression analysis of a large family of transmembrane kinases related to the Gal/GalNAc lectin in *Entamoeba histolytica*. *Eukaryot.Cell* 2005; 4(4):722-32.
- 18-Belkaid.M, Hamrioui.B, Protozoaire, Edition 1989. OPU Alger.
- 19-Belkaid.M, Hamrioui.B, Examen direct en parasitologie, Edition 1989. OPU Alger.
- 20-Benabdallah.R, Aoun.K, Bouratbine.A . Prévalence de l'amibiase chez les sujets atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Laboratoire de parasitologie-Mycologie, Institut Pasteur Tunis. Mai 2012 Congrès de Parasitologie de Rennes-France.

21-Bennani A, Ouazzani H, Fadli F, Dafiri N, Ouazzani L. Les formes graves de la rectocolite hémorragique. Rôle favorisant de la greffe amibienne. Centre, hosp, univ, Avienne, clin médicale B, RABAT, MAROC. Annale de Gastro-entérologie et d'hépatologie. 1989, vol 25, N°4, pp.137-140.

22-Bernier. Jean-Jacque. Gastro-entérologie. Tome 2. 2<sup>em</sup> édition. Flammarion. Paris. 1986; 839-1042 P.

23-Bernstein CN, wajda A, Severson LW, Mackenzie A, Koechoorn M, Jackson M, et al . The epidemiology of inflammatory bowel disease in Canada a population – based study. Am J Gastroenterology 2006 ; 101 : 1559-1568.

24-Bhattacharya.S, Sengupta.K, Sengupta.S. Antigens of diagnostic and prophylactic importance in Entamoeba histolytica. Indian Journal of Clinical Biochemistry . 1998, 13(1), 33-35.

25-Birrenbach T, Bocker U. Inflammatory bowel disease and Smoking: a revue of epidemiology path physiology and therapeutic implication. Inflamm Bowel Dis 2004; 10:848-859.

26-Bjornsson S, Johannsson JH. Inflammatory bowel disease in Iceland, 1990-1994: a prospective, nation wide, epidemiological study. Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12(1):31-38.

27-BLANC DS. Determination of taxonomic status of pathogenic and non pathogenic Entamoeba histolytica zymodemes using isoenzyme analysis, journal of Protozoology (1992) ; 39.471-479 .

28-Bonen DK, cho JH . The genetics of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2003 ; 124 :521-536.

29-Boucekine T, Kheddis A, Ziari A, Asselah F, Asselah H, IIIoul G. Aspects anatomocliniques de la colite ulcèreuse à Alger. Expérience d'un service universitaire de Gastroenterologie entre 1963 et 1980. ANN. Gastroenterol hépatol 1982; 18(5):351-359.

30-Boucekine T et col. Aspect anatomoclinique de la colite ulcéreuse à Alger. Expérience d'un service universitaire de gastro-entérologie entre 1963 et 1980. Annale de Gastro-entérologie et d'hépatologie. 1982. 351 -359 P.

31-Boucekine T et col. Colite ulcéreuse et maladie de Crohn du colon.Ixe . Rabat du 12 mai 1980. Congres médical maghrébin.

32-Boukthir S, Chemli J, N'Cib F, Mongalgi MA, Fetni I, Debbabi A. Intestinal amebiasis revealing hemorrhagic rectocolitis in children.Arch Pediatr. 1995 Jan; 2(1): 89-90. French.

33-[Bouratbine A](#), [Maamouri N](#), [Ben Abdallah RR](#), [Aoun K](#), [Haouet S](#), [Boubaker J](#), [Ben Jilani S](#), [Ghorbel AJ](#), [Najjar T](#), [Ben Ammar A](#). Epidemiological, clinical and parasitological data concerning intestinal amebiasis in northern Tunisia. [Tunis Med](#). 2003 May;81(5):318-22.

34-Bracha, R., Nuchamowitz, Y. , Anbar, M. and Mirelman, D. Transcriptional silencing of multiple genes in trophozoites of Entamoeba histolytica. (2006) PLoS Pathogens.

35-Brahme F, Lindstrom C, Wenckert A, Crohn's disease in a defined population. An epidemiological study of incidence prevalence, mortality and secular trends in the city of Malmo Swiden. Gastroenterology 1975; 69: 342-351.

36-Bruchhaus I, Jacobs T, Leippe M et al. Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar: Differences in numbers and expression of cysteine proteinase genes. Mol Microbiol 1996; 22(2):255-263.

37-Brumpt.E. Etude sommaire d'Entamoeba dispar .sp.Bull. Acad. Méd. Paris. 1925. 94 : 942-959.

38- Byungki K, Barnett J, Kleer C *et al*. Endoscopic and histological patchiness intreated ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 1999; 94: 3258-62.

39-Cartot A. Maladies inflammatoiresbde l'intestin. A – Traitement médical. Hepato-Gastro 1994 ; 6 : 541-550.

40-Campbell WC, Rew SR. Chemotherapie of parasitic diseases. Plenum Press. New York, London, 1986 ; pp140-144.

41-Carter MJ, Lobo AJ, travis SPL. Guidelines of the management of inflammatory Bowel Diseases in adults. Gut 2004 ; 53 : V1-V2.

- 42-Chan KL, Sung JY, Hsu R, Liew CT. The association of the amoebic colitis and chronic ulcerative colitis. *Singapore Med J*, 1995 Jun ; 36(3) :303-305.
- 43-Chinyu S, Lichtenstein Gr. Ulcerative colitis. In: Feldman M, Scharsmidt BF, Sleisinger MH et Al. Eds. *Sleisinger and Fordran's gastrointestinal and liver disease*, 6<sup>th</sup> edn. Saunders, 2006:2499-2538.
- 44-Christoforov B, Duflo B, Laffitte M, Piette F, D'izarn JS. Superacute amoebic rectocolitis. Clinical and therapeutic remarks. *Ann Med Interne (Paris)*. 1976 Dec;127(12):887-90. French.
- 45-Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, et al. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133:312-339.
- 46-Chan KL, Sung JY, Hsu R, Liew CT. The association of the amoebic colitis and chronic ulcerative colitis. *Singapore Med J*. 1995 Jun; 36(3):303-5.
- 47-Cortol A. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, A. traitement médical. *Hepato-Gastro* 1994 ;6 :541-550.
- 48-Cosnes J, Carbonnel F, Beaugerie L, Gendre JP, Le Quintrec Y. Effects of cigarette smoking on the long term course of Crohn's and Ulcerative disease. *Gastroenterology* 1996 ; 110 : 431.
- 49- De Boek. *Entamoeba histolytica* (Eumamoebida) L'amibiase, CHAP.4-1995. Auto idiopathic ulcerative rectocolitis in asymptomatic intestinal amoebiasis caused by *Entamoeba histolytica*. Diagnostic and therapeutic problems. 1988 May; 79(5):203-5.
- 50-Denée J.M. L'amibiase intestinale et hépatique. *Gastroenterol. Clin. Biol.* , 195, 19, B 91-B 98. Rouas L., Amrani M., Reguragui A., Gamra L., Belabbas M.A. Amoebome colique : difficultés diagnostiques à propos d'un cas. *Med. Trop.*, 2004, 64, 176-178.
- 51-Diamond L.S. Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Science*. 1961. 134 : 336-337.
- 52-Diamond LS. Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudin 1903 and *E. histolytica*- Like amoeba, *Journal of Parasitology* (1968). 54, 1047-1056.

53-Diamond LS, Clark CG, (1993) A Redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn 1903 (Emended walker 1911), separating it from *Entamoeba dispar*. Brumpt 1925. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 40, 340-344.

54-Diamond LS, Clark CG (1993) A redescription of *Entamoebahistolytica* .Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911).separating it from *Entamoebadispar* Brumpt, 1925. *J Eukaryot. Tanyuksel M, Petri WA* (2003) Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev* 16:713–729.

55-Diamond LS, Harlow DR, Cunninck CC, A new medium of t axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *Transactions of the Royal Society of Tropical medecine and Hygiene* (1978), 72, 431-432.

56-Dobell.C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys. General introduction and description of the whole life-history of *Entamoeba histolytica* in culture. *Parasitology*, 1928. 20 : 357-412.

57-Edouard A, Paillaud M, Merle S, Orhan C, Chenayer-Panelatti M. Incidence des maladies inflammatoires chroniques intestinales aux Antilles Françaises (1997-1999) *Gastroenterol Clin Biol* 2005; 29:779-783.

58-Edouards FC, Truelove SC. The course and prognosis of ulcerative colitis. *Gut* 1963 ; 4 :299-315.

59-Edouard B., Bohand X., Maslin J. Médicaments des infections à protozoaires (paludisme exclu). *Encycl. Med. Chir.*, Maladies infectieuses, 2005, 8006-G-15, 7 p.

60-Ekbom A, Hemick C, Zack M, Adami H. The epidemiology of inflammatory bowel disease: a large population based study in Sweden. *Gastroenterology* 1991; 100:350-358.

61-Ekbom A, Helmick C, Zack M et al. Ulcerative colitis and colorectal cancer. Population-based study. *N Engl J Med*. 1990; 323:1228-1233.

62-ElGamri Y., Belghyti1 D., Achicha A. Enquête épidémiologique rétrospective sur les parasitoses intestinales au Centre hospitalier provincial El Idrissi (Kénitra, Maroc) : bilan de 10 ans (1996-2005). *Ann Biol Clin* 2009 ; 67 (2) : 191-202

- 63-Farahat K, Sobbani I, BonnaudG, Vallot T, Vissuzaine C et Mignon M. Rectocolite ulcérohémorragique Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris) Gastro-entérologie 1999, 9-0590A-10, 24p.
- 64-Farmer RG, Easley kA, Ramkin GB. Clinical patherns, naturel history, and progresson of ulcerative colitis. A long-term folow of 1116 patients. Dig Dis sci 1993 ; 38 : 1137-1146.
- 65- Faussart A., Danis M. Parasitoses digestives. *La Revue du Praticien*, 2008, 58, 79-85.
- 66-Flourié B, Descas L, Rambaud JC. Le butyrate et la rectocolite hémorragique. *Gastroenterologie Clin Biol* 1995 ;19 :619-624.
- 67-Garland CF, Lilienfield AM, Mendeloff AI, Markowitz JA, Terrell KB. Incidence rates of ulcerative colitis and crohn's disease in fifteen areas of the United States. *Gastroenterology* 1981; 81:1115-1124.
- 68-Gathiram.V et Jackson.T.F. Phatogenic zymodemes of E. histolytica remain unchanged throughout their life cycle. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1990. 84 : 806-807. Immunocytochemica evidence of listeria, Escherichia coli, and Streptococcus antigens in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1995; 106:1396-1404.
- 69- Gatti S, Swierczynski G, Robinson F, Anselmi M, Corrales J, Moreira J, et al Amebic infections due to the Entamoebahistolytica–Entamoebadispar complex: a study of the incidence in a remote rural area of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.*(2002). 67:123–127.
- 70-Gentilini M, Bernard D. Amibiase : Médecine tropicale. Flammarion Médecine Sciences. Deuxième édition. 1984. P 139-149.
- 71-Golvan Y.J. Ambroise-Thomas. Les nouvelles techniques en Parasitologie. Flammarion Médecine Sciences. Deuxième édition. 1990. P 11-81.
- 72-Greenfield M, PUNCHARD NA, Pearce JP, Thompson RPH. Pevue article : The mode of action of the aminoslicylates in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1993 ; 5 : 393-383.

- 73-Greenstein AG, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine* 1976; 55:401-412.
- 74-Guyot. J. Rectocolite ulcéro-hémorragique 09/06/2004.
- 75-Guidam.R, Kallel.A, Bouratbine.A. Le parasitisme intestinal chez les manipulateurs de denrées alimentaires dans la région de Tunis. Tunis Nov 2010 Communication affichée. Journées Franco-Tunisienne de Parasitologie.
- 76-Hammada T., Lemdaoui M-C., Boutera F., Aspect épidémiologique des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin dans une population algérienne. *J.Afr. Hépatol Gastroenterol.* (2011) 5:293-302. DOI 10.1007/s12157-01-0327-6.
- 77-Haque R, Ali IKM, Petri WA Jr. Prevalence and immune response to *Entamoeba histolytica* infection in preschool children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:1031-4.
- 78-Hantefeuille P. Le traitement chirurgicale actuel de la rectocolite hémorragique en dehors de l'urgence. In *Maladies inflammatoires de l'intestin. Progrès en hépato-gastroentérologie.* Paris : Dion , 1988 :173-186.
- 79-Hooshyar.H, Rezaian.M. The distribution of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in northern, central, and southern Iran. *Parasitol Res* (2004) 94 :96-100. DOI 10.1007/S 00436-004-1175-8.
- 80-Hui T, Lander SC, Vasiliauskas E, et al. Serologic responses in indeterminate colitis patients before ileal pouch-anal anastomosis may determine those at risk for continuous pouch inflammation. *Dis Colon Rectum* 2005; 48:1254-1662.
- 81-Huit T, Landers C, Vasiliauskas E, et al. Serologic responses in indeterminate colitis patients before ileal pouch-anal anastomosis may determine those at risk for continuous pouch inflammation. *Dis Colon Rectum* 2005 ;48 :1254-1662 .
- 82-Jacobs T, Bruchhaus I, Dandekar T et al. Isolation and molecular characterization of a surface-bound proteinase of *Entamoeba histolytica*. *Mol Microbiol* 1998; 27:269-276.

83-Jantchou Prévost, Monnet Elisabeth. Les facteurs d'environnement dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. *Revue de Gastroentérologie Clin Biol* 2006 ; 30:859-867.

84-Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10 218 ulcerative colitis case in China. *World J Gastroenterology* 2002; 8:156-161.

85-Joosens, Reinish w, Vermeire S. The value of serologic markers in indeterminate colitis: A prospective follow-up study. *Gastroet enterology* 2002; 122:1242-7.

86-Jouret-mourin Anne, Geboes. KColites infectieuses. *Acta endoscopica*, Volume 32, N°2 ,2002, P167-203.

87-Jun ichiro takatno, Toyoko Narita. Comparaison of *Entamoeba histolytica* DNA isolated from a cynomolgus monkey with humain isolates. *Parasitol* (2007) 101 : 539-546. DOI 10 ;1007/S 00436-007. 0510-2.

88-Jun ichiro takano, Toyoko Narita, *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infections in cynomolgus monkeys imported into Japan for research. *Parasitol Res* (2005) 97 ; 255-257. DOI 10.1007/S 00436-005-1415-6.

89-Kalkins BM, Lilienfeld AM, Garland CF, Mendeloff AL. Trends in incidence rates of Ulcerative Colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1984; 29(10):913-920.

90-Kandiel A, Lashner B. Cytomegalovirus colitis complicating Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2857-2865.

91-Kiesslich R, Burg J, Vieth M, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasia and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology* 2004 ;127 :706-713.

92-[Kebede A](#), [Verweij J](#), [Dorigo-Zetsma W](#), [Sanders E](#), [Messele T](#), [van Lieshout L](#), [Petros B](#), [Polderman T](#). Overdiagnosis of amoebiasis in the absence of *Entamoeba histolytica* among patients presenting with diarrhoea in Wonji and Akaki, Ethiopia. [Trans R Soc Trop Med Hyg](#). 2003 May-Jun;97(3):305-7.

93-knappik.M, Borner.U, Jelinek.T. Sensivity and specificity of a new commercial enzyme-linked immunoassay Kit for detecting *Entamoeba histolytica* IgG. Antibodies in serum samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2005) 24:701-703.DOI 10.1007/S 10096-005-0030.

- 94-Kodjoh. N et col. Une affection rare en Afrique noire: La rectocolite-ulcéro-hémorragique. A propos de 3 cas observés à Cotonou. *Médecine d'Afrique Noire* 1992 (8/9).
- 95-Kornbluth A, Marion JE, Saloman P. How effective is current medical therapy for severe ulcerative and Crohn colitis. *Clin Gastroenterol* 1995 ; 20 :280-284.
- 96-Koppatz K, Wemmer R, Schillat I, Kuhn HG. Ulcerative colitis or amebic colitis- -a case report. *Z Gesamte Inn Med.* 1990 Jan 1;45(1):25- 7. German.
- 97-Kornbluth A, Colombel JF, Leighton JA, Loftus E. Iccé Consensus for inflammatory Bowel Disease. *Endoscopy* 2005; 37(10):1051-1054.
- 98-Kornbluth A, Colombel JF, Leighton JA, Loftus E. Iccé Consensus for inflammatory Bowel Disease . *Endoscopy* 2005 ;37(10) :1051-1054.
- 99-Kotlowski R, Bernstein CN, Sepheri S, Krause DO. High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. *Gut* 2007;56: 669-675.
- 100-KRESCHMER RR. (1990) Amoebiasis, infection and disease by *Entamoeba histolytica*, CRC Press.
- 101-Kermouni Serradj M, Aspects épidémiologiques et anatomocliniques des colites inflammatoires au niveau du Grand Alger 1989.
- 102-Krimi E, Caksen H, Cesur Y, Ceylan A, Demirtas I, Yilmaz H, Ugras S, Odabas D. Use of sulfasalazine in the treatment of post amebic rectocolitis. *J Emerg Med.* 2002 Jan 22 (1): 105-6.
- 103-Krishna Khairnar, Subhash Chandra Parija. Diagnosis of intestinal amoebiasis by using nested polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism assay. *J Gastro-enterol* 2007; 42: 631-640. DOI 10.1007/S00535-007-2080-6.
- 104-Laclotte.C, Oussalah.A, Rey.R, Bensenane.M, Pluvinage.N, Cevaux J.B., Trouilloud I., Serre A.A., Boucekkine.T, Bigard M.A, Peyrin-Biroulet L. Helminthes et maladies inflammatoires chroniques intestinales. *Gastroenterologie clinique et biologique* (2008) 32, 1064-1074.

105-Langholz E, Munkholm P, et al. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in Copenhagen contry from 1962 to 1987 Scand J gastroenterol 1991; 26:1247-1256.

106-Lapidus A. The changing epidemiology of inflammatory bowel disease. Acta Gastreterol Belg, vol LXIV, 2001:155-159.

107-Latour P, Belaiche J, Louis E. incidence of inflammatory bowel disease in area of Liege: a three years prospective study (1993-1996). Acta gastroenterol Belg 1998; 410-413.

108-Leger N et Danis M. Amibes et Amibiase Encyc, Med, Chir(Paris- France), Maladies inféctieuses .8-500-A-10, 1995, 14p.

109-Leger N et Danis M .Entamoeba histolytica et Entamoeba dispar : méthodes de différenciation et implications. Faculté de médecine de Tunis. Département de parasitologie. Tunis. Tunisie. Ann Biol Clin janvier-février 2005. Vol. 63. n°1.

110-Leitsch David, Iain B.Comparaison of the proteome profiles of Entamoeba histolytica and its close but non-pathogenic relative Entamoeba dispar. Wien Klin Wochenschr (2006) 118 (suppl 3) : 37-41. DOI 10.1007/ S 00508-006-0675-1.

111-Lemann M. Histoire naturelle de la rectocolite hémorragique traitée. Gastro-enterol Clin. Bio 1996 ;20 :163-165.

112-Leo G. Visser , Jaco J. Verweij, Marjan Van Esbroeck. Diagnostic methods for differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in carriers : Performance and clinical implications in a non-endemic setting. International Journal of Medical Microbiology .296 .(2006) 397-403

113-Libros-Ziv, P., Villobo, E. and Mirelman.D, Entamoeba histolytica : characterization of an N-ethylmaleimide sensitive fusion protein homologue . Exp. Parasitol, 2005. 110 : 276-279.

114-Linars de la cal JA, Canton C, Hermida C, Perez-Miranda M, Mate-Jimenez J. Estimated incidence of inflammatory bowel disease in Argentina and Panama (1987-1993). Rev Esp Enferm Dig 1999 ; 91(4) : 277-286.

115-Loftus B, Anderson I, Davis R et al. The genome of the protest parasite *Entamoeba histolytica*. *Nature* 2005; 433(7028):865-868.

116-Loftus EV. Epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, Prevalence and environmental influence *Gastroenterology* 2004; 126(6): 1504 – 61517.

117- Loftus EV. Silverstein MD, Sandborn WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR. Ulcerative Colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940 – 1993: Incidence, prevalence, and survival. *Gut* 2000; 46(3): 336 – 33 43.

118-Luaces AL, Osorio CM, Barrett AJ. A new test for infection by *Entamoeba histolytica*, *Parasitology Today*.(1993), 9, 69-71.

119-Maconi G, radice E, Bianchi Porro G. Eds. *Ultrasound of the Gastrointestinal tract*. Springer-velag Berlin Heideiberg 2007 :60-72.

120- Mann BJ, Lockhart LA. Molecular analysis of the Gal/GalNAc adhesin of *Entamoeba histolytica*. *Eukaryot Microbiol* 1998; 45(2):13S-16S.

121- Mann BJ. Structure and function of the *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin. *Int Rev Cytol* 2002; 216:59-80.

122-Manousos ON, Giannadaki E, Mouzas IA, Tzardi M, Koutroubakis I, Skordilis P, et al. Ulcerative colitis a common in Crete as in northern Europe : a 5 year prospective study *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996 ; 8 (9) :893- 898 .

123- Marc Wery. *Protozoologie médicale*. P35-42. P42-55.

124-Marinkelle et al. A modification of Diamond's medium for axenic culture of *Entamoeba histolytica*. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medecin and Hygiene*, (1991).85, 746-747.

125-Marmo R, Rotandano G, Piscopo R, Bianco MA, Cipoletta L. Meta-analysis: Capsule enteroscopy Vs. Conventiional modalities in diagnosis of small Bowel disease. *Aliment pharmacol ther* 2005; 22:595-604.

126-Martin Danis. *Entamoeba histolytica et Entamoeba dispar*. Tome 1-6.1986.

127-Martinez-Palomo.A, Tsutsumi.V. Ultrastructure of experimental intestinal amebiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1989. 41 : 273-279.

- 128-Mate.J, Imenez J, Munoz S, Vicent D, Pajares JM. Incidence and prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in urban and rural areas of Spain from 1981 to 1988. *J Clin Gastroenterol* 1994;18(1):27-31.
- 129-Mehdi A, Bakkouche A, Skandrani K, Bdioui F, Ghilene : inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin dans le Centre-Est Tunisien. *Maghreb médical* 1997 ; 314 : 47- 52.
- 130-Merens A., Rapp C., Fabre R., Cavallo J.D. Intérêt et limites du diagnostic au laboratoire de l'amibiase. *Med. Trop.*, 2005, 65, 167-175.
- 131-Merens A, RAPP C. Diagnostic au laboratoire de l'amibiase *Revue-Médecine tropicale* 2005-vol.65 N°2 PP167-175.
- 132-Mignon M, Stettler C. Pouchite ileo-anale : une pathologie encore mal comprise. *Ann Chir* 1993 ; 47 : 1049-1053.
- 133-Mirelmand. Effect of culture conditions and bacterial associate on the zymodemes of *E. histolytica* , *Parasitology, Today*.(1987) 3, 37.
- 134-Mirelman,D., Anbar, M., Nuchamowitz, Y. and Bracha, R. Epigenetic silencing of gene expression in *Entamoeba histolytica* . *Arch. Med. Res*,2006. 37, 226-233.
- 135-Mirelan David, Anbar Michael, Wende Nomy Margalit and Iris. Epigenetic silencing of virulence genes in *Entamoeba histolytica*. Prof David Mirelman holds the Besen-Brender chair of microbiology and parasitology. *Jaune* 2006.
- 136- Moliner S, Imbert P, Guisset M, Sabbah P, Klotz F. Hepatic amebiasis and hemorrhagic rectocolitis: an accidental association. *Med Trop (Mars)*. 1995;55(2):183-4. French.
- 137-Molinie F, Gower-Rousseau C, Yzet T, Merle V, Grand Sebatién B, Marti R, et al. Opposite evolution in incidence of Crohn's disease and ulcerative disease in northern France (1988-1999) . *Gut* 2004 ; 53(6) : 843- 848
- 138-Moncada, D.M., Keller, K., Ankri, S., Mirelman, D. and Chadee, K. Antisense inhibition of *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases inhibits colonic mucus degradation . *Gastroenterology* (2006), 130, 721-730.

139-Montgomery SM, Morris DL, Thompson NP, Subhani J, Pounder RE, Wakefield AJ. Prevalence of inflammatory bowel disease in British 26 year olds: National longitudinal birth cohort. *BMJ* 1998; 316(7/37): 1058 – 1059.

140-Moral L, Gardia A, De Danota M, Urdaneta H. Epidemiology and molecular study of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* strains in patients with diarrhea in Curana, Sucre, Venezuela. *Invest clin*, 2008 Juin ; 49 (2) : 225-37

141-Morita N, Toki S, Hirohashi T, Minoda T, Ogawa K, Kono S, et al. Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Japan: nationwide epidemiological survey during the year 1991. *J Gastroenterol* 1995; 30(suppl 8):1-4.

142-Morson BC, Dawson IMP et al. Ulcerative Colitis In : Morson's and Dawson's gastrointestinal pathology. Oxford, Blackwell , 2008 : 485-503.

143-Moulinier C.; parasitologie et mycologie médicales (éléments de morphologie et de biologie. Edition Lavoisier 2003. p30.

144-Munkholm P, Langholz E et al. Incidence and prevalence of Crohn's disease in the county of Copenhagen 1962-87: a six-fold increase incidence. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27:609-614.

145-Naoyoshi Nagata, Takuro Shimbo, Junichi Akiyama, Ryo Nakashima, So Nishimura, Tomoyuki Yada. Risk Factors for Intestinal Invasive Amebiasis in Japan, 2003–2009. *Emerging Infectious Diseases* . Vol. 18, No. 5, May 2012 717.

146-Neveu.M, Lemaire.E :Traité de parasitologie médicale et vétérinaire. Edition Vigot frères, Paris 1943.

147-Ngui Romano, Angal Lorainne, Fakhurrazi Siti Aminah, Yvonne Lim Ai Lian, Lau Yee Ling, Jamaiah Ibrahim. Differentiating *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* using nested polymerase chain reaction (PCR) in rural communities in Malaysia. *Parasites & Vectors* 2012, 5:187. <http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/187>

148-Nicole Leger, Martin Danis. Encyclopedie Medico-chirurgicale. Amibiase. 2005.

149-Nikolaus S, Schreibers S, Reviews in basic and clinical gastroenterologie 2007 ; 133, 1670-1689.

150-Nozais Jaean-Pierrre, Datry Annick, Danis Martin.Traité de parasitologie Amibiase. Edition pradel-Paris :1996 ;249-275p.

151-Odes HS, Fraser D, Krawierc J. Ulcerative colitis in the Jewish Population of southern Israel 1961-1985 : Epidemiological and cilinical study. Gut 1987 ; 28 (12) : 1630-1636.113

152-Pardo-Gilbert A, Perez-alvardon N, Zavala B. Differential Diagnosis of non specific and amoebic ulcerative colitis:survey of 100 patients.Dis Colon Rectum, 1972, 155(2),147-149.

153-Oren R, Arber N, Odes S. Methotrexate in chronic active ulcerative colitis. A double-blind randomized, israeli multicenter trial. Gastroenterology 1996 ; 110 :1416-1421.

154-Pardo-Gilbert A, Perez-Alvardon N, Zavala B. Differential Diagnostic of non specific and amoebic ulcerative colitis : survey of 100 Patients. Dis Colon Rectum, 1972, 155 (2), 147 – 149.

155-Paris L., Thellier M., Faussart A., Danis M. Epidémiologie mondiale des maladies parasitaires. *La Revue du Praticien*, 2007, 57,131-136.

156-Paugam A, Laridi N, Hamrioui B. Entamoeba histolytica et Entamoeba dispar : des progrès pour le diagnostic de l'amibiase. Immuno anal Bio spéc 2001 ; 16 : 47-50.

157- Petri Jr WA, Haque R, Mann BJ. The bittersweet interface of parasite and host: Lectin-carbohydrate interactions during human invasion by the parasite Entamoeba histolytica. Annu Rev Microbiol.2002; 56:39-64.

158-PetriwA, Clark CG, Braga LL, Mann BJ. International seminar on Amebiasis, Parasitology Today.(1993), 9. 73-76.

159-Petri.W.T, Clark.C.G, Braga.L.L et Mannb.J. International seminar on amebiasis. Parasitology Today. 1993, 9 : 73-76.

160-Pinchbeck BR, Kirdeikis J, Thomson AB. Inflammatory Bowel disease in northern Alberta. An epidemiologic study. J Clin Gastroenterol 1988; 10:505-515.

161-Pineton De Chambrun G, Colombel JF, Poulaiw D, Darfeuille-Michaud A. Pathogenic agents in inflammatory Bowel disease. Current opinion in Gastroenterology 2008; 24:440-447.

162-Quandalle P. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. B-traitement chirurgical. Hepato-Gastro 1994 ;6 ;551-561.

163-Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, et al. Antisaccharomyces cerviciae mannan antibodies combined with anti neutrophil cytoplasmic auto antibodies in Inflammatory.

164-Rafael Vital dos SANTOS, Jucélia da Silva NUNES, Juliana Almeida de Souza Aranha Camargo. High occurrence of *entamoeba histolytica* in the municipalities of ariquemes and monte negro, state of rondônia, western amazonia, BRAZIL. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*55(3):193-196, May-June, 2013. doi: 10.1590/S0036-46652013000300010

165-Rambaud J-Claude. Traité de gastro-entérologie. Parasites du tube digestif. Edition Flammarion-Paris : 2000 ;467p ,609-613p.

166-Rashidul haque, Dinesh Mondal, Beth D. Kirkpatrick. Epidemiologic and clinical characteristics of acute diarrhea with emphasis on *Entamoeba histolytica* in perschool children in an urban slum of DHAKA, BANGLADESH. *Am.J.Trop.Med. Hyg*, 69(4), 2003, pp, 398-405

167-Rautelin HI, Renkonen OV, Von Bonsdorff" CH *et al.* Prospective study of the etiology of diarrhea in adult outpatients. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 329-33.

168-Rebal W., Makni A., Azouz H. et coll. Une tumeur sigmoïdienne compliquée : amoebome perforé. *Méd. Trop.* 2010, 70, 399-401.

169-Rieder F, Fioche C. Intestinal fibrosis in inflammatory bowel disease: progress in basis and clinical science. *Current Opinion in Gastroenterology* 2008; 24:462-468.

170-Rimund JM, Duclos B, Baumann R. Treatment with cyclosporine of severe colitis in hemorrhagic rectocolitis. Apropos of 7 cases. *Ann Med Interne (Paris)*. 1997;148(8):527-9. French.

171-Ripert C, Vincendeau P. Epidemiologie des maladies parasitaires. Protozoaires, Tome 1, Amibiase. P.19-50.

172-Robinson CL. The laboratory diagnostic of human parasitic amoeba. *Transaction of the Royal Society of tropical Medicine and Hygiene*, (1968) 62, 285.

173-Rose JDR, Roberts GM, Mayberry JF, Rhodes J. Cardiff. Crohn's disease jubilee: the incidence over 50 years. *Gut* 1988; 29:341-351.

174-Rothfus KS, Stange EF, Herlinger KR. Extra intestinal manifestation and complications in inflammatory Bowel disease. *World J Gastroenterol*, 2006; 12(30):4619-4631.

175-Rubin DT, Kavitt RT. Surveillance for cancer and dysplasia in inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol clin North Am* 2006 ;35 :581-604.

176-Russel MG, Dorant E, Volovics A, Brummer RJ, Pop P, Muris JW, et al . High incidence of inflammatory bowel disease in Netherlands: results of a prospective study. The south Limburg IBD study Group. *Dis colon rectum* 1998; 41(1):33-40.

177-Russel TJ, Kavitt, Surveillance For dysplasia in inflammatory Bowel Disease . *Gastroenterology Clin North Am*. 2005 ; 53 :280-304.

178-Rutter M, Bernstein C, Matsumoto T, Kisslich R, Neurath M. Endoscopic appearance of dysplasia in ulcerative colitis and the rôle of staining. *Endoscopy*. 2004 ; 36 (12) :1109-1114.

179-Rutter M, Neurath M. dysplasia in ulcerative Colitis and the role of staining. *Endoscopy*. 2003 ;26(10) :109-114.

180-Sands BE. From symptoms to diagnosis: clinical distinction among various forms of intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2004; 26:1518-15.

181-Sansonetti PJ. Host-bacterial homeostasis in the healthy and inflamed gut. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2008, 24: 435-439.

182-Sargeant.P.G et Williams.J.E. Electrophoretic isoenzyme patterns of *Entamoeba histolytica* and *E. coli*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1978. 72 : 164-166.

183- Schumacher G, Kollberg B, Sandstedt B. A prospective study of first attacks of inflammatory bowel disease and infectious colitis. Histologic course during . The first year after presentation. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 318-32.

184-Scotiniotis I, Rubesin SE, Ginsberg G. Imaging modalities in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1999; 28:391-421.

185-Scotiniotis I, Rubesin SE, Ginsberg G. Imaging modalities in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1999 ;28 : 391-421.

186-Sedlack Re, Norbrega Ft, Kurland LT. Inflammatory colon disease in Rochester, Minnesota 1935 to 1964. *Gastroenterology* 1972; 62:935-941.

187-Sergeant PG, Williams JE, Greene JD. The differentiation of invasive and non invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* (1978), 72, 519, 521.

188-Sergeant PG . .A comparative study of *E.histolytica* (NH ;200, HK9.). *E.histolytica*-Like and other morphologically identical amoeba using iso-enzyme electrophoresis *Transactions of the Royal society of tropical medicine and hygiene*,74, 469. *diagnostics, Parasitology Today*,3 , 40.

189-Sergeant PG.. The reability of *histolytica* zymodemes in clinical

190-Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: Is on inflammatory bowel disease there a difference between north and south ? Result of the European collaborative study. *Gut* 1996 ; 39(5): 690 -697.

191- Shivananda S, Mayberry JF. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology* 1993; 9:560-565.

- 192-[Siala E](#), [Guidara R](#), [Ben Abdallah R](#), [Ben Ayed S](#), [Ben Alaya N](#), [Zallaga N](#), [Bouratbine A](#), [Aoun K](#). The intestinal parasites in the food handlers of Tunis area: study of 8502 stool samples (1998-2008). [Arch Inst Pasteur Tunis](#). 2011;88(1-4):77-84.
- 193-Sonnerberg A, Wasserman IH. Epidemiology of inflammatory bowel disease among U.S. military veterans. *Gastroenterology* 1991; 101(1) 122 – 130.
- 194-Sood A, Midha V, Sood N, Bhatia AS, Avasthi G, Incidence and Prevalence of ulcerative colitis in Punjab, North India. *Gut* 2003; 52(11):1587-1590.
- 195-Srivastava ED, Mayberry JF, Morris TJ et al. Incidence of ulcerative colitis in Cardiff over 20 years: 1961-1987. *Gut* 1992; 33:256-258.
- 196-Srivastava ED, Newcombe RG, Rhodes J. Smoking and ulcerative colitis: a community study. *Int J Colorectal Dis* 1993; 8 : 71-74.
- 197-Standaert-Vitse A, Janault T, Vandewalle P, et al. *Candida albicans* is an immunogen for anti *sacharomyces cervicae* antibody markers of Crohn's Disease.
- 198-Stange EF, Travis SPL. The European consensus on Ulcerative Colitis : new horizons. *Gut* 2008 ; 57 (8) : 1029-1031.
- 199-Stettler C, Larvel L. L'anastomose iléorectale est-elle encore une alternative thérapeutique valable dans le traitement chirurgical de la rectocolite hémorragique. Analyse du resultat fonctionnel endoscopique et histologique de 74 observations. *Gastroenterology. Clin Biol* 1993 ;17 :175-180.
- 200-Stewenius J, Adnerhill I, Ekelund G, Floren CH, Floren CH, Fork FT, Janzon L, et al. Ulcerative colitis and indeterminate colitis in the city of Malmo, Sweden a 25 year incidence study. *Scand J.Gastroenterol* 1995 ; 30 (1), 38-43.
- 201-Stonnington CM, Philips SF, Melton L J, Zinsmeister AR. Chronic ulcerative colitis: Incidence and prevalence in a community. *Gut* 1987; 28:402-409.
- 202-Swidsinski A, Ladhoff A, Prenthaler A, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel Disease. *Gastroenterology* 2002: 122:44-54.

203-Stamm WP, Ashley MJ, Bell K The value of amoebic serology in an area of low endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* (1976) 70:49–531. World Health Organization: Amebiasis.

204-Tengku Shahrul Anuar<sup>1</sup>, Hesham M. Al-Mekhlafi<sup>2</sup>, Mohamed Kamel Abdul Ghani<sup>3</sup>, Siti Nor Azreen<sup>1</sup>, Fatmah Md Salleh<sup>1</sup>, Nuraffini Ghazali<sup>1</sup>, Mekadina Bernadus<sup>1</sup> and Norhayati Moktar<sup>1</sup>. Different Clinical Outcomes of *Entamoeba histolytica* in Malaysia: Does Genetic Diversity Exist? *Korean J Parasitol* Vol. 51, No. 2: 231-236, April 2013. <http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2013.51.2.231>

205-Tillack, M., Nowak, N., Lotter, H., Bracha, R., Mirelman, D. , Tannich, E., and Bruchahus, I. Increased expression of the major cysteine proteinases by stable episomal transfection underlines the important role of EhCP5 for the pathogenicity of *Entamoeba histolytica*. *Molec. Biochem. Parasitol*(2006).

206-Tomoyshi Nozaki. Kumiko Nakoda- Tsukui. Membrane trafficking as a virulence mechanism of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Parasitol Res* (2006) 98: 179- 183.

207-Tragnone A, Corrao G, Miglio F, Caprilli R, Ianfranchi GA. Incidence of inflammatory bowel disease in Italy: a nation Wide population-based study. *Int J Epidem* 1996; 25(5):1044-1052.

208-Tüzemen Nazmiye Ülkü, Doğan Nihal. Comparison of Direct Microscopy, Culture, ELISA and Molecular Methods for the Diagnosis of *Entamoeba histolytica*. *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(1): 114-122

209-Tysk C Jarnerot G. Ulcerative proctocolitis in Orebro, Sweden: A retrospective epidemiologic study, 1963-1987. *Scand J Gastroenterology* 1992; 27(11):945-950.

210-Valeriana Valadares Pereira, Abiqueila da Silva Conceição, Leandro Henrique Silva Maximiano. Laboratory diagnosis of amebiasis in a sample of students from southeastern Brazil and a comparison of microscopy with enzyme-linked immunosorbent assay for screening of infections with *Entamoeba* sp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 47(1):52-6, Jan-Feb, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0214-2013>

- 211-Vangossum A, Adler M, De Reurk M, Denis G, Fiasse R, Vanheurverzwijn R et al. Epidemiology of inflammatory bowel disease in Brussel's area (1992-1993). *Acta Gastroenterol Belg* 1996; 59:7-9.
- 212-Verma P, Cittadini M, Tropical treatment of refractory distal ulcerative colitis with 5-ASA and sodium butyrate. *Dig Dis Sci* 1995 ; 40 : 305-307.
- 213-Villalobo, E., Wender, N. and Mirelman, D. *Entamoeba histolytica* : molecular characterization of an aldose-1-epimerase (mutarotase ). *Exp. Parasitol.* 110 : 298-303, 2005.
- 214-Vucelic B, Korac B, Sentic M, Milicic D, Hadzic N, Juresa V et al. Ulcerative colitis in Zagreb, Yugoslavia: Incidence and prevalence 1980 – 1989, *Int J Epidemiol* 1991: 20(4): 1043 – 1047.
- 215-Walderich B, Weber A, Knobloch J. Sensitivity of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* patient isolates to human complement. *Parasite Immunol* 1997; 19(6):265-271.
- 216-Walderich B, Weber A, Knobloch J. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from German travelers and residents of endemic areas. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;1 :70–4.
- 217-Walmsley RS, Ayres RCS, Pounder RE, et al. A simple clinical colitis index. *Gut* 1998; 43: 29-32.
- 218-Wang Y F, Zhang HU, Ouyang Q. Clinical manifestation of inflammatory bowel disease : East and West differences. *Journal of Digestive Disease* 2007; 8:121-127.
- 219-Watkins PE, Warren BF, Stephen S, Treatment of ulcerative colitis in the cottontop tamarin bowel disease ; differences between jews and non-jews. *Gut* 1993 ;34 ;517-524.
- 220-Way JD, Kavitt RT. Surveillance for cancer and dysplasia in inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2006 ;35 :581-604.

221-Weber, C., Guigon, G., Bouchier, C., Frangeul, L., Moreira, S., Sismeiro, O., Gouyette, C., Mirelman, D., Coppee, J.Y. and Guillen, N. Stress by heat shock induces massive down-regulation of genes and allows differential allelic expression of the Gal/GalN Ac lectin of *Entamoeba histolytica*, (2006). *Eukaryotic Cell*.

222-Wiad Lek. A problem in patients with ulcerative colitis-amoebiasis. 1994 Apr, 47(7-8):248-51. Polish.

223-Windell L, River Sherwin R, Santos R. Prevalence and genetic diversity of *Entamoeba histolytica* in an institution for the mentally retarded in the Philippines. *Parasitol Res* (2006) 98: 106-110. DOI 10.1007/s00436-005-0024-8.

224-Wright JP, Froggatt J, O'Keef EA, Ackerman S, Watermeyer S, Louw J, et al. The epidemiology of bowel disease in Capetown 1980-1994. *S Afr Med J* 1986 ; 70 :10- 15.

225-Yang SK, Hong WS, Min YI, Kim HY, Yoo JY, Rhee PL, et al. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in the Songpa-kang-dong District, Seoul, Korea, 1986-1997. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15(9):1037-1042.

226-Yilmaz S, Aydemir E, Maden A, et al. The prevalence of ocular involvement in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2007 ; 22 :1027-1030.

227-Yoon JH, Ryu JH, Lee JK, Atypical clinical manifestation of amebic colitis *Koeran J* 1991 sep;6(3):260-6.

228-Zambrano-Villa S, Rosales-Borjas D, Carrero JC et al. How protozoan parasites evade the immune response. *Trends Parasitol* 2002; (6):272-278.

229-Zulhainan Hamzah, Songsak Petmitr, Mathirut Mungthin. Differential detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* by a Single-Round PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept 2006, p. 3196-3200 Vol 44, N° 9.



ANNEXE 12

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE  
BENBADIS-CONSTANTINE  
FICHE DE RENSEIGNEMENT

N° .....

NOM.....PRENOM.....AGE.....

ADRESSE.....

...

PROFESSION.....

.. MOTIFS DE CONSULTATION:

.....

ANTECEDENTS PERSONNELS.....

.....

.....

ANTECEDENTS FAMILIAUX.....

.....

TRAITEMENTS SUIVIS.....

.....

.....

RECTOSCOPIE:

.....

.....

PARASITOLOGIE DES SELLES:

DIRECT.....

CONCENTRATION .....

COPROCULTURE.....

ELISA COPRO-ANTIGENE.....

EXAMEN ANATOMO-PATHOLOGIQUE

.....

DIAGNOSTIC ET CONCLUSION :

.....

## ANNEXE N°2

### METHODE DE CONCENTRATION DE BAILENGER

#### Réactif :

- Liquide de dilution : un tampon Acéto-acétique à pH 5
- Acétate de sodium cristallisé.....15gr
- Acide acétique cristallisable.....3,6 ml
- Eau distillée.....QSP 1000ml

#### Technique :

- 1-Ajuster le pH à 5 avec de l'acide acétique.
- 2-Triturer dans un verre à pied conique une noix de selles dans dix fois son volume de tampon acéto-acétique à pH = 5,5.
- 3-Laisser sédimenter 40 à 50 secondes.
- 4-Tamiser et recueillir le filtrat dans le tube à centrifuger.
- 5-Ajouter l'éther sulfurique (1/3 du volume total du liquide) en prenant soin de laisser au moins 1cm de hauteur vide.
- 6-Agiter jusqu'à émulsion complète.
- 7-Centrifuger immédiatement pendant 1mn entre 1500 et 2000 tours/mn.
- 8-On obtient alors 4 couches de haut en bas : éther plus graisses, puis résidus lipophiles épais adhérant au verre ; puis solution aqueuse de dilution, puis culot avec parasites.
- 9-jeter le surnageant d'un seul coup et prélever le culot par capillarité avec une pipette pasteur

Cette méthode reste une bonne technique de routine.

Elle concentre les kystes de *Giardia*, d'*Entamoeba*, les œufs de tricocéphale et d'ankylostomes mais elle ne concentre pas les œufs des schistosomes.

ANNEXE N°8  
COLORATION DE BAILENGER

Réactifs :

Cristal violet.....	2g
Fuchsine basique.....	0,05g
Alcool à 95°.....	20 ml
Phénol cristallisé.....	10 ml
Laisser ces produits en contact pendant une nuit puis ajouter :	
Eau distillé.....	100 ml

Conservation illimitée dans un flacon brun hermétiquement bouché et gardé à l'abri de la lumière. Prélever le colorant dans les couches supérieures et non au fond où il se forme souvent un dépôt.

Technique de coloration :

Déposer une goutte de la suspension de selles sur une lame. Mélanger avec le coin d'une lamelle une très petite quantité de réactif prélevé avec une pipette de Pasteur très finement étirée. Mettre la lamelle. Examiner au besoin à l'immersion (il faut donc qu'il ait très peu de liquide sous la lamelle).

Résultats :

La coloration est immédiate. La rapidité avec laquelle atteint son optimum dépend de la quantité de réactif qu'on a utilisé. Avec une très petite quantité, on obtient une coloration progressive de meilleure qualité.

L'identification des amibes colorées reste possible au bout de plusieurs jours dans les préparations lutées avec du vernis à ongles (ou une colle cellulosique).

Les kystes se colorent aussi bien que les formes végétatives. Les cytoplasmes et les cristoïdes se colorent en rouge, les structures nucléaires ressortent en noir.

Les détails cytoplasmiques apparaissent avec une finesse comparable à celle qu'on obtient avec les techniques plus compliquées.

ANNEXE N°11  
ELISA COPRO-ANTIGENES

ENTAMOEBA HISTOLYTICA II est une analyse immuno-enzymatique pour la détection rapide de l'adhésine de *Entamoeba histolytica* dans les spécimens fécaux. Cette analyse est indiquée pour l'utilisation avec des spécimens provenant de patients avec diarrhée ou dysenterie pour déterminer la présence d'une infection gastro-intestinale par *Entamoeba histolytica*. L'analyse peut être utilisée pour des spécimens fécaux soumis à des analyses cliniques de routines pour adultes ou enfants. La microscopie conventionnelle n'est pas nécessaire dans le cadre de l'utilisation de cette analyse. Pour l'usage diagnostique in vitro.

### **PRINCIPE DE L'ANALYSE**

L'analyse d'E. HISTOLYTICA II utilise des anticorps dirigés contre l'adhésine d'*Entamoeba histolytica*. Les puits de micro-titres sont recouverts de l'anticorps polyclonal qui fixent l'adhésine d'*Entamoeba histolytica*. Le conjugué est un anticorps monoclonal peroxydase de l'adhésine d'*Entamoeba histolytica*. Si l'échantillon émulsifié dans le Diluant et déposé dans les puits de micro-titre contenant de l'adhésine d'*Entamoeba histolytica*, il se forme un complexe adhésine-conjugué. Ce complexe est immobilisé par l'anticorps polyclonal pendant la phase d'incubation. Le matériel non lié est enlevé pendant les étapes de nettoyage. L'addition du substrat révèle par une réaction colorée la présence des complexes antigène-anticorps-enzyme.

### **MATERIAUX FOURNIS**

**Diluant**, 40ml (solution tampon 0,02% thimérosal). Le Diluant est aussi utilisé comme solution pour le contrôle négatif (voir procédure d'analyse).

**Conjugué** : 7,0ml (anticorps de souris monoclonal spécifique pour l'adhésine de d'*Entamoeba histolytica*, attaché à la peroxydase de raifort dans une solution de protéine tampon avec 0,02% thimérosal)

**Substrat** : 14,0ml (solution contenant tétraméthylbenzidine et peroxyde)

**Réactif pour Contrôle Positif** : 3,5ml (adhésine purifiée provenant de *Entamoeba histolytica* dans une solution de protéine tampon contenant 0,02% thimérosal)

**Tampon de lavage à la concentration 20X** : 50ml (concentré 20X contenant du tampon salin aux phosphates, du détergent, et 0,2% thimérosal).

**Solution d'Arrêt** : 7 ml, 0,6N d'acide sulfurique. ATTENTION : éviter tout contact avec la peau ; rincer immédiatement en cas de contact.

**12 Bandes de Puits d'Analyses**, chacune consiste de 8 puits recouverts avec des anticorps polyclonaux spécifiques pour l'adhésine d'*E. histolytica* (préserver avec matériel déshydratant)

**Isac rescellable en plastique**

**Feuille adhésive en plastique**

### **MATERIAUX NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS**

Bouteille pour Solution de Nettoyage

Mélangeur de vortex réfrigérateur pour stockage (2° et 8°C)

Coton tiges jetables Tubes en plastique pour dilution des selles

Pipettes en plastiques Récipient pour déchets/papier absorbant

Lecteur Elisa avec filtre à 450 nm ou 450/620 nm

Bouteille de 1-L pour diluer la Solution de Lavage

950ml d'eau distillée ou dés ionisée pour diluer la Solution Tampon de Nettoyage

### **PRECAUTIONS D'EMPLOI**

1. Ne pas utiliser des réactifs provenant de kits différents. Ne pas dépasser la date de péremption indiquée sur le kit.
2. Les réactifs doivent être à température ambiante avant utilisation.
3. Les chapeaux et les bouts de pipettes sont codés par couleur : ne les mélanger pas !
4. Quand vous manipulez les puits d'analyses, évitez d'égratigner le fond des puits parce que les mesures élevées d'absorbance peuvent résulter.
5. La bouteille de compte-gouttes doit être maintenue verticalement pour assurer une goutte de taille appropriée.

6. Manipuler les spécimens et utiliser les puits de micro-titre en faisant attention de considérer qu'ils peuvent transmettre des maladies infectieuses. Utiliser des gants pendant les analyses.
7. Les réactifs contiennent 0,02% de thimérosal comme préservatif et doivent être manipulés par des procédures [attentives] normales de laboratoire.
8. La Solution d'Arrêt contient 0,6N d'acid sulfurique. Rincer avec de l'eau immédiatement si un contact se produit.
9. Les micro-puits inutilisés doivent être placés à l'intérieur de la poche avec le déshydratant pour les protéger de l'humidité.
10. Exécuter la procédure de nettoyage tel qu'il a été décrit pour éviter des réactions non-spécifiques élevées.
11. Utiliser les spécimens de matière fécale durant les premières 24 heures suivant la collection des spécimens afin d'obtenir des résultats optimaux. Les spécimens qui ont été congelés (20°C ou moins) peuvent perdre leur activité à cause de la congélation et du dégel.
12. L'analyse *Entamoeba histolytica* est prévue pour l'usage par des professionnels pour la diagnostique in vitro.

## **DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE**

La date d'échéance du kit est indiquée sur l'étiquette. La date d'échéance pour chaque composant est énumérée sur les individuellement. Le kit contenant les réactifs avec durées de conservation indiquées doit être stocké entre 2° et 8°C et doit être retourné au réfrigérateur aussitôt que possible après utilisation.

## **COLLECTION ET MANIPULATION DES SPECIMENS**

NOTER : Les procédures standard internes de collection et manipulation utilisées pour les spécimens de selles sont appropriées. Les spécimens qui ont été préservé dans du formol à 10%, dans du formol d'acétate de sodium ou de l'alcool polyvinylique ne peuvent pas être utilisés. Les spécimens doivent être transportés aussitôt que possible et stockés entre 2°et 8°C. Quand cela est possible, analyser les échantillons qui ont moins de 24heures. Stocker les spécimens à -20°C ou à des températures moindres si l'analyse ne peut pas être exécutée suivant les 48 heures après la collection de l'échantillon. La congélation et le dégel du spécimen, surtout si cela est répété plusieurs fois, peut produire une perte d'activité causée par la dégradation de l'adhésine.

Assurez-vous que le spécimen ait été complètement mélangé (avec le mélangeur vortex) avant d'entreprendre une analyse. Cela inclut le mélange complet du spécimen avant le transfert au Diluant ainsi que le mélange complet du spécimen dilué avant le transfert au micropuits. Le Diluant a été formulé afin de stabiliser l'adhérine dans les spécimens fécaux et pour réduire au minimum leur dégradation.

1. Préparer un tube pour la dilution de chaque spécimen analysé. Ajouter 400µL de Diluant à chaque tube. Marquer tube directement sur le côté.
2. Mélanger complètement (vortex) le spécimen fécal pour garantir un échantillonnage adéquat.
3. Pour les selles formées, utiliser une coton tige pour transférer le spécimen fécal au tube. Couvrir la coton tige complètement avant de faire le transfert du spécimen. Mélanger la coton tige dans le Diluant pour enlever autant d'échantillon que possible et presser la coton tige contre le côté du tube pour extraire le liquide résiduel. Cette procédure produit le transfert d'approximativement 0,15 à 0,20g de spécimen (environ de la taille d'un petit pois) au Diluant. Pour les **selles liquides**, transférer 400µL de spécimen au tube. Assurez-vous que les spécimens liquides présentent une suspension uniforme (après le vortex) avant le transfert.
4. Utiliser le vortex pour mélanger les tubes pendant 10 secondes et stocker entre 2° et 8°C jusqu'à ce que l'ELISA soit performée. Faire le vortex encore une fois avant le transfert du spécimen au puits micro-titre. Cela garantit le mélange complet du spécimen.

## **PROCEDURE DE L'ANALYSE**

1. Deux puits de contrôle doivent être utilisés à chaque fois analyse est performée. Ces puits qui sont utilisés comme contrôle additionnels ne sont pas nécessaires pour chaque échantillon de patients. Des contrôles additionnels ne sont nécessaires pour performer l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons. Ajouter une goutte (50µL) de conjugué (chapeau rouge) à puits pour le contrôle positif, à puits pour le contrôle négatif, et à puits pour l'échantillon du patient. Maintenir la bouteille de conjugué verticalement en ajoutant les gouttes. Des marques d'identification peuvent être écrites directement sur le côté des puits.
2. Ajouter 1 goutte (50µL) du réactif pour contrôle positif (chapeau noire) au puits pour contrôle positif et 100 µL du contrôle négatif (c.a.d. le Diluant) au puits pour le contrôle négatif. Transférer 200µL du spécimen

dilué au puits d'analyse. Couper une feuille d'adhésive en plastique d'une taille suffisante pour couvrir les puits. Couvrir les puits et incuber les à température ambiante pendant 2heures.

3. Agiter le contenu hors des puits d'analyse dans le récipient pour déchets. Nettoyer chaque puits en utilisant la Solution de Nettoyage dilué dans une bouteille d'éjection à ouverture réduite, en dirigeant la Solution de Nettoyage au fond du puits vigoureusement. Remplir les puits, puis secouer la solution de lavage hors des puits dans un récipient pour déchets. Rabattre la plaque inversée sur une serviette en papier sèche et refaites l'étape de nettoyage 4fois en utilisant une serviette en papier sèche à chaque fois. NOTER : La Solution de Nettoyage est fournie comme concentré 20X (un précipité peut être observé). Elle doit être diluée pour obtenir un volume total de 1000mL en ajoutant 50mL du concentré à 950mL d'eau distillée. Marquer la bouteille. La Solution de Nettoyage non utilisé doit être stockée entre 2° et 8° C.
4. Après le nettoyage, enlever complètement n'importe quel liquide résiduel dans les puits en rabattant la plaque, une fois encore, sur une serviette en papier sèche jusqu'à ce que tout liquide ait été enlevé. Disposer des serviettes en papier et des récipients des spécimens d'une manière adéquate.
5. Ajouter 2 gouttes (100µL) de Substrat (chapeau bleu) à chaque puits. Doucement tapoter les puits au départ puis tapoter encore une fois 5minutes plus tard pour bien mélanger le substrat. Incuber les puits à température ambiante pour 10minutes.
6. Ajouter 1 goutte (50µL) de Solution d'Arrêt (chapeau jaune) à chaque puits. Doucement tapoter les puits et attendez 2 minutes avant la mesurer. L'addition de la Solution d'Arrêt convertit la couleur bleu à une couleur jaune qui peut être dosée en mesurant la densité optique à 450nm ou en utilisant un lecteur microplaque ELISA. L'instrument doit être calibré à son zéro à l'aide d'air. Essuyer le dessous de chaque puits avant de mesurer la densité optique. Si un lecteur de longueur d'onde dual est utilisé, démarquer le zéro vis-à-vis de l'air à 620nm et mesurer à 450nm. La mesure doit être obtenue pas plus de 10minutes après l'addition de la Solution d'Arrêt.

## **CONTROLE DE QUALITE :**

Un controle positif et négatif doit être fait avec chaque série d'analyses de spécimens. Les résultats doivent être enregistrés pendant les 10 premières minutes après l'addition de la Solution d'Arrêt. Chaque puits de control positif doit avoir une couleur jaune visible et doit produire une absorbance de 0,500 ou plus après que la valeur de l'absorbance du contrôle négatif ait été soustraite (voir interprétation des résultats). Les puits du contrôle négatifs doivent avoir une absorbance de moins de <0,150. Les résultats ne sont pas valides à moins que les caractéristiques de performances du contrôle positif et négatif soient atteintes. Si ces résultats ne sont pas obtenus, appeler les services techniques. N'importe quel puits qui est claire visuellement mais qui produit une réaction positive (voir interprétation des résultats) doit être essayée en dessous et l'absorbance doit être mesurée une fois de plus. Chaque composant du kit doit être inspecté pour s'assurer qu'il n'y ait pas eu de fuite. Après que le kit soit arrivé, le kit doit être inspecté pour s'assurer que les composants ne sont pas congelés ou chauds au touché à cause des conditions de transports inadéquates. Les résultats des analyses, ainsi que les valeurs de l'absorbance des résultats des contrôles, doivent être enregistrés et rapportés selon les procédures internes et doivent être stockés selon les procédures internes pour référence future.

## **INTERPRETATION DES RESULTATS**

Le puits de contrôle négatif ne doit présenter aucune couleur ou seulement une couleur jaune très faible. Le puits de contrôle positif doit produire une couleur jaune positif évidente. Si ces résultats ne se produisent pas, appeler les Services Techniques. Un échantillon d'analyse est considéré positif s'il y a une couleur jaune évidente en comparaison avec le puits de control positif. Un échantillon est considéré négatif si la réaction est sans couleur ou d'une couleur moins jaune que le puits de contrôle négatif.

### **Interprétation des résultats de spectrophométrie**

1. Préparer le lecteur microplaque ELISA pour mesurer à 450nm. Si un lecteur à longueur d'onde dual est utilisé, préparer le lecteur ELISA pour mesurer à 450nm et référencé 620nm.
2. Déterminer la valeur de l'absorbance pour le contrôle négatif. Le contrôle négatif doit être de 0,150 ou moins. Sinon, l'analyse n'est pas

valide et doit être répétée en faisant bien attention à la procédure de nettoyage.

3. Soustraire la mesure du puits de contrôle négatif à celle du puits de contrôle positif et analyser les puits avant d'interpréter les résultats (le lecteur microplaque ELISA peut être calibré à son zéro en utilisant le puits de contrôle négatif afin que cette étape soit accomplie automatiquement).
4. Le mesurément pour le contrôle positif doit être 0,500 ou plus après que le contrôle négatif ait été soustrait. Si cette valeur n'est pas obtenue l'analyse doit être répétée.
5. Un spécimen est considéré positif pour la présence d'adhésine si le mesurément est 0,050 ou plus après que le contrôle négatif ait été soustrait. Un spécimen est considéré négatif pour la présence d'adhésine si le mesurément  $<0,050$ .
6. Un résultat d'analyse positif indique que l'adhésine d'*Entamoeba histolytica* est présente dans le spécimen fécal. Un résultat négatif indique que l'adhésine d'*Entamoeba histolytica* n'est pas présente dans le spécimen fécal.

## LES VALEURS ANTICIPÉES

Il est estimé qu'*Entamoeba histolytica* infecte environ 500 million d'individus à travers le monde. A peu près 90% de ces individus demeurent asymptomatique, alors qu'à peu près 10% développent des symptômes cliniques qui s'étendent des maladies gastro-intestinales aux abcès de foie. En moyenne, environ 3500 cas d'amoebiose par an sont reportés au Centers for Disease Control (Centre pour Contrôle des maladies) aux États-Unis. Les groupes à haut risques incluent les individus qui ont voyagé à l'étranger, les immigrants, les individus immuno-compromis, les travailleurs migrants, et les hommes activement homosexuels. Les espèces non pathogéniques (*Entamoeba dispar*) sont prédominantes parmi les hommes homosexuels. La maladie est souvent transmise par des porteurs asymptomatiques d'*Entamoeba histolytica*.

## ANNEXE N°6

### COLORATION A

#### L'HEMATOXYLINE FERRIQUE

Elle donne d'excellents résultats si elle est parfaitement exécutée, mais elle est longue, délicate et les réactifs qu'elle utilise se conservent mal.

Cependant en conservant la solution d'alun de fer au réfrigérateur et en opérant à 37° C, on a une excellente technique qui ne s'avère pas plus complexe que la multitude de celles apparemment plus simple qui en dérivent.

1. confection d'un frottis fécal
2. fixation
3. coloration

Cette méthode met à profit l'affinité des constituants nucléaires pour le fer secondairement, on amène l'hématoxyline à se combiner avec le fer fixé sur le noyau pour former une laque ferrique noire qui ressort sur le fond incolore de la préparation.

#### REACTIFS

Mordant :

- Alun de fer.....3g
- Eau distillée.....100ml

Les cristaux d'alun de fer, fraîchement préparés, sont violets. Avec le temps, ils se recouvrent d'une couche poussiéreuse jaunâtre.

Seuls les cristaux violets sont utilisables. On peut, cependant, récupérer les cristaux altérés en les raclant pour éliminer entièrement la couche jaunâtre périphérique plus ou moins épaisse.

La solution doit être faite à froid. Elle est jaune et se conserve mal. Cependant, en la mettant au réfrigérateur, sa conservation est excellente.

Colorant:

Hématoxyline

cristallisée.....10g

Solution mère:

Alcool

à

90°.....100ml

Cette solution doit être préparée quelque temps avant l'emploi, en l'exposant à la lumière diffuse pendant 15j à 3 semaines au minimum. La solution devient de plus en plus foncée.sa conservation est excellente.

Solution

mère.....10ml

Solution extemporanée

Eau

distillée.....90ml

Différentiateur :

- Alun de fer.....15g
- Eau distillée.....100ml

Cette solution se prépare par dilution, au demi, du mordant.

## TECHNIQUE

1-Mordant et colorant on verse chacun dans un récipient, tube de borrel par exemple, et portés à 37°C.

2-Mordantage: Le frottis fixé et lavé est plongé dans la solution à 3% d'alun de fer à 37° C, pendant 30 minutes. Rincer rapidement à l'eau distillée.

3-Coloration: Plonger la lame dans la solution hydroalcoolique d'hématoxyline à 37°C, y maintenir pendant 30 minutes. Lavage à l'eau distillée.

4-Différenciation: Éliminer la majeure partie du colorant noir (laque ferrique) qui imprègne le frottis, par l'emploi de la solution de mordantage: Alun de fer à 3%.

5-Le frottis humide est alors disposé sur la platine du microscope, afin de suivre avec précision la différenciation pour éviter de salir le microscope, on enlève le chariot et on pose sur la platine, le fond d'une boîte de pétri contenant une tige de verre coudée en U.

6-La lame est placée, frottis en dessus, sur cette tige de verre recouverte de quelques gouttes de la solution de mordantage diluée au demi: Alun de fer à 1,5 %.

7-On suit la différenciation avec l'objectif de faible grossissement, en renouvelant la couche du différenciateur qui recouvre le frottis et s'écoule dans la boîte de pétri, sans crainte de salir.

8-L'épaisseur du frottis n'étant généralement pas uniforme, la différenciation n'est pas homogène. Il est donc nécessaire de repérer une zone riche en protozoaires, dont on suit la différenciation sans tenir compte du reste du frottis.

9-Quand les structures nucléaires ressortent clairement, on lave la lame à l'eau courante.

10-Montage

11-Examen

12-Les structures nucléaires ressortent en noir sur le fond grisâtre de la préparation.

## ANNEXE N° 11

### METHODE DE CONCENTRATION D'ELEMENTS PARASITAIRES PAR COLORATION PAR LE COP-COLOR FUMOUSE

#### PRINCIPE :

Méthode de concentration diphasique utilisant l'éther comme solvant organique et la solution tampon acéto-acétique pH 5 comme phase aqueuse. L'examen du culot est réalisé après coloration par le KOP-COLOR FUMOUSE, permettant une détection plus facile des éléments parasitaires qui apparaissent en jaune, jaune-orange ou jaune brun sur fond bleu lus ou moins foncé.

#### MODE OPERATOIRE :

- 1-dans un tube conique de 30ml, verser 20ml de tampon acéto-acétique.
- 2-homogénéiser les selles.
- 3-prélever une noix de selles (3 - 4g ou 3 – 4 ml si les selles sont liquides) et la déposer le tampon acéto-acétique.
- 4-triturer à l'aide d'une spatule et agiter vigoureusement jusqu'à obtention d'une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
- 5-Laisser reposer 2 à 3 minutes pour la sédimentation des gros débris.
- 6-Verser 5ml du surnageant dans un tube comique de 10ml.
- 7-Ajouter 2,5 à 3 ml d'éther.
- 8-Boucher le tube et agiter vigoureusement pour obtenir une émulsion (agitation manuelle ou avec agitateur type Vortex).
- 9-Déboucher le tube et centrifuger à 150-200g pendant 5 minutes pour casser l'émulsion.

10-En cas de gélification de la phase supérieure (résidus lipophiles), la décoller de la paroi du tube à l'aide d'une pipette pasteur.

11-Éliminer le surnageant par retournement du tube.

12-Remettre le culot en suspension avec 1 ou 2 gouttes d'eau physiologique (ne pas laisser dessécher le culot).

13-À l'aide d'une micropipette, déposer sur une lame 10 $\mu$ l de KOP-COLOR FUMOUE.

14- À l'aide d'une pipette pasteur, ajouter 1 goutte (ou 25  $\mu$ l avec une micropipette) de la suspension à examiner.

15- bien mélanger

16-recouvrir d'une lamelle et observer au microscope avec une lumière blanche (filtre bleu).

#### INTERPRETATION DES RESULTATS :

Les éléments parasitaires apparaissent colorés en jaune, jaune-orange sur fond bleu ou moins foncé.

## ANNEXE N°5

### METHODE DE KOHN (NOIR CHLORAZOL)

#### REACTIFS :

##### 1. Solution de base :

Alcool éthylique 90°.....	170 ml
Alcool méthylique.....	160 ml
Acide acétique glacial K.....	20ml
Phénol liquide (fondu).....	20ml
Acide phosphotungstique (solution aqueuse 1%) .....	2ml
Eau distillée qsp.....	1000ml

##### 2. Préparation du Noir Chlorazol :

1. Mettre 5g de noir chlorazol dans un mortier
2. Broyer pendant au moins 5 minutes
3. Ajouter un peu de solution de base et broyer de nouveau de manière à former une pâte lisse
4. Ajouter encore du liquide et broyer 5minutes
5. Laisser sédimenter et recueillir le surnageant dans une bouteille d'un litre
6. Recommencer avec le sédiment comme précédemment, autant de fois qu'il sera nécessaire, jusqu'à dissolution complète du colorant
7. Après 4 à 6 semaines de repos, le liquide obtenu, de teinte noir cerise, nécessite une simple filtration pour être employé pur ou dilué aux 2/3 dans la solution de base.

#### MODE OPERATOIRE:

- Confection du frottis:

1. Utiliser des lames dégraissées sur lesquelles on dépose vers une extrémité un fragment de selle ou de mucus.
  2. Etaler le prélèvement sur la lame avec une lamelle, lentement et uniformément de façon à obtenir un frottis mince
  3. Soumettre, aussitôt cet étalement encore humide à la fixation coloration.
- Fixation et coloration
    1. Elles sont pratiquées simultanément par immersion des frottis encore humides dans la solution de colorant placée dans un récipient de borrel
    2. Maintenir en contact 8 à 10 heures
    3. Laver les préparations à l'eau courante, puis les déshydratations par passages successifs dans de l'alcool éthylique de titre croissant (60, 70, 80, 95, absolu) et, enfin dans du xylène.

NB:

Une préparation convenablement déshydratée ne présente pas de voile blanchâtre quand elle est au contact du xylène .si ce voile est observé, traiter à nouveau par de l'alcool absolu, puis par du xylène.

Déposer une goutte de baume du Canada sur le frottis et recouvrir d'une lamelle de surface voulue, en appuyant pour obtenir un étalement suffisant.

RESULTATS:

Les détails cytologiques mis en évidence sont les mêmes que ceux qui apparaissent après traitement à l'hématoxyline ferrique.

Les trophozoites et kystes sont colorés, avec un cytoplasme très clair sur fond grisâtre et les structures cellulaires se détachent en noir.

INDICATION: Mise en évidence des protozoaires

## ANNEXE N°14

### Merthiolate Iode Formol (MIF) COLORATION

#### VERRERIE :

- Fiole 2L/ Tubes gradués
- Pipette 10 ml
- Pipette 2ml
- Lame et lamelle
- Pipette PASTEUR
- Balance /papier/spatule
- Flacon brun/papier aluminium

#### REACTIFS:

- Eau distillée
- Iode/iodure de potassium
- Teinture de Merthiolate
- Vaseline

#### FORMULE :

Lugol : -5g iode

- 10g iodure de potassium

-100ml d'eau distillée

MIF : -Teinture de Merthiolate .....7,75ml

- Solution de Lugol 55% fraiche.....1ml

- Formol.....1, 25ml

MIF (vieillit):- Lugol .....15ml

- Teinture de Mertiholate.....72, 5ml
- Formol.....12, 5 ml

TECHNIQUE:

- Sur une lame, mettre de réactif et une goutte de suspension fécale
- Recouvrir d'une lamelle
- Lutter à la vaseline
- Attendre 20-30minutes
- Examiner au microscope à l'objectif x 40

RESULTATS:

- La forme végétative et la forme kystique apparaissent en vert jaunâtre  
–brun foncé
- Mb nucléaire en rouge foncé à noir
- Chromatine réfringente
- Cytoplasme rouge
- Hématies rouge

Indication :

Selle glaireuse (accès dysentérique)

ANNEXE N° 09 - 10

CULTURE POLYXENIQUE D'*Entamoeba histolytica*

PRINCIPE :

La croissance de l'amibe dysentérique nécessite la présence de germes microbiens associés et de grains d'amidon.

A/ Milieu de Dobell :

COMPOSITION:

1/ Phase solide:

Sérum de cheval stérile par filtration 1ml par tubes ; coaguler au four Pasteur pendant 1 heure a 50 c.les tubes couchés pour obtenir une pente de sérum d'environ 3-4 cm de longueur.

2/Phase liquide:

Solution de Ringer-locke:

Nacl.....	9,0g
Kcl.....	0,42g
CaCl <sub>2</sub> .....	0, 24g
NaHCO <sub>3</sub> .....	0,2g
Glucose.....	1,0g
Eau distillée.....	1000,0ml

Ajouter l'albumine d'œuf.

PREPARATION :

-Ajouter stérilement 1 blanc d'œuf par 250ml de Ringer après désinfection d'un pole de la coquille, découper une petite fenêtre a l'aide de ciseau pointus stérilises et laisser s'écouler le blanc.

-Homogénéiser dans un ballon contenant des billes de verre, stériliser par filtration sur Seitz.

-La phase solide est ajoutée au sérum coagule de manière à couvrir entièrement la pente d'environ 5 cm de hauteur.

-Tester la stérilité des tubes ainsi complétés, à l'étuve pendant 24 heures, puis conserver à +4°C.

-L'amidon de riz stérilisé à l'autoclave est ajouté au moment de l'ensemencement (une anse de platine ou une pointe de couteau).

#### B/Milieu de Jones:

Solution stock pour préparer un tampon phosphate.

Sel alcalin (phosphate disodique):

Soit :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .....9,48g

Soit :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .....11,88g

Soit :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ .....23,9g

Eau distillée.....1000ml

Sel acide (phosphate monopotassique):

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....9,1g

Eau distillée.....1000ml

Préparation du milieu (pH 7,2 pour *Entamoeba histolytica*)

Mélange tampon:

Eau distillée.....1125,0ml

NaCl (9p1000).....0.13g

Sol: Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>.....187,5ml

Sol: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....62,5ml

Milieu complet:

Mélange tampon.....950, 0ml

Extrait de levure.....1,0g

Sérum de cheval.....50,0ml

Vérifier le PH, filtrer sur Seitz (stérilisation).

Stocker à + 4c.

Pour l'emploi, repartir en tubes sur une hauteur de 5cm au moins et ajouter de l'amidon de riz (autoclave) pour la culture d'amibes.

Entretien des cultures:

L'isolement a partir des selles est fait en mettant un gramme d'environ de selles dans deux tubes de milieu.

Contrôler la croissance tous les jours, dès que des amibes sont observées, repiquer dans un tube de milieu neuf pour l'entretien, le rythme des repiquages de *Entamoeba histolytica* est deux fois par semaines.

Culture axénique de *Entamoeba histolytica* :

Principe et utilité:

Le but est de multiplier les trophozoites en l'absence de tout germes associés et de composant particulaire (amidon) qui gênent la récolte et l'étude des amibes.

La récolte des amibes à l'état pur est nécessaire pour la préparation des antigènes solubles et figures, pour l'analyse des isoenzymes, pour l'étude du pouvoir pathogène intrinsèque des amibes etc.

Au moment de l'isolement d'une souche la difficulté est de se débarrasser de la flore intestinale forcément associée .on suivra les indications données par Diamond(1968).

#### Milieu TYI-S-33 complet (Diamond)

Bouillon.....	87ml
Mélange vitamine-TWEEN 80.....	3ml
Sérum bovin.....	16ml
Antibiotiques	

#### Bouillon TYI

-dissoudre les ingrédients suivants dans 50ml d'eau bidistillée puis ajuster à un volume final de 87ml.

Digestre de castine.....	2000mg
Extrait de levure.....	1000mg
Glucose.....	1000mg
NaCl.....	200mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	100mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	60mg
Chlorhydrate de L.cystéine.....	100mg
Acide L-ascorbique.....	20mg
Citrate ferrique d'ammonium.....	2,28mg

-Ajuster à un pH de 6,8 avec NaOH 1N

-Clarifier par passage a travers un filtre WHATMAN N1

-Autoclaver puis laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

Mélange vitamines TWEEN 80

Solution A: mélange vitamines < 107 >

## ANNEXE N°1

### PREPARATION DU LUGOL

#### PREPARATION DU LUGOL A 5%:

Iode.....	5g
Iodure de potassium.....	10g
Eau distillée.....	q.s.p. 100 ml

Peser l'iode dans un creuset en porcelaine ou un verre de montre. Piler l'iode et l'iodure de potassium secs dans un mortier. Ajouter de l'eau, à raison de quelques millilitres à la fois, et piler soigneusement après chaque addition jusqu'à ce que l'iode et l'iodure se dissolvent. Verser la solution obtenue dans une bouteille de verre graduée et compléter à 100 ml avec de l'eau.

#### PREPARATION DU LUGOL A 1%:

La solution-mère de Lugol est trop forte pour le montage des selles fraîches. Elle provoque l'agrégation des matières fécales, piégeant ainsi les parasites qui deviennent alors invisibles. Par conséquent, il faut la diluer.

Lugol (solution-mère à 5%) .....	5ml
Solution physiologique.....	20ml

Verser le soluté physiologique dans un flacon compte-gouttes.

Ajouter la solution-mère de Lugol à 5%.

Mélanger soigneusement.

On obtient ainsi une solution d'iode à 1% qui permette de colorer les kystes de façon satisfaisante.

Etiqueter le flacon : Lugol à 1% et inscrire la date. La solution à 1% doit être renouvelée tous les 15 jours.

## ANNEXE N°3

### METHODE DE CONCENTRATION DE RITCHIE SIMPLIFIEE

Les selles sont diluées directement dans l'eau formolée à 10%.

-Tamisées sur un chinois.

-Ajouter un volume égal d'éther.

-Emulsionner par agitation vigoureuse.

-Centrifuger à 1500tr/minute.

Cette méthode permet la concentration des éléments parasitaires dans les selles prélevées hors du laboratoire sur solution formolée.

Son inconvénient majeur est de donner un culot souvent abondant.

## ANNEXE N° 07

### TECHNIQUE DE CONCENTRATION DE RITCHIE

Liquide de dilution:

- Solution aqueuse isotonique (9 p.1000) de chlorure de sodium.
- Délayer une partie de selles dans 10 parties de solution salée.
- Tamiser sur un chinois métallique et recueillir dans un tube à centrifuger le filtrat.
- Centrifuger une minute à 1500 tr/minute.
- Eliminer le surnageant et remettre le culot en suspension dans la solution salée.
- Centrifuger à nouveau pendant le même temps et à la même vitesse.
- Recommencer ces opérations jusqu'à ce que le surnageant soit limpide.
- Mettre alors le culot en suspension dans une solution de formol du commerce à 10p.100 dans de l'eau distillée.
- Laisser reposer 5minutes.
- Ajouter 3 ml d'éther sulfurique et émulsionner par agitation vigoureuse.
- Centrifuger 2 minutes à 1500 tr/minutes.
- Rejeter le surnageant.
- Prélever et examiner le culot avec les précautions habituelles.
- Cette méthode met bien en évidence les œufs d'helminthes et les kystes de protozoaires.
- Son inconvénient majeur est d'être fort longue à réaliser.

## ANNEXE N°7

### FIXATION ET COLORATION PERMANENTE DES AMIBES PAR L'AVP-TRICHROME

#### REACTIFS :

L'alcool polyvinylique

Le sublimé (chlorure mercurique) :HgCl<sub>2</sub>

#### PREPARATION DE LA SOLUTION D'APV:

Préparer d'abord une solution aqueuse saturée à froid de HgCl<sub>2</sub>.pour cela on dissout à chaud 10% de se sel et on laisse refroidir, il se forme alors des cristaux, on décante le liquide clair surnageant au fur et à mesure des besoins

#### Solution de Schaudinn :

2 volumes de solution aqueuse de HgCl <sub>2</sub> à saturation.....	93,5 ml	}
1 volume d'alcool éthylique à:.....	95%	
Glycérol:.....	1,5 ml	
Acide acétique glacial:.....	5ml	

Le mélange des 3 réactifs précédents est à préparé à température de laboratoire

#### Préparation des frottis :

Les frottis doivent être assez minces.

Préparation directe: Sur une lame porte-objet mettre une petite goutte de selle et trois fois ce volume de solution d'APV. Mélanger avec un petit agitateur, étaler en couche mince sur environ le tiers de la lame.

En tube d'hémolyse: Mélanger un volume de selle à trois volumes de solution d'APV.  
La préparation du mélange selle-APV doit toujours être faite sur des selles très fraîches.