

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Mouloud Mammeri de Tizi-

Ouzou Faculté des sciences Biologiques et Sciences
agronomique

Département de biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Parasitologie Appliquée aux organismes animaux et végétaux

THEME

**Caractérisation morphologiques et
moléculaires des œufs d'oxyures de la région
de Tizi-Ouzou**

Réaliser par :

AIT GHEZALI Lydia

Devant le Jury

Mme.YOUSFI S	Maitre de conférence	U.M.M.T.O	Présidente
Mme .EDDAIKRA N.	Maitre de recherche	I.P.A	Promotrice
Mme.BOUKHEMZA N	Professeure	U.M.M.T.O	Co-promotrice
Mme.DEKKAR M	Attaché d'étude	I.P.A	Examinatrice
Mme.AMROUN	maitre de conférence	U.M.M.T.O	Examinatrice

Sommaire

Liste des figures
 Liste des tableaux
 Introduction générale..... 1
 Partie 1 : revue bibliographique 2
 1-L'agent pathogène..... 2
 2.taxonomie et classification 3.
 3. répartition géographique 3
 4.prévalence..... 4
 5.caractéristiques morphologiques 4
 5-1L'.adulte 4
 5-2.les oeufs d'oxyures 5
 5-3.oeuf embryonné : 6
 5-4.oeuf non embryonné : 6
 6.cycle évolutif : 7
 7.mode de transmission : 8
 7 -1.infestation direct..... 8
 7-2.infestation indirect 8
 8.symptome 9
 8-1.prurit anal 9
 8-2.Troubles intestinaux..... 9
 8-3.signes neuropsychiques..... 9
 8-4.signes génitaux et urinaires 9
 9.diagnostic 10
 10.traitement..... 10.
 11.prophylaxie..... 11
 12 Génome des oxyures 12

Matériel et méthodes

1. Matériel 14
 1.1. collecte des échantillons..... 14
 2. Méthode..... 14
 2.1 type , période et milieu d'étude 14
 2-2 description de la zone d'étude..... 15
 2.3Recherches des œufs d'oxyures (identification morphologiques)..... 15
 2-3-1 examen direct macroscopique 16
 2.3.2examen direct microscopique..... 16
 2.3.3 étude de la morphologie externe des œufs d'oxyure : 16
 2-4 étude de la morphologie interne des œufs d'oxyure 16
 2-5 étude de la charge parasitaire 16
 2-6-identification moléculaire d'Enterobius vermicularis 16
 2-6-1-la mise au point de l'extraction de l'ADN des œufs d'oxyure..... 16
 2.6.1.1.extraction d'ADN avec le protocole phénol-chloroforme..... 17
 2.6.1.2 extraction d'ADN au protocole CTAB 17
 2.6.1.3extraction d'ADN avec protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs 17
 2.6.1.4protocole d'extraction CTAB après lavage des œufs..... 19
 2.6.1.5 protocole d'extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et après choc thermique 3 cycle 20.
 2.6.1.6.extraction d'ADN au phénol –chloroforme après lavage des œufs et choc thermique

cycles.....	21
2.6.1.7.extraction d'ADN avec kit oméga.....	22
2.6.2. le dosage de l'ADN.....	23
2.6.3 analyse qualitative sur gel d'agarose à 0.8%	24
2.7.analyse in silico des s équences d'E.vermicularis sur NCBI	25

Résultats

1.Fréquence globale de la parasitose.....	26
2.Répartition des résultats en fonction du sexe.....	26
3.Fréquence de l'oxyurose selon le milieu de l'étude.....	27
4.Prévalence de l'infestation suivant l'âge des enfants.....	27
5.La prise des médicaments	28
6.résultats de la recherche des œufs d'oxyures (identification morphologiques).	29
6-1examen direct macroscopique.....	29
6-2examen microscopique	29
6-2-1 étude de la morphologie externe des œufs d'oxyure	29
6.1-2-1.classification des scotchs test selon la taille des œufs	29
6-2-2-2classification de la coque par état de la surface.....	30
6.2.2 étude de la morphologie interne des œufs d'oxyure	30
6.2.2.1 classification des œufs selon la mobilité de l'embryon (la survie des œufs)..	30
6.2.2.2 classification des œufs selon la nature de l'embryon.....	31
6.2.3.résultat de la charge parasitaire	32
6.3-résultats des caractères moléculaire.....	33
6.3.1 les résultats du dosage d'ADN par extraction phénol –cloroforme.....	33
6-3.2 les résultats du dosage d'ADN par extraction CTAB	33
6.3.3 résultat du dosage d'ADN par extraction phénol –chloroforme après lavage des Œufs.....	34
6-3.4 résultats du dosage d'ADN par extraction CTAB après lavage des œufs.....	35
6-3.5 résultats du dosage D'ADN par extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique cycle.....	35
6.3.6 résultats des dosage D'ADN des œufs d'oxyure par Protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs et un choc thermique 8 cycle.....	35
6.3.7 résultats de dosage de l'extraction d'ADN avec l'extraction kit méga.....	36
6.4.résultat de l'étude qualitative de l'ADN extrait (gel de qualité).....	37
6.5 Résultat de l'analyse phylogénétique d'Enterobius vermicylaris.....	38

Discussion

Discussion	
Conclusion	
Annexe.....	
Références bibliographique.....	

Listes des figures

Figure 1 : femelle d'un ver d' <i>Enterobius vermicularis</i>	2
Figure 2 : Amas de vers d' <i>Enterobius vermicularis</i> agent pathogène.....	3
Figure 3 : Adultes d' <i>Enterobius vermicularis</i>	4
Figure 4 :œufs d'oxyure observé sous microscope.....	6
Figure 5 :œufs embryonnée d' <i>Enterobius vermicularis</i>	6
Figure 6 :œufs non embryonnée d' <i>Enterobius vermicularis</i>	7
Figure 7 :cycle de vie d' <i>Enterobius vermicularis</i>	8
Figure 8 :mode de contamination par <i>enterobius vermicularis</i>	9
Figure 9 :matériel utilisé pour le scotch test anal.....	15
Figure 10 :les étapes de l'extraction au protocole phénol-chloroforme.....	18
Figure 11 : les étapes de l'extraction au protocole CTAB.....	18
Figure 12 : les étapes de l'extraction au protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs.....	19
Figure 13 : les étapes de l'extraction au protocole CTAB après lavage des œufs.....	20.
Figure 14 : les étapes de l'extraction au protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique 3 cycle	21
Figure 15 : les étapes de l'extraction au protocole phenol- chloroforme après lavage des œufs et choque thermique 8ccyle.....	22
Figure 16 : les étapes de l'extraction au protocole kit Oméga.....	23
Figure 17 :apparaiel du dosage d'ADN sur nanodrope.....	23
Figure 18 :les étapes de gel de qualité 0.8%.....	24
Figure 19 capture d'écran des alignement effectués avec le logiciel MEGA X.....	25
Figure 19 :Fréquence de l'oxyurose chez les enfatns au cours de notre étude dans la région de Tizi-Ouzou.....	26
Figure 20 :fréquence de la maladie selon le sexe	27.
Figure 21 :Répartition des cas positif dans la wilaya de Tizi-Ouzou selon la tranche d'âge....	28
Figure 22 :les enfants parasité avec et sans traitement antiparasitaire.....	28
Figure 23 : Photo d'un ver adulte d' <i>Enterobius vermicularis</i> sur un scotch test.....	29
Figure 24 :les trois type de coque des œufs d'oxyure.....	31
Figure 25 :œuf embryonné et non embryonné de l'oxyurose au microscope optique G×40.....	31
Figure 26 : Résultat de la distribution d nombre des œufs par lame.....	32
Figure 28 :scotch test anal plein d'œufs d'oxyure	32
Figure 29 :Migration des bandes d'ADN sur gel de qualité sous lumière UV.....	37
Figure 30 :arbre phylogénétique des 12 séquences d' <i>Enterobius vermicularis</i> analysé par la méthode du Neighbour Joing.....	38

Listes des tableaux

Tableau 1 : Différences morphologiques et points en communs entre le mâle et la femelle de l'oxyure.....	5
Tableau 2 : effectif et pourcentage d'oxyures selon le type de l'établissement	27
Tableau 3 : les diféretes taille des œufs d'oxyure observer sous microscope numérique.....	30
Tableau 4 : nature de l'embryon des œufs d'oxyure.....	31
Tableau 5 : dosage d'extraction d'ADN au phénol -chloroforme	33
Tableau 6 : specte d'absorbtion UV-Vis par la technique d'extraction CTAB.....	34
Tableau 7 : dosage d'ADN avec extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs	34
Tableau 8 : Dosage d'ADN pour l'extraction CTAB après lavage des œufs.....	35
Tableau 9 : Dosage d'ADN pour l'extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique.....	35.
Tableau 10 : dosage d'ADN des œufs d'oxyure par extraction phénol –chloroforme.....	36
Tableau 11 : concentration d'ADN avec extraction oméga.....	36

Introduction générale

Les infections parasitaires intestinales sont répandues dans le monde entier, avec une prévalence élevée dans les communautés pauvres et socio économiquement fragiles dans les régions tropicales et subtropicales. Ils constituent un sérieux problème de la santé publique.

Les parasites intestinaux sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité dans le monde entier, en particulier dans les pays sous-développés et chez les personnes souffrant de comorbidités. L'absence ou l'insuffisance de mesures d'hygiène et d'assainissement ainsi que la pauvreté favorisent leur expansion (**Nicolas et al, 2001 ; Seydou et al, 2015**).

L'infection helminthique la plus répandue dans le monde avec 200 millions de cas par année est l'infection par le parasite *Enterobius vermicularis* (**Warren, 1984**).

Enterobius vermicularis, communément appelé ver de l'épingle ou ver du siège, est un nématode, ou ver rond, dont l'aire de répartition géographique est le plus vaste de tous les helminthes. Plus de 30% des enfants dans le monde sont infectés. (**Neva et al, 1994 ; Goldmann et al, 1997**). Une infection par les oxyures doit être suspectée chez les enfants qui présentent un prurit périanal et une agitation nocturne. La visualisation directe d'adulte sur la marge anal nous confirme la présence de la maladie ou bien la détection d'œufs au microscope confirme le diagnostic (**Mac Pherson ;1999**).

Le diagnostic de routine de l'entérobiase consiste en un examen microscopique des empreintes périanales sur un scotch transparent pour détecter la présence d'œufs du parasite (**Parija et al, 2001**). Toutefois, cette méthode est peu sensible lorsque le nombre d'œufs est faible. Le développement de méthodes sensibles et spécifiques tel que la PCR a augmenté la possibilité de détection du parasite et a permis sa caractérisation moléculaire (**Eleonora et al, 2024**).

Plusieurs questions sont à poser afin de mieux cibler cette parasitose, quelles sont les caractéristiques morphologiques spécifiques des œufs d'oxyures ? Existe-t-il des variations morphologiques des œufs d'oxyures

L'objectif de ce travail est la détermination de la prévalence de l'infection par *Enterobius vermicularis* dans la population de la région de Tizi-Ouzou et de décrire les caractéristiques morphologiques des œufs d'oxyures trouvés dans cette région, avec une comparaison à d'autres parasites intestinaux. Le but de l'analyse génétique de cette parasitose est de déterminer la variation génétique de l'ADN mitochondrial des œufs pour identifier des marqueurs génétiques spécifiques à la population d'oxyures de l'Algérie.

Introduction générale

Cette étude s'articule autour de quatre chapitres. Le premier présente des généralités sur l'oxyurose, le second chapitre se penche sur le matériel et les méthodes utilisés au niveau de laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire et génétique de population de l'institut Pasteur d'Algérie pour l'identifications morphologiques et moléculaires de parasites. Le troisième chapitre rassemble les résultats obtenues au cours de cette étude et leur discussion par rapport aux données de la littérature scientifique. Et enfin, une conclusion clôturera ce travail.

Chapitre I : Revue bibliographique

L'entérobiase est une infection parasitaire intestinale causée par un petit nématode *Enterobius vermicularis* identifié pour la première fois par *karllinnaeus* en 1758. Ce parasite (également appelé oxyure) habite la partie inférieure du petit intestin et la partie supérieure du grand intestin de l'homme (Sofia, 2016).

Enterobius vermicularis est l'un des helminthes nématodes les plus répandus chez l'homme (Dezenyi *et al.*, 2018). L'infection est fréquente chez les enfants, elle est très liée à une forte densité de la population (Tomanankan *et al.*, 2020). Occasionnellement les organes et les tissus extra-intestinaux peuvent être infestés par les oxyures, y compris les organes génitaux femelles (Powwel *et al.*, 2013). Selon Tsaisy *et al.* (2018), plusieurs rapports de cas présentent différentes manifestations cliniques et la présence d'*E. vermicularis* dans le col de l'utérus est rare.

1. L'Agent pathogène

Le nématode (ver rond) *Enterobius vermicularis* est largement connu sous le nom d'oxyure humain en raison de la longue queue pointue de la femelle (Fig.1) et (Fig.2). Dans certaines régions les noms communs « ver de siège » « ver du fil » sont utilisés pour désigner *Strongyloides stercoralis*, une autre espèce supposée d'oxyure *Enterobius gregorii*, a été décrite et signalée chez l'homme en Europe, en Afrique et en Asie. Cependant, d'autres preuves morphologiques et moléculaires suggèrent qu'*Enterobius gregorii* représente probablement une forme immature d'*E. vermicularis*. L'oxyure de rats *Syphacia obvelata* a également été très rarement signalé comme infectant les humains (Cook 1994 ; Hasegawa *et al.* 1998).

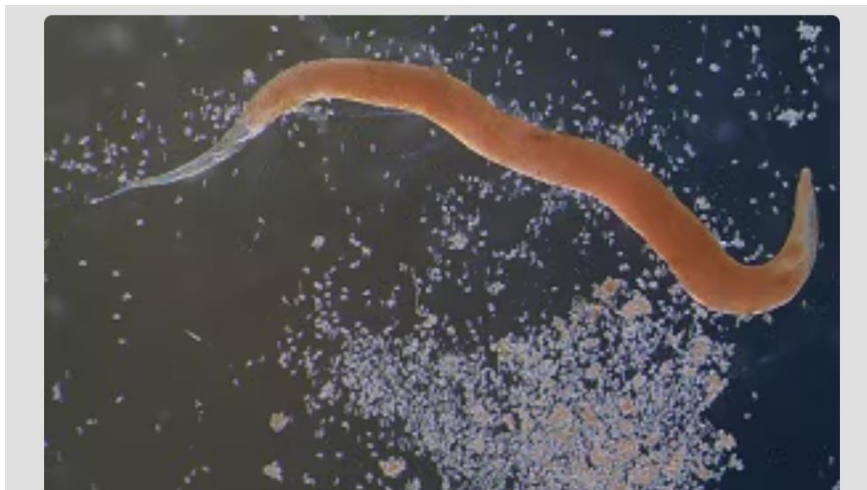


Figure 1 : Femelle d'un ver d'*Enterobius vermicularis*
(Hasegawa *et al* 1998 ; Peixoto *et al* 2016 ; Cook 1994)



Figure 2 : Amas de vers d'*Enterobius vermicularis* agent pathogène
(Hasegawa *et al* 1998 ; Peixoto *et al* 2016 ; Cook 1994)

2. Taxonomie et classification

Selon NDIANE (2006), *Enterobius vermicularis* appartient au:

• Règne :	Animalia
• Sous règne:	Métazoa
Embranchement :	Nématoda
• Classe :	Secernentea
• Ordre :	Ascaridida
• Famille :	Oxyuridae
• Genre :	<i>Enterobius</i>
• Espèce :	<i>Enterobius vermicularis</i> (Linnaeus,1758)

3. Répartition géographique

L'oxyurose est une maladie largement répandue dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement. Bien que ces derniers présentent beaucoup plus de cas enregistrés par rapport aux pays développés ou il s'agit de cas sporadiques (El guameri, 2011 ; Akrouf et Sahnoun, 2019). Elle survient particulièrement dans les régions à climat tempéré, et touche toutes les classes de la population (Bouree, 1987).

Chapitre I : Revue bibliographique

4. Prévalence

Les infections parasitaires y compris l'entérobiase, sont répandues dans le monde entier (Fellah *et al.*, 2022). On estime qu'environ 400 millions de personnes dans le monde sont touchées par l'oxyurose. Des sources antérieures suggèrent qu'environ un milliard de personnes sont touchées (Haghi, 2013 ; Rahim, 2013 ; Fouladvand *et al.*, 2018 ; Najafi *et al.*, 2020 ; Fellah *et al.*, 2022)

La prévalence de cette infection est généralement plus élevée dans les climats tempérés et le niveau d'hygiène personnelle dans une société joue un rôle important dans l'incidence de l'entérobiase. Les sociétés développées avec des taux d'alphabétisation élevés, une prise de conscience, une industrialisation et l'utilisation d'énergies chimiques au lieu de déchets humains, connaissent généralement des taux de prévalence plus faibles que les pays en développement ou moins développés (Fellah *et al.*, 2022).

5. Caractéristiques morphologiques

5.1. L'Adulte

Les vers adultes mâles et femelles sont de couleur blanc nacré, filiformes, très mobile et présentant un dimorphisme sexuel (Tab.I) et (Fig.3) :

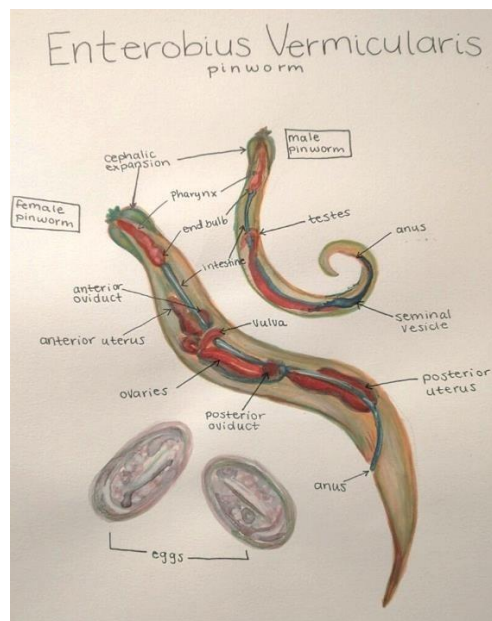


Figure 3 : : Adultes d'*Enterobius vermicularis* : à droite : le mâle, à gauche : la femelle (Prachanth et Snadep, 2023).

Tableau I : Différences morphologiques et points en communs entre le mâle et la femelle de l'oxyure (Deluol, 2000 ; Claude, 2003 ; Anofel, 2007).

Chapitre I : Revue bibliographique

	le mâle	La femelle
Taille	3 à 6 mm, extrémités postérieures recourbées ventralement en crosse. Orifice cloacal sub-terminal avec présence de papilles caudales.	8 à 12 mm avec une zone caudale effilée et pointue prenant 1/3 de la longueur totale. Elle est visible dans la marge anale de son hôte.
Orifice buccale	Orifice buccal est entouré de 3 lèvres *2 expansions alaire de la cuticule, dorso-ventrales au niveau de la zone céphalique, très caractéristique. Elle permet d'évoquer la présence d'un oxyure à l'examen d'une coupe anatomo-phatologique (ex : appendice oxyurienne).	Orifice buccal est entouré de 3 lèvres *2 expansions alaires de la cuticule, dorso-ventrales au niveau de la zone céphalique, très caractéristiques. Elles permettent d'évoquer la présence d'un oxyure à l'examen d'une coupe anatomo-phatologique (ex : appendice oxyurienne).
Tube digestif	Œsophage musculueux, généralement les oxyures se nourrissent de particules alimentaires dans la couche de mucus colique .	Œsophage musculueux généralement les oxyures se nourrissent de particules alimentaires dans la couche de mucus colique.
Appareil génital	1 testicule filiforme ,1 canal déférent renflé en une vésicule séminale, 1 canal éjaculateur ,1 seul spicule copulateur, pas de gubernaculum. Orifice cloacal sub-terminal. Présence de papilles caudales post-cloacale très développées. Les spermatozoïdes sont dépourvus de flagelle et sont mobiles grâce aux mouvements amiboïdes, s'exerçant par des filaments cytosquelettiques composés de deux brins de la protéine spermatique majeure (MSP) .	2 utérus sacciformes occupant presque toute la cavité générale chez les femelles gravides et distendue par des millions d'œufs.

5.2. Les Œufs d'oxyures

La taille de l'œuf est oblongue avec une face aplatie ce qui lui donne un aspect « asymétrique »(Fig.4). La coque est épaisse et transparente non pigmentée. La paroi externe albumineuse, permet à l'œuf d'adhérer à la peau ou à la muqueuse au moment de la ponte.

A la ponte les œufs contiennent une masse embryonnaire mobile (embryon gyriforme). La femelle pond 5000 à 15000 œufs en quelques minutes (Claude, 2003).



Figure 4 : Œufs d'oxyures observés sous microscope Gr x 400
(Hasgawa *et al* 1998 ; Peixoto *et al* 2016 ; Cook 1994).

5.3. Œuf embryon

L'embryon de l'œuf possède une double coque lisse et assez épaisse. Il contient soit une masse ovoïde occupant la totalité de l'œuf (embryon gyriforme) , soit une larve mobile repliée sur elle-même (embryon larviforme) (Fig.5) (Deluol,2000).

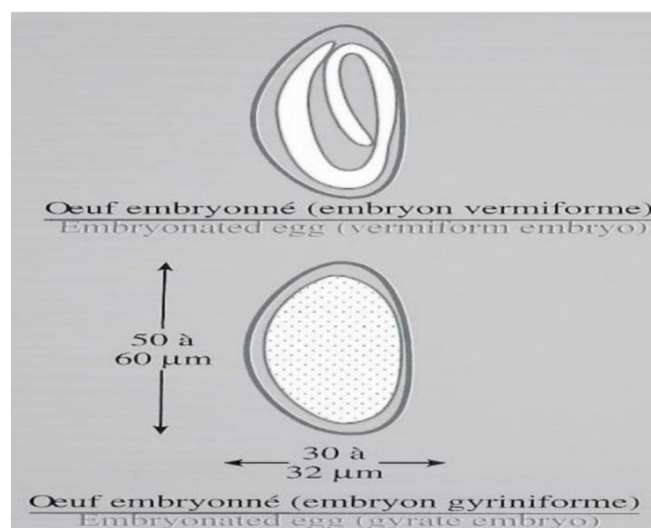


Figure 5 : Œuf embryonné d'*Enterobius vermicularis*(Deluol, 2000).

5.4. Œuf non embryonné

Chapitre I : Revue bibliographique

L'œuf non embryonné est lui aussi asymétrique, mais la différence est que celui-ci est moins nette que pour l'œuf embryonné. Il contient une masse granuleuse arrondie (figure 6) (Deluol, 2000).



Figure 6 : Œuf non embryonné d'*Enterobius vermicularis* (Deluol, 2000).

6. Cycle évolutif

Les oxyures ont un cycle monoxène (chez un seul hôte ou sans l'intervention d'un hôte intermédiaire). Il est court et intestinal qui dure 21 jours (fig.7) (Durant *et al.*, 2005). Le cycle de vie se déroule dans la lumière du tractus gastro-intestinal, aucun composant viscéral n'existe comme dans l'ankylostome et *l'ascaris*. Après ingestion, les œufs éclosent dans l'estomac et la partie supérieure de l'intestin grêle. Les larves (140-150 µm de longueur) migrent vers l'iléon, le caecum et annexes. Après avoir mué deux fois en cours de route, elles deviennent adultes.

Les patients infectés abritent quelques centaines d'adultes, voire plusieurs centaines (Cook, 1980). Les femelles adultes (qui se déplacent d'environ 6 à 7 cm par 30 min) s'installent dans l'iléon inférieur (là où se produit la copulation), l'infection produit de petits ulcères et des abcès sous-muqueux. Les femelles survivent entre 37 et 93 jours et les mâles environ 50 jours ; la ponte commence à cinq semaines. Quand les utérus sont chargés avec les œufs, le ver gravide migre du côlon, à travers l'anus ; en traversant la peau périnéale ou périnéale. Les œufs sont expulsés par des contractions utérines, la mort ou la désintégration du ver, et par perturbation lors du grattage.

Environ 11 000 œufs incolores aplatis (50-54 µm x 20-27 µm) sont produits par une femelle gravide. La coquille contient une couche épaisse, externe et albumineuse, une fine couche hyaline et une membrane embryonnaire. Lors de la ponte, les larves sont immatures et non infectieuses. L'oxygène atmosphérique accélère le développement. Ils deviennent contagieux dans les six heures. La survie des œufs est optimale à une faible température et une humidité élevée ; dans des conditions chaudes et sèches. Le pouvoir infectieux diminue après un à deux jours. Le cycle dure entre deux et quatre semaines (Cook, 1990).

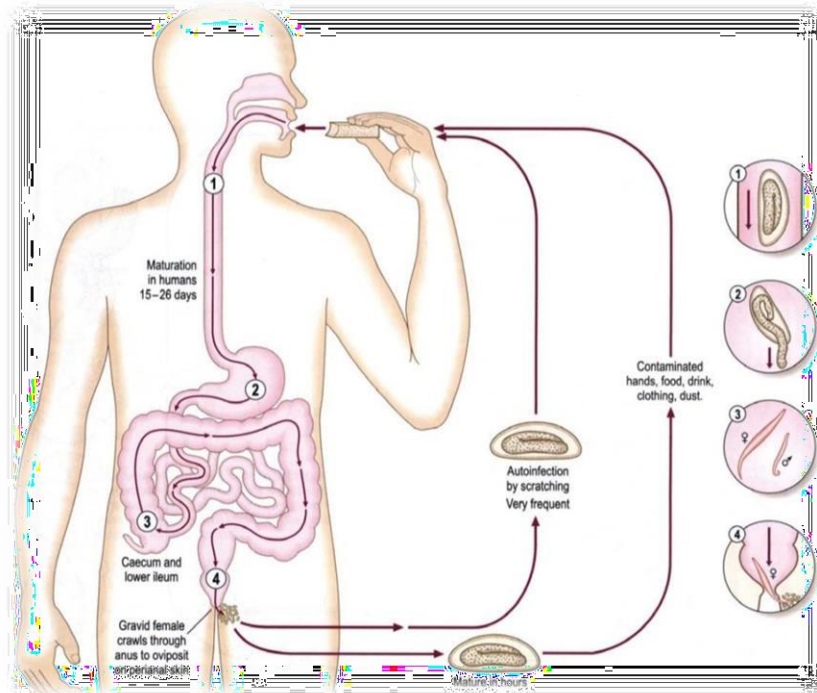


Figure 7 : Cycle de vie d'*Enterobius vermicularis* (Guillaume,2007)

7. Mode de transmission

Il n'y'a pas de notion de péril fécal, les œufs sont en effet exceptionnellement présents dans les matières fécales (Claude, 2000).

7.1. Infestation directe

Par contact direct entre des personnes qui se touchent les mains, en particulier les écoliers. Les enfants qui se grattent à cause de l'irritation anale, infectent leurs doigts avec des œufs pendant le sommeil. En effet ces œufs étant embryonnés dès la ponte il y a un risque d'auto-infection (Herrstrom *et al.*, 1997).

7.2. Infestation indirecte

Les vêtements de nuit, la literie, le linge de toilette, les tapis, les moquettes et les carrelages reçoivent des nombreux œufs infestant (embryonnés à la ponte) et représentent un « réservoir de contamination » domiciliaire Nicolas, 2016 très efficace ex :400 à 2000 œufs au m2 sur le sol d'une salle d'eau (Bourée, 1996 ;).

Les animaux familiers (chiens et chats) véhiculent les œufs sur leur pelage après contact avec le sol et représentent une source non négligeable de contamination (Claude, 2003).

Chapitre I : Revue bibliographique

Lors de la rétro infection après l'éclosion sur la muqueuse anale, les larves migrent dans le colon et le caecum (figure 8) (Cook, 1989).

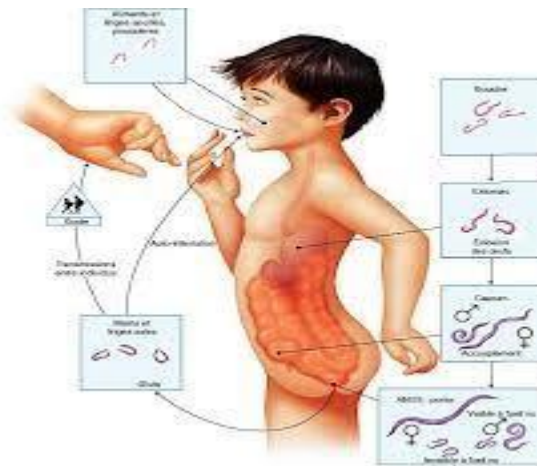


Figure 8 : Modes de contamination par *Enterobius vermicularis* (Bourée ,2016)

8. Symptômes

8.1. Prurit anal

Les symptômes les plus courants sont soit un prurit anal, soit un prurit périnéal. Parmi les autres symptômes nous citons le : « chatouillement » local et une douleur aiguë. Cependant, la plupart des infections sont asymptomatiques (Ganor,1987).

8.2. Troubles intestinaux

Les troubles digestifs sont souvent minimes, mais commun à tous les parasites. Les signes sont généralement des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées ou vomissement et une perte d'appétit (Ndyane, 2006)

8.3. Signes neuropsychiques

La perturbation du sommeil est le premier signe neuropsychique de l'oxyures tels que les cauchemars et la fatigue. Il est aussi possible de voir des retentissements sur la vie scolaire avec des asthénies (Caumes *et al.*2002). Des grincements de dents sont également un symptôme de cette parasitose (Royer *et al.*, 1962).

8.4. Signes génitaux et urinaires

Chapitre I : Revue bibliographique

La vulvo-vaginite est une conséquence reconnue de la migration vaginale des vers adultes en particulier chez les filles pré pubères (**Arsenault et al.,1986**)

L'infection urinaire aigue, l'énurésie et l'incontinence sont également associées à l'infection et des pertes vaginales sont enregistrées (**Mayers et al.,1970**).

Le transfert d'*Escherichia coli* par l'oxyurose (le grattage périnéal peut induire une colonisation introitale) dans la vessie et les voies urinaires de la femme (**Rawla et sharma , 2024**).

9. Diagnostic

Le diagnostic dépend de l'identification précise des vers adultes ou des œufs, ou des deux qui peuvent être visualisés dans la région péri-anale (ou moins souvent dans le vagin) (**Hood,1989**).

Le diagnostic macroscopique repose sur la présence de petits vers blancs des femelles dans les selles visible à l'œil nu(**NGBABO, 2008**) et rarement la présence d'œufs car ils sont pondus à l'extérieur de tube digestif plus précisément dans les plis de la marge anale).

L'application d'un scotch test de Graham sur l'anus est utile. Il consiste à coller un morceau de ruban adhésif sur la marge anale pour ensuite l'examiner au microscope et rechercher la présence des œufs. Le test s'effectue le matin avant la toilette, il est réalisé généralement lorsque le patient se plaint de prurit anal (**Vidal,2012**). La répétition de l'examen (à des jours différents) permet d'obtenir un rendement plus élevé et avoir une charge parasitaire importante.

Un autre diagnostic qui consiste à faire un examen parasitologique des selles, permet de poser un test positif chez 5 à 15% des sujets infectés, après avoir été mélangé à du sérum physiologique, l'échantillon est examiné sous une lamelle couvre-objet (**Goldenberg et al.,1990**).

Il est rare que les œufs d'*Enterobius vermicularis* soit trouvés fortuitement dans un frottis vaginal ou dans l'urine (**Goldenberg et al.,1990**).

Lors d'un prélèvement sanguin une légère hyper éosinophilie peut se présenter. Un diagnostic de sérologie est inutile car les anticorps sont inexistant (**Vidal, 2012**).

10. Traitement

Il existe un certain nombre d'agents anthelminthiques très efficaces et bien tolérés pour le traitement de l'entérobiase. Les substances approuvées depuis les années 1970 comprennent le mébendazole, l'embonate de pyrantel et l'embonate de pyvinium. Elles permettent d'obtenir

Chapitre I : Revue bibliographique

des taux d'éradication supérieurs à 90% (**Mehlhorn, 2012**). Cependant, on manque d'études contrôlées de plus grande envergure sur les différents médicaments et modes de traitement. L'expérience a montré que le succès du traitement initial n'est pas le défi, mais plutôt la prévention de la réinfection ou de l'auto-infection.

Les composés benzimidazolés (qui inhibent les microtubules, fonctionnent chez l'adulte et provoquent une déplétion du glycogène) sont les plus efficaces. Le mébendazole à dose unique est généralement efficace ; il est souvent recommandé de répéter la dose une semaine plus tard. S'il est mal absorbé et la concentration est élevée ; il n'y a pas d'effets secondaires graves, bien que des douleurs abdominales et des diarrhées ont été enregistrées (**Cook, 1990**).

11. Prophylaxie

Du fait que l'oxyurose est contagieuse, et lorsqu'un cas est observé chez un membre de la même famille, il est donc important de traiter toute la collectivité (tous les membres de la famille) (**Anofel, 2014**).

Selon ANOFEL (2005), pour éviter la contamination ou la recontamination voici quelques conseils :

- Assurez-vous de maintenir une bonne hygiène personnelle en vous lavant les mains régulièrement notamment après le passage aux toilettes et avant les repas ;
 - Changez les sous-vêtements chaque jour, en évitant de gratter la zone entourant le rectum ou toute autre zone infectée ;
 - N'oubliez pas aussi de porter des pyjamas serrés, de garder les ongles courts, et de bien nettoyer sous les ongles pour éviter l'auto-infestation et la contamination de la literie ;
 - Afin d'éliminer le parasite, lavez le linge de nuit, les draps, les peluches et les vêtements à une température supérieure à 60°C et ne jamais partager les serviettes ;
 - pour votre alimentation, couvrez bien la nourriture pour limiter la contamination avec les œufs qui peuvent se retrouver dans la poussière ;
 - Exposez la literie au soleil et aérez la chambre ; les œufs sont tués par dessiccation en une semaine cependant s'ils sont dans un milieu humide, ils peuvent survivre plusieurs semaines ;
- Pendant la semaine qui suit le traitement, tous les membres de la famille doivent porter des sous-vêtements en coton lavés à l'eau très chaude et au détergent.

12. Génome des oxyures

Chapitre I : Revue bibliographique

Enterobius vermicularis extrait d'œufs a été amplifié et séquencé avec succès pour reconnaître la diversité génétique, la phytogéographie et la spécificité d'hôtes de ce parasite (**Tomanakan et al., 2020**).

Les données complètes sur la séquence d'ADN ne sont disponibles que pour le génome qui a été séquencé pour la première fois en 2009. Le génome est une molécule d'ADN circulaire de 14 010 nucléotides avec 36 gènes qui codent pour douze protéines, vingt-deux ARNt et deux ARNr, ainsi que quinze gènes intergénique et le génome de l'ADNt qui est dépourvu de l'atp8 que l'on trouve dans presque tous les autres nématodes(**Kang et al., 2009**).

Les séquences d'ARNr ont été largement utilisées comme gènes modèles pour l'inférence phylogénétique et l'étude de l'ADNmt (**Chilton,2004**).

Matériel et méthodes

Nous présentons dans ce chapitre le matériel et la méthode utilisée pour l'identification morphologique et moléculaire des œufs d'oxyure au cours de notre PFE qui s'est déroulé au laboratoire d'Eco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations de l'institut Pasteur d'Algérie à Dely Brahim de Mars 2024 à juin 2024.

L'objectif principal de notre travail est la caractérisation des œufs d'oxyure, afin d'approfondir notre connaissance de cette espèce parasitaire courante, en examinant de près les caractéristiques morphologique et moléculaires des œufs. Les informations obtenues nous permettrons de mieux comprendre leurs cycles de vie et leur variation génétique et même leur impact sur la santé humaine. L'étude de la maladie d'oxyurose dans la wilaya de Tizi-Ouzou nous permet de connaître la prévalence de cette parasitose

1. Matériel

1.1. Collecte des échantillons

La collecte des échantillons « scotch test anal » consiste à détecter la présence des œufs du parasite *Enterobius vermicularis*. Pour cela, un prélèvement matinale des œufs a été effectué pour les enfants âgés de moins de 10 ans des crèches, des écoles primaire des enfants hospitalisés et même des enfants de centre des handicapés dans différents région de Tizi – Ouzou : Ain el Hemmam , Draa ben khedda et la nouvelle ville de Tizi-Ouzou.

La technique de scotch test anal (figure 09) est réalisé le matin avant la toilette, un morceau de ruban adhésif transparent est appliqué fermement sur la marge anale, puis retiré délicatement et coller sur une seule phase de la lame porte objet .la lame avec le ruban adhésif doit être placé dans un conteneur propre (une enveloppe) bien fermé pour éviter toute contamination, ensuite la lame est transportée au laboratoire pour un examen microscopique.

2. Méthodes

2.1. Type, période et milieu d'étude

Il s'agit d'une étude prospective qui s'est déroulé sur une période de cinq mois de février à juin 2024. Elle est basée sur un échantillon de 140 patients (enfants) choisi au hasard. Le choix de la population d'étude c'est basé sur le fait que différentes données bibliographiques

Matériel et méthodes

ont révélé une fréquence plus élevée de l'oxyurose chez les jeunes enfants et la transmission est plus rapide. L'étude s'est déroulée dans la région de Tizi-Ouzou dont trois régions ont été sélectionnées : Ain el hammam, Draa ben kheda et nouvelle ville 2 école primaire, 4 crèches privées, centre des handicapés et service pédiatrie de centre hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou.



Figure 09 : Matériel utilisé pour scotch test anal (photo original, 2024).

2.2. Description de la zone d'étude

La wilaya de Tizi Ouzou est située dans la région de la Kabylie en plein cœur du massif du Djurdjura. Elle est divisée administrativement en 67 communes et 21 dairas. Elle contient le plus grand nombre de communes en Algérie. - Elle comporte 1 191 753 habitants, d'après le recensement de 2018, et s'étend sur une superficie de 2958 km². - La densité de la population est de 403 habitants/km² (Anonyme 2018). La wilaya de Tizi Ouzou est située au Nord de l'Algérie. Elle est délimitée à l'ouest par la wilaya de Boumerdes, au sud par la wilaya de Bouira, à l'est par la wilaya de Bejaia et au nord par la mer Méditerranée.

2.3. Recherches des œufs d'oxyure (identification morphologique)

2.3.1. Examen direct macroscopique

Le scotch test anal est examiné à l'œil nu. Ce type d'examen permet d'observer les adultes mâles et femelle de l'oxyurose qui sont des petits vers fins de couleur blanchâtre. La détection de vers adultes confirme immédiatement l'infestation.

2.3.2. Examen direct microscopique

La lame avec le ruban adhésif (bien aplati) est placée sous un microscope optique au grossissement 10 puis au grossissement 40, la présence des œufs d'oxyure est un indicateur direct de l'infestation, et si aucun œuf n'est détecté cela signifie l'absence de la parasitose.

2.3.3. Etude de la morphologie externe des œufs d'oxyure

Etude de la morphologie externe des œufs d'oxyure est réalisé à l'aide d'un microscope numérique intégré qui permet de mesurer la taille des œufs et de l'embryon de l'oxyure et d'identifier précisément la forme de l'œuf et la nature de la coque.

2.4. Etude de la morphologie interne des œufs d'oxyure

Le grossissement 40 du microscope optique permet d'identifier la nature de l'embryon soit un embryon larviforme ou gyriforme c'est à dire l'embryon sous forme de masse et la survie de l'embryon.

2.5. Etude de la charge parasitaire

Chaque lame du scotch test anal positif est examinée sous microscope pour compter les œufs d'oxyure présent .Le nombre d'œufs identifiés sur chaque lame est noté avec précision. Cette méthode permet d'évaluer l'intensité de l'infection.

2.6. Identification moléculaire d'*Enterobius vermicularis*

L'identification moléculaire des œufs d'oxyures est une méthode avancée pour diagnostiquer l'infection par le parasite. Elle repose sur l'analyse de l'ADN des œufs présents dans les échantillons cliniques,

2.6.1. Mise au point de l'extraction de l'ADN à partir des œufs d'oxyure

La mise au point de l'extraction d'ADN des œufs consiste a développer et optimiser une méthode correcte et efficace pour isoler l'ADN plusieurs techniques d'extraction ont été suivi pour avoir un ADN de bonne qualité et quantité

2.6.1.1. Extraction d'ADN avec le protocole phénol-chloroforme

Dans un premier temps, le scotch test est couper en tous petit morceau puis insérée dans un tube Eppendorf de 2 ml. Ensuite 12.5µl de SDS 10% et 200µl de tampon de lyse ont été rajouté au tube et 20µl de protéinase K puis le tube est incubé pendant 12heure a 65 dans le but de lyse cellulaire. L'étape suivante comprenait la purification de l'ADN à l'aide du protocole conventionnel phénol-chloroforme. Les morceaux du scotch ont été prélevé et 200µl de phénol-chloroforme ont été ajouté au tube contenant le tampon de lyse et les échantillons. Le mélange a ensuite été centrifugé à 5000trs pendant 5 minute. Dans la suite le surnageant qui contient l'ADN extrait a été transféré dans un nouveau tube stérile. Pour continuer, 1/100 µl de l'acétate de sodium ont été ajouté au surnageant, et 500µl de la solution de purification d'éthanol absolue a été versé dans le tube, le mélange a été centrifugé pendant 15 minute à 13000 tours, le surnageant est jeté ensuite le tube est lavé avec 500µl de l'éthanol 70% et centrifugé une dernière fois à 13000 tours pendant 15 minutes. Enfin le tube est séché a l'air. Les différents réactifs sont présentés dans la figure 10.

2.6.1.2. Extraction de l'ADN avec la méthode CTAB

Pour préparer la solution de tampon CTAB 20ml de CTAB ont été versé dans un tube conique et 1.4 M de NaCl est rajouté au tube , 100ml de tri-HCl et 40ml de l'EDTA ont été rajoutée ; puis 100µl du tampon CTAB préparé été ajouté au tube Eppendorf contenant les morceaux de scotch test , 20µl de protéinase k est versé dans le mélange, une incubation d'une nuit a été effectuée à 55°C .L 'étape suivante comprenait la purification de l'ADN ,200µL du chloroforme ont été versé dans le tube suivi d'une centrifugation pendant 5 minute à 12000 tours. Le surnageant a été transféré dans un nouveau tube Eppendorf de 2 ml et 200 µl de l'isopropanol froid ont été ajouté à ce surnageant. La purification de l'ADN a été effectuée en centrifugeant ce mélange à 12000 tours pendant 15 minute. Par la suite, 200µl de la solution de lavage éthanol 70% a été ajouté au tube, suivi d'une dernière centrifugation pendant 5 minute à 12000 tours. Le dosage été réalisé après une nuit de séchage des tubes. (figure 11)



Figure 10 : Etape d'extraction d'ADN au protocole phénol –chloroforme (photo original,2024)



Figure 11 : Les étapes d'extraction de l'ADN avec protocole CTAB

2.6.1.3. Extraction d'ADN avec protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs

Afin de décoller les œufs du scotch test anal 200 μ l de l'eau distillée est versé dans les tubes Eppendorf contenant les morceaux de scotch test anal, afin de lyser les cellules de l'œuf 12.5 μ l de SDS 10% et 200 μ l de tampon de lyse ont été rajouté au tube et 40 μ l de protéinase K puis le tube est incubé pendant 12 heures à 65°C. L'étape suivante comprenait la purification de l'ADN à l'aide du protocole conventionnel phénol-chloroforme. Les morceaux du scotch ont été prélevé et une quantité égale de phénol-chloroforme à la quantité initial de tube a été ajouté. Le mélange a ensuite été centrifugé à 5000 trs pendant 5 minute. Dans la suite le

Matériel et méthodes

surnageant qui contient l'ADN extrait a été transféré dans un nouveau tube stérile. Pour continuer, 1/100 μ l de l'acétate de sodium ont été ajouté au surnageant, et 500 μ l de la solution de purification d'éthanol absolue a été versé dans le tube. Le mélange a été centrifugé pendant 15 minute à 13000 tours, le surnageant est jeté ensuite le tube est lavé avec 500 μ l de l'éthanol 70% et centrifugé une dernière fois à 13000 tours pendant 15 minutes. Le surnageant est jeté Enfin le tube contenant l'ADN pure est séché à l'air (figure 12).



Figure 12 : les étapes des extractions d'ADN avec protocole phénol-chloroforme après lavage des œufs

2.6.1.4. Protocole d'extraction CTAB après lavage des œufs

Dans chaque tube Eppendorf contenant le scotch test 200 à 250 μ l de l'eau distillée ont été ajouté suivi d'un vortex de 10 minute puis la lyse cellulaire est effectuée avec le tampon CTAB préparé et 20 μ l de protéinase k qui ont été versé dans le mélange, une incubation d'une nuit à 56°. L'étape qui suit est la purification de l'ADN ,200 μ L du chloroforme a été versé dans le tube suivi d'une centrifugation pendant 5 minute a 12000 tours. Le surnageant a été transféré dans un nouveau tube Eppendorf de 2 ml , et pour purifiée l'ADN 200 μ l de l'isopropanol froid ont été ajouté à ce surnageant , suivi d'une centrifugation du mélange à 12000 tours pendant 15 minute ,ensuite 200 μ l de la solution de lavage éthanol 70% a été ajouté au tube suivie d'une dernière centrifugation pendant 5 minute à 12000 tours .le dosage été réalisé après une nuit de séchage des tubes.(figure 13)

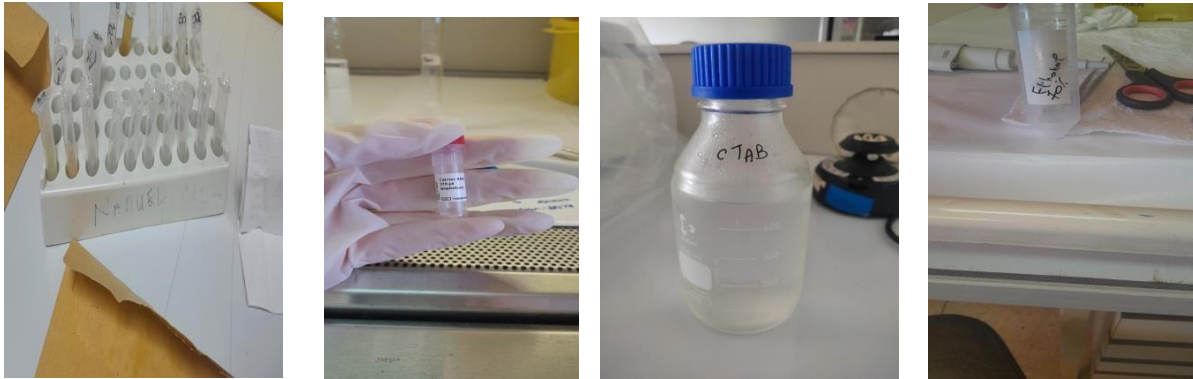


Figure13 : les étapes d'extraction d'ADN au protocole CTAB après lavage des œufs

2.6.1.5. Protocole d'extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et après choc thermique 3 cycle

Le lavage des œufs d'oxyure avec 350 μ l de l'eau distillée suivi d'un vortex de 5 minute puis un choc thermique avec de l'azote liquide-96°C et de l'Eau bouillard a été effectuée afin de perturber la structure cellulaire et d'écraser physiquement les œufs .La lyse cellulaire été uniquement avec 12.5 μ l du SDS 10% et 200 μ l de tampon de lyse suivie d'une incubation au bin sec pendant une nuit à 65°, 40 μ l de protéinase k ont été rajouté au tube et une deuxième incubation pendant 1 heure à 56° .200 à 250 μ l de réactif du phénol-chloroforme ont été versé dans le tube , la séparation des composant du mélange a e été effectuée par une centrifugation à 5000trs pendant 5 minute .Dans la suite le surnageant qui contient l'ADN extrait a été versé dans un nouveau tube stérile. Pour continuer, 1/100 μ l de l'acétate de sodium ont été ajouté au surnageant, et 500 μ l de la solution de purification d'éthanol absolue a été versé dans le tube, le mélange été centrifugé pendant 15 minute à 13000 tours, le surnageant est jeté ensuite le tube est lavé avec 500 μ l de l'éthanol 70% ET centrifugé une dernière fois a 13000 tours pendant 15 minutes. Le surnageant est jeter, enfin le tube contenant l'ADN pure est séché à l'air. (Figure 14).



Figure 14 les étapes de l'extraction d'ADN avec protocole phénol-chloroforme après lavage et choc thermique

2.6.1.6.Extraction d'ADN au phénol –chloroforme après lavage des œufs et choc thermique 8 cycles

Un volume de 200 μ l de l'eau distillé ont été versé dans chaque tube contenant un scotch test et 8 cycle de choc thermique avec de l'azote liquide -96°C et l'eau bouillard été effectuée la lyse cellulaire a suivi le choc thermique a du SDS 10% et 20 μ l de tampon de lyse suivie d'une incubation au bain sec pendant une nuit à 65°C, 12.5 μ l de protéinase k ont été rajouté au tube et une deuxième incubation pendant 1 heure à 56°C. Pour séparer la phase aqueuse et organique une quantité équivalente de réactif du phénol-chloroforme a été versé dans le tube, suivi d'une agitation vigoureuse de pour assurer une bonne phase de séparation des composant du mélange ensuite une centrifugation à 5000trs pendant 5 minute été effectuée. Dans la suite le surnageant qui contient l'ADN extrait a été versé dans un nouveau tube stérile. Pour continuer, 1/100 μ l de l'acétate de sodium ont été ajouté au surnageant, et 500 μ l de la solution de purification d'éthanol absolue a été versé dans le tube, le mélange été

Matériel et méthodes

centrifugé pendant 15 minute à 13000 tours, le surnageant est jeté ensuite le tube est lavé avec 500 μ l de l'éthanol 70% ET centrifugé une dernière fois a 13000 tours pendant 15 minutes. Le surnageant est jeter, enfin le tube contenant l'ADN pure est séché à l'air. (Figure 15).



Figure 15 : Etapes d'extraction d'ADN avec phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique (8 cycles)

2.6.1.7. Extraction de l'ADN avec le kit Oméga®

Dans un premier temps, les œufs ont été laver avec 200 μ l d'eau distillée. Pour les détruire, un choc thermique de 8 cycles été nécessaire. Par la suite, l'extraction d'ADN est lancée par l'ajout de 280 μ l de mélange maitre de liaison (isopropanol/particules mMag-Bind RO), ensuite un vortex de 10 minute été réalisé pour le mélange des particules, et afin d'éliminer les particules de MAG-bind les tube ont été déposé sur le dispositif de séparation magnétique. Le surnageant obtenu a été placé dans un autre tube à filtre. 350 μ l de tampon RM'P avec 100% d'isopropanol ont été versé dans le tube, le surnageant a été aspirer encore une autre fois, ensuite 350 μ l de l'éthanol ont été versé dans le tube et suivi d'un vortex de 5 minute Enfin 50 μ l d'eau exempte de nucléase été ajouté pour chaque échantillon, le mélange été vortexé pendant 10 minutes et pour éliminer la solution de lavage les tubes ont été placé sur le dispositif de séparation une autre fois et le surnageant contenant de l'ADN purifié été aspiré et versé dans un autre tube une conservation de 4°été nécessaire pour avoir un ADN de bonne qualité.(figure 16).

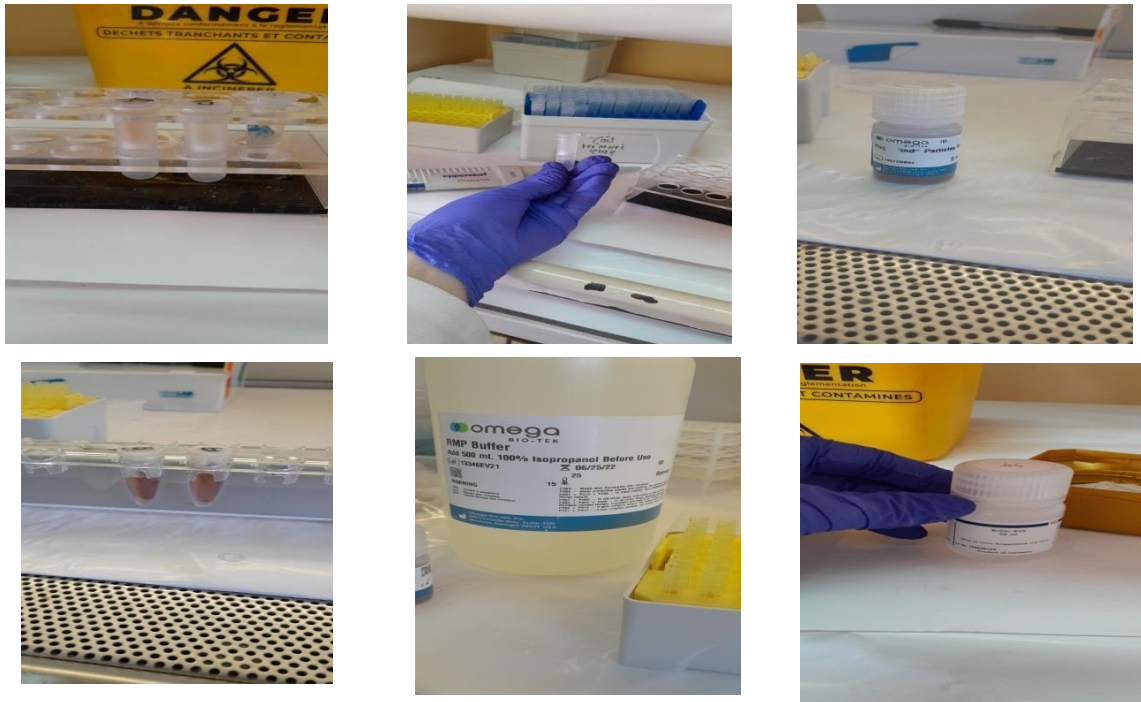


Figure 16 : Les étapes d'extraction d'ADN des œufs d'oxyures avec le kit Oméga .

2.6.2. Le dosage de l'ADN

Une petite quantité d'ADN purifié (2 μ L) est déposée directement sur la surface optique de NanoDrop® (figure17). Le logiciel intégré calcule automatiquement la concentration d'ADN dans l'échantillon en fonction de l'absorbance mesurée. Cette concentration est exprimée en nanogrammes par microlitre (ng/ μ L). Cet appareil nous a permis aussi d'évaluer la quantité de nos échantillons. Le rapport 260/280 , évalue la présence de contamination protéiniques, et le rapport 260/230 évalue la présence d'autres contaminations comme le phénol.

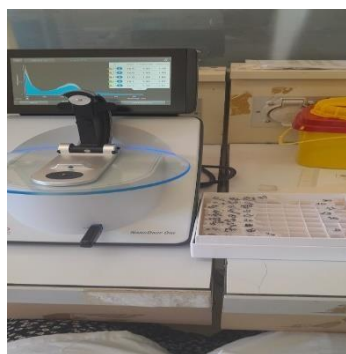


Figure 17 : Dosage de l'ADN avec le Nanodrop® (photo original,2024).

2.6.3. Analyse qualitative sur gel d'Agarose à 0,8%

Dans un flacon contenant tampon TAE (figure 19), 0.8g d'agarose ont été rajouté au flacon en fonction de la taille du gel. Après le chauffage de l'agarose et le refroidissement, 6.5 μ l de brume d'éthidium ont été versé dans le flacon ensuite le coulage de gel est dans un bac coulé contenant deux peignes de formation des puits. Le mélange de 2 μ L d'ADN et 4 μ l de bleu de bromophénol (tampon de charge) ont été pipeté dans les puits après la solidification complète du gel et enfin afin de faciliter la migration des bandes d'ADN le gel l'électrophorèse été a 120 volts. Après 45 minute d'électrophorèse (après la migration des bandes), le gel été placé dans un Transluminateur pour visualiser les bandes sous UV.

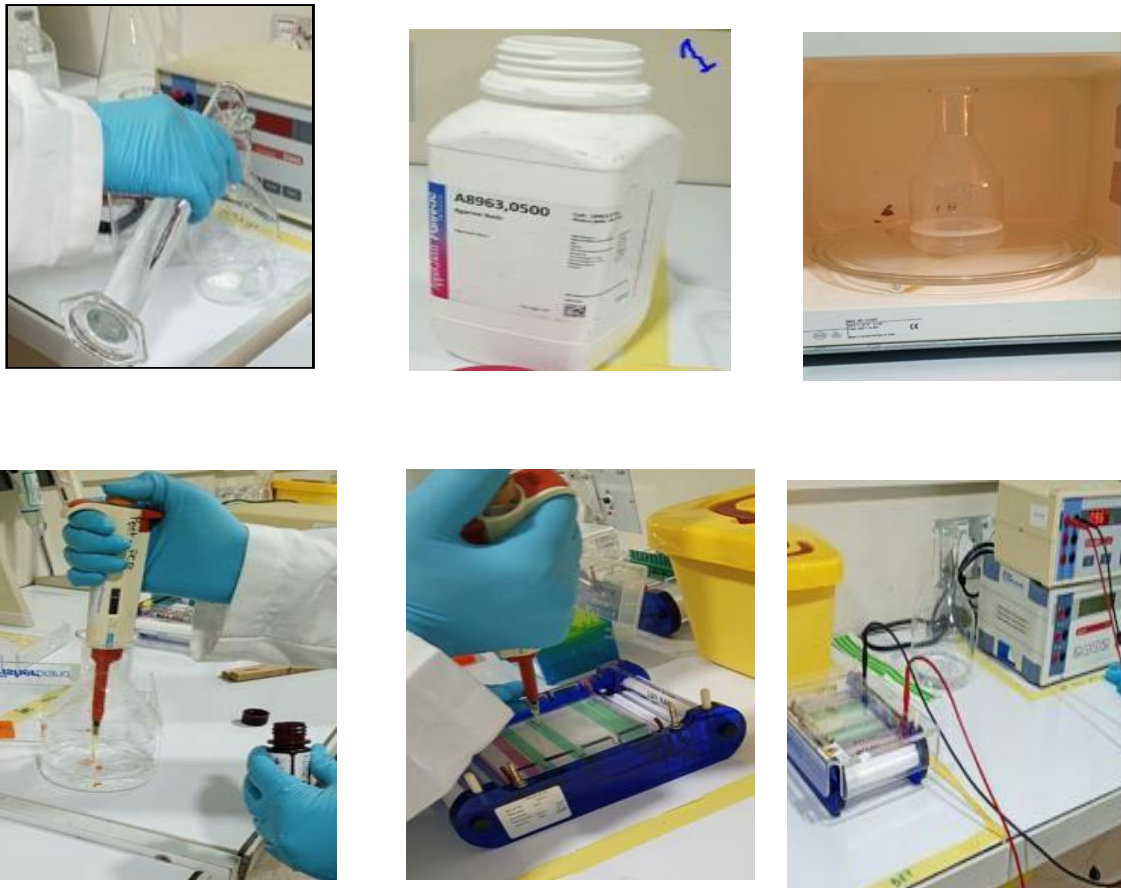


Figure 18 : les étapes de gel d'agarose de qualité de 0.8% (photo originale ;2024).

2.7. Analyse in silico des séquences d'*E. vermicularis* sur NCBI

Pour construire un arbre phylogénétique des gènes de l'oxyure, on commence par sélectionner les différents organismes ou souche d'oxyures à inclure dans l'analyse. Puis les séquences des gènes d'intérêt sont alors collectées à partir de la base de données génétique NCBI

Une fois que les séquences sont téléchargées. Elles sont alignées pour identifier les régions homologues à l'aide de logiciel MEGA X, une matrice de données est ensuite construite, où chaque ligne représente un organisme et chaque colonne un caractères génétique. Puis on a suivi toutes les procédures nécessaires pour avoir l'arbre phylogénétique sur MEGA X.

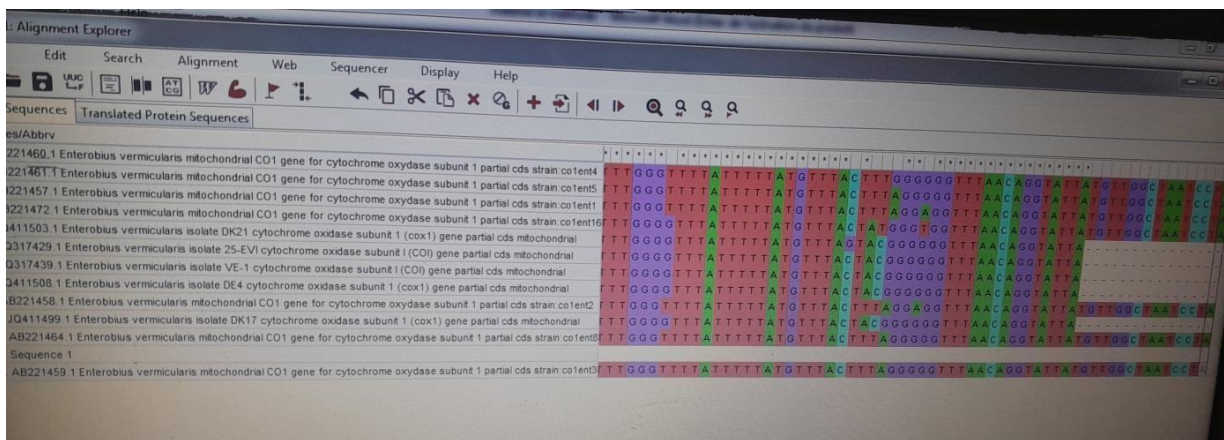


Figure 19 : Capture d'écran des alignement effectués avec le Logiciel MEGA X

1. Fréquence globale de la parasitose

Les 140 scotch –test anaux ont été analysés au G×10 puis au G×40.les résultats sont représentés dans le diagramme ci-dessous (fig 19). Les résultats obtenus de la figure 19 révèlent que 42 enfants sur les 140 ont un scotch –test anal positif soit une fréquence de 30%.

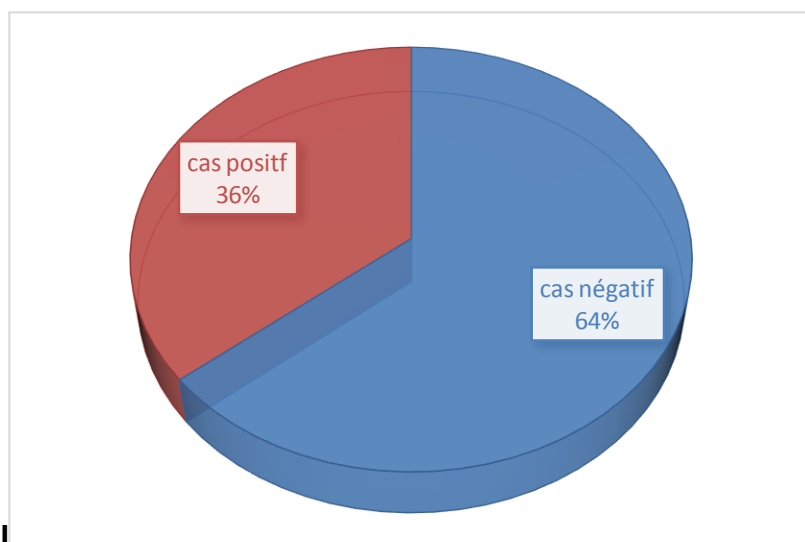


Figure 19 : Résultats de la Fréquence de l'oxyurose au cours de notre étude chez les enfants dans la région de Tizi-Ouzou.

2. Répartition des résultats en fonction du sexe

Le nombre de cas positifs selon le sexe sont portés dans le la figure (20) illustre la prévalence de l'oxyurose en fonction du sexe. Sur les 42 enfants examinés et infectés ; 14 filles ont présenté un scotch-test anal positif, correspondant à une prévalence de 33%. Les garçons représentaient le reste, avec une prévalence de 69%.ces résultats montrent une nette prédominance de l'oxyurose chez les garçons par rapport aux filles.

Résultats et discussion

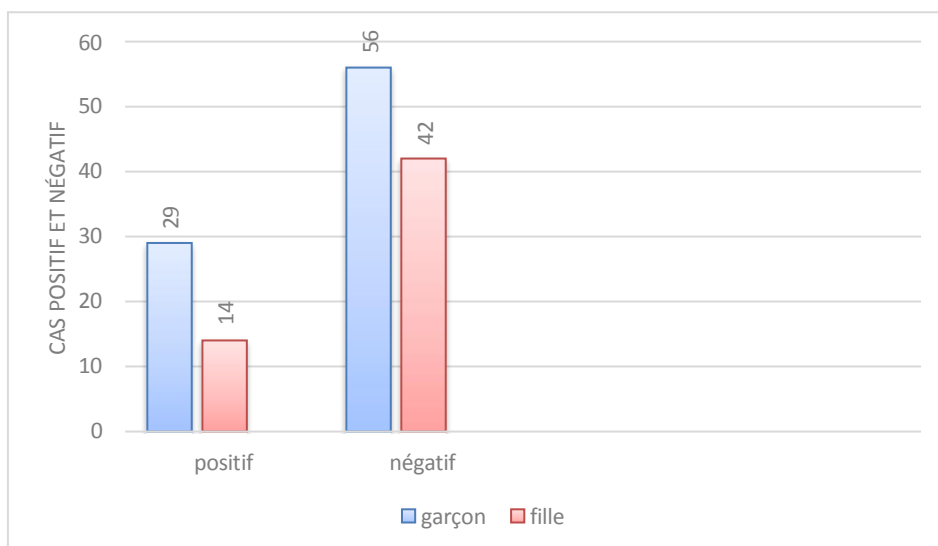


Figure 20 : Résultats de la Fréquence de l'oxyurose selon le sexe

3. Fréquence de l'oxyurose selon le milieu de l'étude

La fréquence de la maladie d'oxyurose pendant la période de notre étude est élevée dans les établissements scolaires où se trouve la collectivité d'enfants avec un taux de prévalence de 41.17% (tableau 02) suivi d'une prévalence de 37.5% chez les enfants de centre des handicapés de la région alors que la prévalence de la maladie des enfants hospitalisés de CHU de Tizi-Ouzou est uniquement 18.18% au cours de 4 mois.

Lieux de prélèvement	Négatif	Positif	Total	Taux+
Crèche	30	07	37	18,91%
Primaire	40	28	68	41.17%
CHU	14	02	16	12.5 %
Maison	09	02	11	18.18%
Centre des handicapés	05	03	08	37.5%

Tableau 02 : Effectif et pourcentage d'infestation par les oxyures selon le type de l'établissement

4. Prévalence de l'infestation suivant l'âge des enfants

L'oxyure touche toute catégorie d'âge la figure (21) représente le pourcentage des enfants parasités selon la tranche d'âge. Nous remarquerons que la tranche d'âge la plus touchée est celle de (11-15) ans avec 26 cas soit une prévalence de 43.75% suivie d'une prévalence de

Résultats et discussion

38.88% pour les enfants âgés entre 6 à 10 ans par contre parmi les 52 enfants âgés entre 1 à 5ans le taux de prévalence est faible il est de 13.46%.

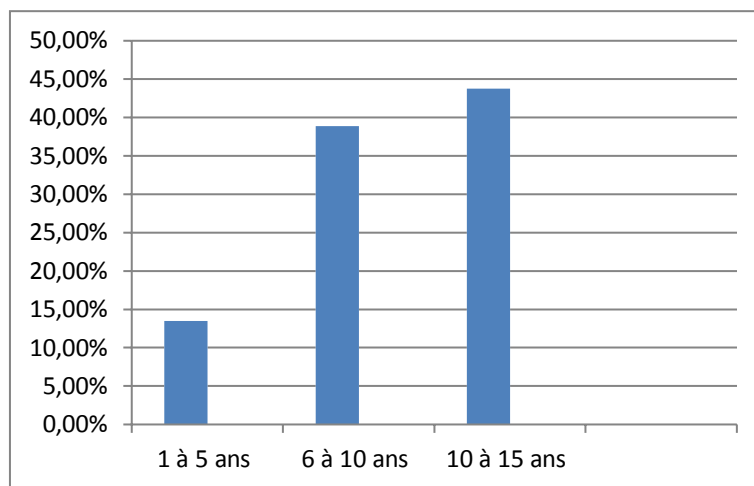


Figure 21 : Répartition des cas parasités dans la wilaya de Tizi-Ouzou selon les tranches d'âge.

5. La prise des médicaments

La figure 22 représente les deux tranches de patients qui présente la maladie. le secteur en bleu (19 cas). Ce sont les enfants sous traitement antiparasitaire et traditionnel mais leurs scotch test anal est positif est la deuxième partie de secteur (rouge) se sont les enfants parasité sans traitements(23 cas).

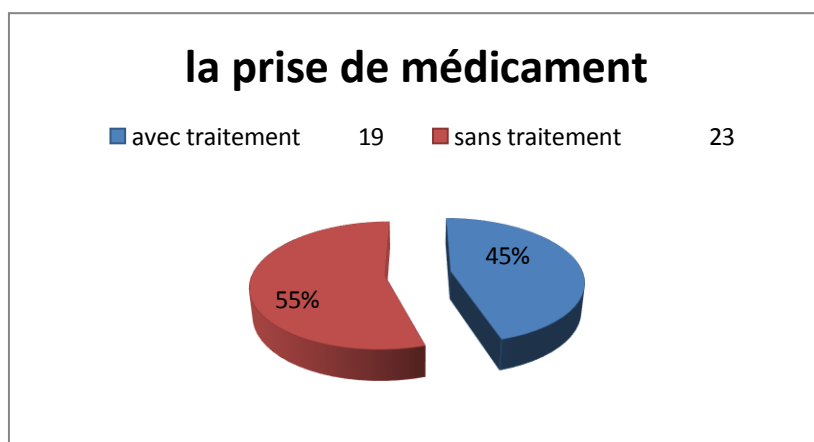


Figure 22 : les enfants parasités avec et sans traitement antiparasitaire

6. Résultats de la recherche des œufs d'oxyures (identification morphologiques)

La recherche des œufs d'oxyure est basée sur 42 lames porte objet possède des différents stades de développement des œufs d'oxyure

6.1. Examen direct macroscopique

le résultat de l'examen macroscopique des lames de scotch test a permis de voir les vers de l'oxyure adultes male est femelle (figure 23)de plusieurs lames , plus de 15 vers adulte ont été observée a l'œil nu



Figure23 : Photo d'un ver adulte *d'Enterobius vermicularis* sur un scotch test (photo original,2024).

6.2. Examen microscopique

6.2.1. Etude de la morphologie externe des œufs d'oxyure

6.2.1.1. Classification des scotchs test selon la taille des œufs

Le tableau (03) représente les mesures des œufs d'oxyure (longueur et largeur) des différentes lames observé sous microscope numérique ou on trouve que la taille des œufs d'oxyure peut-être moins de la taille idéal qui est entre 50-60 mm de longueur ou bien la taille des œufs peut dépasser les 60 mm de longueur et 30mm de largeur donc ce sont des œufs

Résultats et discussion

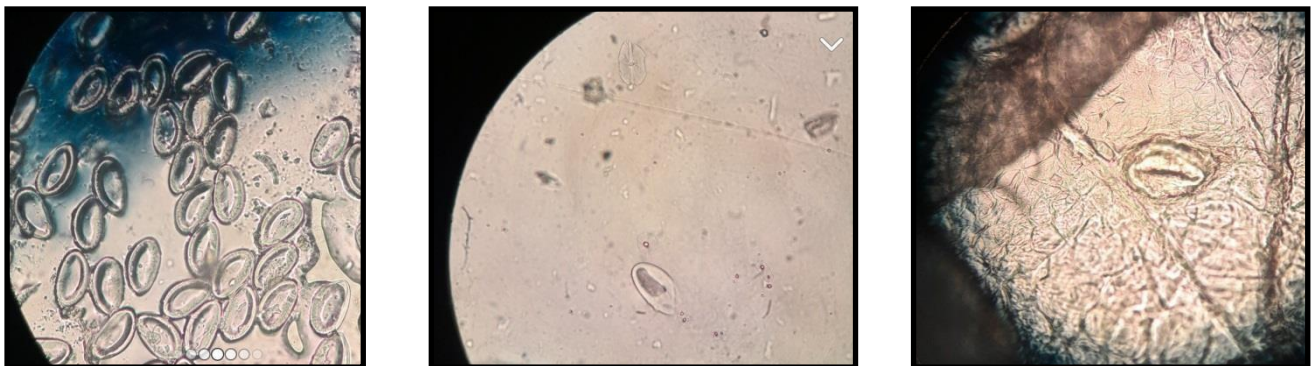
Tableau 03 : Résultats des différentes tailles d'œufs d'oxyure observé sous microscope optique

Taille	Longueur (micromètres)	Largeur (micromètre)
Première tranche de test	<50	<20
Deuxième tranche de test	Entre 50-60	Entre 20-30
Troisième tranche de test	>60	>30

6.2.1.2. Classification de la coque par état de la surface

L'examen de la figure 24 permet de constater que les œufs d'oxyure peuvent avoir différents types de coque l'image (a) représente une coque mince et lisse qui protège l'embryon elle est délicate et transparente permettent d'avoir l'embryon à l'intérieur .et l'image (b et c) présente une coque irrégulière est rigide ou on ne peut pas voir l'embryon à l'intérieur.et chaque coque présente des substances chimiques qui adhèrent les œufs les uns aux autres

Leur fragilité peut faciliter leur rupture et la libération de l'embryon



A

B

C

Figure 24: les trois types de coque des œufs d'oxyure vus au grossissement $\times 40$ (a) coque lisse (B) coque irrégulière et (C) coque épaisse. (photo originale, 2024)

6.2.2. Etude de la morphologie interne des œufs d'oxyure

6.2.2.1. Classification des œufs selon la mobilité de l'embryon (la survie des œufs)

Le tableau ci-dessous (4) représente les deux états de l'embryon des œufs observés au $G \times 40$

Résultats et discussion

18 scotchs test anal possèdent des œufs avec embryon mobiles pendant plusieurs jours et ou la charge parasitaire est importante et 24 scotch test anal avaient des embryons des œufs immobile dans la charge parasitaire est faible.

Tableau 4 : Résultats de la Nature de l'embryon des œufs d'oxyures

Nature de l'embryon	Le nombre de scotch
Embryon mobile	18
Embryon immobile	24

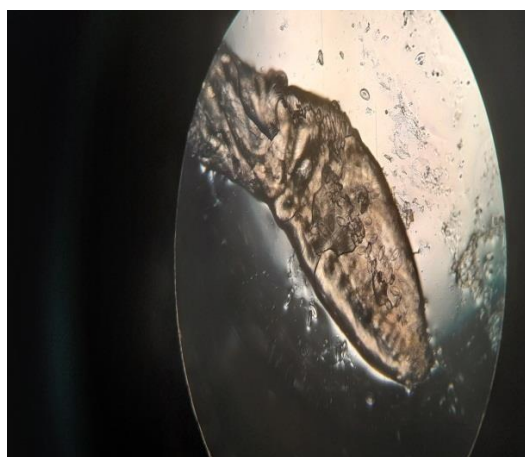
6.2.2.2. Classification des œufs selon la nature de l'embryon

Sous le microscope optique (figure25.) et au Gr×40, nous avons observé deux types d'embryons différents. Les œufs à l'intérieur des adultes femelles qui sont non embryonné qui sont sous forme d'une masse (des cellules en division). A ce stade, ils ne sont pas complètement matures, et deux couches externes qui le protège. Les œufs déposés à l'extérieur, sur la peau périnatale possèdent des embryons larviforme où on peut bien voir que l'embryon est bien développée possèdent 3 couches externes qui le protège.

Les images ci- dessous présentent ces différences de la nature de l'embryon



Œuf avec embryon bien développé sur la partie périanal



œuf à l'intérieur de la femelle avec embryon en cour de développement

Figure 25 : œufs embryonnée et non embryonné de l'oxyure vu au microscope optique au G×40(photo originale ;2024).

6.2.3. Résultat de la charge parasitaire

La figure 26 représente le diagramme de distribution de nombre des œufs par lame la charge parasitaire est différente d'une lame à une autre ou on a trouvé que plus de 12 lames avaient une charge parasitaire importante plus de 1000 œufs (figure 26) observé surtout les scotchs où se trouve un ver adulte(femelle) et aussi y' des lames avec un taux faible d'oxyure pas plus de 5 œufs dans la lame.

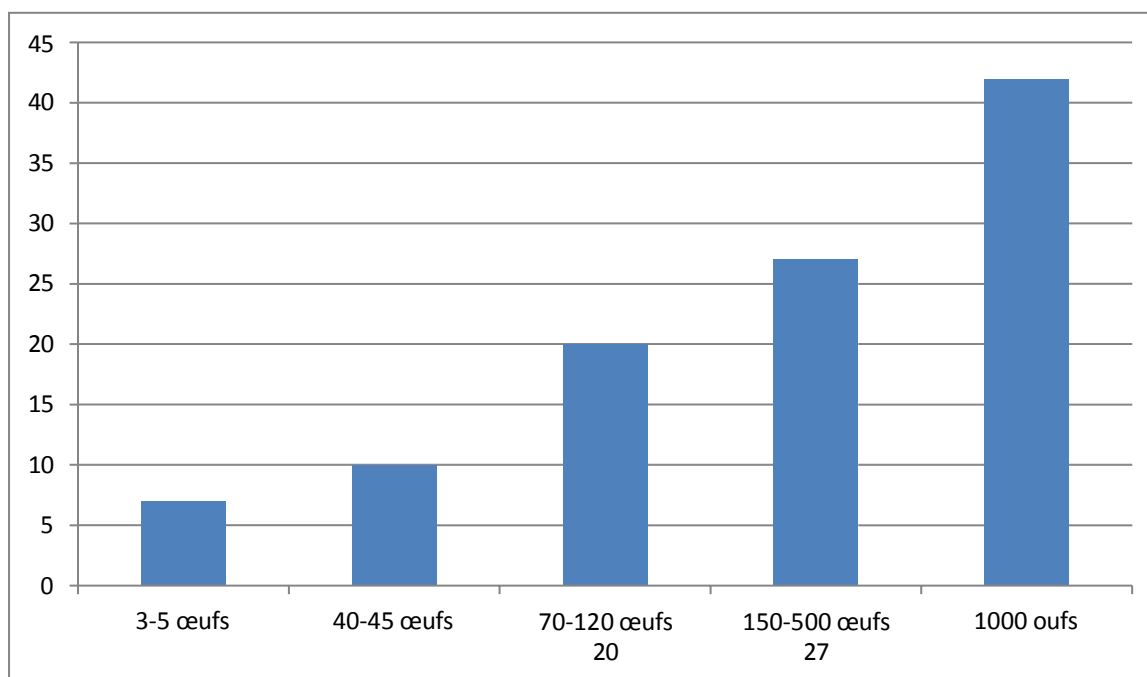


Figure 26: Résultats de la Distribution du nombre d'œufs par lame

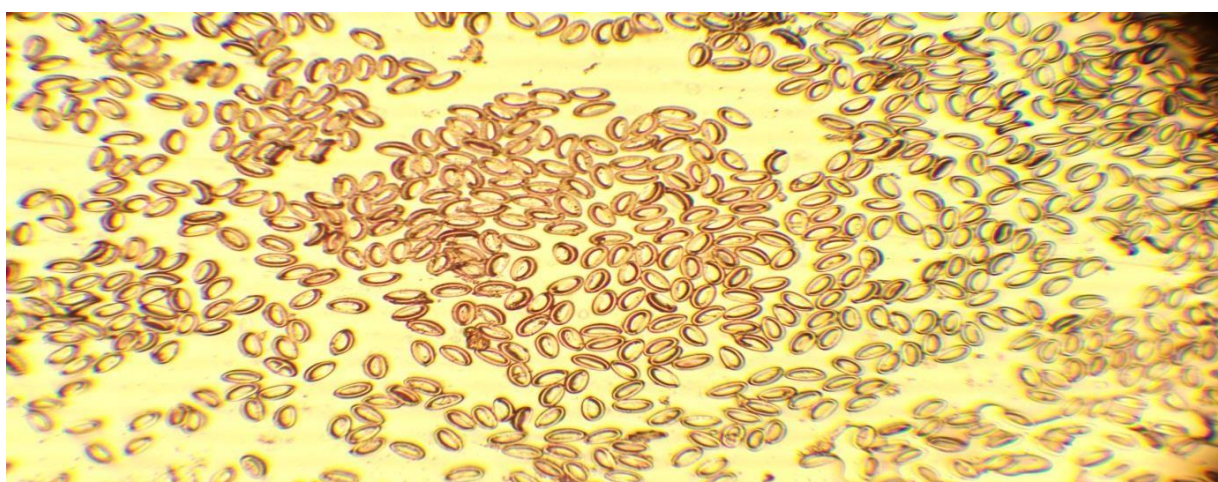


Figure 27 : scotch test anal plein d'œufs d'oxyure (photo original,2024).

6.3. Résultats de l'étude moléculaire

6.3.1. Les Résultats du dosage d'ADN extrait des œufs d'oxyures par phénol – chloroforme

Les résultats de dosage d'ADN du tableau(5) pour les 4 échantillons (1-3-4-5) est d'une faible concentration (inférieur à 50 ng/ μ L) qui est dû à un faible nombre des œufs ou on a pris pour l'extraction uniquement $\frac{1}{4}$ du scotch test anal et pour échantillon 2 a une concentration de 52.137ng/ μ l ce qui explique la présence des œufs en masse dans ce résultat .Le rapport A260/A280 nous indique la pureté de l'ADN (présence ou l'absence des protéines) , dans nos résultats on voit que pour échantillon 2 et 4 ne présente aucune contamination avec les protéines (ratio=1.8) , une présence des protéines est observé dans l'échantillon 1, 3 et 5 (ratio<1.8). Le rapport A260/A230 est relative toujours a la pureté d'ADN mais pour la présence de contaminations organiques, dans nos résultats tous les échantillons indique la présence de contaminants (sels et les solvants) (ratio<2.0)

Tableau 5 : dosage des extractions d'ADN au phénol -chloroforme

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A ₂₆₀ /A ₂₈₀	A ₂₆₀ /A ₂₃₀	A ₂₆₀	A ₂₈₀	Nucleic Acid Factor	Baseline Correction (nm)	Baseline Absorbance
Sample 1	5.099	1.529	0.221	0.102	0.067	50.00	340	0.097
Sample 2	52.137	1.883	1.973	1.043	0.554	50.00	340	0.020
Sample 3	3.561	1.728	0.161	0.071	0.041	50.00	340	0.018
Sample 4	19.474	1.805	1.587	0.389	0.216	50.00	340	0.025
Sample 5	0.403	0.646	0.064	0.008	0.012	50.00	340	0.020

6.3.2. Les résultats du dosage d'ADN par extraction CTAB

le tableau 6 représente les dosages d'ADN par extraction CTAB ,les 05 échantillon présente un dosage d'acide nucléique inférieur à 50ng/ μ l ce résultat est le rapport de $\frac{1}{4}$ de scotch test anal de chaque patients et pour la contamination d'ADN par les protéines dans ce rapport on a observé que tous les échantillons possèdent une contamination protéique(ratio<1.8) et même

Résultats et discussion

la contamination organique est présente on voit très bien que tous les scotch test ont un ratio < 2.0.

Tableau 6 : spectre d'absorption UV-Vis par la technique d'extraction CTAB

Echantillon 6	2.486	1.577	0.551
Echantillon 7	4.424	1.503	0.153
Echantillon 8	8.280	1.759	1.636
Echantillon 9	7.033	1.458	0.594
Echantillon 10	0.461	1.341	0.470

Sample 6	2.486	1.577	0.551	0.050	0.032	50.00	340	0.008
Sample 7	4.424	1.503	0.153	0.088	0.059	50.00	340	0.056
Sample 8	8.280	1.759	1.636	0.166	0.094	50.00	340	0.025
Sample 9	7.033	1.458	0.594	0.141	0.096	50.00	340	0.038
Sample 10	0.461	1.341	0.470	0.009	0.007	50.00	340	0.131

6.3.3. Résultat du dosage d'ADN par extraction phénol –chloroforme après lavage des œufs

Le tableau 7 nous montre que la concentration d'ADN est moins de 50ng/μl pour les 2 échantillons lavé avec de l'eau distillée et le rapport A260/280 assure la présence contamination par les protéines pour l'échantillon 11 alors que l'échantillon 12 assure la pureté de l'ADN (ratio=1.8) le rapport A260/230 confirme la présence de contaminations par les matières organique (ratio<2.00)

Tableau 7 : dosage d'ADN avec extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs

Echantillon dosé	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/ 230
Echantillon 11	7.595	1.392	0.518
Échantillon12	3.286	1.808	0.751

Résultats et discussion

6.3.4. Résultats du dosage d'ADN par extraction CTAB après lavage des œufs

La quantité d'ADN que l'extraction CTAB après lavage des œufs a donné une concentration moins de 50ng/μl pour les deux échantillons avec une contamination des protéines que le rapport A260/280 a montré (ratio<1.8) et une présence de contamination organique (phénol) avec 0.685 et 0.701 qui sont inférieure à 2.00 la normale de la pureté d'ADN (tableau 08)

Tableau : 8 Dosage d'ADN pour l'extraction CTAB après lavage des œufs

Echantillon dosé	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230
Echantillon 13	8.845	1.491	0.685
Echantillon 14	8.171	1.477	0.701

6.3.5. Résultats du dosage d'ADN par extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique 3 cycles

Le résultat de dosage de l'ADN est présenté dans le tableau suivant (9) après 3 cycle de choc thermique le dosage est inférieur à 50ng/μl pour les 2 scotch test examiné et pour la contamination de l'ADN on a eu des résultats de 1.392 et 1.808, ce qui explique la présence de contamination par les protéines (ratio<2.00)

Tableau 9 : dosage d'ADN et pureté d'ADN Après extraction phénol-chloroforme après lavage des œufs et choc thermique.

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230
Echantillon 15	7.595	1.392	0.518
Echantillon 16	3.286	1.808	0.751

6.3.6. Résultats des dosages d'ADN des œufs d'oxyure par Protocol phénol-chloroforme après lavage des œufs et un choc thermique 8 cycles.

Les résultats de dosage de l'ADN après lavage des œufs et un choc thermique de 8 cycles avec de l'azote liquide -95°C (tableau 10). Nous avons obtenu pour le culot de 3 échantillons (17-18-19-20) une concentration d'ADN inférieur à 50ng/μl, et pour la concentration d'AD obtenue dans le surnageant de l'extraction (le lavage avec l'éthanol absolue 70% été récupéré

Résultats et discussion

), nous a donné une concentration supérieur à 50.00ng/μl dont la résultat était de 108.764 et 179.307 et pour la concentration avec les protéines est supérieur à 2.00 ce qui explique que y'a une contamination avec l'ARN et pour le rapport A260/230 explique que la concentration des matières organique est élevé sachant que pour avoir une pureté d'ADN le ratio doit être égal a 2.00 .

Tableau 10 : dosage d'ADN des œufs d'oxyure par extraction phénol –chloroforme

Nombre des échantillons dosés	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230
Echan 17	4.674	3.241	0.155
Echan 18	7.616	3.284	0.089
Echan 19	5.818	3.279	0.154
Echan 20	1.167	3.267	0.090
Surnageant17	108.764	24.921	0.131
Surnageant18	179.307	23.371	0.218

6.3.7. Résultat de dosage de l'extraction d'ADN avec l'extraction kit Oméga

Le résultat de concentration de l'ADN est varié entre 0.754 à 32.495 ce qui explique que le culot ne contient pas une grande quantité d'ADN alors que les surnageant des échantillons 21 et 24 ont donné une concentration supérieur à 50ng/μl et pour la contamination de l'ADN par les protéines été présent dans échantillon 22-23-27 avec une contamination par l'ARN dans l'échantillon 21-25 et les surnageant 21-24 avec un ratio supérieur à 2.00 .(tableau 11).

Tableau 11 : concentration d'ADN avec extraction oméga

Sample Name	Nucleic Acid(ng/uL)	A260/A280	A260/A230
Echantillon20	22.707	2.272	0.020
Echantillon 21	0.754	5.819	-2.655
Echantillon22	4.122	1.259	0.030
Echantillon23	1.150	0.649	-0.118
Echantillon24	3.483	2.427	-0.093
Echantillon 25	3.507	7.779	-3.123
Echantillon26	32.495	4.781	0.074

Résultats et discussion

Echantillon 27	5.666	1.505	0.010
Surnagenat21	160.143	4.477	0.023
Surnageant 24	194.140	5.292	-0.108

6.4. Résultat de l'étude qualitative de l'ADN extrait des oxyures

Le résultat de gel de qualité 0.8% représenté dans la figure 28 ou on voit une migration de bande d'ADN il présente comme une seule bande bien définie pour l'intensité des bandes cela indique une concentration élevée d'acide nucléique et on observe aussi une clarté d'une bande ce qui explique la bonne qualité de l'ADN et pour les bandes qui sont pas spécifique cela indique la contamination avec les produits .et pour les échantillons ou il y'a aucune migration de bande cela explique l'absence total de l'ADN ou une mauvaise migration

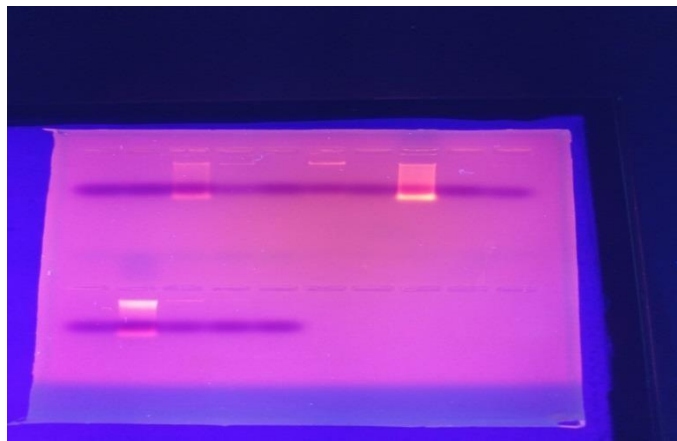


Figure 28 : Migration des bandes d'ADN sur gel de qualité sous lumière UV (photo original ,2024)

6.5. Résultats de l'analyse phylogénétique d'*Enterobius vermicularis* in silico

L'arbre phylogénétique résultant est composé de 12 feuilles, représentant chacune une séquence d'ADN mitochondriale unique. Les branches connectant ces feuilles montrent les relations évolutives entre les séquences, les branches de l'arbre varient en longueur, représentant le nombre de changement évolutifs survenus, les relations évolutives observées peuvent aider à formuler des hypothèses sur la propagation et l'évolution des œufs d'oxyures

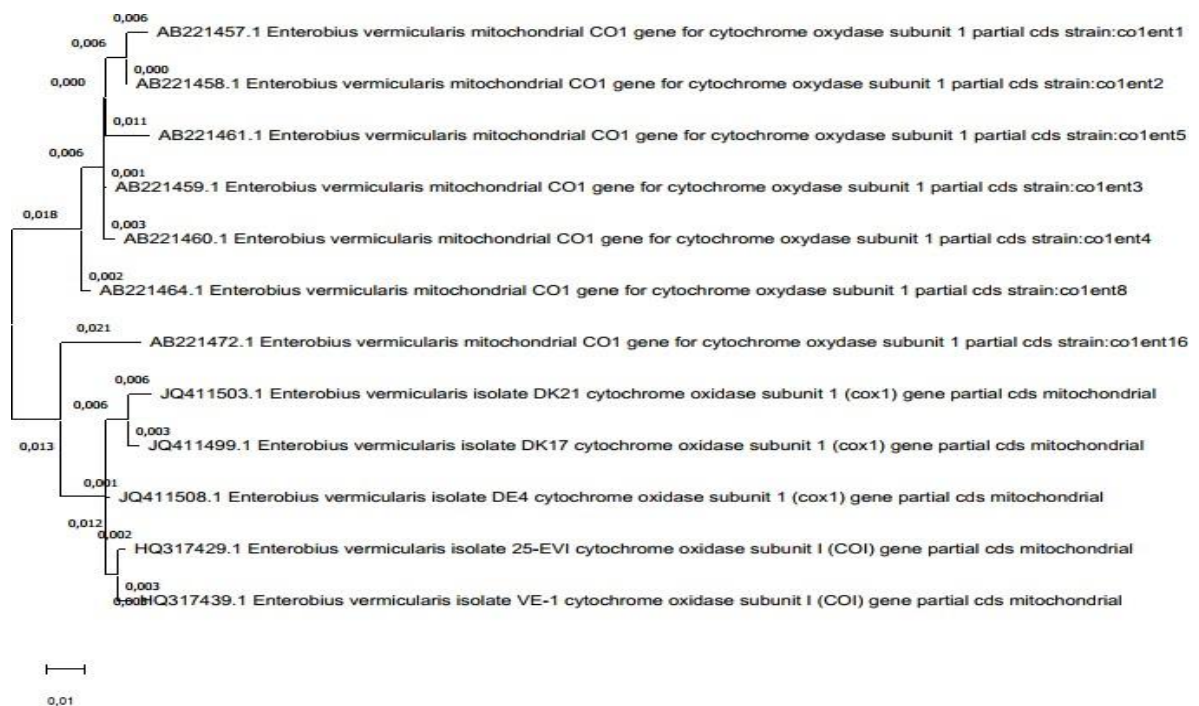


Figure 29 : Arbre Phylogénétique des 13 séquences d'*E. vermicularis* analysé par la méthode du Neighbour Joining. Origine de chaque séquence : AB221457 japon, AB221458 JAPON, AB221461 JAPON, AB221459 JAPON, AB221460 JAPON, AB221464 JAPON, AB221472 JAPON, JQ411503 DENMARK, JQ411499, DENMARK, JQ411508 DENMARK, HQ317429 GREECE, HQ317439 GREECE

Discussion

La présente étude menée au niveau de trois régions différentes de la wilaya de Tizi-Ouzou (Ain el hammam, Draa ben khedda et Tizi-Ouzou ville) avait pour but d'étudier la prévalence de l'oxyurose chez les enfants de la wilaya afin de faire une caractérisation morphologique et moléculaire des œufs d'*Enterobius vermicularis*.

Dans un premier temps nous avons étudié la prévalence globale de l'oxyurose, et nos résultats ont permis de mettre en évidence la présence de l'oxyurose chez 42 enfants sur un total de 140 examinés par la technique de scotch test anal, soit une prévalence globale de 30%.

Les résultats de notre étude ont révélé une prévalence remarquablement supérieure à celle obtenues par d'autres auteurs en Algérie. **DENGAR en (2019)**, a enregistré une prévalence de 13% chez 162 enfants provenant des crèches et écoles primaire de la région de Tizi-Ouzou. Il en est de même pour les résultats rapportés par **SAIDI et BERRAOUI (2017)** au niveau de milieu scolaire de la région de Tizi-Ouzou avec une fréquence de 6.25% sur 400 cas qui ont été examinés.

Dans la période allant de 2018 jusqu'à 2020 dans la wilaya de Mila, il a été enregistré un taux de 18.87% pour un sujet d'individu de 106 cas examinés.

D'autres études ont rapporté des taux de fréquence proche de ceux retrouvés par notre étude. En effet **STAMBOULI et al (2023)** avaient observé une fréquence de 32% dans le milieu scolaire de la région de Tizi-Ouzou.

Par comparaison avec de la littérature internationale, nos résultats sont plus élevés par rapport à ceux obtenus en Brésil avec une fréquence de 20% par **Zanato et al(2018)** et pour les îles de Marshall Islands la prévalence de la maladie chez leur enfants étaient 22.% à partir de l'examen de 392 enfants (**Chia et al 2019**).

En Iran la fréquence de l'oxyurose déterminée à partir d'une enquête sur les enfants d'âge 5 a 10 ans est égal à 6.7% (**Elnaz et al,2023**).

En Algérie une prévalence de 2.84% a été trouvé, par un examen parasitologique des selles (coprologie). Cette différence pour cette dernière étude pourrait être expliquée par le fait que les œufs d'oxyures sont rarement trouvés dans les selles et le test de Graham est plus performant qu'une coprologie.

Dans un deuxième temps, nous avons analysé la répartition de l'oxyurose selon le sexe. L'oxyurose touche les deux sexes. Nous avons constaté dans nos résultats que la prévalence

Discussion

des oxyures en fonction du sexe de l'hôte est statistiquement non significative, où on trouve la positivité de prévalence des oxyures chez les individus de genre masculin 69% est élevée à celle de genre féminin avec un taux considérable de 33%. ces résultats sont similaires à ceux des études réalisées en 2015 par **Aouar et Zennia** à Tizi-Ouzou qui montrent que les garçons sont les plus touchés dans les deux milieux rural et urbain avec respectivement 66.67% et même l'étude **de Saidi et al** (2017) nous montre que les garçons sont plus touchés avec un taux de prévalence de 60%.

Ces études nous expliquent que les comportements de jeu et d'hygiène entre garçons et les filles sont différents les garçons peuvent avoir des comportements de jeu plus actifs et être plus enclins à jouer à l'extérieur, ce qui les expose aux sources de contamination (**Auta et al ;2015**). Ils peuvent également être moins rigoureux en matière d'hygiène personnelle comme le lavage des mains, ce qui augmente le risque d'infection par ingestion d'œufs d'oxyure (**Toma, et al 2008**).

Nos résultats de la prévalence selon la localité ont montré observé que les enfants scolarisés sont plus touchés par cette parasitose avec une prévalence de 41.17% par rapport aux crèches et au CHU ce résultat est beaucoup élevé par rapport aux résultats de (**Khan et al, 2015**), qui a obtenu une prévalence de 5.75% des enfants scolarisés. Une autre étude a rapporté une prévalence de 9.73 % et cela est dû généralement à la proximité physique et interaction fréquente. Les enfants passent beaucoup de temps ensemble dans les salles de classe les aires de jeux, où les contacts étroits facilitent la transmission des œufs. L'Environnement scolaire est propice à la propagation des oxyures. Les œufs se trouvent partout cela veut dire que on peut les retrouver sur les objets communs comme les toilettes, les bureaux et même dans l'air lorsqu'ils sont déplacés par le nettoyage.

Pour la prévalence de l'oxyurose selon l'âge, nos résultats ont montré que l'oxyurose touche toutes les catégories d'âge. Avec cependant une prédominance chez les enfants. Dans notre étude nous avons remarqué que les enfants les plus touchés sont ceux qui sont âgés de 11-15 ans, dont 43% sont parasités.

Il n'existe aucun lien significatif entre les classes d'âge et l'enterobiase, mais (**Dengar ; 2019**) a noté que la tranche d'âge la plus touchée est située entre 8-10 ans et cela s'explique par le fait que cette tranche d'âge a une vie communautaire plus active.

Discussion

Nos résultats ont aussi fait ressortir une prévalence assez élevée au cours de la prise médicamenteuse, avec une inefficacité des traitements pris par les enfants de 45.%des enfants parasités qui présentes des symptômes et des œufs d'oxyures sur le scotch test. **Dengar (2019)**, a enregistré un taux de prévalence de 58 % chez les enfants traités. Cela peut s'expliquer par le fait que le traitement n'est pas suivi avec les mesures d'hygiène nécessaire, ou bien, il s'agit d'une deuxième infestation si un membre de la famille a déjà été parasité.

Après avoir étudié les facteurs influençant la prévalence de cette parasitose, nous nous sommes intéressés aux caractères morphologiques des œufs d'oxyures :

Nos résultats de la classification des œufs selon leur forme ont montré que sur 42 scotchs test anal positif, nous avons remarqués que tous les œufs se distinguent par leur forme ovale avec des extrémités pointues. Ils peuvent prêter à confusion avec ceux de trichurose qui présente une forme d'un citron avec deux extrémités (bouchon muqueux) tandis que les œufs de l'hymenolepiose qui est un ver d'enfant ont une forme d'ellipsoïde et sans la présence des extrémités. (**Claude ,2003**).

La classification des œufs selon leur taille, a montré que la plupart de nos échantillons d'œufs d'oxyure avaient une taille de 50-60 micromètre de long sur 20 à 30 micromètres de large. Ils sont presque la même taille avec ceux de trichocéphale qui mesure de 45 à 50 mm. En revanche, les œufs d'*Hymenolepis nana* qui est un ver d'enfant sont plus petits mesurant entre 30 et 40 micromètres de longueur et entre 35 et 50 micromètres de large (**Viviane ;2007**).

Nos résultats de classification des œufs selon la coque, ont que la coque des œufs d'oxyure présente des particularités qui permettent de les distinguer. La coque est généralement lisse, mince et transparente et présente des rainures peuvent être un élément distinctif pour identifier les œufs d'oxyure. De plus la coque est assez fragile et peut se briser facilement, ce qu'on a observé lors de l'examen microscopique. Elle est composée d'une seule couche ce qui la diffère de la coque des œufs d *Hymenolepis nana* qui possèdent une coque à double couche avec des couche fine et transparente, est pour la coque de trichocéphale est épaisse et très résistante et composé de plusieurs couches.

Notre classification selon la nature de l'embryon a montré que l'embryon de l'œuf d'oxyure est sous deux formes larviforme est gyriforme est ils peuvent survivre jusqu'à 20 jours il se transforme en larve infectieuse rapidement, mais pour les œufs qui se trouve à l'intérieur de la

Discussion

femelle. Ils ne sont pas mobiles puisqu'ils ne sont pas encore matures mais ils possèdent une double protection. D'un autre côté, il apparaît que l'embryon d'*Hymenolepis* peut survivre plusieurs semaines même si les conditions sont défavorables, et pour sa forme il est oncosphère et hexacanthé (possèdent 06 crochets) entouré d'une enveloppe interne mince présentes 2 tubérosités polaires d'où partent des filaments. (Claude ;2003)

Afin de faire une caractérisation moléculaire des œufs d'oxyures, nous avons du mettre au point une technique d'extraction efficiente qui permette d'obtenir un rendement élevé et une très bonne qualité, nécessaire pour une bonne PCR.

Nos résultats des extractions d'ADN diffèrent d'un protocole à un autre. Les 07 variantes utilisées ont permis d'obtenir des concentrations variables d'ADN. Même si on a suivi des procédures qui facilite et qui assurent l'extraction, cette variabilité est peut-être due à la coque épaisse de l'œuf qui ne permet pas au réactif d'arriver la membrane interne de l'embryon ou bien à la faible charge parasitaire.

Afin d'optimiser toutes les étapes de l'extraction, nous avons dosé l'ADN au niveau des surnageant et la concentration retrouvée a dépassé les 50ng/μl. Cela explique que l'ADN est présent dans le surnageant et pas dans la dernière étape de l'extraction qui est le séchage après lavage.

Pour la pureté d'ADN du rapport A260/280, le résultat obtenu est différent d'un échantillon à un autre et d'une technique d'extractions à une autre on a vu que la plupart des résultats avaient une contamination par les protéines qui ne devraient pas au principe passé. Cette contamination est liée à plusieurs facteurs la phase de séparation incomplète si la séparations des phases aqueuse et organique n'est pas complète une partie de protéine a rester dans la phase aqueuse contenant de l'ADN ou bien les protéines sont fortement liée à l'ADN

Pour le rapport A260/230 qui nous permet de connaître la contamination de l'ADN par les matières organiques (phénol) ou bien une contamination par la présence de l'ARN dans la plupart des échantillons analysé présente contamination par les matières organiques.

La qualité du gel d'électrophorèse (0.8%) indique la résolution et la capacité du gel à séparer les fragments d'ADN de différentes tailles.

Pour le résultat de la technique d'identification qualitative du dosage de l'ADN, les résultats de gel d'électrophorèse nous a montré une bonne migration de quelques bandes d'ADN ou se

Discussion

présente une intensité des bandes cela signifie que l'ADN de l'oxyure est présent en grande quantité même si la quantité de dosage est faible.

Dans cette étude, nous avons construit un arbre phylogénétique d'*Enterobius vermicularis* en utilisant les séquences génétiques d'un article scientifique et vérifiée sur NCBI. L'analyse a été réalisée avec le logiciel MEGA X, qui a permis de créer un arbre robuste et détaillé. Nos résultats montrent qu'*Enterobius* est étroitement lié à d'autres espèces apparentées au sien de son genre, suggérant une divergence évolutive récente due à la spécialisation parasitaire aux hôtes spécifiques. La rigueur méthodologique, incluant l'utilisation de MEGA X pour l'alignement et la construction de l'arbre, ainsi que la vérification des séquences sur NCBI a assuré la précision des résultats. Les séquences mitochondriales de CO1 d'*Enterobius vermicularis* montrent une faible variabilité génétique, ce qui suggère une population relativement homogène au niveau génétique.

Ces résultats confirment l'importance de la surveillance génétique continue pour détecter d'éventuelles variations ou divergences au sein des populations de parasites.

Enterobius vermicularis est l'un des helminthes parasites les plus courants chez l'homme. On estime à 200 millions de personnes infectées par ce pathogène dans le monde.

Notre enquête prospective menée au niveau de trois régions différentes de la wilaya de Tizi-Ouzou (Ain el hammam, Draa ben khedda et Tizi-Ouzou ville), avait pour but d'étudier la prévalence de l'oxyurose chez les enfants de la wilaya afin de faire une caractérisation morphologique et moléculaire des œufs d'*Enterobius vermicularis*.

Les résultats obtenus au cours de ce travail, ont révélés une prévalence de la maladie qui était de 30%. La tranche d'âge la plus touché est celle des entre 6 et 10 ans avec un taux de 38.88%. En ce qui concerne le sexe, les garçons sont plus touchés par la maladie avec une prévalence de 69.04% ce qui explique les différentes pratiques d'hygiène entre les garçons et les filles. Il ressort également de nos observations que le nombre des cas positif ce trouve beaucoup plus dans les établissements scolaires de la région. A l'issue de notre travail de recherche, les résultats obtenus montrent que l'oxyure touche beaucoup plus les enfants scolarisés à cause de manque d'hygiène. Les résultats de traitement antiparasitaire expliquent que aucun traitement n'est efficace s'il n'est pas suivi avec des mesures d'hygiène spécifique et les conditions de la prise des médicaments.

L'analyse des paramètres morphologiques des œufs d'oxyures par l'étude macroscopique du scotch test anal a permis d'observer plusieurs vers adultes mâles et femelles. L'étude des scotchs test anal nous a montré aussi plusieurs critères de classification des œufs selon leurs caractéristiques morphologique, à savoir la taille, la forme de la coque, et la nature de l'embryon. Nos résultats ont révélé que la plupart des œufs d'oxyure mesure entre 50 à 60 mm de longueur et on a trouvé aussi des œufs mesure moins de 50 mm ou un peu plus de 60 mm. Ce caractère crucial aide à identifier facilement la présence d'*Enterobius vermicularis* dans le scotch test. De plus, la coque de l'oxyure diffère d'un œuf à un autre. Trois types ont été trouvé dans les scotchs test coque lisse, épaisse et rugueuse qui présente sur leur surface des granules. Les trois coques assurent une protection durable aux œufs et même si dans des conditions défavorables.

Dans nos résultats les embryons des œufs en survie pendant plusieurs jours 22 scotch test anal aplati avaient à l'intérieur des embryon mobiles ce qui explique la résistance des œufs dans les conditions climatiques. Par ailleurs, Une autre identification des œufs d'oxyure repose sur la nature de l'embryon qui se trouve sur le scotch anal analyser L'œuf devient dès la ponte ce qui explique que les œufs qui se trouve sur les marges anales sont infestant ils sont au dernier

stade de développement qui est la maturation des embryons alors que les œufs qui se trouvent encore à l'intérieur des adultes femelles possèdent des œufs en forme de masse l'embryon est en développement.

Dans nos résultats des caractères moléculaires des œufs d'oxyures notamment les différentes techniques d'extraction d'ADN des œufs, nous avons constaté que l'ADN des œufs est difficile à extraire puisque le dosage quantitatif est faible alors que le gel de qualité est une technique efficace pour connaître le dosage qualitatif de l'ADN des oxyures. Une analyse *in silico* des séquences mitochondriales de CO1 d'*Enterobius vermicularis*, a montré une faible variabilité génétique, ce qui suggère une population relativement homogène au niveau génétique.

Ce travail devra être complété par une analyse des séquences mitochondriales de nos échantillons après séquençage des produits PCR pour établir une corrélation avec les différents caractères étudiés.

Bibliographie

Liste des références Bibliographiques

- 1- **Akrour ,m,et sahnoun,F.(2019).**étude de l'oxyurose au milieu hospitalier et essais d'huiles essentielles(sur lapins infectés) en prévision de leur usage comme thérapie alternative.unniversité de saad dahleb,blida
- 2- **Anofel., (2007).**Parasitoses Et Mycoses Des Régions Tempérés Et Tropicales. Ed. Elsevier Masson,Paris,321p.
- 3- **Anofel.,(2014).**Parasitologie Médicale. Généralité Définition. Umvf , Paris,16p.
- 4- **Aouar A., Zennia K ;(2015)** Les Oxyures Chez Les Enfants En Milieu Scolaire Dans Trois Localité De La Wilaya De Tizi-Ouzou.
- 5- **Arsenault E ;Maclen ; Et Alie .,(1986)** Centers For Disease Control And Prevention.Pinworm Infection Faqs 2019 .
- 6- **Auta ,T .(2015)** Prevalence Of Intestinal Parasites And Associated Risk Factors Among Primary School Children In Kaduna State ,Nigeria »African Journal Of Biomedical Research.18(3) :99-104.
- 7- **Bouree P ;(1987).**Oxyurose In Nozais J.P.Datry A ;Danis ;Méd.Traité De Parasitologie Médicale ,Paris.Pradel.Pp706-716.
- 8- **Bouree,P(1996).** Etude de L'oxyurose Au Milieu Scolaire Algérien 66-68.
- 9- **Caumes J ; Chevalier B, Clotze, F (2002).** Oxyures Et Oxyurose .Encycl.Méd.Chir.Maladies Infectieuses ;8-515-A-20,Pédiatrie ;4-350-A-10
- 10- **Chia, K ,Pasaikou ,S , Ramson ,K (2019).**Prevalence And Risk Factors Among Preschool Children In Kindergarten In The Capital Area,Republic Of The Marshall Islands.
- 11- **Chilton,(2004).**The Use Of Nuclear Ribosomal DNA Markers For The Identification Of Bursate Nematode And For The Diagnosis Of Infections .Animal Health Research Reviews.5(2),173-187
- 12- **Claude,(2003).** Parasitologie Et Mycologie Médicales-Elément De Morphologie Et De Biologie .
- 13- **Cook ;G C (1980).** Tropical Gastroenterology. Oxford : Oxford University Press,1980 :443-4
- 14- **Cook ;G C;(1989).** Canine-Associated Zoonoses :An Unacceptable Hazard To Human Health.Q Med 1989 ;70.
- 15- **Cook ; G.C ;(1994).** *Enterobius Vermicularis* Infection.35 :1159-1162.

Bibliographie

- 16- Cook ; G.C(1990). Parasitic Disease In Clinical Practice.London :Springer-Verlag ;1990 :114-6.
- 17- Deluol ;(2000). Atlas De Parasitologie.Varia .
- 18- Dengar ,M; (2019).Oxyure Infantile Dans Trois Régions De La Wilaya De
- 19- Tizi Ouzou.
- 20- Dezenyi,B Sarkozi,L ;Kaisser,L ;Tarkanyi, K,Belics, Z ,(2018).
Gynecological And Obsterical Aspects Of *Enterobius vermicularis* inection.Acta Microbiologia Et Immunologica Hungarica ,65(4),459-465.
- 21- Durant,F(2005).Parasitose:L'amibiase,Téniasis,Ascaridiose,Oxyure, Amibiase ,Hydatiose.Campus Médicale.
- 22- El Guameri,Y(2011).Bilan De Dix Ans Sur Les Parasitoses Intestinale Au Centre Hospitalier De Kénitra.Maroc :Mersenne :11(3)
- 23- Eleonora, D, Et Al ;(2024).Development And Application Of A Method For Genetic Detection Of *Enterobius vermicularis* In Samples Of Patients With Enterobiasis
- 24- Elnaz ,M, Houssani , M Salari, N ,Mahvan ,H ,(2023).Prevalence Of *Enterobius vermicularis* Among Children In Iran
- 25- Fellah ,Rahim,Haghi ; Fouladvard ,(2022). Investigation Of The Prevalence Of *Enterobius vermicularis* Infection And Risk Factors Among Kindergartents In Hamadan ,West Of Iran ,In 2019.Avvicenna J.Med .28(4)253-259.
- 26- Ganor.,(1987).In Whom Does Pinworm Infection Itch ;Int Dermatol1987 ;26 :667.
- 27- Goldenberg Et AL,(1990).The Endoscopic Diagnostic Of Colonic Enterobiasis ,Gastrointest Endosc 1990 ;36 :309-10.
- 28- Guillaume.,(2007).Parasitologie.Fiche Pratique ,Biologie Médicale Pratique. Ed.De Boeck,Bruxelles,183p.
- 29- Haghi, (2013) ; Rahim, 2013 ; Fouladvand ., 2018 ; Najafi ., 2020 ; Fellah .,(2022) .Prevalence Of *Enterobius vermicularis* Infection Amaong Kindergartents In Mazandaran Province .J.Mazand Univ.Med.Sci.23(Supple 1)241-247.
- 30- Hasegawa ,H ,Takao,Y , Nakao ,M , Fukuma ,T.,(1998). *Enterobius gregori* Hugot,1983(Nematoda :Oxyyridae) A Distinct Species ;J Parasitol.1998 Feb ;84(1) :131-4.
- 31- Herrstrom Et AL,(1997).. *Enterobius vermicularis* And Finger Sucking In Your Swedisch Children ;15 :146-148.

Bibliographie

- 32- Kang,S ;Sultana ,T ;Eom,K ;Park,Y ;Nadler ,S .A.,(2009).**The Mitochondrial Genome Sequence Of *Enterobius vermicularis* –An Idiosyncratic Gene Order And Phylogenetic Information For Chromadorean Nematodes.Gene ?42951-2),87-97
- 33- Khan , T ,Samantary Jc .,(2015).**A Comprehensive Review On *Enterobius vermicularis* Infection And Its Associated Pathology
- 34- Macpherson Dw ;(1999).**
- 35- Mayers Et Al.,(1970).**Human Behavior And The Epidemiology Of Parasitic Zoonoses
- 36- Mehlhorn ,H ;(2012).**Spektrum Akademischer Verlag.
- 37- Ndiane(2006).**Contribution A L’ Etude Des Parasitoses Intestinales A Un Institut De Pédiatrie Sociale De Pikine-Guediaawaye.Unniversité Cheikh Intadiap De Dekar.Ngbabo.,(2008).Révalence Des Parasitose Intestinale Au C.S.Boyoma/Kisangani ,Mémoire De Biologie Et De Medecine Unniversité De Kinshasa,Congo.
- 38- Nicolas ;(2001).**Traitement Des Parasitoses Intestinales (Amibiases Et Mycoses Exclues).Encyclmedchir (Elsiver,Paris).
- 39- Parija Sc Et Al ;(2001).**Evaluation Of Lactophenol Cotton Blues Tain For Detection Of Eggs Og *Enterobius vermicularis* In Perianal Surface Samples.Trop.Doct.31 :214-215.
- 40- Rawla P , Sharma (2024).***Enterobius vermicularis* .Treasure Island
- 41- Royer A Et Buttled ;Duce1.,(1962).**Human Gastrointestinal Nematode Infections : Are New Control Methods Required ?Int J Exp Pathol.87(5) :325r341p
- 42- Saidi ,M ; Et Berraoui ,T ;(2017).** Les Oxyuroses Chez Les Enfants En Milieu Scolaire Dans La Wilaya De Tizi-Ouzou.
- 43- Sofia ;(2016).**Clinical Parasitology And Tropical Medecine Ed :Petrov P.Kurduva R .Pub .East –West .2016.P.266(In Bulgarian)
- 44- Stambouli A Et Akriche Z ; (2023).**Oxyurose Infantile Dans La Région De Tizi-Ouzou
- 45- Toma,L Et Al ; (2008).** L’oxyure , Ou L’infestation Par *Enterobius vermicularis* .La Revue De Praticien ,58(6)623-626.
- 46- Tomanakan ,K ;Sanapol,O Chamavit,Pl.,(2020).** Genetic Variation Of *Enterobius vermicularis* Among School Children In Thailand. Journal Of Helminthology,94(2006),1-5.

Bibliographie

- 47- Tsai Cy,Junord R ,Ziadi,C;(2018).***Enterobius vermicularis* Infection :Prevalence And Risk Factors Among Preschool Children In Kindegraten In The Capital Area ,Republic Of The Marshall Islands.Bmc Infectious Diseases,18(1)480.
- 48- Viviane ;(2007).**Parasitologie :Auto Evaluation Manipulation .Ed De Boeck.P75-128.
- 49- Warren Ks ;(1984).**Tropical And Geographical Medecine.
- 50- Zanato,M ;Cavagnolli Ni Preda ,JC ;brotoliniGV E ;(2018)**prevalenceof intestinal parasites and socioeconomic evaluation of a country town in the serra Gaucha region,Brazil.Rev Patol Trop.2018 ;47(1) :19-30.

Anexe

Annexe 1 : Effectifs globale d'enfants examinés et parasités dans la wilaya de Tizi-Ouzou

Tranche d'âge	Enfants examinés	Enfants parasités	Fréquence
1 à 5 ans	52	07	13.46%
6 à 10 ans	72	28	38.88%
11 à 15 ans	16	07	43.75%

Annexe 2 : nombre des patients qui sont sous traitement mais qui présente toujours les signes de la maladie.

	Le résultat
Les patients sous traitement et présente la maladie	19
Les patients non traité par le médicament et présente la maladie	23

Annexe 3 : les différenets types de coque observé sous microscope

Etat de surface de la coque	Nombre d'échantillon
Lisse, mince	34
Épaisse	3
Irrégulière	5

Anexe

Annexe 4 : le nombre des œufs d'oxyure sur les 42 scotch test anal positif

Les scotchs test	Le nombre des œufs
1-7	3-5 œufs par lame
7-10	45-50 œufs par lame
10-20	70-120 œufs par lame
20-27	Jusqu'à 500 œufs par lame
27-42	Plus de 1000 œufs par lame

Questionnaire sur les Oxyures pour les Patients

Informations Personnelles

1. Nom :

2. Âge :

3. Sexe :

Poid :

Taille :

4. Avez-vous déjà été diagnostiqué(e) avec une infestation par les oxyures dans le passé ?

- Oui
- Non

5. Avez-vous des antécédents de troubles gastro-intestinaux ou d'autres conditions médicales ?

- Oui
- Non
- Si oui, veuillez préciser :

6. Avez-vous récemment ressenti des démangeaisons anales, en particulier la nuit ?

- Oui
- Non

7. Avez-vous remarqué des changements dans vos habitudes de sommeil ou d'appétit récemment ?

- Oui
- Non

8. Avez-vous ressenti des douleurs abdominales ou d'autres inconforts gastro-intestinaux récemment ?

- Oui
- Non

9. À quelle fréquence vous lavez-vous les mains ?

- Rarement
- Quelques fois par jour
- Avant chaque repas et après être allé(e) aux toilettes

10. Avez-vous des enfants ou des membres de la famille vivant avec vous qui ont récemment été diagnostiqués avec des oxyures ?

- Oui
- Non

11. Suivez-vous des pratiques d'hygiène particulièrement rigoureuses à la maison ?

- Oui
- Non

12.À quelle fréquence vous lavez-vous les mains ?

- Rarement
- Quelques fois par jour
- Avant chaque repas et après être allé(e) aux toilettes
- Plusieurs fois par jour, y compris après avoir touché des surfaces potentiellement contaminées

13.Quelle méthode utilisez-vous pour vous laver les mains ?

- Eau et savon
- Désinfectant pour les mains à base d'alcool
- Je ne me lave pas régulièrement les mains

14.Comment coupez-vous vos ongles ?

- Régulièrement avec un coupe-ongles
- Occasionnellement avec des ciseaux
- Je ne coupe pas régulièrement mes ongles

15.Quelle est votre habitude après être allé(e) aux toilettes ?

- Utiliser du papier hygiénique uniquement
- Utiliser du papier hygiénique suivi d'un lavage des mains

16.Avez-vous des habitudes de grattage de la zone anale ?

- Oui
- Non

17.À quelle fréquence changez-vous vos draps ?

- Une fois par semaine
- Plusieurs fois par semaine
- Tous les jours

18.Lavez-vous vos sous-vêtements à une température élevée ?

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

19.Utilisez-vous des désinfectants ou des produits spécifiques pour laver votre literie et vos vêtements ?

- Oui
- Non

RESUME

Les infections par oxyure, principalement causées par *Enterobius vermicularis*, constituent un problème de santé publique significatif à travers le monde .En Algérie, et spécifiquement dans la région de Tizi-Ouzou, peu d'études ont été menées sur la caractérisation détaillée de ces parasites au niveau morphologique et génétique. La variabilité morphologique et génétique des œufs d'oxyure est essentielle pour améliorer les stratégies de diagnostic, de traitement.

L'utilisation des scotchs testes anal permet une collecte précise de 140 échantillons et l'analyse détaillée des caractères morphologiques et moléculaire est basé sur 42 scotch positif.

Mot clés : *Enterobius vermicularis*, oxyure, caractérisation morphologique, caractérisation moléculaire, scotch test anal .

SUMMARY

Pinworm infections, mainly caused by *Enterobius vermicularis* , constitute a significant public health problem throughout the world. In Algeria, and specifically in the Tizi-Ouzou region, few studies have been carried out on the detailed characterization of these parasites. At the morphological and genetic level. The morphological and genetic variability of pinworm eggs is essential to improve diagnostic and treatment strategies.

The use of anal tape tests allows precise collection of 140 samples and the detailed analysis of morphological and molecular characters is based on 42 positive tapes.

Keywords: *Enterobius vermicularis*, pinworm, morphological characterization, molecular characterization, anal tape test.