

## **TRAVAUX PRATIQUES BOA 311**

### **SEANCE : PROTOZOAIRES**

#### **Objectifs :**

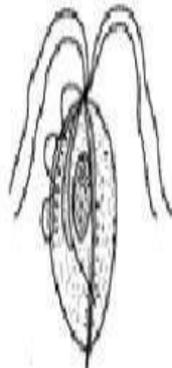
Les objectifs des travaux pratiques de cette séance visent à permettre aux apprenants :

- d'observer et de reconnaître les organismes et/ou des éléments structuraux des protozoaires appartenant aux groupes étudiés ;
- de maîtriser le(s) rôle(s) de chaque élément et/ou organisme étudié(s) ;
- de maîtriser l'épidémiologie, le cycle et le diagnostic parasitaires des organismes étudiés ; -
- de réaliser le dessin biologique c'est-à-dire la représentation fidèle de l'objet observé.

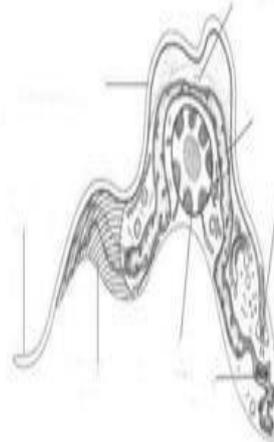
## Morphologie de quelques Flagellés



*Leishmania sp*



*Trichomonas vaginalis*



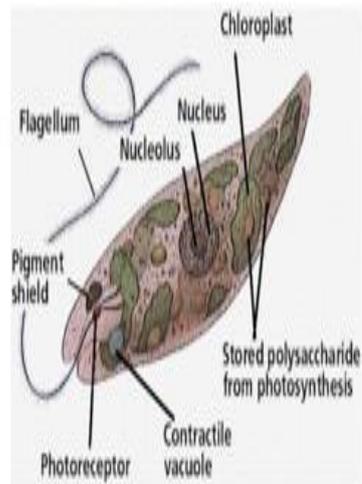
*Trypanosoma brucei gambiense*



Trophozoïte de *Giardia intestinalis*



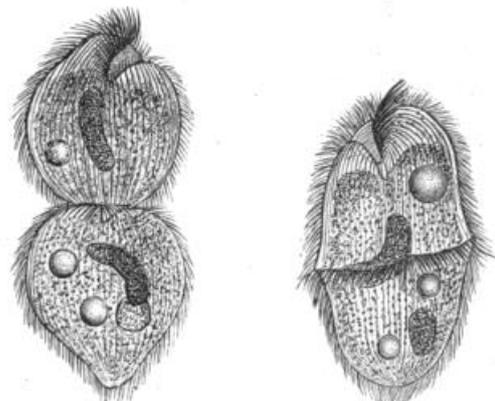
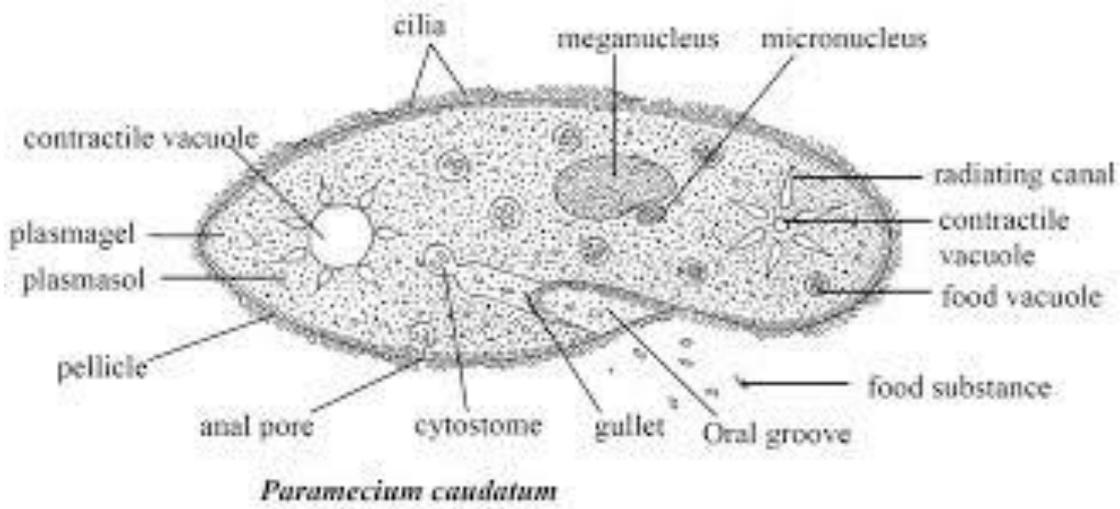
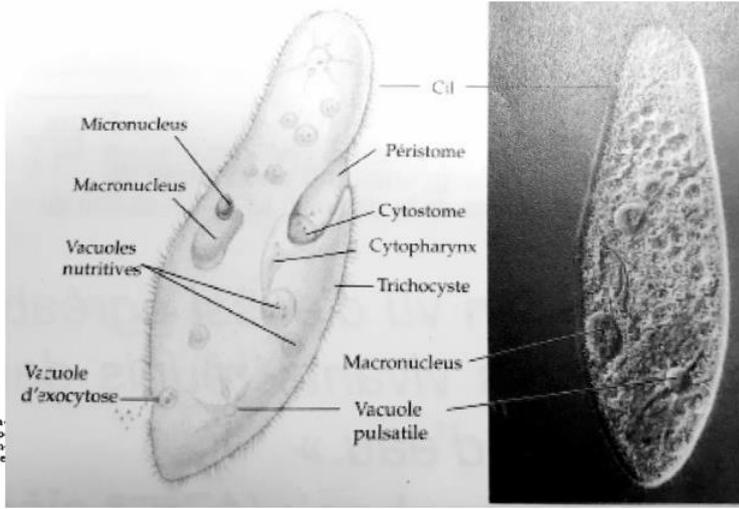
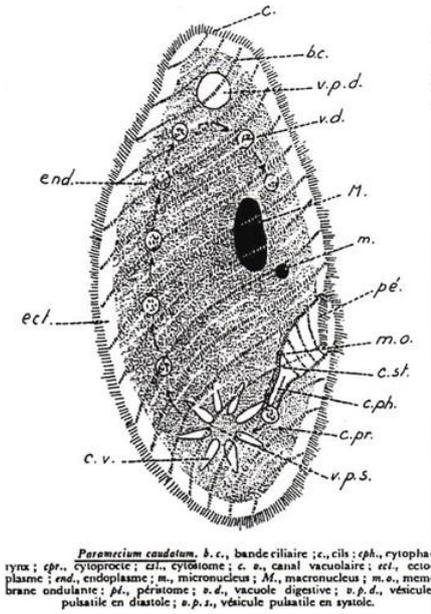
*Codonosiaa botrytis*



*Eualena*

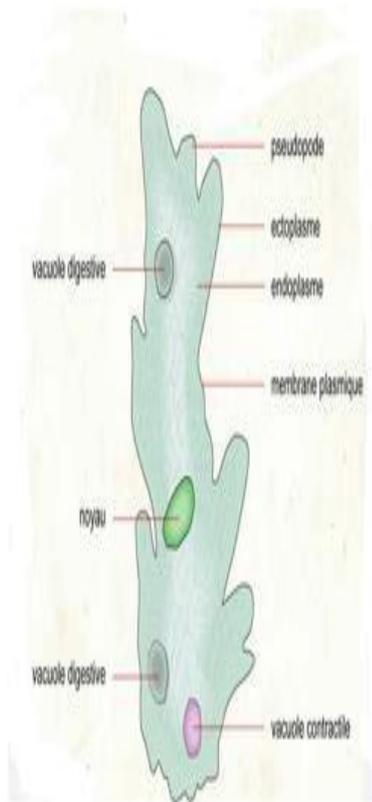
## Morphologie des ciliophores

**Figure 2 : Anatomie d'une Paramecie (Anatomie animale et dissection' par TIXIER et GAILLARD (Editions Vigot Frères))**

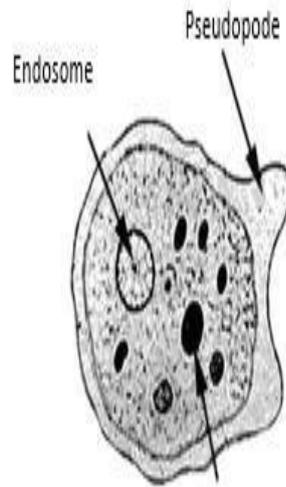


*Balantidium coli*. Reproduction fissionaire, d'après Leuckart.

## Morphologie de quelques Rhizopodes

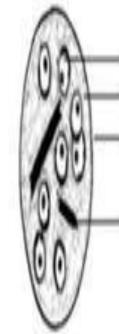


Structure de l'amibe

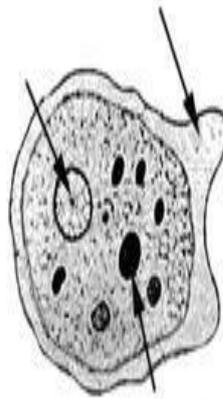


Vacuole digestive contenant des globules rouges

Trophozoïte d'*Entamoeba histolytica*

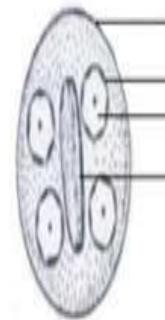


Kyste mature d'*Entamoeba coli*



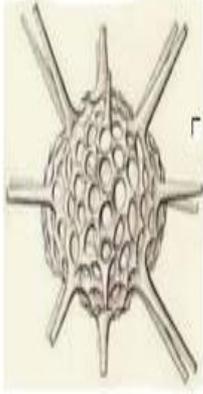
débris alimentaires, bactéries ou levures phagocytés

Trophozoïte d'*Entamoeba coli*

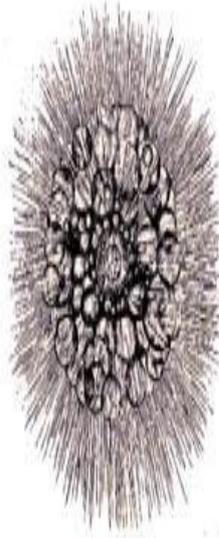


Kyste mature d'*Entamoeba histolytica*

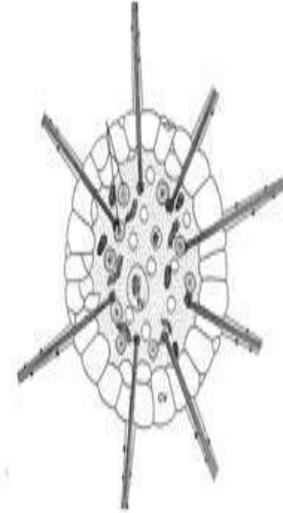
Morphologie des Actinopodes , des Cnidosporidies et des Apicomplexes



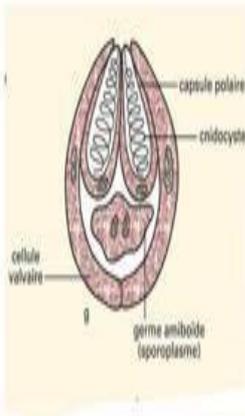
*Amphitolus acanthometra*



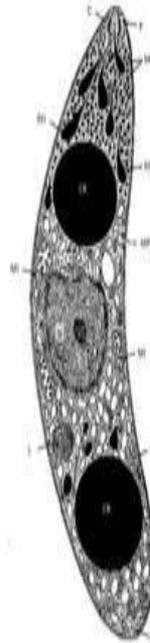
*Thalassicola pelagica*



Actinophryid heliozoa



Spore de Cnidosporidies



Sporozoite d'Eimeria sp

## Etude de quelques protozoaires

### 1-*Giardia intestinalis*

#### Position systématique :

Domaine : Eukaryota

Règne : Protista

Embranchement : Eozoa

Sous-emb. : Metamonada

Classe : Eopharyngia

Ordre : Diplomonadida

Famille : Hexamitidae

Sous-famille : Giardiinae

Genre : *Giardia*

Espèce : *Giardia intestinalis*

**Parasitose :** Giardiase ou Giardiose Hôtes : espèces humaine (Homme), canine (Chiens) et féline (Panthère, Leopard). NB. Le parasite vit dans l'intestin (duodénum) de ses hôtes.

**Cycle de vie :** Monoxène

**Mode de contamination :** ingestion des aliments souillés par les kystes du pathogène **Symptômes :** diarrhée modérée, douleurs abdominales hautes, épigastriques, des ballonnements postprandiaux, des nausées et une anorexie. NB. Ces manifestations se déclenchent en général 1 à 3 semaine(s) post contamination.

**Diagnostic :** examen parasitologique des selles visant à mettre en évidence les kystes (très fréquemment) (8 à 14  $\mu\text{m}$  de diamètre, ovale avec les noyaux dans la partie antérieure du corps) et les trophozoïtes (plus rarement) (10 à 20  $\mu\text{m}$  de long, aplatis, mobiles avec une extrémité antérieure large). Notons que dans certains cas rares, l'aspiration de liquide duodénal permet de poser le diagnostic. Aussi, la recherche d'antigènes spécifiques dans les selles par différentes méthodes immunologiques est performante, mais peu de laboratoires la pratiquent en réalité.

**Traitement :** Le traitement fait appel au métronidazole ou au tinidazole.

**Prévention :** La giardiose étant une maladie liée au péril fécal, sa prévention repose essentiellement sur l'hygiène individuelle et collective c'est-à-dire qu'il faut éviter de manger sans se laver les mains et de consommer l'eau ou les aliments souillés.

## 2. *Trichomonas vaginalis*

### Caractéristiques

*Trichomonas vaginalis* est un protozoaire flagellé parasite de taille variable mais habituellement autour de 10 µm de longueur et 7 µm de largeur. Il prend d'ordinaire une forme ovale ou de poire, mais peut aussi prendre une forme amiboïde lorsqu'il est attaché aux cellules de l'épithélium vaginal. *T. vaginalis* comporte au total 5 flagelles, dont quatre sont situés sur sa partie antérieure. Le cinquième flagelle est incorporé dans la membrane ondulante. Le parasite anaérobie ne peut exister que sous forme de trophozoïte et sa croissance ne comporte aucune étape cystique, il se reproduit en effet par fission binaire longitudinale

### Position systématique :

Domaine : Eukaryota

Règne : Protista

Embranchement : Archaezoa

Classe : Parabasalia

Ordre : Trichomonadida

Famille : Trichomonadidae

Genre : *Trichomonas* Espèce : *Trichomonas vaginalis*

**Parasitose :** Trichomonose (encore appelée trichomonose urogénitale) Hôtes : Espèce humaine (hommes et femmes). NB. Le parasite vit dans les voies urogénitales, mais il peut se retrouver au niveau de la bouche, des amygdales et du rectum en fonction des pratiques sexuelles.

**Cycle de vie :** Monoxène **Mode de contamination :** voie sexuelle

**Symptômes :** Chez la femme : Le parasite se trouve dans la cavité vaginale et l'urètre, provoquant une vulvovaginite aiguë associée à des leucorrhées spumeuses, aérées, jaune-vert (parfois blanchâtres), continuelles et nauséabondes, un prurit vulvaire avec sensation de brûlure, des dyspareunies et parfois une cystite. Chez l'homme : Le parasite se trouve au niveau de l'urètre.

**Diagnostic :** L'examen direct des échantillons prélevés chez le patient doit être fait le plus rapidement possible dans de l'eau physiologique à 37°C ou sur platine chauffante. Cet examen permet de repérer les parasites mobiles, réfringents, de forme ovale ou arrondie. Un examen direct à l'état frais et un frottis séché et fixé par l'alcool-éther puis coloré au Giemsa (les parasites apparaissent avec un cytoplasme bleu et un noyau rouge). Pour un diagnostic plus fin, une réaction en chaîne par polymérase est et/ou une mise en culture (milieu Roiron) sont conseillées à 37°C, le résultat demande un délai de 24 à 48 heures. Au microscope, le parasite mesure 10 à 15 µm de long sur 7 µm de large. Concernant les urines, l'examen direct s'effectue sur le culot de centrifugation.

**Traitement :** le traitement repose sur la prise per os de nitro-imidazolés (métronidazole, ou tinidazole ou secnidazole) en respectant la posologie et l'état physiologique des concernés notamment les femmes enceintes (traitement local, pas de métronidazole), les femmes qui allaitent (1 dose unique per os de métronidazole, avec arrêt d'allaitement pendant 24 heures).

**Prévention :** la prévention porte sur les rapports sexuels protégés et le traitement simultané du ou des partenaires lors du dépistage d'un cas sont à la base de la prévention.

### **3. *Trypanosoma brucei gambiense* et *Trypanosoma brucei rhodesiense***

Les trypanosomes sont des organismes unicellulaires qui présentent un cycle de vie complexe qui inclut différentes formes morphologiques notamment chez les espèces transmises par les invertébrés. Ils peuvent traverser différentes formes chez l'hôte invertébré, mais chez l'hôte vertébré ils ont une forme particulière appelée trypomastigote. Les trypanosomes présentent en général un corps fusiforme et possèdent un flagelle qui est relié au corps par une membrane ondulante. Ils se reproduisent de manière asexuée par fission binaire longitudinale.

#### **Position systématique :**

Domaine : Eukaryota

Règne: Protiste

Embranchement : Euglenozoa

Classe: Kinetoplastea

Ordre: Trypanosomatida

Famille Trypanosomatidae

Genre *Trypanosoma* Espèce : *Trypanosoma brucei*

**Parasitose :** Trypanosome humaine africaine (ou maladie de sommeil)

**Hôtes :** HD (Homme, antilopes, bovidés notamment le porc) ; HI (Arthropode hématophage : la mouche tsé-tsé ou glossine). Chez l'hôte définitif (HD), l'Homme par exemple, le parasite vit dans le sang, la moelle osseuse et le liquide céphalo-rachidien ou LCR. NB. La période d'invasion du parasite se fait après incubation de 10 à 15 jours. La propagation se fait dans la lymphe, puis quelques semaines après, les agents pathogènes envahissent les méninges et le liquide céphalo-rachidien provoquant à chaque étape des troubles (voir symptômes de la maladie). Chez la glossine les trypanosomes vont passer dans le proventricule puis vont remonter dans les glandes salivaires où la multiplication se poursuit (asexuée). NB. La période d'invasion et de propagation de la population parasite s'étend sur 18 à 25 jours.

**Mode de contamination :** En Afrique de l'Ouest et centrale, l'Homme s'infecte après piqûre d'une espèce hygrophile, *Glossina palpalis* (Diptera : Trypanosomatidae), ayant dans ses glandes salivaires les propagules infectantes appelées trypomastigotes métacycliques (voir cycle parasitaire). En Afrique de l'Est, l'Homme se contamine via les piqûres alimentaires d'une espèce xérophile (*G. morsitans*). La mouche tsé-tsé s'infecte par les trypomastigotes métacycliques lors de la prise de son repas sanguin chez un Homme ou autres HD malade

c'est-à-dire ayant la THA. Des transmissions congénitales, transfusionnelles et de laboratoire, ont été rapportées dans la littérature.

**Manifestations ou Symptômes de la maladie :** Au niveau de la lymphe (pendant la phase lymphaticosanguine), l'on a une fièvre d'évolution « anarchique », rebelle aux antibiotiques et antipaludiques. Le patient peut y avoir une hypertrophie du foie (hépatomégalie) et de la rate (splénomégalie). Des troubles cardiovasculaires, des palpitations, etc.. peuvent également exister pendant cette phase. Aux niveaux des méninges et du liquide céphalo-rachidien (LCR) (phase méningoencéphalitique), l'on note tout d'abord des céphalées puis des troubles moteurs, réflexes, psychiques, métaboliques et de sommeil. La maladie est mortelle en quelques mois.

### **Diagnostic biologique**

Il faut mettre tout d'abord mettre en évidence la parasite (diagnostic de certitude) et établir la phase de la maladie (phase lymphaticosanguine ou méningoencéphalitique), ce qui oriente le traitement et permet son efficacité. Plusieurs approches sont préconisées pour mettre en évidence les trypanosomes dont les adultes mesurent entre 12 à 42  $\mu\text{m}$  de long sur 1,5 à 3,5  $\mu\text{m}$  de large. Bien vouloir commenter uniquement les quelques approches méthodologiques présentées/illustrées plus bas.

#### **-Signes non spécifiques**

À l'hémogramme, on observe une anémie normochrome, une leucocytose modérée, une thrombopénie et une plasmocytose sanguine et médullaire. Les immunoglobulines sont très élevées, et particulièrement les IgM. Les perturbations du liquide céphalo-rachidien (clair avec des lymphocytes, une protéinorachie élevée) témoignent d'une atteinte cérébro-méningée.

#### **-Examen parasitologique**

Le diagnostic de certitude repose sur la détection du parasite dans le sang, la moelle osseuse, le suc de ponction ganglionnaire ou le culot de centrifugation du liquide céphalo-rachidien : • l'examen se réalise à l'état frais entre lame et lamelle ; la mobilité du trypanosome, déplaçant les globules rouges, permet de le repérer facilement ;

- en cas de négativité, il est nécessaire de réaliser un frottis sanguin ou, mieux, des gouttes épaisses qui seront colorés par le May-Grünwald-Giemsa. Le cytoplasme du parasite est coloré en bleu, le noyau et le kinétoplasme en rouge et la membrane ondulante est incolore mais visible par son bord externe ;
- différentes techniques de concentration sont utilisées lorsque la parasitémie est faible : la triple centrifugation, la centrifugation en tube capillaire et la filtration-centrifugation sur résine échangeuse d'ions ;
- la culture du parasite sur des milieux spéciaux à base de glucose, de peptides dérivés de la lactalbumine, du sérum de veau et d'hémoglobine ou l'inoculation à l'animal sont réservées aux centres spécialisés.

#### **-Diagnostic sérologique**

Quatre types de techniques peuvent être utilisés :

- l'agglutination sur carte (test Tryp-Catt), Recommandée par l'OMS pour le dépistage de masse sur le terrain. L'antigène consiste en une suspension lyophilisée de trypomastigotes colorée en bleu ;
- l'hémagglutination passive : c'est une technique quantitative qui utilise des hématies de mouton sensibilisées par un antigène soluble de *Trypanosoma gambiense* ;
- l'immunofluorescence indirecte : elle utilise un antigène figuré *T. gambiense*, de sérotype connu et standardisé. Le résultat est exprimé en taux d'anticorps ;
- l'Elisa : de sensibilité et spécificité proches de l'immunofluorescence indirecte, elle est surtout utilisée pour les études épidémiologiques.

#### 4. *Entamoeba histolytica* (Idem pour *Entamoeba coli*)

##### Caractéristiques

*Entamoeba histolytica* est un protozoaire non flagellé émettant des pseudopodes. Au cours de son cycle évolutif, *E. histolytica* prend successivement deux formes, à savoir la forme d'un trophozoïte amiboïde et la forme kystique infectieuse. Les trophozoïtes invasifs mesurent de 10 à 60 µm de diamètre. Ils sont dotés d'un noyau simple muni d'un caryosome. Des vacuoles alimentaires sont couramment observées dans le cytoplasme des trophozoïtes actifs. Les kystes, ronds et entourés d'une paroi chitineuse, mesurent entre 10 et 15 µm et contiennent entre un et quatre noyaux, du glycogène et des assemblages de ribosomes appelés corps chromatoïde.

*Entamoeba coli* est une amibe dont les formes végétatives mesurent 15 à 20 µm de diamètre et dont les kystes, volumineux, de 15 à 20 µm, possèdent huit noyaux. Vivant dans la lumière du gros intestin, ce micro-organisme se nourrit de débris divers (débris alimentaire, bactéries, levures...) mais n'est jamais hématophage. Son pouvoir pathogène est nul ou très limité.

##### Position systématique

Domaine : Eukaryota

Règne : protista

Embranchement : Amoebozoa

Classe : Lobosea

Ordre : amoebida

Famille : Endamoebidae

Genre : *Entamoeba* Espèce : *Entamoeba histolytica*

**Parasitose** : Amibiase (amoebose ou entamoebose).

**Hôte** : Homme. Chez l'hôte, le parasite vit dans l'intestin (côlon) et éventuellement dans le foie, poumon, cerveau, etc..

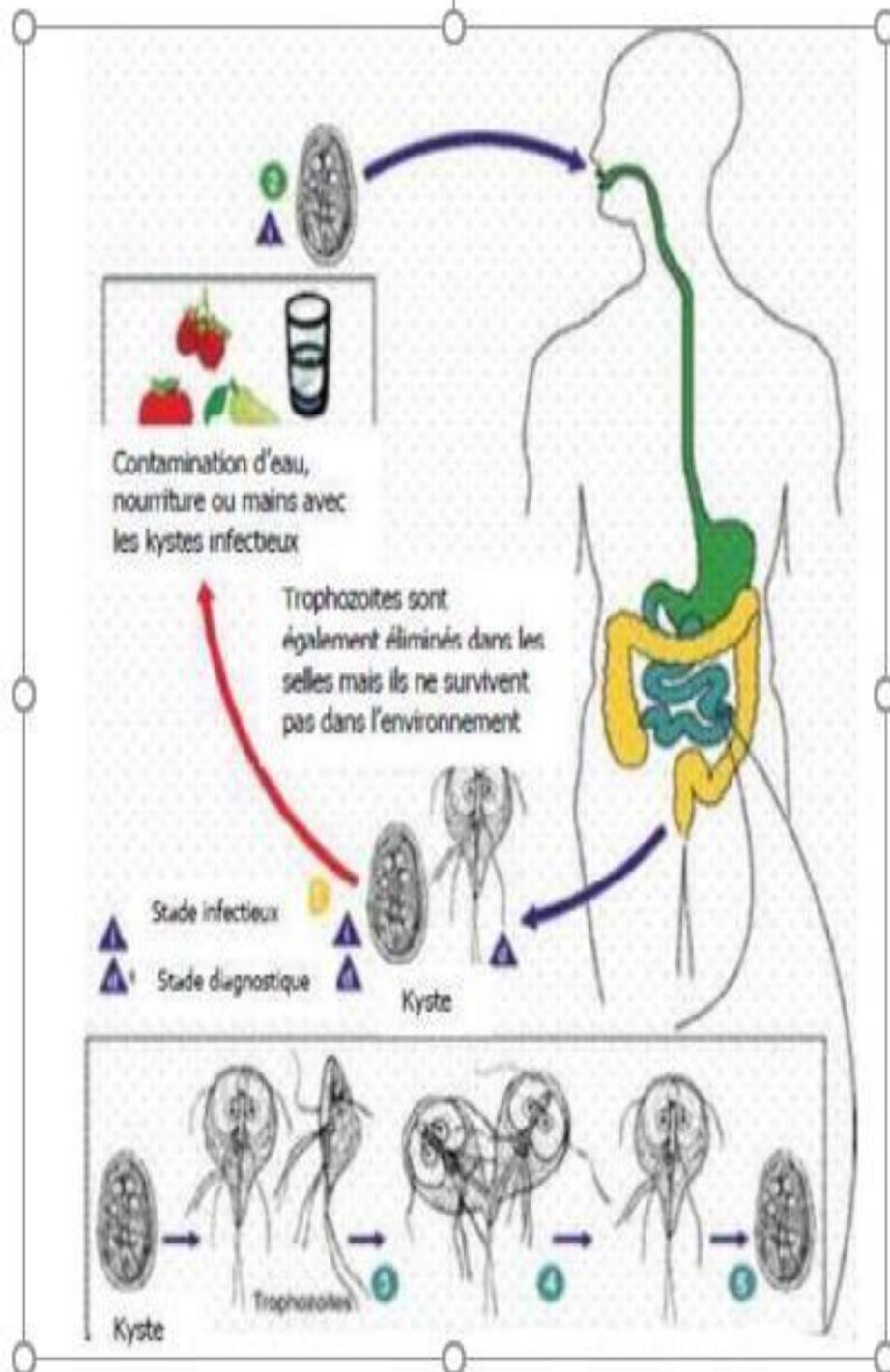
**Cycle de vie :** monoxène

**Mode de Contamination :** Ingestion des aliments ou de l'eau souillés par les kystes à 4 noyaux. **Symptômes :** Diarrhée associée à des nausées et douleurs abdominales hautes

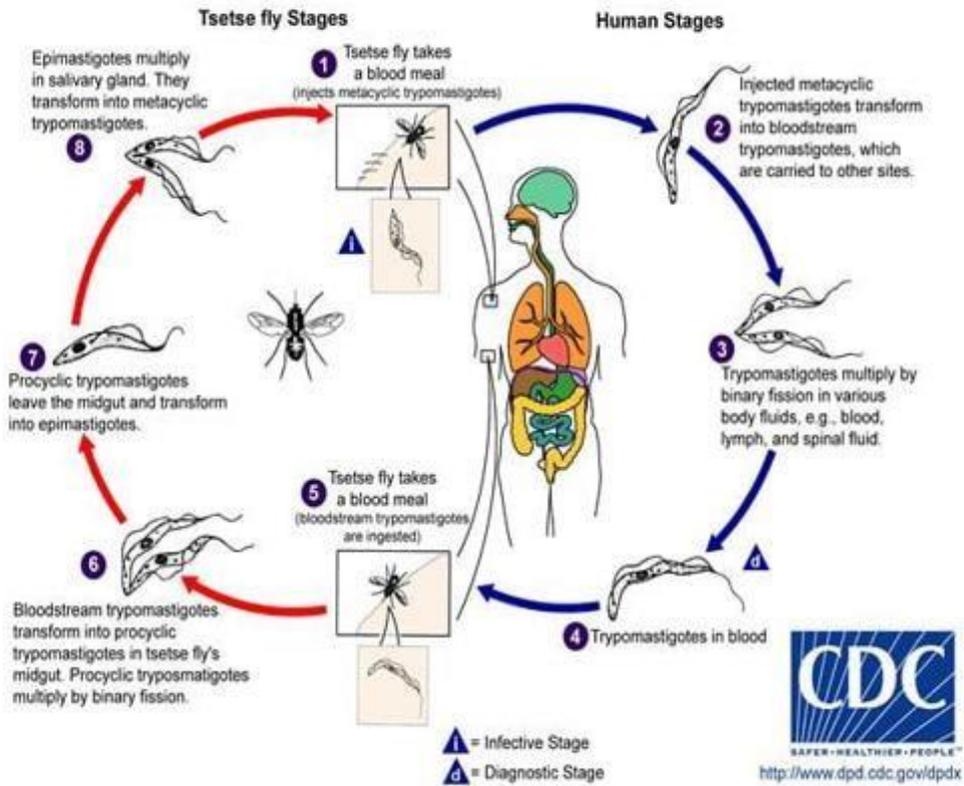
**Diagnostic biologique :** Examens coprologiques des selles pour retrouver les kystes et/ou les trophozoïtes. Pour différencier morphologiquement les espèces semblables, les examens complémentaires sont souvent nécessaires tels les méthodes antigéniques (ELISA) ou génomique (PCR).

**Traitement :** Le traitement s'effectue généralement en deux phases per os ou par voie intraveineuse, l'une par l'utilisation d'un antimibien diffusible (p. ex. le Métronidazole (Flagyl)) pour traiter l'épisode, et l'autre par l'utilisation d'un antimibien de contact (p. ex. le tiliquinol (intetrix) pour traiter la colonisation intestinale. Prévention : L'amoébose étant une maladie liée au péril fécal, sa prévention repose essentiellement sur l'hygiène individuelle et collective notamment l'hygiène des mains. NB. Bien vouloir attirer l'attention des étudiants sur : 1) Kyste de *E. histolytica* (4 noyaux) et Kyste de *E. coli* (8 noyaux) . Les deux vivent dans le gros intestin de l'Homme mais l'un se nourrit des hématies alors l'autre (*E. coli*) ne consomme jamais les hématies mais les débris alimentaires, les bactéries, les levures, etc...

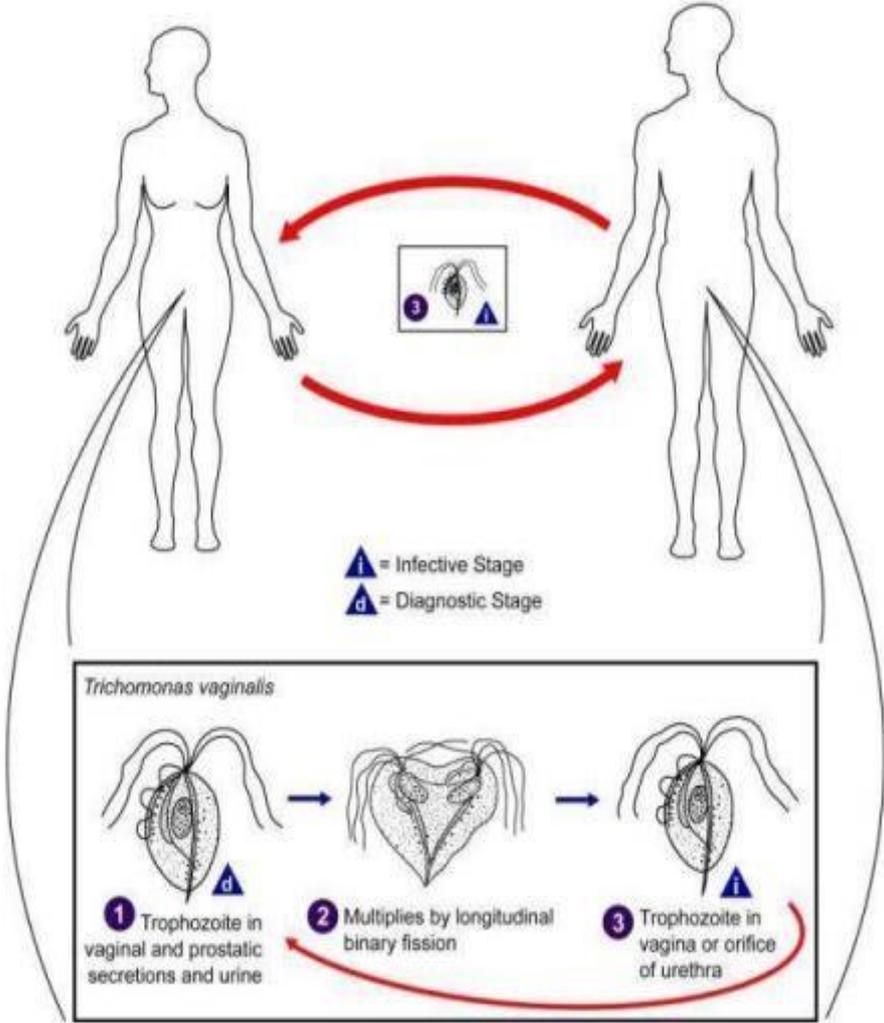
## Cycle de développement de *Giardia intestinalis*



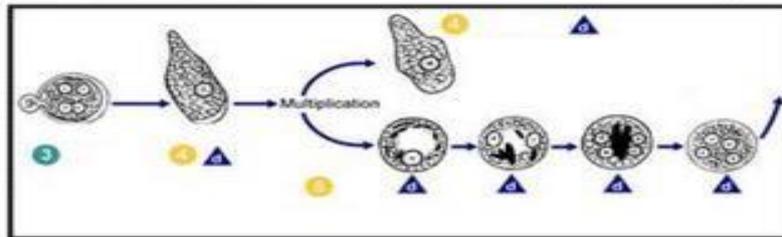
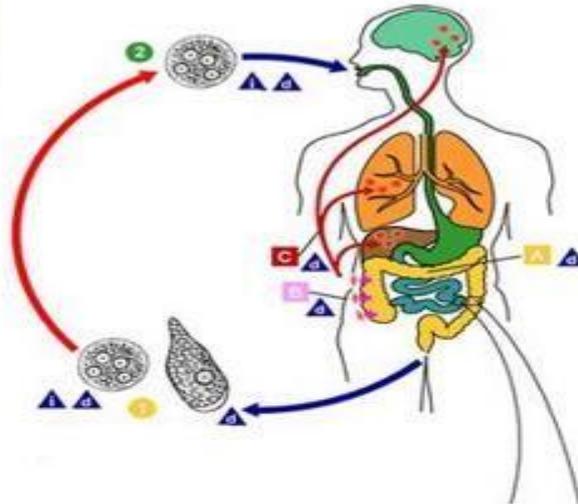
## Cycle de développement des trypanosomes



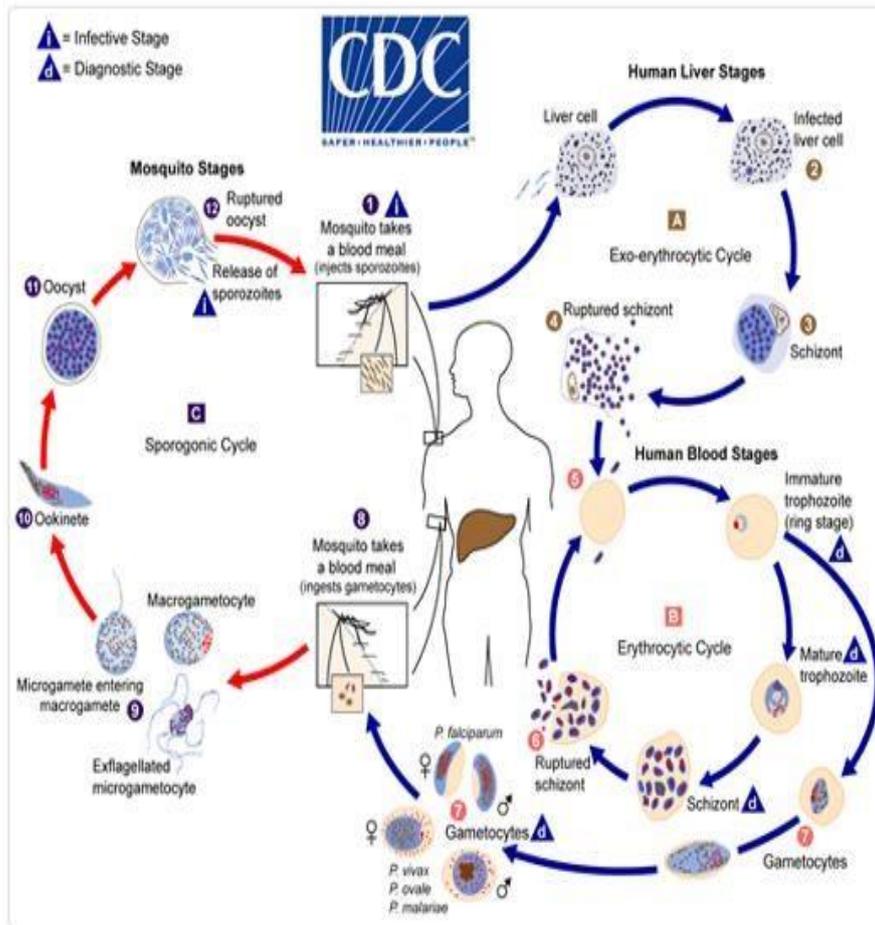
Cycle évolutif de *Trichomonas vaginalis*

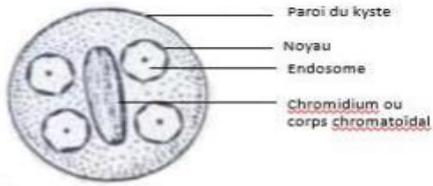


## Cycle de développement d' *Entamoeba histolytica*

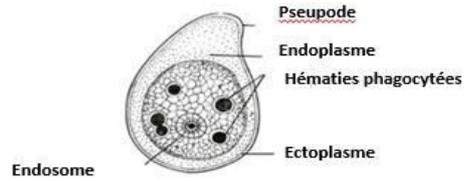


## Cycle de développement du Plasmodium

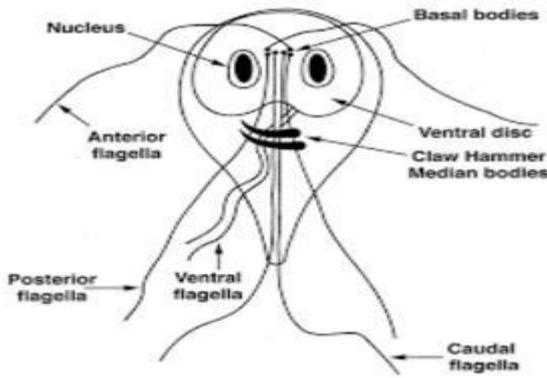




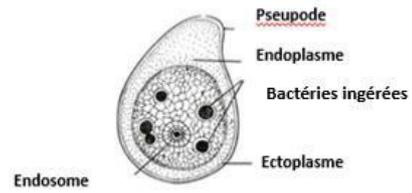
Kyste mature D'Entamoeba histolytica



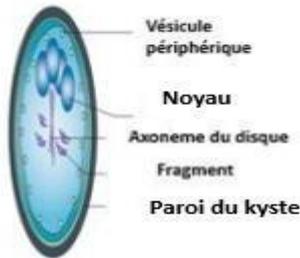
Trophozoïte d'Entamoeba histolytica



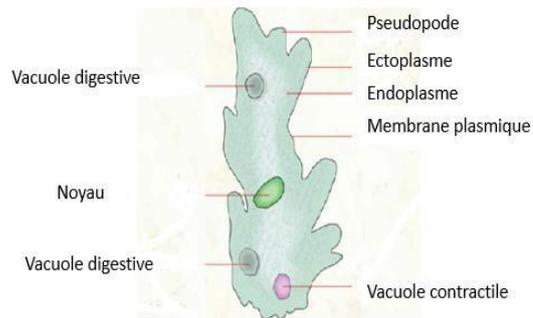
Trophozoïte de Giardia intestinalis



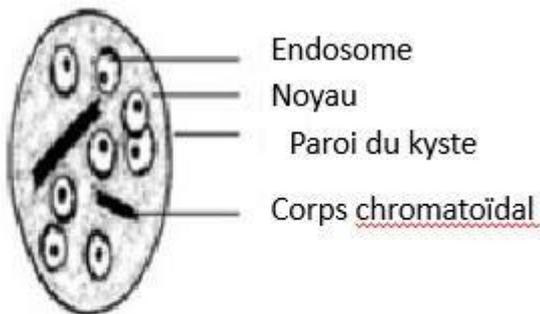
Titre ?



Kyste de Giardia intestinalis



Structure de l'amibe



Kyste d'Entamoeba coli