



HAL
open science

Évaluation de la PCR multiplex NovoDiag Stool parasite dans le diagnostic des parasitoses intestinales chez l'homme

Marceau Tanguy

► **To cite this version:**

Marceau Tanguy. Évaluation de la PCR multiplex NovoDiag Stool parasite dans le diagnostic des parasitoses intestinales chez l'homme. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03403776

HAL Id: dumas-03403776

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03403776>

Submitted on 26 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Faculté des sciences
médicales et paramédicales**
Aix-Marseille Université

**Evaluation de la PCR multiplex NovoDiag Stool parasite dans le diagnostic
des parasitoses intestinales chez l'homme**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

**LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES
DE MARSEILLE**

Le 5 Octobre 2021

Par Monsieur Marceau TANGUY

Né le 23 décembre 1993 à Lyon 03^{ème} (69)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur FOURNIER Pierre-Edouard

Président

Madame le Docteur LOLLIVIER Coralie

Assesseur

Madame le Docteur MENU Estelle

Assesseur



**Faculté des sciences
médicales et paramédicales**

Aix***Marseille** Université

**Evaluation de la PCR multiplex NovoDiag Stool parasite dans le diagnostic
des parasitoses intestinales chez l'homme**

T H È S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES ET PARAMÉDICALES

DE MARSEILLE

Le 5 Octobre 2021

Par Monsieur Marceau TANGUY

Né le 23 décembre 1993 à Lyon 03^{ème} (69)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de BIOLOGIE MÉDICALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur FOURNIER Pierre-Edouard

Président

Madame le Docteur LOLLIVIER Coralie

Assesseur

Madame le Docteur MENU Estelle

Assesseur



FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	:	Pr. Georges LEONETTI
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI
Assesseurs :		
➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur	:	Pr. Jean-Michel VITON
------------------	---	------------------------------

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON



ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1^{er} cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2^{ème} cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1^{er} cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2^{ème} cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DEVRED Philippe
	ALDIGHERI René		DJIANE Pierre
	ALESSANDRINI Pierre		DONNET Vincent
	ALLIEZ Bernard		DUCASSOU Jacques
	AQUARON Robert		DUFOUR Michel
	ARGEME Maxime		DUMON Henri
	ASSADOURIAN Robert		ENJALBERT Alain
	AUFFRAY Jean-Pierre		FAUGERE Gérard
	AUTILLO-TOUATI Amapola		FAVRE Roger
	AZORIN Jean-Michel		FIECHI Marius
	BAILLE Yves		FARNARIER Georges
	BARDOT Jacques		FIGARELLA Jacques
	BARDOT André		FONTES Michel
	BERARD Pierre		FRANCES Yves
	BERGOIN Maurice		FRANCOIS Georges
	BERLAND Yvon		FUENTES Pierre
	BERNARD Dominique		GABRIEL Bernard
	BERNARD Jean-Louis		GALINIER Louis
	BERNARD Jean-Paul		GALLAIS Hervé
	BERNARD Pierre-Marie		GAMERRE Marc
	BERTRAND Edmond		GARCIN Michel
	BISSET Jean-Pierre		GARNIER Jean-Marc
	BLANC Bernard		GAUTHIER André
	BLANC Jean-Louis		GERARD Raymond
	BOLLINI Gérard		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BONGRAND Pierre		GIUDICELLI Sébastien
	BONNEAU Henri		GOUDARD Alain
	BONNOIT Jean		GOUIN François
	BORY Michel		GRILLO Jean-Marie
	BOTTA Alain		GRIMAUD Jean-Charles
	BOTTA-FRIDLUND Danielle		GRISOLI François
	BOURGADE Augustin		GROULIER Pierre
	BOUVENOT Gilles		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BOUYALA Jean-Marie		HASSOUN Jacques
	BREMOND Georges		HEIM Marc
	BRICOT René		HOUEL Jean
	BRUNET Christian		HUGUET Jean-François
	BUREAU Henri		JAQUET Philippe
	CAMBOULIVES Jean		JAMMES Yves
	CANNONI Maurice		JOUBE Paulette
	CARTOUZOU Guy		JUHAN Claude
	CAU Pierre		JUIN Pierre
	CHABOT Jean-Michel		KAPHAN Gérard
	CHAMLIAN Albert		KASBARIAN Michel
	CHARPIN Denis		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CHARREL Michel		LACHARD Jean

CHAUVEL Patrick
CHOUX Maurice
CIANFARANI François
CLAVERIE Jean-Michel
CLEMENT Robert
COMBALBERT André
CONTE-DEVOLX Bernard
CORRIOL Jacques
COULANGE Christian
CURVALE Georges
DALMAS Henri
DE MICO Philippe
DELPERO Jean-Robert
DESSEIN Alain
DELARQUE Alain
DEVIN Robert

MM MICHOTEY Georges
MIRANDA François
MONFORT Gérard
MONGES André
MONGIN Maurice
MUNDLER Olivier
NAZARIAN Serge
NICOLI René
NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert

LAFFARGUE Pierre
LAUGIER René
LE TREUT Yves
LEVY Samuel
LOUCHET Edmond
LOUIS René
LUCIANI Jean-Marie
MAGALON Guy
MAGNAN Jacques
MALLAN- MANCINI Josette
MALMEJAC Claude
MARANINCHI Dominique
MARTIN Claude
MATTEI Jean François
MERCIER Claude
METGE Paul

VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAMBUC Roland
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SARLES Jacques
SARLES - PHILIP Nicole
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SEITZ Jean-François
SERMENT Gérard
SOULAYROL René
STAHL André
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THIRION Xavier
THOMASSIN Jean-Marc
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène

EMERITAT

2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020

M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021

Honoris causa

1967	
MM. les Professeurs	DADI (Italie) CID DOS SANTOS (Portugal)
1974	
MM. les Professeurs	MAC ILWAIN (Grande-Bretagne) T.A. LAMBO (Suisse)
1975	
MM. les Professeurs	O. SWENSON (U.S.A.) Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)
1976	
MM. les Professeurs	P. FRANCHIMONT (Belgique) Z.J. BOWERS (U.S.A.)
1977	
MM. les Professeurs	C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.) C.GIBBS (U.S.A.) J. DACIE (Grande-Bretagne)
1978	
M. le Président	F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)
1980	
MM. les Professeurs	A. MARGULIS (U.S.A.) R.D. ADAMS (U.S.A.)
1981	
MM. les Professeurs	H. RAPPAPORT (U.S.A.) M. SCHOU (Danemark) M. AMENT (U.S.A.) Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne) S. REFSUM (Norvège)
1982	
M. le Professeur	W.H. HENDREN (U.S.A.)
1985	
MM. les Professeurs	S. MASSRY (U.S.A.) KLINSMANN (R.D.A.)
1986	
MM. les Professeurs	E. MIHICH (U.S.A.) T. MUNSAT (U.S.A.) LIANA BOLIS (Suisse) L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987	
M. le Professeur	P.J. DYCK (U.S.A.)
1988	
MM. les Professeurs	R. BERGUER (U.S.A.) W.K. ENGEL (U.S.A.) V. ASKANAS (U.S.A.) J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.) A. DAVIGNON (Canada) A. BETTARELLO (Brésil)
1989	
M. le Professeur	P. MUSTACCHI (U.S.A.)
1990	
MM. les Professeurs	J.G. MC LEOD (Australie) J. PORTER (U.S.A.)
1991	
MM. les Professeurs	J. Edward MC DADE (U.S.A.) W. BURGDORFER (U.S.A.)
1992	
MM. les Professeurs	H.G. SCHWARZACHER (Autriche) D. CARSON (U.S.A.) T. YAMAMURO (Japon)
1994	
MM. les Professeurs	G. KARPATI (Canada) W.J. KOLFF (U.S.A.)
1995	
MM. les Professeurs	D. WALKER (U.S.A.) M. MULLER (Suisse) V. BONOMINI (Italie)
1997	
MM. les Professeurs	C. DINARELLO (U.S.A.) D. STULBERG (U.S.A.) A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne) P.I. BRANEMARK (Suède)
1998	
MM. les Professeurs	O. JARDETSKY (U.S.A.)
1999	
MM. les Professeurs	J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)

D. COLLEN (Belgique)
S. DIMAURO (U. S. A.)

2000

MM. les Professeurs

D. SPIEGEL (U. S. A.)
C. R. CONTI (U.S.A.)

2001

MM. les Professeurs

P-B. BENNET (U. S. A.)
G. HUGUES (Grande Bretagne)
J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)

2002

MM. les Professeurs

M. ABEDI (Canada)
K. DAI (Chine)

2003

M. le Professeur
Sir

T. MARRIE (Canada)
G.K. RADDI (Grande Bretagne)

2004

M. le Professeur

M. DAKE (U.S.A.)

2005

M. le Professeur

L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)

2006

M. le Professeur

A. R. CASTANEDA (U.S.A.)

2007

M. le Professeur

S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille	GUIEU Régis
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric	GUIS Sandrine
ALIMI Yves	COSTELLO Régis	GUYE Maxime
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine	GUYOT Laurent
AMBROSI Pierre	COWEN Didier	<i>GUYYS Jean-Michel Surnombre</i>
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic	HABIB Gilbert
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas	HARDWIGSEN Jean
ASTOUL Philippe	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
ATTARIAN Shahram	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	HOUVENAEGHEL Gilles
AUDOUIN Bertrand	DANIEL Laurent	JACQUIER Alexis
AUQUIER Pascal	DARMON Patrice	JOURDE-CHICHE Noémie
AVIERINOS Jean-François	DAVID Thierry	JOUVE Jean-Luc KAPLANSKI Gilles
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude	KARSENTY Gilles
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier	<i>KERBAUL François détachement</i>
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude	KRAHN Martin
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	LAFFORGUE Pierre
BARLOGIS Vincent	DENIS Danièle	LAGIER Jean-Christophe
BARTHET Marc	DISDIER Patrick	LAMBAUDIE Eric
BARTOLI Christophe	DODDOLI Christophe	LANCON Christophe
BARTOLI Jean-Michel	DRANCOURT Michel	LA SCOLA Bernard LAUNAY Franck
BARTOLI Michel	DUBUS Jean-Christophe	LAVIEILLE Jean-Pierre
BARTOLOMEI Fabrice	DUFFAUD Florence	LE CORROLLER Thomas
BASTIDE Cyrille	DUFOUR Henry	LECHEVALLIER Eric
BENSOUSSAN Laurent	DURAND Jean-Marc	LEGRE Régis
BERBIS Philippe	DUSSOL Bertrand	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BERBIS Julie	EBBO Mikaël	LEONE Marc
BERDAH Stéphane	EUSEBIO Alexandre	LEONETTI Georges
BEROUD Christophe	FABRE Alexandre	LEPIDI Hubert
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas	LEVY Nicolas
BLAISE Didier	FELICIAN Olivier	MACE Loïc MAGNAN Pierre-Edouard
BLIN Olivier	FENOLLAR Florence	MANCINI Julien
BLONDEL Benjamin	FIGARELLA/BRANGER Dominique	MEGE Jean-Louis
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FLECHER Xavier	MERROT Thierry
BONELLO Laurent	FOUILLOUX Virginie	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard	MEYER/DUTOUR Anne
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric	MICCALEF/ROLL Joëlle
BOUFI Mourad	FUENTES Stéphane	MICHEL Fabrice
BOYER Laurent	GABERT Jean	MICHEL Gérard
BREGEON Fabienne	GABORIT Bénédicte	MICHEL Justin
BRETELLE Florence	GAINNIER Marc	MICHELET Pierre
BROUQUI Philippe	GARCIA Stéphane	MILH Mathieu
BRUDER Nicolas	GARIBOLDI Vlad	MILLION Matthieu
BRUE Thierry	GAUDART Jean	MOAL Valérie
BRUNET Philippe	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MORANGE Pierre-Emmanuel
BURTEY Stéphane	GENTILE Stéphanie	MOULIN Guy MOUTARDIER Vincent
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GERBEAUX Patrick	NAUDIN Jean
CASANOVA Dominique	GEROLAMI/SANTANDREA René	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CASTINETTI Frédéric	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	NICOLLAS Richard NGUYEN Karine
CECCALDI Mathieu	GIORGI Roch	OLIVE Daniel
CHAGNAUD Christophe	GIOVANNI Antoine	OLLIVIER Matthieu
CHAMBOST Hervé	GIRARD Nadine	OUAFIK L'Houcine
CHAMPSAUR Pierre	GIRAUD/CHABROL Brigitte	OVAERT-REGGIO Caroline
CHANEZ Pascal	GONCALVES Anthony	PADOVANI Laetitia
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANEL/REY Brigitte	
CHARREL Rémi	GRANVAL Philippe	
CHAUMOITRE Kathia	GREILLIER Laurent	
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques	
CHINOT Olivier	GUEDJ Eric	

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCHE Pierre-Hugues	TURRINI Olivier
<i>PANUEL Michel Surnombre</i>	ROCH Antoine	VALERO René
PAPAZIAN Laurent	ROCHWERGER Richard	VAROQUAUX Arthur Damien
PAROLA Philippe	ROLL Patrice	VELLY Lionel
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Dominique	VEY Norbert
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROSSI Pascal	VIDAL Vincent
PELLETIER Jean	ROUDIER Jean	VIENS Patrice
PERRIN Jeanne	SALAS Sébastien	VILLANI Patrick
PETIT Philippe	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VITON Jean-Michel
PHAM Thao	SCAVARDA Didier	VITTON Véronique
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCHLEINITZ Nicolas	<i>VIEHWEGER Heide Elke détachement</i>
PIQUET Philippe	SEBAG Frédéric	VIVIER Eric
PIRRO Nicolas	SIELEZNEFF Igor	XERRI Luc
POINSO François	SIMON Nicolas	
RACCAH Denis	STEIN Andréas	
RANQUE Stéphane	TAIEB David	
<i>RAOULT Didier Surnombre</i>	THOMAS Pascal	
REGIS Jean	THUNY Franck	
REYNAUD/GAUBERT Martine	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	
REYNAUD Rachel	TRIGLIA Jean-Michel	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	TROPIANO Patrick	
RICHERI Raphaëlle	TSIMARATOS Michel	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal retraite mars 2021
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI-TEMPS

REVIS Joana

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE

GUIDA Pierre

AHERFI Sarah	ELDIN Carole	PAULMYER/LACROIX Odile
ANGELAKIS Emmanouil (<i>disponibilité</i>)	FAURE Alice	PESENTI Sébastien
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	FOLETTI Jean- Marc	RADULESCO Thomas
BEGE Thierry	FRANKEL Diane	RESSEGUIER Noémie
BELIARD Sophie	FROMNOT Julien	ROBERT Philippe
BENYAMINE Audrey	GASTALDI Marguerite	ROBERT Thomas
BERTRAND Baptiste	GELSI/BOYER Véronique	ROMANET Pauline
BEYER-BERJOT Laura	GIUSIANO Bernard	SABATIER Renaud
BIRNBAUM David	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BONINI Francesca	GONZALEZ Jean-Michel	SAVEANU Alexandru
BOUCRAUT Joseph	GOURIET Frédérique	<i>SECQ Véronique (disponibilité)</i>
BOULAMERY Audrey	GRAILLON Thomas	STELLMANN Jan-Patrick
BOULLU/CIOCCA Sandrine	GUERIN Carole	SUCHON Pierre
BOUSSEN Salah Michel	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	TABOURET Emeline
BUFFAT Christophe	GUIDON Catherine	TOGA Caroline
CAMILLERI Serge	GUIVARCH Jokthan	TOGA Isabelle
CARRON Romain	HAUTIER/KRAHN Aurélie	TOMASINI Pascale
CASSAGNE Carole	HRAIECH Sami	TOSELLO Barthélémy
CERMOLACCE Michel	KASPI-PEZZOLI Elise	TROUSSE Delphine
CHAUDET Hervé	L'OLLIVIER Coralie	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CHRETIEN Anne-Sophie	LABIT-BOUVIER Corinne	VELY Frédéric
COZE Carole	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	VION-DURY Jean
CUNY Thomas	LAGARDE Stanislas	ZATTARA/CANNONI Hélène
<i>DADOUN Frédéric (disponibilité)</i>	<i>LAGIER Aude (disponibilité)</i>	
DALES Jean-Philippe	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DARIEL Anne	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DAUMAS Aurélie	LOOSVELD Marie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle	MAAROUF Adil	
DELLIAUX Stéphane	MACAGNO Nicolas	
DESPLAT/JEGO Sophie	MAUES DE PAULA André	
DEVILLIER Raynier	MEGE Diane	
DUBOURG Grégory	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUCONSEIL Pauline	NINOVE Laetitia	
DUFOUR Jean-Charles	NOUGAIREDE Antoine	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DESNUES Benoît	RUEL Jérôme
BARBACARU/PERLES T. A.	MARANINCHI Marie	THOLLON Lionel
BERLAND Caroline	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THIRION Sylvie
BOYER Sylvie	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte	VERNA Emeline
COLSON Sébastien	POGGI Marjorie	
DEGIOANNI/SALLE Anna	POUGET Benoît	

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
 CALVET-MONTREDON Céline
 FORTE Jenny
 JANCZEWSKI Aurélie
 NUSSLI Nicolas
 ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle
 THERY Didier

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline

EVANS-VIALLAT Catherine

LAZZAROTTO Sébastien

LUCAS Guillaume

MATHIEU Marion

MAYENS-RODRIGUES Sandrine

MELLINAS Marie

ROMAN Christophe

TRINQUET Laure

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants**

ANATOMIE 4201

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH) *disponibilité*

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;
MEDECINE URGENCE 4801**

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)
DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
POUGET Benoît (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)
RAOULT Didier (PU-PH) *Surnombre*

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

ANGLAIS 11

BRANDENBURGER Chantal (PRCE) *retraite mars 2021*
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)
FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE 4301

GUEDJ Eric (PU-PH)
 GUYE Maxime (PU-PH)
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE
ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION 4604**

GAUDART Jean (PU-PH)
 GIORGI Roch (PU-PH)
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
 GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
 OLLIVIER Matthieu (PU-PH)
 PARRATTE Sébastien (PU-PH) *Disponibilité*
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

CANCEROLOGIE : RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 COWEN Didier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 PADOVANI Laetitia (PH-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

CARDIOLOGIE 5102

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
 BONELLO Laurent (PU PH)
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)
 CUISSET Thomas (PU-PH)
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
 HABIB Gilbert (PU-PH)
 PAGANELLI Franck (PU-PH)
 THUNY Franck (PU-PH)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
 SEBAG Frédéric (PU-PH)
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
 BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)
 BIRNBAUM David (MCU-PH)
 DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)
 GUERIN Carole (MCU PH)
 MEGE Diane (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

GUYS Jean-Michel (PU-PH) Surnombre
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
VIHWEGER Heide Elke (PU-PH) détachement
 DARIEL Anne (MCU-PH)
 FAURE Alice (MCU PH)
 PESENTI Sébastien (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)
 FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
 D'JOURNO Xavier (PU-PH)
 DODDOLI Christophe (PU-PH)
 FOUILLOUX Virginie (PU-PH)
 GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
 MACE Loïc (PU-PH)
 THOMAS Pascal (PU-PH)
 TROUSSE Delphine (MCU-PH)

CHIRURGIE PLASTIQUE,**RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

CASANOVA Dominique (PU-PH)
 LEGRE Régis (PU-PH)
 BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
 HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
 AMABILE Philippe (PU-PH)
 BARTOLI Michel (PU-PH)
 BOUFI Mourad (PU-PH)
 MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
 PIQUET Philippe (PU-PH)
 SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
 DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
 GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
 GRANDVAL Philippe (PU-PH)
 VITTON Véronique (PU-PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)
 PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
 DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
 GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
 GROB Jean-Jacques (PU-PH)
 RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
 KRAHN Martin (PU-PH)
 LEVY Nicolas (PU-PH)
 NGYUEN Karine (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

TOGA Caroline (MCU-PH)
 ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)
 EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)
 LUCAS Guillaume (MAST)
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
 MELLINAS Marie (MAST)
 ROMAN Christophe (MAST)
 TRINQUET Laure (MAST)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
 BOUBLI Léon (PU-PH) Surnombre
 BRETELLE Florence (PU-PH)
 CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
 COURBIERE Blandine (PU-PH)
 CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
 D'ERCOLE Claude (PU-PH)

ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5404

BRUE Thierry (PU-PH)
 CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
 CUNY Thomas (MCU PH)

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION 4601

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BERBIS Julie (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)

HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION 4701

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
 GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 LOOSVELD Marie (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/MITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 MILLION Matthieu (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

KERBAUL François (PU-PH) détachement
 MICHELET Pierre (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 DURAND Jean-Marc (PU-PH)
 EBBO Mikael (PU-PH)
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 HARLE Jean-Robert (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

MEDECINE GENERALE 5303

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps) retraite au 25/09/2020 (MOAL Valérie (PU-PH)

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)

FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) DUFOUR Henry (PU-PH)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/11/2020) FUENTES Stéphane (PU-PH)

NUTRITION 4404

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

OPHTALMOLOGIE 5502

DAVID Thierry (PU-PH)

DENIS Danièle (PU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (PAST) (Orthophonie) (7ème Section)

NEPHROLOGIE 5203

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanne (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

GRAILLON Thomas (MCU PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)
L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
TOGA Isabelle (MCU-PH)**PHILOSOPHIE 17**

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401ANDRE Nicolas (PU-PH)
BARLOGIS Vincent (PU-PH)
CHAMBOST Hervé (PU-PH)
DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)
FABRE Alexandre (PU-PH)
GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)
MICHEL Gérard (PU-PH)
MILH Mathieu (PU-PH)
OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)
REYNAUD Rachel (PU-PH)
TSIMARATOS Michel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)
BREGEON Fabienne (PU-PH)
GABORIT Bénédicte (PU-PH)
MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)
TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)BONINI Francesca (MCU-PH)
BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)
DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)
DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)
LAGARDE Stanislas (MCU-PH)RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)
THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)**PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903**BAILLY Daniel (PU-PH)
LANCON Christophe (PU-PH)
NAUDIN Jean (PU-PH)
RICHERI Raphaëlle (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101ASTOUL Philippe (PU-PH)
BARLESI Fabrice (PU-PH)
CHANEZ Pascal (PU-PH)GREILLIER Laurent (PU PH)
REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)**PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16**

AGHABABIAN Valérie (PR)

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)
CHAGNAUD Christophe (PU-PH)
CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)
GIRARD Nadine (PU-PH)
JACQUIER Alexis (PU-PH)
MOULIN Guy (PU-PH)
PANUEL Michel (PU-PH) surnombre
PETIT Philippe (PU-PH)
VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)
VIDAL Vincent (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

RHUMATOLOGIE 5001GUIS Sandrine (PU-PH)
LAFFORGUE Pierre (PU-PH)
PHAM Thao (PU-PH)
ROUDIER Jean (PU-PH)**THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804**AMBROSI Pierre (PU-PH)
VILLANI Patrick (PU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802GAINNIER Marc (PU-PH)
GERBEAUX Patrick (PU-PH)
PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
ROCH Antoine (PU-PH)

HRAIECH Sami (MCU-PH)

UROLOGIE 5204BASTIDE Cyrille (PU-PH)
KARSENTY Gilles (PU-PH)
LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
ROSSI Dominique (PU-PH)

Remerciements

A mon Président du jury,

Monsieur le **Professeur FOURNIER Pierre-Edouard**,

Je vous remercie d'avoir accepté la présidence de cette thèse et d'avoir accepté de juger mon travail. Soyez assuré de toute ma reconnaissance et de tout mon respect.

Aux membres du jury,

A ma directrice de thèse, **Madame le Docteur L'OLLIVIER Coralie**,

Merci énormément d'avoir encadré ma thèse avec la manière dont tu l'as fait, en étant très impliquée, disponible, réactive et toujours souriante. C'est un réel plaisir que j'ai eu de passer un semestre (bientôt un deuxième) dans ton service.

Madame le Docteur MENU Estelle,

Je suis fier de te compter parmi les membres de mon jury, après t'avoir côtoyé depuis le début de mon internat jusqu'à cette thèse. Ton dynamisme et ta dévotion dans ce que tu entreprends sont une réelle source d'inspiration, tout comme ta gentillesse et ta bienveillance.

Merci aux techniciennes de parasitologie (Carine, Virginie, Agnès) pour avoir été disponible pour répondre à mes questions et pour m'avoir extrait l'ADN dont j'avais besoin pour mes manip.

Merci aux FILS, toujours 5% ya pas de 210 ici.
Merci à ceux qui ont brûlé le phéno en regardant le détroit des botchs.
El 100cho, Igo Rascar capac qui m'attak, pour les internes dans 10 ans ça sera nous le jury de thèse
Bodeg, PUTAIN MARC, la maleta,
Paupette, qui a fait du henné, ayaaa les photos
Mamene qui est prêt à devenir père de famille sens ma barbe
Jamy et ses plateaux, Mamie et son Caluza et Lolorenzo
Samuel, Wech alors ma race tranannique ou quoi ouvre les yeux
Swalalala souali, SaraNakamura et tous les autres ils se reconnaîtront
Fleu fleur et Marie Marie Carles la phare ma co spok menu le jeudi best repas
Boskkkkiiiiiii qui a fait la petite frange et qui a aliquote
JJ on se fait un latino poker ?
Antho pour les Périers citron
Marie Chantal, misoutch pour le citron, confit et mariné et manau la mizz makina
Lise Beth, merci pour le 08
Bantchiii le S qui a réussi à se remettre de son covid long
Only DoD Can judge u, mais je sais que c'est toi qui a jeté les kiwis qui font peur à la médecine
Lucie qui a amené l'E tentacule, qui s'est caché puis multiplié par 3
A Coline comme un mortier, et mortier comme une Coline
Yassina ya des BAAR en valid
Merci Grand pour le couteau qui coupe
Inès me hante pas
Merci à ceux qui m'ont aidé pour le tableau !
Lelu merci pour les séquences, je sais que je suis ton interne préféré devant Alizée
Et puis en pratique, si j'étais moi, c'est pas clair pour moi, faut regarder ça, faut être curieux, a tous les internes que j'ai côtoyé à l'IHU et dans les autres services, vous êtes
Merci aux internes qui ont déjà fait des remerciements de thèse du coup j'ai juste pu faire ctrl C + ctrl V et changer le nom
Qint > Qurip > Qstbp > Qgc19 > Qclop > Qgrvp > Qpnor > Qrop > Qttet > Qfre2 > Qfmep > Qpgas > Qstap > Qlamp neg > Qsaup et Qpnep (Qlba > Qabr) > Qbkp > Qmni > Qdenp Qlamp pos > Pocrame V2
Merci à Raid Shadow Legend pour Start Now for free, télécharger le jeu en cliquant sur le lien dans la bio
Merci aux remerciements
Allonger les remerciements pour faire gonfler les chiffres 200 IQ strat.

Table des matières

Liste des Figures	2
Liste des Tableaux	3
Listes des Annexes	4
Liste des Abréviations	5
INTRODUCTION	6
PARTIE 1 : Généralités	9
I. Modes de transmission des parasites intestinaux : généralités	9
II. Principaux signes cliniques	10
III. Epidémiologie des parasitoses intestinales	12
IV. Méthodes d'identification des parasites intestinaux	21
a) Examen parasitologique des selles au microscope	21
1) Modalités de conservation de l'échantillon	22
2) Examen macroscopique de la selle	22
3) Examen microscopique (Annexe 3)	22
4) Proposition d'algorithme de prise en charge	25
b) Sérologie parasitaire	26
c) Tests moléculaires : détection du matériel génétique	27
PARTIE 2 : Matériel et méthode	31
I. Sélection des échantillons	31
II. Fonctionnement général du test NovoDiag® Stool Parasite	32
III. Protocole d'analyse NOVODIAG® Stool Parasite	32
IV. PCR simplex routine	33
V. Caractéristiques de la population test	33
PARTIE 3 : Résultats	36
I. <i>Ascaris lumbricoides</i>	36
II. <i>Blastocystis spp.</i>	36
III. <i>Cryptosporidium spp</i>	36
IV. <i>Entamoeba histolytica</i>	37
V. Microsporidies /Enterocytozoon bienewisi	37
VI. <i>Giardia intestinalis</i>	37
VII. <i>Schistosoma mansoni</i>	38
VIII. <i>Schistosoma spp</i>	38
IX. <i>Strongyloides stercoralis</i>	38
X. <i>Taenia saginata</i>	38
XI. <i>Dientamoeba fragilis</i>	38
XII. <i>Hymenolepis nana</i>	39
XIII. Autres parasites du kit NOVODIAG® Stool Parasite	39
XIV. Cas particuliers	39
XV. Témoins négatifs (groupe contrôle)	40
XVI. Résultats invalides	40
PARTIE 4 : Discussion	42
Conclusion	49

Liste des Figures

- Figure 1 : *Cryptosporidium spp* après coloration de Ziehl-Neelsen
(source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL). 23
- Figure 2 : Microsporidies spp après coloration de Weber
(source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL). 24
- Figure 3 : Microsporides après coloration par CalcorFluor White
(source : Medical Care Development International)..... 24

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Panel NovoDiag [®] Stool parasite : épidémiologie et méthodes diagnostiques.....	21
Tableau 2 : Synthèse des résultats obtenus après analyse par le kit NovoDiag [®] Stool Parasite	40

Listes des Annexes

Annexe 1 : Echelle de Bristol.....	50
Annexe 2 : Signe Larva currens	51
Annexe 3 : Exemples de parasites sur l'examen parasitologique des selles	52
Annexe 4 : Ensemble des PCR simplex disponible au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'IHU Méditerranée Infection	53
Annexe 5 : Questionnaire de présélection et de sélection pour le don de selles	54
Annexe 6 : Pathogènes recherchés dans le bilan de greffe fécale	55
Annexe 7 : Systèmes PCR disponibles au laboratoire de Parasitologie	57
Annexe 8 : Tableau des résultats de notre étude	58
Annexe 9 : Tableau des données démographiques, biologiques, cliniques de la cohorte de l'étude NovoDiag® Stool Parasite.....	64

Liste des Abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AEG :	Altération de l'état général
ANSM :	Agence nationale de sécurité du médicament
AP-HM :	Assistance publique des hôpitaux de Marseille
COVID-19 :	Corona Virus Disease appeared in 2019
CT :	Cycle threshold
ELISA :	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPS:	Examen Parasitologique des Selles
IgM, IgG:	Immunoglobulines M, Immunoglobulines G
IHU :	Institut hospitalo-universitaire
M :	Million
MIF :	Merthiolate-Iode-Formol
NaCl :	Chlorure de sodium
Nb :	Nombre
OMS :	Organisation mondiale de la Santé
PCR :	Polymérase Chain Reaction
Se:	Sensibilité
SIDA:	Syndrome d'immunodéficience acquise
Sp :	Spécificité
TD :	Tube digestif

INTRODUCTION

Les parasitoses intestinales ont une répartition ubiquitaire avec un gradient Nord-Sud flagrant signant leur tropisme particulier pour les régions pauvres et tropicales. Les protozoaires et les helminthes sont les deux grandes familles de parasites intestinaux. Les maladies parasitaires intestinales constituent un problème important de santé publique dans les pays tropicaux et touchent surtout l'enfant en l'exposant à une morbidité et une mortalité très élevées. En effet, les diarrhées sont la principale cause de décès chez les enfants de moins de 5 ans dans les pays à ressources limités¹.

Les principales raisons de la prévalence élevée des infections parasitaires dans les pays tropicaux et subtropicaux sont l'augmentation de la densité de population, les mauvaises conditions d'assainissement, les mauvaises pratiques de santé publique, les installations sanitaires inadéquates, la présence de nourriture et d'eau contaminées et la malnutrition. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 785 millions de personnes n'ont pas accès à l'eau potable, 2.5 milliards ne bénéficient de conditions sanitaires convenables (tout à l'égout, purification de l'eau, lavage des mains...) et 1 milliard de personnes ne font pas leurs commodités dans des cabinets d'aisance².

La biologie des différents parasites intestinaux ainsi que la forme et la gravité des maladies qu'ils provoquent varient énormément. Nombre d'entre eux appartiennent à ce qu'on appelle les maladies tropicales négligées (Neglected Tropical Diseases). D'autres font partie du groupe des maladies à transmission alimentaire (Foodborne diseases).

Il est d'actualité de diagnostiquer un nombre croissant d'infections parasitaires dites tropicales dans nos régions tempérées, principalement en raison des flux de population liée à la guerre et aux conflits internationaux, aux changements climatiques et aux activités touristiques. Même si les voyages sont actuellement fortement impactés par la pandémie COVID-19, la France reste le pays le plus attractif, première destination mondiale en nombre d'arrivées et quatrième en

¹ Karen L Kotloff et al., « Burden and Aetiology of Diarrhoeal Disease in Infants and Young Children in Developing Countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A Prospective, Case-Control Study », *The Lancet* 382, n° 9888 (20 juillet 2013): 2092-22, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60844-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60844-2).

² Renata Soares et Tiana Tasca, « Giardiasis: An Update Review on Sensitivity and Specificity of Methods for Laboratorial Diagnosis », *Journal of Microbiological Methods* 129 (octobre 2016): 98-102, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.08.017>.

revenus. D'ici 2050, du fait du changement climatique, notre planète pourrait être composée principalement d'un réseau de mégapoles implantées dans des régions aux climats subtropicaux et tropicaux chauds. Les bidonvilles urbains de ces villes, y compris ceux que l'on trouve dans les pays riches à revenu intermédiaire et élevé, seront particulièrement vulnérables aux maladies. Ainsi, alors que d'ici 2050, nous pourrions nous féliciter d'avoir réussi à éliminer certaines maladies tropicales parasitaires et négligées clés telles que la dracunculose, la filariose lymphatique, l'onchocercose et la trypanosomose humaine africaine, il pourrait y avoir une augmentation proportionnelle d'autres maladies parasitaires sur la base des scénarios mis en évidence ci-dessus. Les helminthiases urbaines et nouvellement urbanisées sont particulièrement préoccupantes, notamment la schistosomiase et certaines helminthiases transmises par le sol, ainsi que les helminthiases zoonotiques, telles que la toxocarose, les trématodoses et la cysticercose. Les infections à protozoaires persistant dans les environnements urbains, y compris la leishmaniose, la maladie de Chagas, le paludisme et les infections intestinales à protozoaires augmenteront également³.

Ces parasitoses intestinales représentent donc un challenge diagnostique dans nos pays développés. Il est indispensable de s'orienter vers des outils diagnostique permettant de cibler un large spectre de pathogènes tant les patients concernés proviennent de régions variées et lointaine.

L'objectif de mon travail a été d'évaluer un nouvel outil diagnostique des infections parasitaires intestinales, criblant par détection d'Acide Désoxyribonucléique (ADN) dans des prélèvements de selles 26 cibles différentes, correspondant à 30 pathogènes intestinaux en test unitaire multiplexé. Pour information, nous regrouperons, tout au long de ce travail, sous le terme « parasites intestinaux » tous les pathogènes sur lesquels nous nous sommes concentré, même si *stricto sensu* les microsporidies ne sont pas des parasites mais appartiennent au règne des fungi.

³ Peter J. Hotez, « Human Parasitology and Parasitic Diseases: Heading Towards 2050 », in *Advances in Parasitology*, vol. 100 (Elsevier, 2018), 29-38, <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.03.002>.

PARTIE 1 : Généralités

PARTIE 1 : Généralités

I. Modes de transmission des parasites intestinaux : généralités

La majorité des parasitoses intestinales sont des pathologies liées au « péril fécal », c'est-à-dire qu'elles sont directement associées aux excréments, avec comme vecteur de transmission une contamination dite oro-fécale. Celle-ci peut être « directe », de personne à personne (mains souillées) ou « indirecte » (eau ou aliments souillés par les excréments). Certaines vont avoir un mode de transmission différent, en particulier pour les helminthiases. C'est par exemple le cas de l'anguillule (*Strongyloides stercoralis*), les bilharzioses (*Schistosoma mansoni*) l'ankylostome (*Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*) qui vont pénétrer dans l'organisme humain par voie transcutanée lors d'un contact avec un sol contaminé ou lors de baignade en eau douce (bilharziose).

Si les protozoaires se développent très rapidement après la contamination dans l'intestin, de nombreux helminthes effectuent un cycle de développement dans l'organisme et ne se retrouvent dans l'intestin que plusieurs semaines après la contamination. Les protozoaires sont des êtres unicellulaires, capables de se déplacer grâce à des pseudopodes, des flagelles, une membrane ondulante, des cils ou des mouvements de torsion du cytosquelette. Au cours de leur cycle de vie, ils existent sous deux stades différents : une forme végétative ou « trophozoïte » dotée de mobilité et capable de se diviser et une forme kystique, forme de dissémination et de résistance dans le milieu extérieur.

Les helminthes sont des êtres pluricellulaires qui effectuent un cycle de développement pouvant être complexe au cours duquel ils évoluent de l'œuf, œufs embryonnaire, larves aux vers adultes. Dans les selles, selon les espèces en cause, ils seront observables à ces différents stades de développement.

II. Principaux signes cliniques

La symptomatologie est variée mais dominée par les diarrhées, survenant sur un mode aigu, sub aiguë ou chronique.

Les diarrhées sont définies par l'émission d'une quantité anormale de selles et d'eau (plus de 300 grammes ou 3 selles molles par 24 heures). On parle de caractère aigu lorsque la durée des symptômes est inférieure à 2 semaines, et chronique lorsque la durée des symptômes est supérieure à 4 semaines.

Ces selles peuvent prendre différents aspects, avec des formes sanglantes, glaireuses, aqueuses. L'échelle de Bristol est utilisée pour les classer de manière standardisée en fonction de leur consistance (Annexe 1).

Parmi les autres signes digestifs, on peut retrouver des douleurs abdominales à type de crampe, en barre, des nausées et des vomissements.

Concernant les signes généraux, une altération de l'état général (AEG) avec fièvre, asthénie, anorexie et perte de poids (liée à l'anorexie et/ou aux diarrhées) peuvent venir compléter le tableau clinique.

Les formes de diarrhées aiguë de type dysentérique sont surtout rencontrés avec *E. histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp* et *Balantidium coli* (beaucoup plus rare en terme de fréquence).

Des formes asymptomatiques sont possibles, elles sont même majoritaires dans certaines infections telles que *Ascaris lumbricoides*, *Cyclospora cayetanensis*, *Dientamoeba fragilis*, *Balantidium coli*, *Enterobius vermicularis*, *Fasciolopsis buski*, *Heterophyes heterophyes*, *Taenia spp* et *Diphyllobothrium spp*. Il peut être important dans certaines populations de pouvoir cibler la détection de ces formes asymptomatiques, dans un souci de recueil de données épidémiologiques (screening de populations) avec comme, principal objectif l'organisation de campagne de déparasitage. Par exemple, il a été montré que chez l'enfant d'âge pré-scolaire, les helminthiases peuvent être sources de carence alimentaire, avec pour conséquence des retards sur le plan cognitif et physique.⁴ Certains parasites comme *Blastocystis spp* et *Dientamoeba fragilis* ont un rôle en pathologie humaine encore débattu, mais semblent être témoin d'une dysbiose intestinale et d'un contact avec le péril fécal. La médecine leur apporte de plus en plus d'intérêts dans le diagnostic des troubles intestinaux.

⁴ Moses Adriko et al., « Impact of a National Deworming Campaign on the Prevalence of Soil-Transmitted Helminthiasis in Uganda (2004-2016): Implications for National Control Programs », éd. par Amadou Garba, *PLOS Neglected Tropical Diseases* 12, n° 7 (5 juillet 2018): e0006520, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006520>.

Des signes cutanés peuvent être observés. Par exemple dans l'oxyurose (due à *Enterobius vermicularis*), un prurit anal vespéral est classique, pouvant s'accompagner de lésions de grattage surinfectées. D'autres parasites (*S.stercoralis*, *A. duodenale*, *N. americanus*, *Schistosoma spp...*) vont causer des éruptions cutanées prurigineuses maculo-papuleuses (urticairiennes), localisées, parfois généralisées (*Schistosoma spp.*). Ces manifestations cutanées vont être en lien avec le cycle parasitaire (pénétration et migration dans l'organisme par voie cutanée). Le signe de *Larva currens* est un symptôme lié à la migration *S. stercoralis* à travers les tissus sous-cutanés et se présente comme une dermatite rampante associant des stries rouges serpiginieuses, prurigineuses, et en relief (Annexe 2).

Le syndrome de Loeffler correspond à une pneumopathie avec la présence d'éosinophiles. Cliniquement, une toux sèche, de la fièvre sont retrouvées. *Ascaris lumbricoides* est la principale cause du syndrome de Loeffler. Parmi les autres étiologies, nous pouvons citer *S. stercoralis*, *A. duodenale*, *N. americanus*, *Schistosoma spp.* Des tableaux de pleuro-pneumopathies sont décrits pour *E. histolytica* dans sa forme extra intestinale, associant de la toux, de la fièvre, une altération de l'état général.

Certaines parasitoses vont entraîner des lésions au niveau du parenchyme hépatique. C'est le cas par exemple de l'amibiase hépatique (due à *E. histolytica*) à l'origine d'un abcès tissulaire, qui fait suite à la localisation colique de l'amibe (clinique ou asymptomatique). Cependant il peut arriver qu'au stade tissulaire aucun parasites ne soient retrouvés dans le tube digestif (TD). Dans la bilharziose (*Schistosoma spp.*), des atteintes hépatiques à type de fibrose des espaces péri-portaux ont été décrits. Cela va conduire à un tableau typique d'hypertension portale avec hépatosplénomégalie, varices œsophagiennes et hémorragies digestives. *Fasciola hepatica* est susceptible de donner un tableau d'hépatite toxi-infectieuse avec fièvre, AEG, douleurs à l'hypochondre droit, hépatomégalie sensible, parfois ictère. En l'absence de prise en charge, des complications mécaniques liées à la présence des douves dans les voies biliaires surviennent (ictère, crise de colique hépatique, accès d'angiocholite, cholécystite). Les distomatoses hépatiques dues à *Clonorchis sinensis*, *Opistorchis spp* sont souvent asymptomatiques, sauf quand la charge parasitaire est importante : le tableau principal est la cholestase.

Au niveau neurologique, la principale entité à noter est la cysticercose due à *Taenia solium* (stade larvaire). Elle est souvent révélée par une crise convulsive (en cas de localisation parenchymateuse), ou alors par une hypertension intra-crânienne (en cas de localisation sous-arachnoïdienne). La bilharziose peut également entraîner des lésions neurologiques (myélite transverse, compression médullaire, hypertension intra-crânienne) dans sa forme chronique.

Au laboratoire de parasitologie de l'Institut hospitalo-universitaire (IHU), l'examen parasitologique des selles (EPS) combine ces trois méthodes de diagnostic : L'EPS au microscope optique, la sérologie et les techniques moléculaires par Polymerase Chain Reaction (PCR) quand elles sont disponibles.

III. *Epidémiologie des parasitoses intestinales*

L'obtention de données épidémiologiques fiables pour tous les pathogènes s'est heurtée à certaines limites. Lors d'un tableau de diarrhée, l'agent causal n'est pas systématiquement recherché ou connu. De plus, les informations ne sont pas toujours disponibles ou alors plutôt anciennes. Tout cela nous amène à une sous-estimation de la prévalence réelle de ces parasitoses digestives.

Pour les protozoaires, le portage de *Blastocystis spp* est le plus fréquent avec une prévalence d'1 milliard de cas au niveau mondial (Tableau 1). Son pouvoir pathogène est débattu et la signification du portage reste encore mal comprise^{5,6}. Parmi les protozoaires avec une pathogénicité reconnue, *Entamoeba histolytica* est le plus fréquent avec une prévalence mondiale de 500 millions de cas par an (Tableau 1).

Enterobius vermicularis (oxyurose) est l'helminthe avec la prévalence la plus importante à travers le monde, suivi par *Ascaris lumbricoides* (Tableau 1).

Concernant les données de l'IHU, le diagnostic des parasites intestinaux au laboratoire de Parasitologie depuis 2017 a concerné au total 5409 examens parasitologiques des selles (EPS) correspondant à 3634 patients. Pour les cryptosporidies, nous avons recensé trente et un échantillons positifs pour vingt-trois patients différents. Pour *G. intestinalis*, nous avons recensé vingt-trois échantillons positifs pour vingt-trois patients différents. Pour *S. stercoralis*, nous avons recensé trois échantillons positifs pour trois patients. Pour *Blastocystis*, nous avons recensé trente et un échantillons positifs pour trente et un patients. Pour les microsporidies, nous avons recensé huit échantillons positifs pour huit patients. Pour *E. histolytica*, trente-sept échantillons ont été positifs par PCR routine, pour vingt-quatre patients différents.

⁵ Karin Leder et al., « No Correlation between Clinical Symptoms and Blastocystis Hominis in Immunocompetent Individuals », *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 20, n° 9 (septembre 2005): 1390-1394, <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2005.03868.x>.

⁶ Anchalee Tungtrongchitr et al., « Blastocystis Hominis Infection in Irritable Bowel Syndrome Patients », *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 35, n° 3 (septembre 2004): 705-710.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Entamoeba histolytica</i> (protozoaire)				
500M dont 50M symptomatiques 100 000 décès/an	Cosmopolite	Inde Bangladesh Afrique tropicale Brésil Mexique Chine Asie du Sud Est	++ Examen direct + Sérologie +++ PCR maison et kits (présent dans le panel Gastrointestinal Panel FilmArray® du BioFire) + recherche antigène (ICT)	7 8
<i>Giardia intestinalis</i> (protozoaire)				
280M Prévalence 2-7% (pays développés) Prévalence 20-30% (pays à ressources limitées)	Cosmopolite	-	++ Examen direct +++ PCR maison et kits (présent dans le panel Gastrointestinal Panel FilmArray® du BioFire) + recherche antigène (ICT)	9 10
<i>Strongyloides stercoralis</i> (anguillule) (helminthe ; nématode)				
600M	Cosmopolite	Asie Sud-Est Pacifique Ouest Afrique	+ Examen direct +++ Sérologie ++ PCR maison	11 12

⁷ Zhaohui Cui et al., « Molecular Epidemiology, Evolution, and Phylogeny of *Entamoeba* Spp. », *Infection, Genetics and Evolution* 75 (novembre 2019): 104018, <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104018>.

⁸ R Haque et al., « Rapid Diagnosis of *Entamoeba* Infection by Using *Entamoeba* and *Entamoeba Histolytica* Stool Antigen Detection Kits », *Journal of Clinical Microbiology* 33, n° 10 (octobre 1995): 2558-2561, <https://doi.org/10.1128/jcm.33.10.2558-2561.1995>.

⁹ Elin Einarsson, Showgy Ma'ayeh, et Staffan G Svärd, « An Up-Date on *Giardia* and Giardiasis », *Current Opinion in Microbiology* 34 (décembre 2016): 47-52, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.07.019>.

¹⁰ Anson V. Koehler et al., « *Giardia*/Giardiasis — A Perspective on Diagnostic and Analytical Tools », *Biotechnology Advances* 32, n° 2 (1 mars 2014): 280-289, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.10.009>.

¹¹ Dora Buonfrate et al., « The Global Prevalence of *Strongyloides Stercoralis* Infection », *Pathogens* 9, n° 6 (13 juin 2020): 468, <https://doi.org/10.3390/pathogens9060468>.

¹² Afzal A. Siddiqui et Steven L. Berk, « Diagnosis of *Strongyloides Stercoralis* Infection », *Clinical Infectious Diseases* 33, n° 7 (octobre 2001): 1040-1047, <https://doi.org/10.1086/322707>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Blastocystis spp</i> (protozoaire)				
1 milliard	Cosmopolite, prévalence > pays pauvres (30-50% vs 5- 10%)	-	++ Examen direct + Sérologie +++ PCR maison et kits	¹³
<i>Schistosoma spp</i> (helminthe trématode)				
230M (<i>spp</i>)	Principalement régions tropicales	Afrique sub saharienne Moyen Orient (<i>S.haematobium</i> <i>S.mansoni</i>) Amérique Sud (Brésil) et Caraïbes (<i>S.mansoni</i>) Asie (Philippines et Chine) (<i>S.japonicum</i>)	++ Examen direct +++ Sérologie +++ PCR maison + Antigène urinaire/sang (CAA, CCA)	¹⁴
<i>Ascaris lumbricoides</i> (helminthe, nématode)				
804 M	Cosmopolite Prévalence plus importante en zone tropicale	Afrique sub- saharienne Amérique du Sud Chine Asie Est	++ Examen direct + Sérologie +++ PCR maison	¹⁵

¹³ Christen Rune Stensvold, Kevin S.W. Tan, et C. Graham Clark, « Blastocystis », *Trends in Parasitology* 36, n° 3 (mars 2020): 315-316, <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.008>.

¹⁴ Daniel G Colley et al., « Human schistosomiasis », *Lancet (London, England)* 383, n° 9936 (28 juin 2014): 2253-2264, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61949-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61949-2).

¹⁵ Peter Mark Jourdan et al., « Soil-Transmitted Helminth Infections », *The Lancet* 391, n° 10117 (janvier 2018): 252-265, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31930-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31930-X).

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Balantidium coli</i> (protozoaire)				
0.02-29%	Cosmopolite Prévalence plus importante en zone tropicale	Asie centrale Iles Pacifiques Philippines Certaines zones Amérique centrale et Sud Papouasie Nouvelle Guinée Moyen Orient	++ Examen direct + PCR maison (peu utilisé en pratique courante)	¹⁶ ¹⁷ ¹⁸
<i>Ankylostomoses : Ancylostoma duodenale et Necator americanus</i> (helminthe, nématode)				
500 M	Cosmopolite	<i>Ancylostoma duodenale</i> : Pourtour méditerranéen Iran Inde Pakistan <i>Necator americanus</i> : Amérique Nord et Sud Afrique centrale Indonésie Iles Pacifique Sud Inde	+ Examen direct ± PCR maison	¹⁹

¹⁶ Frederick L. Schuster et Lynn Ramirez-Avila, « Current World Status of *Balantidium Coli* », *Clinical Microbiology Reviews* 21, n° 4 (octobre 2008): 626-638, <https://doi.org/10.1128/CMR.00021-08>.

¹⁷ Francisco Ponce-Gordo et Juan José García-Rodríguez, « Balantidioides Coli », *Research in Veterinary Science* 135 (mars 2021): 424-431, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.028>.

¹⁸ Arslan Ahmed et al., « Balantidium Coli in Domestic Animals: An Emerging Protozoan Pathogen of Zoonotic Significance », *Acta Tropica* 203 (mars 2020): 105298, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105298>.

¹⁹ Theo Vos et al., « Global, Regional, and National Incidence, Prevalence, and Years Lived with Disability for 301 Acute and Chronic Diseases and Injuries in 188 Countries, 1990–2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 », *The Lancet* 386, n° 9995 (août 2015): 743-800, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4).

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Trichuris trichiura</i> (helminthe, nématode)				
477 M	Cosmopolite		+ Examen direct + PCR maison	²⁰
<i>Clonorchis sinensis</i> <i>Opisthorchis spp</i> <i>Metorchis spp</i> (helminthe, trematode)				
<i>Clonorchis sinensis</i> : 15 M (200 millions à risque)	Essentiellement en Asie	Asie (Corée du Sud, Chine, Nord Vietnam, Russie Est)	++ Examen direct - Sérologie + Antigène + PCR (laboratoire spécialisé)	²¹
<i>Cryptosporidium spp</i> (protozoaire)				
750 000 nouveaux cas chaque année (USA) 0.6-2 % diarrhées immunocompétent (Amérique du Nord et Europe) 4-32% diarrhées (pays en voie de développement) 14% diarrhées chroniques au stade SIDA (pays industrialisés), 60% (Afrique et Haïti)	Cosmopolite		+ Examen direct + Antigène +++ PCR maison et kits Gastrointestinal Panel-Parasite Assay)	²²

²⁰ Jourdan et al., « Soil-Transmitted Helminth Infections ».

²¹ Ze-Li Tang, Yan Huang, et Xin-Bing Yu, « Current Status and Perspectives of Clonorchis Sinensis and Clonorchiasis: Epidemiology, Pathogenesis, Omics, Prevention and Control », *Infectious Diseases of Poverty* 5, n° 1 (décembre 2016): 71, <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0166-1>.

²² Asis Khan, Jahangheer S. Shaik, et Michael E. Grigg, « Genomics and Molecular Epidemiology of *Cryptosporidium* Species », *Acta Tropica* 184 (août 2018): 1014, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.10.023>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (protozoaire)				
Pas de données globales mais des études de prévalence par pays	Cosmopolite	France une dizaine de cas sporadiques rapportés chaque année Amérique centrale et Latine (Guatemala, Honduras, Haïti, Mexique Pérou, Brésil) (7-40%) Egypte, Turquie (10%) Afrique subsaharienne (18%) Inde (22%) Asie Sud-Est Chine (5-6%) Népal (9%)	+ Examen direct +++ PCR (présent dans le panel Gastrointestinal Panel FilmArray® du BioFire)	²³ ²⁴
<i>Cystoisospora belli</i> (ex <i>Isoospora belli</i>) (protozoaire)				
Prévalence 12-15% (Haïti) 0.2-28% (Afrique) 0.1-30% (Amérique latine) 21-31% (Inde) < 0.01-5% (Europe)	Cosmopolite	Inde Caraïbe Amérique centrale et latine Afrique	+ Examen direct +++ PCR maison	²⁵

²³ Annunziata Giangaspero et Robin B Gasser, « Human Cyclosporiasis », *The Lancet Infectious Diseases* 19, n° 7 (juillet 2019): e226-236, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30789-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30789-8).

²⁴ Sonia Almeria, Hediye N. Cinar, et Jitender P. Dubey, « Cyclospora Cayetanensis and Cyclosporiasis: An Update », *Microorganisms* 7, n° 9 (4 septembre 2019): 317, <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090317>.

²⁵ J. P. Dubey et S. Almeria, « *Cystoisospora Belli* Infections in Humans: The Past 100 Years », *Parasitology* 146, n° 12 (octobre 2019): 1490-1527, <https://doi.org/10.1017/S0031182019000957>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Dientamoeba fragilis</i> (protozoaire)				
Large intervalle sur la prévalence mondiale (0.4-40%) Turquie (9%) Oman (5%) Pays Bas (8%) Egypte (5%) Australie (5%) Venezuela (16%) (probable sous-estimation car dg examen direct)	Cosmopolite		++ Examen direct +++ PCR maison et kits	26 27 28 29 30 31 32
<i>Diphyllobothrium latum/nihonkaiense</i> (helminthe, cestode)				
20M <i>Diphyllobothrium spp</i> <i>Nihonkaiense</i> Japon (52 cas/an), autres case report (Etats-Unis, Chine, Corée, Brésil, Suisse...)			+ + Examen direct + PCR maison (laboratoires spécialisés)	33 34

²⁶ Jari Intra et al., « The Importance of Considering the Neglected Intestinal Protozoan Parasite *Dientamoeba Fragilis* », *Journal of Medical Microbiology* 68, n° 6 (1 juin 2019): 890-892, <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000983>.

²⁷ N. Girginkardeşler et al., « *Dientamoeba Fragilis*, a Neglected Cause of Diarrhea, Successfully Treated with Secnidazole », *Clinical Microbiology and Infection* 9, n° 2 (février 2003): 110-113, <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00504.x>.

²⁸ J. J. Windsor et al., « Incidence of *Dientamoeba Fragilis* in Faecal Samples Submitted for Routine Microbiological Analysis », *British Journal of Biomedical Science* 55, n° 3 (septembre 1998): 172-175.

²⁹ T. van Gool et J. Dankert, « [3 emerging protozoal infections in The Netherlands: Cyclospora, *Dientamoeba*, and *Microspora* infections] », *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde* 140, n° 3 (20 janvier 1996): 155-160.

³⁰ B. A. Oyofe et al., « Enteropathogens Associated with Diarrhea among Military Personnel during Operation Bright Star 96, in Alexandria, Egypt », *Military Medicine* 162, n° 6 (juin 1997): 396-400.

³¹ Damien Stark et al., « A Review of the Clinical Presentation of *Dientamoebiasis* », *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 82, n° 4 (avril 2010): 614-619, <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0478>.

³² Renzo Nino Incani et al., « Diagnosis of Intestinal Parasites in a Rural Community of Venezuela: Advantages and Disadvantages of Using Microscopy or RT-PCR », *Acta Tropica* 167 (mars 2017): 64-70, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.12.014>.

³³ Tomáš Scholz et al., « Update on the Human Broad Tapeworm (Genus *Diphyllobothrium*), Including Clinical Relevance », *Clinical Microbiology Reviews* 22, n° 1 (janvier 2009): 146-160, <https://doi.org/10.1128/CMR.00033-08>.

³⁴ Hiroshi Ikuno, Shinkichi Akao, et Hiroshi Yamasaki, « Epidemiology of *Diphyllobothrium nihonkaiense* *Diphyllobothriasis*, Japan, 2001–2016 », *Emerging Infectious Diseases* 24, n° 8 (août 2018), <https://doi.org/10.3201/eid2408.171454>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Encephalitozoon spp/ Enterocytozoon bienewisi</i> (champignon parasite)				
Pas de données précises Données variable (population étudiée, méthodes diagnostiques) 1.5-50% (HIV+) 1.3-22% (HIV-) <i>E. bienewisi</i> Chine (8%)			+ Examen direct, coloration spéciale (Weber, UVITEX) +++ PCR maison et kits	35 36 37 38
<i>Enterobius vermicularis</i> (helminthe, nématode)				
Plus de 1 milliard de personne 40M Etats-Unis 20-30% enfants (Europe)	Cosmopolite		+++ Examen direct + PCR maison	39
<i>Fasciola spp</i> (helminthe, trématode)				
<i>Fasciola hepatica</i> : 2.4-17M 91M à risque	Cosmopolite	Amérique centrale et latine (Bolivie, Pérou) Europe (Portugal, Espagne, France, Turquie) Asie (Chine, Vietnam, Corée, Taiwan, Thaïlande) Afrique (Egypte) Moyen Orient (Iran)	+ Examen direct ++ Sérologie + PCR maison	40 41

³⁵ S. Anane et H. Attouchi, « Microsporidiosis: Epidemiology, Clinical Data and Therapy », *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 34, n° 8 (septembre 2010): 450-464, <https://doi.org/10.1016/j.gcb.2010.07.003>.

³⁶ Tom van Gool et al., « High Seroprevalence of *Encephalitozoon* Species in Immunocompetent Subjects », *The Journal of Infectious Diseases* 175, n° 4 (avril 1997): 1020-1024, <https://doi.org/10.1086/513963>.

³⁷ Luyao Qiu et al., « The Prevalence of Microsporidia in China : A Systematic Review and Meta-Analysis », *Scientific Reports* 9, n° 1 (décembre 2019): 3174, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39290-3>.

³⁸ Karnika Saigal et al., « Comparison of Staining Techniques and Multiplex Nested PCR for Diagnosis of Intestinal Microsporidiosis », *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 77, n° 3 (novembre 2013): 248-249, <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.07.004>.

³⁹ Sebastian Wendt et al., « The Diagnosis and Treatment of Pinworm Infection », *Deutsches Aerzteblatt Online*, 29 mars 2019, <https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0213>.

⁴⁰ *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice* (Elsevier, 2011), <https://doi.org/10.1016/C2009-0-40410-0>.

⁴¹ Jennifer Keiser et Jürg Utzinger, « Food-Borne Trematodiasis », *Clinical Microbiology Reviews* 22, n° 3 (juillet 2009): 466-483, <https://doi.org/10.1128/CMR.00012-09>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
<i>Fasciolopsis buski</i> (helminthe trématode)				
10M (Asie)	Asie	Asie (Bangladesh, Cambodge, Chine, Inde, Indonésie, Japon, Corée, Laos, Malaisie, Népal, Pakistan, Philippines)	+ Examen direct + PCR maison (laboratoire spécialisé)	42 43
<i>Hymenolepis nana</i> (helminthe, cestode)				
Prévalence 0.5-2%, jusque 58% chez les enfants de pays en voie de développement Prévalence plus importante dans les populations dénutris en Ethiopie (34% vs 5%)	Cosmopolite	Egypte Soudan Thaïlande Inde Amérique latine	+ Examen direct ++ PCR maison	44 45
<i>Taenia saginata/asiatica</i> (cestode)				
60-70 M 0.04–8.8% (Amérique) 0.02-47% (Asie) 0.02-0.67% (Europe)			+ Examen direct +++ PCR maison	46 47 48

⁴² Jong-Yil Chai et Bong-Kwang Jung, « Foodborne Intestinal Flukes: A Brief Review of Epidemiology and Geographical Distribution », *Acta Tropica* 201 (janvier 2020): 105210, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105210>.

⁴³ Mar Siles-Lucas et al., « Fascioliasis and Fasciolopsiasis: Current Knowledge and Future Trends », *Research in Veterinary Science* 134 (janvier 2021): 27-35, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.011>.

⁴⁴ R.C.A. Thompson, « Neglected Zoonotic Helminths: Hymenolepis Nana, Echinococcus Canadensis and Ancylostoma Ceylanicum », *Clinical Microbiology and Infection* 21, n° 5 (mai 2015): 426-32, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.01.004>.

⁴⁵ Fatemeh Goudarzi et al., « A Systematic Review and Meta-Analysis of Hymenolepis Nana in Human and Rodent Hosts in Iran: A Remaining Public Health Concern », *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 74 (février 2021): 101580, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101580>.

⁴⁶ Uffe Christian Braae et al., « Epidemiology of Taenia Saginata Taeniosis/Cysticercosis: A Systematic Review of the Distribution in the Americas », *Parasites & Vectors* 11, n° 1 (décembre 2018): 518, <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3079-y>.

⁴⁷ Ramon M. Eichenberger et al., « Epidemiology of Taenia Saginata Taeniosis/Cysticercosis: A Systematic Review of the Distribution in East, Southeast and South Asia », *Parasites & Vectors* 13, n° 1 (décembre 2020): 234, <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04095-1>.

⁴⁸ Minerva Laranjo-González et al., « Epidemiology of Taeniosis/Cysticercosis in Europe, a Systematic Review: Western Europe », *Parasites & Vectors* 10, n° 1 (décembre 2017): 349, <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2280-8>.

Estimation Nb cas	Origine	Zones endémie	Méthodes diagnostic autre que NovoDiag	Références
Taenia solium (helminthe, cestode)				
2.5 M 0.1-6% (Asie) 1.3-11% (Afrique)		Afrique	+ Examen direct	49
		Asie		50
		Amérique latine	+ PCR maison	51 52

Nb : nombre ; M : Millions ; Se : sensibilité ; +/+/+/+ : degrés d'importance du test dans la démarche diagnostique

Tableau 1 : Panel NovoDiag® Stool parasite : épidémiologie et méthodes diagnostiques

IV. Méthodes d'identification des parasites intestinaux

De manière générale dans les maladies infectieuses, il existe deux grands types de techniques diagnostiques. Les méthodes directes qui cherchent à détecter le pathogène responsable (diagnostic morphologique, observation microscopique, détection d'antigène, détection d'ADN) et les techniques indirectes qui mettent en évidence la réponse de l'hôte (recherche d'anticorps).

a) Examen parasitologique des selles au microscope

L'examen parasitologique des selles au microscope a été pendant de nombreuses années le gold standard pour le diagnostic des parasitoses intestinales.

Les méthodes de diagnostic direct par microscopie comportent une étape essentielle d'examen direct à l'état frais avec ou sans coloration. Les colorations mise en œuvre sont choisies selon les recherches orientées de parasites.

Il est toujours utile de préciser au laboratoire le ou les parasites recherchés, l'état immunitaire du patient, ses symptômes, la présence d'une éosinophilie et les pays visités.

⁴⁹ Vedantam Rajshekhar et al., « Taenia Solium Taeniosis/Cysticercosis in Asia: Epidemiology, Impact and Issues », *Acta Tropica* 87, n° 1 (juin 2003): 53-60, [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(03\)00055-X](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(03)00055-X).

⁵⁰ Lorenzo Zammarchi et al., « Epidemiology and Management of Cysticercosis and Taenia Solium Taeniosis in Europe, Systematic Review 1990–2011 », éd. par Sten H. Vermund, *PLoS ONE* 8, n° 7 (29 juillet 2013): e69537, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069537>.

⁵¹ Rajshekhar et al., « Taenia Solium Taeniosis/Cysticercosis in Asia ».

⁵² André Zoli et al., « Regional Status, Epidemiology and Impact of Taenia Solium Cysticercosis in Western and Central Africa », *Acta Tropica* 87, n° 1 (juin 2003): 35-42, [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(03\)00053-6](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(03)00053-6).

1) Modalités de conservation de l'échantillon

Une fois la selle recueillie dans un pot stérile, il est indispensable de respecter un certain nombre de règles concernant le délai d'acheminement du prélèvement, le mode de conservation au laboratoire etc. Après émission, la selle peut être gardée durant douze heures à température ambiante. Des formes mobiles d'amibes et de flagellés vont pouvoir être détectées sur des selles fraîches : contrairement aux formes kystiques, les trophozoïtes d'amibes et de *Dientamoeba fragilis* s'immobilisent et se détruisent rapidement.

Si le délai dépasse les douze heures il est nécessaire de conserver la selle de manière réfrigérée pour éviter la pullulation microbienne et fongique. En l'absence de fixation, ce mode de conservation va lyser les formes végétatives des protozoaires et des larves de strongyloïdes.

Enfin, il n'est plus possible de réaliser l'examen direct si l'échantillon a été congelé car le cycle de congélation/décongélation va détruire les différentes structures observables (kystes, larves, œufs).

2) Examen macroscopique de la selle

L'analyse doit commencer par un examen macroscopique grâce à l'échelle de Bristol qui notera l'aspect et la consistance de la selle. Certains helminthes, en particulier les tænia (*Taenia saginata*, *Diphyllobothrium spp*), vont pouvoir être identifiés dès cette première étape (mise en évidence des proglottis)

3) Examen microscopique (Annexe 3)

La selle fraîche va être examinée par microscopie directe à l'état frais entre lame et lamelle après resuspension dans du sérum physiologique.

Une technique de concentration adaptée au parasite recherché peut être réalisée. Elle se justifie par le fait que les éléments parasitaires peuvent être présents en faible nombre ou avoir une excrétion intermittente dans les fèces (par exemple *Giardia intestinalis*, *S. stercoralis*, *A. lumbricoides*)⁵³. Généralement, il est recommandé de répéter le recueil des selles sur trois jours consécutifs afin de pallier l'excrétion non constante du pathogène dans les fèces. Il existe

⁵³ Siddiqui et Berk, « Diagnosis of *Strongyloides Stercoralis* Infection ».

différentes techniques de concentration, comme par exemple les techniques diphasiques (concentration par centrifugation et par dissolvants organiques), très efficaces pour la recherche de schistosomes, de kystes de protozoaires, larves et œufs.

Les techniques de concentration par flottaison (dilution de l'échantillon fécal dans un liquide de densité supérieure à celle des éléments parasites) peuvent utiliser le sulfate de zinc (enrichit bien les œufs, les kystes de protozoaires et les larves) ou une solution saturée en NaCl (technique de Willis, utilisable uniquement pour visualiser les œufs). Ces deux solutions classiquement utilisées ne permettent pas de concentrer les œufs lourds (*tænia*, *ascaris* non fécondés, douves, bothriocéphale) en raison de leur trop faible densité.

Les techniques de concentration par filtration utilisent les mêmes phases aqueuses que pour les techniques diphasiques (liquide de Baileger, Mercuriothiolate Iode Formol, iodésine) mais n'utilisent pas de solvants. La concentration est permise par le passage de la dilution fécale à travers un filtre pendant la centrifugation. Cette technique présente l'avantage de préserver les formes végétatives des protozoaires.

La technique de concentration de Kato et Miura est adaptée à la détection des œufs d'helminthes.

Enfin, la technique de Baermann est une méthode d'extraction qui sert de référence pour la mise en évidence de larves de *Strongyloides stercoralis* (anguillule). Elle nécessite des selles fraîches et non fixées et une incubation longue de 3 à 24 heures.

En France, la coloration au MIF est la plus utilisée. Elle permet de visualiser notamment les noyaux des kystes amibiens.

La coloration de Ziehl-Neelsen est la méthode de référence pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium spp* qui vont apparaître rose fuchsia sur fond bleu.

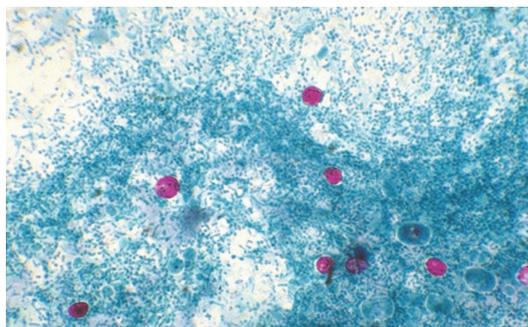


Figure 1 : *Cryptosporidium spp* après coloration de Ziehl-Neelsen (source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL)

La coloration de Weber est utilisée pour mettre en évidence les microsporidies, qui seront colorées en rose.

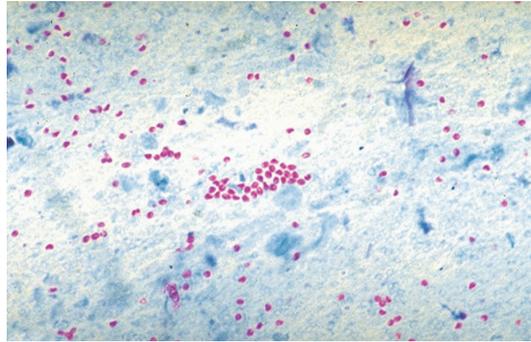


Figure 2 : Microsporidies spp après coloration de Weber (source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL)

Enfin, des colorations par CalcoFluor White ou Uvitex[®] permettent de révéler par fluorescence la chitine de la paroi présente dans le règne fongique et donc utilisée pour la détection des microsporidies.

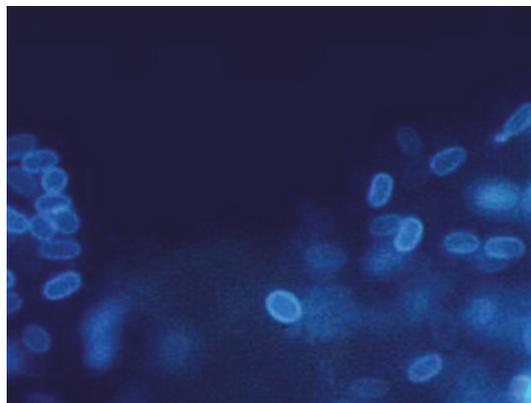


Figure 3 : Microsporides après coloration par CalcorFluor White (source : Medical Care Development International)

Certaines coccidies sont auto fluorescentes et apparaissent bleus sous lumière ultra violette (UV) (330-365 nm) : *Cyclospora spp* et *Cystoisospora belli*

4) Proposition d'algorithme de prise en charge

De manière générale, un examen macroscopique suivi d'un examen microscopique (examen direct plus une technique de concentration des selles plus ou moins une recherche de cryptosporidies/anguillules/microsporidies en fonction du contexte) est pratiqué. Si des cristaux de Charcot-Leyden sont présents, il est recommandé de réaliser une technique de flottation à la recherche d'helminthes.

Dans certains cas particuliers, comme par exemple une hyperéosinophilie sans notion de séjour en zone tropicale, les techniques de MIF concentration (éventuellement combinée à une technique de flottaison) et un test de Graham (scotch-test permettant la recherche d'oxyures) peuvent être réalisés.

A la suite d'un retour de séjour en zone tropicale, les techniques de MIF concentration (éventuellement combinée à une technique de flottation), Baermann et une recherche de cryptosporidies selon le contexte peuvent être envisagés.

Lorsque le patient est immunodéprimé, il conviendra particulièrement de rechercher les microsporidies et coccidies (*Cytoisospora belli*, *Cryptosporidium spp*, *Cyclospora spp*), anguillules grâce entre autre à la coloration de Weber ou au CalcoFluor White, la technique de Baermann, et à la recherche d'autofluorescence.

L'examen parasitologique des selles au microscope présente l'avantage d'avoir un coût moins élevé que les autres techniques, notamment moléculaire, ce qui est un atout dans les pays à faibles ressources économiques. Ainsi elle est utile non seulement à visée diagnostique mais aussi à des fins épidémiologiques pour le screening de populations à risque.

De plus, elle est relativement simple à mettre en place dans un laboratoire.

Cependant plusieurs limites de cet examen sont à souligner. Tout d'abord, le problème de la sensibilité se pose. En effet, certains parasites sont parfois présents à de faibles quantités, rendant leur observation compliquée, ou présents de manière intermittente (en lien avec leur cycle de vie). De plus, il existe des espèces ayant une survie parfois limitée dans le milieu extérieur comme par exemple *Dientamoeba fragilis*.

L'œil d'un biologiste expérimenté est nécessaire pour l'analyse et l'interprétation des résultats, ce qui en fait un examen opérateur dépendant et donc un autre facteur limitant dans le diagnostic positif. Concernant l'identification et la discrimination précise de l'espèce, il est parfois difficile

de distinguer différentes espèces : c'est l'exemple d'*Entamoeba histolytica* pathogène indifférenciable microscopiquement d'*Entamoeba dispar* non pathogène.

Pour en améliorer la sensibilité, le diagnostic direct est souvent complété par d'autres techniques permettant notamment la recherche de matériel génétique, d'antigènes ou la sérologie.

b) Sérologie parasitaire

Les techniques sérologiques sont basées sur la détection d'anticorps présents ou absent du sérum du patient. Cela permet de mettre en évidence un contact, passé ou récent, entre l'hôte et le parasite grâce à la détection des différentes sous-classes d'immunoglobulines (principalement IgG, plus rarement IgM).

Un des avantages par rapport à l'examen parasitologique des selles est celui de pouvoir mettre en évidence une infection passée, impossible à voir lors de l'analyse microscopique de la selle.

Un autre avantage de la sérologie est lié directement au cycle parasitaire. En ce qui concerne les parasites intestinaux, elle est primordiale pour les parasites à cycles complexes, et les faibles charges parasitaires. Certains agents infectieux ne seront pas continuellement excrétés dans les selles de leur hôte, ou seront par exemple localisés dans les tissus. La sérologie peut donc permettre de détecter ces formes sans extérioration.

Certaines sérologies sont réservées à certains laboratoires très spécialisés, notamment celles concernant les douves asiatiques.

Parmi les facteurs limitants, nous pouvons citer le problème de la spécificité, en raison des communautés antigéniques, particulièrement chez les helminthes. Des réactions croisées peuvent être observées, survenant lorsque l'antigène reconnu par l'anticorps que l'on cherche à mettre en évidence possède une structure moléculaire proche d'un autre antigène d'un autre agent pathogène.

Une autre limite dans la sérologie est liée au statut immunitaire du patient, qui ne doit pas être perturbé afin de pouvoir fabriquer des anticorps dirigés contre les parasites.

De plus, la sérologie parasitaire permet uniquement de distinguer les patients infectés des patients non infectés mais ne préjuge pas du caractère actif ou chronique de la maladie.

De plus, aucun protozoaire intestinal n'engage une réponse immunitaire, hormis l'infection extra-intestinale d'*Entamoeba histolytica*. Ces différents points soulignent l'importance de connaître le type de pathogène, le site d'infection et le statut du patient (immunité, géographie) lors de l'interprétation d'un test sérologique positif.

Divers réactifs sont commercialisés permettant une plus grande standardisation. Dans les grandes lignes, il est nécessaire d'associer deux techniques aux qualités complémentaires en dépistage (ELISA, immunofluorescence, hemagglutination) et d'en utiliser une autre en confirmation (généralement les techniques d'immunoempreintes). Les résultats sont exprimés de différentes manières en fonction de la technique utilisée : dilution, titre, index, unité arbitraire.

c) Tests moléculaires : détection du matériel génétique

La PCR permet d'amplifier une région donnée d'un génome d'intérêt, dans le but d'identifier un agent pathogène. Elle confère une meilleure sensibilité et une meilleure spécificité par rapport à l'examen parasitologique des selles⁵⁴. A titre d'exemple, dans le cas d'une infection à *Giardia intestinalis*, la sensibilité de l'examen parasitologique des selles est de 50 à 75% (si une seule selle analysée) voire supérieure à 90% (si examen répété trois jours de suite) alors que les techniques de PCR permettent d'atteindre une sensibilité de 98%, avec une spécificité de 100%⁵⁵. Pour *Dientamoeba coli*, on retrouve une sensibilité allant de 40 à 92% avec la microscopie selon les études, et de 100% avec la PCR^{56, 57, 58}. La première étape consiste en une extraction d'ADN, à partir du prélèvement primaire. Cette extraction nécessite un protocole particulier, différent de celui utilisé pour extraire de l'ADN viral ou bactérien. En effet, les

⁵⁴ Lucas H Rijsman, Jan F Monkelbaan, et Johannes G Kusters, « Clinical Consequences of Polymerase Chain Reaction-Based Diagnosis of Intestinal Parasitic Infections: PCR-Based Diagnosis of Enteric Protozoa », *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 31, n° 11 (novembre 2016): 1808-15, <https://doi.org/10.1111/jgh.13412>.

⁵⁵ Alexander K.C. Leung et al., « Giardiasis: An Overview », *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* 13, n° 2 (4 décembre 2019): 134-43, <https://doi.org/10.2174/1872213X13666190618124901>.

⁵⁶ Adriana Calderaro et al., « Evaluation of a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of *Dientamoeba Fragilis* », *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 67, n° 3 (juillet 2010): 239-45, <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.016>.

⁵⁷ D. Stark et al., « Evaluation of Three Diagnostic Methods, Including Real-Time PCR, for Detection of *Dientamoeba Fragilis* in Stool Specimens », *Journal of Clinical Microbiology* 44, n° 1 (janvier 2006): 232-35, <https://doi.org/10.1128/JCM.44.1.232-235.2006>.

⁵⁸ D. Stark et al., « Comparison of Microscopy, Two Xenic Culture Techniques, Conventional and Real-Time PCR for the Detection of *Dientamoeba Fragilis* in Clinical Stool Samples », *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 29, n° 4 (avril 2010): 411-16, <https://doi.org/10.1007/s10096-010-0876-4>.

protozoaires et les helminthes vont avoir une meilleure structure de protection de leur matériel génétique qui peut constituer une limite à la bonne qualité de l'extrait obtenu. Il va falloir être capable de lyser les œufs, larves et les kystes afin de pouvoir libérer l'ADN parasite. Le procédé de lyse optimal est un compromis entre une désintégration efficace des parois et des cellules cibles et la préservation du matériel génétique. Ainsi, avant même l'extraction d'ADN proprement dite, une technique de lyse mécanique/chimique par FastPrep® par exemple peut être recommandée. C'est un appareil de paillasse qui utilise un mouvement angulaire vertical pour homogénéiser les échantillons par impact multidirectionnel et simultané avec des particules de matrice de lyse.

La présence d'inhibiteurs de PCR est un facteur limitant la sensibilité de cet examen, susceptible d'entraîner des faux négatifs. Ces inhibiteurs peuvent être présents naturellement de manière importante dans certains types d'échantillons (en l'occurrence les selles contiennent naturellement des sels biliaires, des complexes polysaccharidiques, des lipides, de l'urée, des glycopeptides etc.) ou lors de l'extraction d'acides nucléiques (utilisation de gants poudrés, certains détergents).⁵⁹

Les contaminations croisées entre différents extraits sont une préoccupation constante dans toute technique par PCR. Elles peuvent aboutir à des faux positifs.

Comme autres limites, nous pouvons citer son coût, qui reste relativement élevé pour des pays à ressources limitées,

En ce qui concerne les avantages des techniques par PCR, de petites quantités de matériel génétique sont suffisantes pour détecter un signal de positivité, là où la microscopie sera parfois incapable de le faire. Cependant, la répartition non homogène de certains stades parasites semble être une limite à la technique PCR. Cette raison explique pourquoi la PCR a mis du temps à apparaître dans la démarche diagnostique. Il est nécessaire d'évaluer ces nouveaux outils à grande échelle. Enfin la durée de l'analyse est plus rapide que pour l'examen microscopique, seulement quelques heures, pour passer du prélèvement primaire au résultat final.

⁵⁹ C. Schrader et al., « PCR Inhibitors - Occurrence, Properties and Removal », *Journal of Applied Microbiology* 113, n° 5 (novembre 2012): 1014-1026, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>.

Le diagnostic des parasitoses intestinales par PCR reste fondé majoritairement sur des techniques de PCR dites maison. Au cours de ces dernières années, un certain nombre de trousse commerciales ont fait leur apparition sur le marché français. Des kits de PCR multiplex existent pour détecter *Cryptosporidium*, *Giardia intestinalis* et *Entamoeba histolytica*, avec des sensibilités variables selon le parasite et le kit mais plus sensible que la microscopie. BioFire détecte un quatrième pathogène dans son panel Gastrointestinal FilmArray® : *Cyclospora belli*. Ce sont des PCR dites multiplexe, c'est-à-dire que plusieurs cibles et donc plusieurs parasites seront analysés de manière simultanée. Cela permet d'avoir une approche dite « syndromique » vis-à-vis des maladies parasitaires intestinales. Même si certains pathogènes peuvent être suspectés après l'interrogatoire et les autres examens biologiques (notion de voyage, immunodépression ...), de nombreuses situations n'orienteront pas vers une étiologie spécifique. Ainsi, les PCR multiplex vont éviter cette approche « pathogène par pathogène » et vont rechercher de manière globale un ensemble de parasites possiblement en cause dans la symptomatologie ou à visée de dépistage.

Mobidiag est une société de diagnostic moléculaire basé en Finlande. Leur nouveau kit NovoDiag® Stool Parasite possède le marquage CE depuis octobre 2019. Ce test permet la détection d'un large panel de cibles parasitaire (n = 26). A notre connaissance, c'est le premier tests diagnostic disponible sur le marché qui regroupe autant de parasites, associant helminthes et protozoaires comprenant les microsporidies. **Cette société nous a contacté afin d'évaluer les performances diagnostiques de ce test : c'est l'objet de ce travail.**

PARTIE 2 :
Matériel et Méthode

PARTIE 2 : Matériel et méthode

I. Sélection des échantillons

Pour chercher à évaluer les performances diagnostiques du Novodiag[®] Stool Parasite, nous avons recueillis des données de manières rétrospectives. Depuis l'année 2019, tous les échantillons de selles positifs pour au moins un parasite intestinal diagnostiqués au laboratoire ont été pris en compte dans notre recueil. Ce diagnostic a été établi soit par technique moléculaire (PCR routine simplex et/ou BioFire), soit par examen direct au microscope optique, soit par sérologie, soit des demandes associées à un contexte épidémiologique et clinique favorable. Nous avons également inclus des positifs en prospectif, dès lors qu'un nouveau cas positif était mis en évidence dans le cadre du diagnostic de routine du laboratoire. Une fois les patients sélectionnés, tout le panel disponible en PCR routine (Annexe 4) a été réalisé sur les échantillons : les patients sont classés dans le groupe « tests ».

Pour constituer le groupe témoin négatif de notre étude, dix échantillons de selles provenant de donneurs de greffe fécale ont été inclus. La transplantation de microbiote fécal est encadrée par des recommandations nationales émanant de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM)⁶⁰. Une sélection rigoureuse des donneurs est indispensable, elle s'effectue via un questionnaire et un entretien médical. Les patients ne doivent pas présenter de facteurs de risque d'être atteints de parasitoses intestinales (absence de voyage, personnes non migrantes, absence d'hyperéosinophilie sur le bilan biologique, absence de signes clinique évocateurs) (Annexe 5). De plus, un dépistage d'agents infectieux est réalisé dans le sang et dans les selles (Annexe 6).

Tous les échantillons ont été conservés dans des aliquots congelés à – 80°C ou alors directement à partir du pot stérile primaire dans un congélateur à – 20°C.

Le jour de l'analyse par le kit NovoDiag[®] Stool Parasite, les selles ont été décongelées pour analyse *de novo* en test PCR routine (comportant extraction d'ADN et PCR proprement dite) en parallèle au test NovoDiag[®] Stool Parasite.

Au final nous avons dix patients appartenant au groupe « témoins négatifs » et vingt-six patients appartenant au groupe « tests ».

⁶⁰ ANSM, « La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques », s. d.

II. Fonctionnement général du test NovoDiag® Stool Parasite

Novodiag® Stool Parasites est un test de diagnostic moléculaire *in vitro* qualitatif et automatisé permettant de détecter la présence de marqueurs d'acides nucléiques de trente pathogènes parasitaires et fongiques intestinaux: protozoaires, helminthes et microsporidies les plus courants dans les échantillons de selles. En combinant les technologies de PCR en temps réel et de puces à ADN, Novodiag® Stool Parasite permet l'analyse directe de l'échantillon d'un patient placé dans une cartouche à usage unique, pour un dépistage complet de pathogènes multiples. Vingt-six cibles sont analysées dans un même run. Les résultats sont exprimés de manière qualitative (positif ou négatif) pour chaque parasite. Il présente également l'avantage d'être relativement facile d'utilisation, et ne nécessite pas l'intervention d'un opérateur expérimenté.

III. Protocole d'analyse NOVODIAG® Stool Parasite

Il a été établi par le fournisseur.

Tout d'abord, la première étape consiste à prélever un échantillon de selle à l'aide d'un écouvillon. Cinq endroits différents ont été prélevés au sein d'un même échantillon, dans le but d'avoir une prise d'essai la plus homogène possible afin de pouvoir gagner en sensibilité (en raison du faible de nombre de parasites présent dans certains cas).

Ensuite, l'écouvillon a été placé dans le milieu de transport fourni puis vortexé durant une dizaine de secondes. La totalité du contenu a ensuite été transféré dans un tube stérile contenant des billes en céramique, lui aussi fourni par Novodiag® Stool Parasite, puis placé dans un automate de type FastPrep, pour une durée de 90 secondes à 7 000 tours/min.

Enfin, 600 microlitres de solution finale ont été prélevé pour être déposé directement dans la cassette Novodiag® Stool Parasite.

A noter que le jour de décongélation de la selle pour l'analyse, un échantillon a été envoyé en parallèle pour réaliser une nouvelle extraction de matériel génétique en routine. Cela a permis de s'affranchir du « biais de congélation/décongélation », et ainsi éviter un faux négatif

IV. PCR simplex routine

Un nouvel extrait d'ADN (différent de celui utilisé lors du diagnostic positif) a été obtenu pour chacune des selles passées dans le Novodiag® Stool Parasite. Les extraits d'ADN sont obtenus après un passage dans le FastPrep suivi d'une extraction NucliSens® easyMAG™ selon les recommandations du fournisseur.

Ensuite, nous avons réalisé un ensemble de PCR simplex sur ces nouveaux extraits.

L'ensemble des PCR dont nous disposons au laboratoire sont listés dans l'Annexe 4

Les systèmes PCR ainsi que le tableau de préparation des différents mix sont listés dans les Annexes 7 et 8.

V. Caractéristiques de la population test (annexe 9)

Différentes données relatives aux vingt-six patients étudiés ont pu être recensés grâce à un recueil des données clinico-biologiques sur les logiciels NextLab et Axigate.

Vingt-six patients ont fait partie de la cohorte d'étude. La répartition homme/femme était de dix-sept hommes et neuf femmes, ce qui correspond à un sex-ratio de 1.9.

Concernant les services cliniques d'origine des malades, trois proviennent du service d'accueil des urgences, dix malades ont été pris en charge par les consultations/hospitalisation de l'IHU et trois autres étaient hospitalisés en réanimation/soins intensifs. Parmi les autres services cliniques, les patients étaient admis en chirurgie pédiatrique (n= 1), en hématologie pédiatrique (n= 1), en gériatrie (n= 1), en neurologie (n= 1), en chirurgie générale (n= 2), en unité COVID-19 (n= 2). Deux patients provenaient d'un établissement extérieur à l'Assistance publique des hôpitaux de Marseille (AP-HM).

Cliniquement, neuf personnes ont présenté un tableau de diarrhées, quatre ont présenté des symptômes de type nausées et/ou vomissements.

Aucune information clinique n'a pu être récupérée pour six personnes.

Concernant le statut immunodépression, cinq patients sont immunodéprimés: quatre transplantés (3 transplantations rénale et 1 transplantation hépatique) et un patient au stade sida. Seize patients sont sans immunodépression et cinq pour lesquels les données sont manquantes.

En ce qui concerne le reste du bilan biologique, sept présentaient une hyperéosinophilie (de $0.7-1.9 \times 10^9$ G/L), treize absence d'hyperéosinophilie, six données manquantes.

La notion de pays d'origine, de retour de voyage a systématiquement été recherchée dans le recueil de données. Seize patients n'ont pas de notion de voyage dans leur dossier.

Trois personnes ont une histoire de voyage, le patient 11 au Laos, le patient 31 au Soudan et le patient 33 en Angola.

Quatre personnes expatriées, le patient 18 originaire de Bosnie, le patient 19 originaire des Comores, le patient 22 originaire d'Algérie et le patient 32 originaire de Thaïlande ont été inclus dans l'étude.

Deux patients sont originaires d'Outre-Mer (patient 17 et patient 30).

Le patient 13 est un migrant provenant d'Ethiopie, arrivé en France en 2017 après un passage par le Soudan, la Libye et l'Italie.

PARTIE 3 :

Résultats

PARTIE 3 : Résultats

Au final trente-six échantillons ont été analysés par PCR multiplex NovoDiag® Stool Parasite, dix témoins négatifs et vingt-six patients tests.

Les résultats par parasites recherchés par le système NovoDiag® sont détaillés individuellement ci-dessous et résumé dans le tableau 2.

I. Ascaris lumbricoides

Une selle positive à *Ascaris lumbricoides*, après examen direct microscopique a été incluse dans notre étude, correspondant au patient 18. La PCR NovoDiag® Stool Parasite a confirmé le résultat obtenu, tout comme notre PCR routine. L'histoire clinique est celle d'un enfant de 3 ans originaire de Bosnie adressé aux Urgences de la Timone, car sa maman a retiré un ver blanc rosé de la narine gauche. Les EPS ultérieures ont mis en évidence les œufs d'*A. lumbricoïdes*.

II. Blastocystis spp.

Au total, trois échantillons positifs (patients 19, 26 et 27) ont été retenus après examen parasitologique des selles. Ces trois échantillons ont été confirmés positifs par le NovoDiag® Stool Parasite.

Sur nos trente-six échantillons le NovoDiag® Stool Parasite est revenu positif à *Blastocystis spp.*, pour quatorze patients dont deux du groupe témoins négatifs. Parmi ces positifs (n=14), nous retrouvons sept cas de co-infection : *Dientamoeba fragilis* (n=5), *Giardia intestinalis* (n=1), et un à *Taenia saginata/asiatica* ET à *Schistosoma mansoni*.

Tous les patients positifs à *Blastocystis spp.* au NovoDiag® Stool Parasite (n = 14) ont été confirmés positifs par notre PCR routine.

III. Cryptosporidium spp

Nous n'avons qu'un seul patient positif à *Cryptosporidium spp* (confirmation de l'espèce : *C. parvum*) par PCR routine, qui a été retrouvé positif par le NovoDiag® Stool Parasite (patient 24). Ce cas correspond à un patient au stade sida (250 CD4/mm³) qui avait présenté des diarrhées profuses.

IV. *Entamoeba histolytica*

En ce qui concerne *E. histolytica*, les résultats sont plus contrastés.

Cinq échantillons positifs par PCR routine ont été inclus (patients 14,21, 32, 33,34). Parmi eux, quatre étaient également positifs à l'examen direct, avec présence de formes kystiques pour les trois échantillons, et présence de formes kystique et végétative pour un échantillon (patient 14). Seul l'échantillon 32 avait un examen direct négatif, le diagnostic avait été réalisé par la PCR routine.

Aucun de ces cinq échantillons n'a été confirmé par le kit NovoDiag® Stool Parasite. La PCR routine réalisée sur le nouvel extrait d'ADN contemporain au test NovoDiag® Stool Parasite est bien revenue positive pour les cinq échantillons. Nous pouvons écarter la cause d'une mauvaise conservation de l'échantillon.

Pour les patients 14, 32, 33 et 34, *Blastocystis spp* a été détecté par le kit NovoDiag® Stool Parasite et confirmé par notre PCR routine. L'examen direct était négatif.

Les patients 32 et 33 ont été rendu positifs à *Dientamoeba fragilis* par le kit NovoDiag® Stool Parasite et également confirmé par notre PCR routine. L'examen direct était négatif.

V. *Microsporidies /Enterocytozoon bienewisi*

Un échantillon positif par PCR routine a été retrouvé par le NovoDiag® Stool Parasite (patient 28). Ce cas correspond à un patient greffé rénal qui avait présenté des diarrhées liquidiennes persistantes sans autres étiologies retrouvées.

VI. *Giardia intestinalis*

Huit prélèvements ont été inclus. Quatre ont été diagnostiqués par PCR routine et quatre par PCR multiplex par le kit Gastrointestinal Panel FilmArray® du BioFire. L'EPS a pu être réalisé sur sept de ces échantillons : six étaient positifs (kystes ± formes végétatives), dont un cas de co-infection avec *blastocystis spp*. L'examen direct négatif (patient 31) : la PCR routine était positive tardivement, pouvant expliquer l'examen direct négatif.

Après analyse dans le NovoDiag® Stool Parasite, sept échantillons sur huit ont détectés la présence de *Giardia intestinalis*. Le négatif NovoDiag® Stool Parasite correspond au patient 19 avec un examen direct et un Gastrointestinal Panel FilmArray® BioFire positifs.

VII. *Schistosoma mansoni*

Un cas de *Schistosoma mansoni* a été inclus dans l'étude, après un examen direct positif et confirmé par notre PCR routine (patient 13). Ce patient migrant est originaire d'Ethiopie, arrivé en France en 2017 après un passage par le Soudan et la Libye. Il présentait des douleurs épigastriques et une légère hyperéosinophilie (0.84 Giga/L).

Cet échantillon était positif avec le NovoDiag® Stool Parasite

VIII. *Schistosoma spp*

Aucun patient inclus ne présentait d'infection à *Schistosoma* autre que *S. mansoni*. Le patient 22 est revenu positif en NovoDiag® Stool Parasite pour cette cible. Ce patient présentait un kyste hydatique hépatique pour lequel la ponction à visée thérapeutique avait ramené un liquide avec la présence de scolex typique d'*Echinococcus granulosus*, confirmé par la PCR routine. Nous l'avions inclus pour tester une éventuelle réaction croisée.

IX. *Strongyloides stercoralis*

Deux cas de *Strongyloides stercoralis* ont été inclus dans l'étude sur une PCR routine positive (patients 17 et 30). Ces deux échantillons sont sortis négatif au NovoDiag® Stool Parasite. Pour l'un des deux, uniquement *Blastocystis hominis* a été retrouvé.

Les deux prélèvements positifs au moment du diagnostic ont été retrouvés positif par PCR routine sur le nouvel extrait d'ADN.

Ces deux patients avaient également une sérologie anguillulose positive

X. *Taenia saginata*

Un cas de *Taenia saginata* a été inclus après visualisation d'œufs et d'anneaux sur l'examen direct des selles et une PCR routine positive. Cet échantillon a été confirmé par le NovoDiag® Stool Parasite *Taenia saginata/Taenia asiatica*.

XI. *Dientamoeba fragilis*

Le diagnostic a été réalisé uniquement par PCR routine. Six patients (17, 25, 26, 27, 32, 33) ont été inclus. Cinq patients sont positifs en NovoDiag® Stool Parasite, excepté le patient 17.

XII. *Hymenolepis nana*

La PCR routine n'est pas disponible pour ce parasite. Un cas positif a été trouvé en NovoDiag® Stool Parasite (patient 18). Ce patient, pour rappel, est l'enfant d'origine bosniaque adressé pour diagnostic ascaridiose. Une étude conduite en Slovaquie a évalué la prévalence d'*H. nana*, et la différence entre la population roms et non-roms. La prévalence globale est estimée à 0.94% mais avec un odds ratio en faveur d'une infection à helminthe 52 fois supérieur dans la population roms⁶¹.

L'examen direct n'a pu être repris car les prélèvements ont été congelés.

XIII. *Autres parasites du kit NovoDiag® Stool Parasite*

Pour les parasites suivants : *Ancylostoma duodenale*, *Balantidium coli*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis spp*, *Metorchis spp*, *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli*, *Diphyllobothrium latum/nihonkaiense*, *Encephalitozoon spp*, *Enterobius vermicularis*, *Fasciola spp*, *Fasciolopsis buski*, *Necator americanus*, *Taenia solium*, *Trichuris spp*. nous n'avons eu aucun échantillon positif à inclure dans notre étude et aucun n'est revenu positif *de novo* en NovoDiag® Stool Parasite.

XIV. *Cas particuliers*

Certains patients ont été inclus dans l'étude sur la base de données épidémiologique et clinique, sans avoir eu au préalable de pathogènes mis en évidence par nos analyses de routine.

Le patient 11, avait une histoire de voyage fréquent au Laos : il présentait un bilan hépatique perturbé. Des cristaux de Charcot-Leyden ont été visualisés à l'examen direct des selles. Ces cristaux correspondent à une cristallisation des produits de dégradation des polynucléaires neutrophiles et peuvent être présent au cours des infections par les helminthes. Au final le test NovoDiag® Stool Parasite n'a pas pu retrouver l'implication d'un pathogène comme nos résultats de routine (microscopie et PCR routine)

Le patient 29 est âgé de 8 mois au moment du prélèvement, il est hospitalisé en hématologie pédiatrique pour greffe de moelle osseuse. Aucun pathogène n'a été détecté par le kit NovoDiag® Stool Parasite. Adressé au laboratoire pour abcès au niveau de la marge anal avec sang dans les selles.

⁶¹ Jana Pipiková et al., « Occurrence of the Most Common Helminth Infections among Children in the Eastern Slovak Republic », *Public Health* 150 (septembre 2017): 71-76, <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2017.05.011>.

XV. Témoins négatifs (groupe contrôle)

Dix échantillons ont été retenus dans notre étude comme témoins négatifs. Sept d'entre eux ont bien été négatifs après analyse par le test NovoDiag® Stool Parasite. Pour un patient, nous n'avons pas de résultat disponible en raison d'une erreur du contrôle interne ne validant pas le test. Enfin pour deux échantillons, un *Blastocystis* spp. a été retrouvé. Concernant le groupe des témoins négatifs aucun examen direct n'a pu être réalisé puisque les échantillons sont conservés congelés et seules les PCR sont réalisées en routine.

XVI. Résultats invalides

Au total, deux échantillons sont revenus invalides (5.5%). Ce phénomène aléatoire concerne environ 5% des prélèvements d'après le fournisseur. Il pourrait être lié à la présence d'un inhibiteur de PCR au sein de l'échantillon. Ainsi, après deux passages consécutifs et deux résultats « INVALIDE », il est recommandé de réaliser une dilution de la selle pour tenter de supprimer au maximum cet effet inhibiteur. Le premier échantillon « INVALIDE » correspond au patient 21. Il n'est plus ressortie « INVALIDE » lors de la repasse, éliminant l'hypothèse de la présence d'inhibiteurs de PCR dans nos échantillons.

Le deuxième échantillon « INVALIDE » correspond à un témoin négatif. Après une réanalyse, il est de nouveau sorti « INVALIDE ».

Ces résultats invalides pourraient être liés à un souci au niveau du contrôle interne.

Parasites	Nombre de positifs sur 36 échantillons			
	Examen direct	PCR routine	PCR du Gastrointestinal Panel FilmArray® BioFire	Novodiag® Stool Parasite
<i>Ascaris lumbricoïdes</i>	1	1	ND	1
<i>Blastocystis</i> spp	3	14	ND	14
<i>Cryptosporidium</i> spp	0	1	0	1
<i>Dientamoeba fragilis</i>	0	6	ND	5
<i>Entamoeba histolytica</i>	4	5	0	0
<i>Enterocytozoon bienewisi</i>	0	1	ND	1
<i>Giardia intestinalis</i>	6	4	4	7
<i>Schistosoma mansoni</i>	1	1	ND	1
<i>Schistosoma</i> spp.	0	0	ND	1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	2	ND	0
<i>Taenia saginata</i>	1	1	ND	1

ND : non disponible dans le panel.

Tableau 2 : Synthèse des résultats obtenus après analyse par le kit NovoDiag® Stool Parasite

PARTIE 4 :

Discussion

PARTIE 4 : Discussion

L'objectif initial de notre travail était d'évaluer la méthode diagnostique NovoDiag[®] Stool Parasite dans le but de l'intégrer pleinement dans notre pratique quotidienne. En effet, ce nouveau kit diagnostic permettrait de gagner du temps au niveau de la technique des examens parasitologique des selles et ainsi pouvoir rendre les résultats de manière plus rapide, environ 1 heure et demie et de façon plus exhaustive. En termes de sensibilité et spécificité diagnostique, il est nécessaire que le test NovoDiag[®] Stool Parasite soit au moins aussi performant que les techniques par PCR simplex dont nous disposons en routine. De plus, de la même manière que les techniques moléculaires déjà évaluée, ce kit pourrait présenter l'avantage de gagner en sensibilité par rapport à l'examen parasitologique des selles par microscopie. De nombreux évènements à travers le monde conduisent à des flux de population important. Nous pouvons citer par exemple les conflits internationaux, qui font l'actualité en ce moment, mais également les changements climatiques ou même le tourisme. Toutes ces situations entraînant des mouvements de population nous obligent à orienter nos tests diagnostiques vers une recherche plus large. Une approche syndromique par kit diagnostic multiplexé nous permet donc de couvrir de nombreux pathogène en un seul test.

Dans notre étude, nous avons inclus vingt-six patients et dix patients négatifs. Notre cohorte est assez faible, et certains pathogènes présent dans le kit diagnostic n'ont pu être testés faute de patients éligibles. Plusieurs parasites, en particulier les « helminthes » venus d'Asie, ont une prévalence très faible parmi les patients suivis à l'AP-HM. Un axe de progression à envisager pourrait être de regrouper les différentes études réalisées au niveau national en étude multicentrique afin d'augmenter le nombre d'échantillons évaluer et d'augmenter la puissance d'évaluation du test NovoDiag[®] Stool Parasite.

L'un des premiers points faibles du kit NovoDiag[®] Stool Parasite est d'exprimer ses résultats uniquement de manière qualitative (positif ou négatif) et de ne pas pouvoir avoir accès à des valeurs quantitatives. Ce problème est rencontré pour tous les kits multiplexe proposés au diagnostic en microbiologie. Il n'est donc pas possible d'avoir une idée de la charge parasitaire dans le prélèvement. Avec les PCR simplex en temps réel, il est possible d'évaluer la qualité de l'amplification par visualisation des courbes de fluorescence: les résultats douteux peuvent donc être reconstrôler à partir de l'ADN extrait. Cette visualisation n'est pas possible avec le kit NovoDiag[®] Stool Parasite. Il n'est pas non plus possible de conserver l'ADN extrait. Cela peut constituer un problème si l'on souhaite effectuer d'autres analyses moléculaires

comprenant le séquençage ou le typage par exemple. Cette situation peut notamment se produire si l'on souhaite typer un *Cryptosporidium* spp ou alors si l'on désire réaliser d'autres PCR simplex, non présentes dans le kit.

Les résultats très décevants pour *Entamoeba histolytica* posent un vrai problème diagnostic, de par la fréquence relative de l'amibiase et sa potentielle gravité. En effet, *E. histolytica* est le protozoaire le plus fréquent à travers le monde, avec 500 millions de cas. Il est également responsable de 100 000 décès chaque année. Le diagnostic d'une amibiase colique est primordial chez les patients présentant des symptômes dysentériques mais aussi chez les porteurs asymptomatiques. Cette phase colique peut malheureusement évoluer vers la forme compliquée tissulaire.

Nous avons essayé de comprendre les mécanismes pouvant expliquer ces mauvais résultats, d'autant plus que la société MobiDiag nous rapporte de bonnes données concernant la sensibilité d'*Entamoeba histolytica*. Tout d'abord, l'hypothèse d'une mauvaise extraction a été avancée. NovoDiag® Stool Parasite est une technique entièrement fermée, depuis l'extraction jusqu'à l'obtention des résultats. Il n'est donc pas possible pour nous de contrôler l'étape d'extraction. Si l'on s'intéresse aux autres protozoaires inclus dans notre étude, notamment *Giardia intestinalis*, les résultats étaient plutôt convaincants. Cependant il est connu que certains protozoaires sous leurs formes kystiques n'ont pas la même facilité à être détruit au cours de l'étape d'extraction du matériel génétique. Pourtant dans notre activité de routine, c'est avec le parasite *G. intestinalis* que nous avons le plus souvent des problèmes d'extraction. De plus le patient 14 présentait des formes végétatives, et le NovoDiag® Stool Parasite était négatif. Ce cas peut exclure un problème d'extraction lié à la paroi des kystes. Nous avons également analysé une deuxième fois par le NovoDiag® Stool Parasite le patient 14 et le patient 34, qui sont une nouvelle fois revenus négatifs.

Une autre explication pourrait donc se trouver au moment de l'étape d'hybridation. En effet, il est possible que les sondes designées par la société Mobidiag ne soient pas capables de s'hybrider correctement à *Entamoeba histolytica*. Il est nécessaire pour le fournisseur de corriger leurs amorces afin de remédier à cette situation inacceptable pour un laboratoire d'infectiologie.

Gastrointestinal Panel FilmArray® est un autre kit diagnostic comprenant entre autre *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*. Lorsque l'on regarde les publications concernant la sensibilité et la spécificité d'*Entamoeba histolytica*, peu de données sont disponibles. En effet, cinq études étudiant la sensibilité globale du Gastrointestinal Panel FilmArray® n'ont pas

eu d'échantillons positif à *E. histolytica* à inclure^{62, 63, 64, 65, 66}, ou alors un seul positif dans leur cohorte de 462 selles⁶⁷.

Ce problème s'est également présenté lors d'un travail réalisé au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de Toulouse dans le cadre d'une soutenance de thèse⁶⁸. Quatre selles étaient positives à *Entamoeba histolytica* avec un système PCR commercialisé, l'Amplidiag[®] Stool Parasites. Parmi elles, 2 selles correspondant aux charges parasitaires les plus fortes (et dont une présentait des kystes d'*Entamoeba histolytica/dispar* à l'examen direct), ont été correctement détectées en Novodiag[®] Stool Parasites. Les 2 autres selles avec une charge parasitaire moins élevées n'ont pas été détectées sur Novodiag[®] Stool Parasites. Elles étaient, par ailleurs, aussi négatives en microscopie : soit une sensibilité de 50%. A la différence de cette étude, soulignons que dans notre étude, le Novodiag[®] Stool Parasites a été négatif pour 4 selles bien que l'examen direct soit positif. Les PCR routine *Entamoeba histolytica* pour les 5 échantillons positifs avaient un CT compris entre 27 et 35, le 35ct correspondant à l'examen direct négatif.

Nous avons regardé les données de sensibilité et de spécificité d'autres kits commerciaux disponibles. La comparaison entre le kit NovoDiag[®] Stool Parasite et les autres kits n'est pas possible pour les helminthes (absence de kits disponibles). En revanche, nous avons pu trouver les données pour des kits détectant des protozoaires.

⁶² Sarah N. Buss et al., « Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel for Etiologic Diagnosis of Infectious Gastroenteritis », éd. par C.-A. D. Burnham, *Journal of Clinical Microbiology* 53, n° 3 (mars 2015): 915-925, <https://doi.org/10.1128/JCM.02674-14>.

⁶³ Julian D. Machiels et al., « Impact of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel on Patient Care and Infection Control », éd. par Adriana Calderaro, *PLOS ONE* 15, n° 2 (6 février 2020): e0228596, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228596>.

⁶⁴ Zhifei Zhan et al., « Comparison of BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel versus Luminex XTAG Gastrointestinal Pathogen Panel (XTAG GPP) for Diarrheal Pathogen Detection in China », *International Journal of Infectious Diseases* 99 (octobre 2020): 414-420, <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.08.020>.

⁶⁵ Stacy G. Beal et al., « A Gastrointestinal PCR Panel Improves Clinical Management and Lowers Health Care Costs », éd. par Michael J. Loeffelholz, *Journal of Clinical Microbiology* 56, n° 1 (janvier 2018), <https://doi.org/10.1128/JCM.01457-17>.

⁶⁶ Melissa O'Neal et al., « Evaluating Appropriateness and Diagnostic Stewardship Opportunities of Multiplex Polymerase Chain Reaction Gastrointestinal Testing within a Hospital System », *Therapeutic Advances in Infectious Disease* 7 (janvier 2020): 204993612095956, <https://doi.org/10.1177/2049936120959561>.

⁶⁷ Jingyun Zhang et al., « Evaluation of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel and Real-Time Polymerase Chain Reaction Assays for the Detection of Major Diarrheagenic Pathogens by a Multicenter Diarrheal Disease Surveillance Program in China », *Foodborne Pathogens and Disease* 16, n° 11 (1 novembre 2019): 788-798, <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2642>.

⁶⁸ Florie Barba, « Evaluation des performances du kit Novodiag(r) Stool Parasites dans la détection des protozoaires intestinaux au sein du service de Parasitologie-Mycologie du CHU de Toulouse », 2020.

Une première étude espagnole publiée en 2019 par Paulos et al.⁶⁹ vise à comparer les performances diagnostiques de quatre kits commerciaux pour la détection de protozoaires par des PCR multiplexé. Ils ont analysé de manière rétrospective 126 échantillons caractérisé par PCR : *Cryptosporidium hominis* (n = 29), *Cryptosporidium parvum* (n = 3), *Giardia duodenalis* (n = 47), *Entamoeba histolytica* (n = 3), autres parasites (n = 20) et non malades (n = 24). Gastroenteritis/Parasite Panel I (Diagenode) est un kit commercial comprenant *G. intestinalis*, *E. histolytica* et *Cryptosporidium spp.* La sensibilité est de 75% pour *Cryptosporidium spp.*, de 68.1% pour *Giardia intestinalis* et pas de positifs pour *E. histolytica* sur trois échantillons analysés. Le deuxième kit évalué est : RIDA[®]GENE Parasitic Stool Panel (R-Biopharm). Il comprend *G. intestinalis*, *E. histolytica*, *Cryptosporidium spp* et *D. fragilis*. La sensibilité est de 87.5% pour *Cryptosporidium spp.*, de 78.7% pour *Giardia intestinalis* et 66.7% pour *E. histolytica*. Le troisième kit évalué est : Allplex Gastrointestinal Parasite Panel 4 (Seegene). Il comprend *Blastocystis hominis*, *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis*, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica* et *Giardia intestinalis*. La sensibilité est de 78.1% pour *Cryptosporidium spp.*, de 91.5% pour *Giardia intestinalis*.et 100% pour *E. histolytica*. Le dernier kit évalué est : FTD Stool Parasites (Fast Track). Il comprend *G. intestinalis*, *E. histolytica* et *Cryptosporidium spp*. La sensibilité est de 53.1% pour *Cryptosporidium spp*, de 100% pour *Giardia intestinalis*.et 66.7% pour *E. histolytica*.

Une deuxième étude rennaise publiée en 2018 par Autier et al⁷⁰. a évalué la sensibilité de trois kit commerciaux pour le diagnostic de protozoaires intestinaux. 90 échantillons de selles positifs par microscopies ont été inclus. Le premier kit évalué est : BD MAX[™] Enteric Parasite Panel. Il comprend *G. intestinalis*, *E. histolytica* et *Cryptosporidium spp*. Pour *G. intestinalis*, la sensibilité est de 89% (39/44). Pour *Cryptosporidium spp*. la sensibilité est de 55% (6/11). Le deuxième kit évalué est : RIDA[®]GENE Parasitic Stool Panel (R-Biopharm). Pour *G. intestinalis*, la sensibilité est de 41% (18/44). Pour *Cryptosporidium spp*. la sensibilité est de 100% (11/11). Pour *D. fragilis*, la sensibilité est de 71% (20/28). Gastroenteritis/Parasite Panel I (Diagenode) est le troisième kit évalué. Pour *G. intestinalis*, la sensibilité est de 64% (28/44). Pour *Cryptosporidium spp*. la sensibilité est de 73% (8/11) La sensibilité pour *E. histolytica*

⁶⁹ Silvia Paulos et al., « Comparative Performance Evaluation of Four Commercial Multiplex Real-Time PCR Assays for the Detection of the Diarrhoea-Causing Protozoa *Cryptosporidium Hominis/Parvum*, *Giardia Duodenalis* and *Entamoeba Histolytica* », éd. par Rodney D. Adam, *PLOS ONE* 14, n° 4 (8 avril 2019): e0215068, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215068>.

⁷⁰ Brice Autier et al., « Comparison of three commercial multiplex PCR assays for the diagnosis of intestinal protozoa », *Parasite* 25 (2018): 48, <https://doi.org/10.1051/parasite/2018049>.

n'ont pu être déterminé pour aucun des trois kits BD MAX™ Enteric Parasite Panel, RIDA®GENE Parasitic Stool et Gastroenteritis/Parasite Panel I (Diagenode) car les auteurs ont comparé uniquement avec des positifs en microscopie, sans avoir la certitude de l'espèce d'*Entamoeba dispar / histolytica*.

Une troisième étude publiée en 2019 par Jaeun et al⁷¹. a identifié 275 selles positives sur 858 et a étudié la sensibilité de trois kits commerciaux (Allplex Gastrointestinal Parasite Panel 4, Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel et BD MAX™ Enteric Parasite Panel). Malheureusement, un seul parasite (*Cryptosporidium*) a été retrouvé sur l'ensemble des échantillons.

Au final, la synthèse de ces études montre une sensibilité des kits PCR commercialisés pour *E. histolytica* multiplexé à d'autres protozoaires variant de 0% à 66.7%.

Strongyloides stercoralis est l'autre parasite avec des résultats peu probants. Le fournisseur rapporte déjà une sensibilité médiocre d'environ 70% lors de leur phase de test. De notre côté, aucun des deux patients testés positifs en routine n'ont pu être confirmés par NovoDiag® Stool Parasite. Pour rappel, les deux patients inclus dans notre étude (patient 17 et patient 30) avaient également une sérologie anguillule positive. Ils étaient tous les deux originaire d'Outre-Mer et n'étaient pas immunodéprimé. Si une infection à *Strongyloides stercoralis* n'est pas correctement dépistée, cela peut avoir de graves conséquences cliniques. En effet, lorsqu'un patient est immunodéprimé (cancer, VIH) ou est à risque de le devenir (administration de corticoïdes), il est absolument crucial de dépister cette infection afin de pouvoir initier un traitement par Ivermectine pour éviter une dissémination de l'infection avec un pronostic sombre (mortalité de 60 à 85%)⁷². Même chez l'immunocompétent il est important de pouvoir diagnostiquer cette infection car elles entraînent des troubles digestifs chroniques et des hyperéosinophilies fluctuantes avec les risques d'effets secondaires associés, ainsi que des troubles cutanés récidivants.

Pour le patient 22 de notre étude, des scolex ont été visualisés à l'examen parasitologie par microscopie du liquide de ponction et la PCR unitaire retrouve un *Echinococcus granulosus*.

⁷¹ Jaeun Yoo et al., « Comparative Evaluation of Seegene Allplex Gastrointestinal, Luminex XTAG Gastrointestinal Pathogen Panel, and BD MAX Enteric Assays for Detection of Gastrointestinal Pathogens in Clinical Stool Specimens », *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 143, n° 8 (1 août 2019): 999-1005, <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0002-OA>.

⁷² Claire Vilain, « Évolution des anguilluloses malignes après traitement triphasé par rapport au traitement antiparasitaire classique », 2015.

Lors de l'analyse de cet échantillon par le NovoDiag[®] Stool Parasite, un *Schistosoma spp.* a été mis en évidence. Nous avons inclus ce patient dans notre étude, même si *Echinococcus granulosus* ne fait pas partie des parasites intestinaux, afin de tester la présence d'éventuelles réactions croisées entre différentes espèces. Ce résultat peut néanmoins être surprenant, étant donné que *Echinococcus granulosus* est un nématode alors que *Schistosoma spp.* est un trématode. L'hypothèse selon laquelle une rupture de kyste d'*Echinococcus spp.* pourrait entraîner des résultats faussement positifs dans les selles mérite d'être étudiée de manière plus approfondie.

Le patient 17 présente une sérologie anguillule positive associée à la présence de *Strongyloides stercoralis* et *Dientamoeba fragilis* dans les selles mis en évidence par notre PCR routine. Cependant, le kit NovoDiag[®] Stool Parasite n'a détecté aucun de ces deux pathogènes. *Dientamoeba fragilis* a été positif au NovoDiag[®] Stool Parasite pour le reste des échantillons (n = 5). Cette donnée nous permet d'écarter un problème au niveau de l'amorce de *Dientamoeba fragilis*. Ce faux négatif est donc probablement dû à la présence d'inhibiteurs de PCR au sein de cet échantillon.

Concernant *Blastocystis spp.*, un nombre important (n= 14) a été retrouvé dans notre étude, et correspond à une prévalence de 39%. Celle-ci est en accord avec la prévalence retrouvée dans les pays à ressources limitées. Son rôle pathogène est encore mal compris. Fait-il uniquement partie de la flore commensale intestinale ? Est-il un marqueur de dysbiose ? Ou bien est-il réellement responsable de symptômes cliniques ? Certaines études suggèrent que *Blastocystis spp.* est pathogène^{73, 74}, voire même lié au syndrome de l'intestin irritable^{75, 76, 77}. Des études *in vitro* ont également mis en évidence des souches et des facteurs de virulence (notamment des

⁷³ Anita Bálint et al., « Do Not Forget the Stool Examination!—Cutaneous and Gastrointestinal Manifestations of Blastocystis Sp. Infection », *Parasitology Research* 113, n° 4 (avril 2014): 1585-1590, <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3805-0>.

⁷⁴ Hala K. El Deeb et Seham Khodeer, « Blastocystis Spp.: Frequency and Subtype Distribution in Iron Deficiency Anemic Versus Non-Anemic Subjects from Egypt », *Journal of Parasitology* 99, n° 4 (août 2013): 599-602, <https://doi.org/10.1645/12-80.1>.

⁷⁵ Susana Cifre et al., « Blastocystis Subtypes and Their Association with Irritable Bowel Syndrome », *Medical Hypotheses* 116 (juillet 2018): 4-9, <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.04.006>.

⁷⁶ Vinoth Kumarasamy et al., « Blastocystis Sp., Parasite Associated with Gastrointestinal Disorders: An Overview of Its Pathogenesis, Immune Modulation and Therapeutic Strategies », *Current Pharmaceutical Design* 24, n° 27 (3 décembre 2018): 3172-3175, <https://doi.org/10.2174/1381612824666180807101536>.

⁷⁷ Doina S. Matiut et Lucian Hritcu, « The pathogenic role of Blastocystis isolated from patients with irritable bowel syndrome and colitis from Iasi, Romania », *Acta Parasitologica* 60, n° 1 (1 janvier 2014), <https://doi.org/10.1515/ap-2015-0015>.

protéases), ce qui pourrait suggérer un rôle dans la pathologie⁷⁸. D'autres auteurs ne concluent pas à une corrélation entre la symptomatologie et la présence de *Blastocystis spp.* dans les prélèvements⁷⁹ ; ⁸⁰. De plus, ce protozoaire est présent dans des cas où le patient est totalement asymptomatique. *Blastocystis spp.* est lié au péril fécal et pourrait témoigner d'un non accès à de bonnes conditions sanitaires. Cette hypothèse est confortée par le fait que *Blastocystis spp.* soit présent avec d'autres parasites dont la pathogénicité est reconnue. Dans notre étude, il y a sept cas de co-infection (cinq à *D. fragilis*, un à *G. intestinalis* et un à *T. saginata* et *S. mansoni*). Il semblerait que *Blastocystis spp.* puisse coloniser un grand nombre d'individu et que certaines conditions soient remplies comme par exemple la virulence de la souche, l'état immunitaire du patient, pour qu'il possède un potentiel infectant. ⁸¹

En l'état actuel de ce travail, il n'est pas envisageable d'utiliser le kit NovoDiag® Stool Parasite en routine. Notre volonté est de pouvoir offrir un diagnostic fiable et le plus exhaustif possible concernant les parasitoses intestinales grâce à une approche syndromique. Cette promesse n'est pas tenue pour *Entamoeba histolytica* et *Strongyloides stercoralis*, tout en sachant que nos techniques de dépistage utilisées en routine (PCR unitaire pour *Entamoeba histolytica* et sérologie et PCR unitaire pour *Strongyloides stercoralis*) se révèlent efficaces.

⁷⁸ El Deeb et Khodeer, « *Blastocystis Spp.* »

⁷⁹ Leder et al., « No Correlation between Clinical Symptoms and Blastocystis Hominis in Immunocompetent Individuals ».

⁸⁰ Tungtrongchitr et al., « Blastocystis Hominis Infection in Irritable Bowel Syndrome Patients ».

⁸¹ Özgür Kurt, Funda Doğruman Al, et Mehmet Tanyüksel, « Eradication of Blastocystis in Humans: Really Necessary for All? », *Parasitology International* 65, n° 6 (décembre 2016): 797-801, <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.01.010>.

Conclusion

L'objectif de notre travail a été d'évaluer une nouvelle méthode diagnostique récemment commercialisée : le kit NovoDiag® Stool Parasite. Il s'agit d'une PCR multiplex regroupant vingt-six cibles moléculaires correspondant à trente parasites intestinaux.

Trente-six échantillons de selles ont été inclus, correspondant à vingt-six patients et dix témoins négatifs.

Le kit NovoDiag® Stool parasite a montré une excellente sensibilité (100%) pour les pathogènes suivants : *Ascaris lumbricoides*, *Blastocystis spp*, *Cryptosporidium spp*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Schistosoma mansoni* et *Taenia saginata* et une bonne sensibilité pour *Giardia intestinalis* (87.5%).

Concernant les *Entamoeba histolytica*, les résultats sont très décevants. Aucuns des échantillons positifs pour cette amibe n'a pu être confirmé par le kit NovoDiag® Stool Parasite.

Strongyloides stercoralis est l'autre parasite avec des résultats peu probants, puisqu'aucun des deux échantillons positifs analysés n'ont été confirmés par le kit NovoDiag® Stool Parasite.

Echelle de Bristol

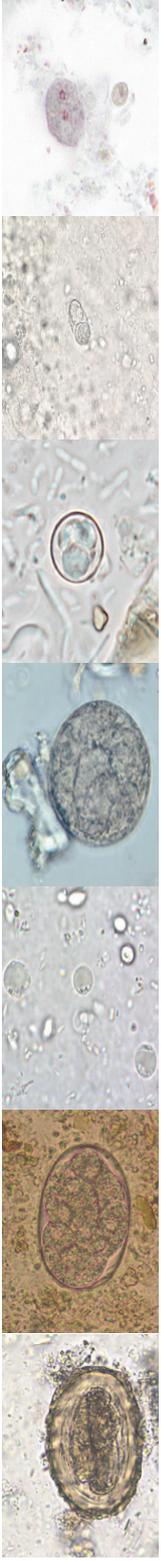
Type 1		Selles dures et morcelées (en billes) d'évacuation difficile
Type 2		Selles dures, moulées en saucisse et bosselées
Type 3		Selles dures, moulées en saucisse, à surface craquelée
Type 4		Selles molles mais moulées, en saucisse (ou serpentín)
Type 5		Selles molles morcelées, à bords nets et d'évacuation facile
Type 6		Selles molles morcelées, à bords déchiquetés
Type 7		Selles totalement liquides

Heaton KW, Radvan J, Cripps H et al. Defecation frequency and timing, and stool form in the general population: a prospective study. *Gut*. 1992 Jun;33(6):818-24.

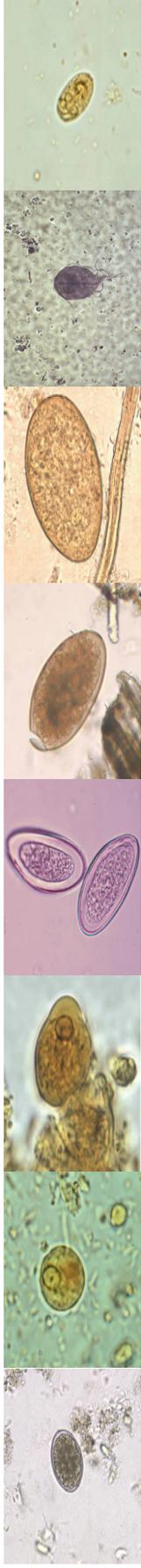
Annexe 1 Echelle de Bristol



*Annexe 2 Signe Larva currens (Source : Dermatology Atlas,
<http://www.atlasdermatologico.com.br/>)*



De gauche à droite, Œufs d'*A. lumbricoides* (source : CDC), d'*A. duodenale* (source : Researchgate), *Blastocystis spp*, Kystes de *B. coli*, *C. cayetanensis*, *C. belli*, *D. fragilis* (forme trophozoïte coloré au MGG), (source : CDC)



De gauche à droite : Œufs de *D. latum* Kystes d'*E. histolytica*, *E. histolytica*, forme végétative, Œufs d'*E. vermicularis*, Œufs de *F. hepatica*, Œufs de *F. bukkii*, *G. intestinalis*, forme trophozoïte, *G. intestinalis*, forme kystique (source : CDC)



De gauche à droite : Œuf embryonné d'*E. vermicularis*, Ver *E. vermicularis* Œufs d'*H.nana* Œufs de *S.mansoni* Larves strongyloïde de *S.stercoralis* Larves rhabditoïde de *S. stercoralis* Œufs de taenia spp Œufs de *T. trichura* (source : CDC)

Annexe 3 : Exemples de parasites sur l'examen parasitologique des selles

PCR du panel routine	PCR du Gastrointestinal Panel FilmArray® BioFire	PCR du kit NovoDiag® Stool Parasite
<i>Ancylostoma duodenale</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Cryptosporidium spp</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Encephalitozoon intestinalis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Enterobius vermicularis</i> <i>Enterocytozoon bieneusi</i> <i>Giardia intestinalis</i> <i>Isospora belli</i> <i>Necator americanus</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Taenia saginata</i> <i>Taenia solium</i> <i>Trichuris trichura</i>	<i>Cryptosporidium spp</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia intestinalis</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i> <i>Ascaris lumbricoides/suum</i> <i>Balantidium coli</i> <i>Blastocystis spp</i> <i>Clonorchis sinensis/Opisthorchis sp./Metorchis spp.</i> <i>Cryptosporidium spp</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Cytoisopora belli</i> <i>Dientamoeba fragilis</i> <i>Diphyllobothrium latum/nihonkaiense</i> <i>Encephalitozoon spp.</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Enterocytozoon bieneusi</i> <i>Enterobius vermicularis</i> <i>Fasciola spp.</i> <i>Fasciolopsis buski</i> <i>Giardia intestinalis</i> <i>Hymenolepsis diminuta</i> <i>Hymenolepsis nana</i> <i>Necator americanus</i> <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Schistosoma spp.</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Taenia saginata/asiatica</i> <i>Taenia solium</i> <i>Trichuris spp.</i>

Annexe 4 : Ensemble des PCR simplex disponible au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'IHU Méditerranée Infection

INFORMATIONS	CRITERES DE NON INCLUSION ABSOLUE	CRITERES DE NON INCLUSION « RELATIVE » (à justifier)
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Donneur avec une pathologie chronique connue ▪ Antécédent de fièvre typhoïde ▪ Troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don 	Donneurs avec antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> - MICI (lien de parenté) - maladies auto-immunes (lien de parenté) - cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	Donneur suivant un traitement curatif au long cours	Donneur traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don ³
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séjour en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don ▪ Résidence de plusieurs années en zone intertropicale ▪ Hospitalisations à l'étranger de plus de 24h dans les 12 derniers mois (y compris membres de l'entourage du donneur)¹ 	/
Âge	Donneur mineur ²	Donneur âgé (>65 ans) ⁴
Statut pondéral	/	Donneur avec IMC>30 ⁵

CRITERES DE NON INCLUSION	INCLUSION SUR LA BASE D'UNE APPRECIATION INDIVIDUELLE
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Episode de diarrhée (>3 selles molles à liquide (l)) chez le donneur ou les membres de son entourage ▪ Situations à risque de contamination : <ul style="list-style-type: none"> - Voyage à l'étranger - Contact avec du sang humain (piercing, tatouage, piqûre, plaie, projection, soins dentaires....) - Comportement sexuel à risque - Présence de lésions anales (afin de limiter le risque de transmission du virus du papillome humain et des virus de l'herpès) 	Recherche des événements suivants : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Consultation médicale (motif) ▪ Maladie contractée (laquelle, date et durée) ▪ Prise de médicaments (lesquels, date de la dernière prise)

*Annexe 5 : Questionnaire de présélection et de sélection pour le don de selles
(source : Transplantation fécale : techniques, indications et réglementation, DESC Pathologie Infectieuse et Tropicale)*

Pathogènes recherchés dans le bilan de greffe fécale

Ancylostoma duodenale

Ascaris lumbricoides

Cryptosporidium spp.

Cyclospora cayetanensis

Encephalitozoon intestinalis

Entamoeba histolytica

Enterobius vermicularis

Giardia intestinalis

Cyclospora belli

Enterocytozoon bienewisi

Necator americanus

Schistosoma mansoni

Strongyloides stercoralis

Taenia saginata

Taenia solium

Trichuris trichura

Annexe 6 : Pathogènes recherchés dans le bilan de greffe fécale

ORGANISMES CIBLES	GENES CIBLES	NOM	SEQUENCES (5'-3')
<i>Ancylostoma duodenale</i>	ITS-2	Anduo_F	GAATGACAGCAAACTCGTTGTTG
		Anduo_R	ATACTAGCCACTGCCGAAACGT
		Anduo_P	6FAM- ATCGTTTACCGACTTTAG -MGB
<i>Ascaris lumbricoides</i>	ITS-1	Alum_F	GTAATAGCAGTCGGGGTTTCTT
		Alum_R	GCCCAACATGCCACCATTTC
		Alum_T	6FAM- TTGGCGGACAATTGCATGCCGAT
Blastocystis spp.	SSU rRNA gene	Blasto_F	GGTCCGGTGAACACACTTTGGATTT
		Blasto_R	CCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCA
		Blasto_P	6FAM- TCGTGFAAATCTTACCATTAGAGGA-MGB
<i>Cryptosporidium</i> sp.	18S RNA ribosomique	Cryptospo_F	CATGGATAACCCGTGGTAACT
		Cryptospo_R	TACCTACCGTCTAAAAGCTG
		Cryptospo_P	6FAM- CTAGAGCTAATACATGCGAAAAAAA -MGB
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	18S RNA ribosomique	Cyclo_F	TAGTAACCGAACGGATCGCATT
		Cyclo_R	AATGCCACGGTAGGCCAATA
		Cyclo_P	6FAM- CCGCGGATAGATCAATCAAGTTTCTGACC
<i>Entamoeba histolytica</i>	Hemolysine	Ehist_F	AAAGAACTTTGGAAAAAAGAGTG
		Ehist_R	AAATGAAATAATTCTCTTGCTCTT
		Ehist_P	6FAM- AGCTTGAAAAGAGTAAATATGTGAACGGA
<i>Enterobius vermicularis</i>	5S RNA ribosomique region	Ever_F	TTTCCAAAGCCACAGACTCAC
		Ever_R	ATTGCTCGTTTGCCGATTAT
		Ever_P	6FAM- TCATGTCTGAGCCGGAACGAGA
<i>Giardia intestinalis</i>	Giardin	Giardia_F	CGTGAAGATGATCAAGGAC
		Giardia_R	CTGGTTCTGGAGATTGTCT
		Giardia_P	6FAM- AGGAGATCGACACCATGGCTGC
<i>Isopora belli</i>	ITS2	Isob_F	ATATCCCCTGCAGCATGTCGTGTT
		Isob_R	CCACACGGGTATTCACAGAGA
		Isob_P	6FAM- CAAGTTCTGCTCACGGCTTCTGG
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	18S RNA ribosomique	Ecun_F	TCCTAGTAATAGCGGGCTGACGAA
		Ecun_R	ACTCAGGACTCAGACCTTCCGA
		Ecun_P	6FAM- CCCGTCTCTTTGTACACACCGCCC

<i>Encephalitozoon hellem</i>	18S RNA ribosomique	Ehel_F	GAATGATTGAACAAGTTATTTTGAATGTG
		Ehel_R	AACACGAAAAGACTCAGACCTCTCA
		Ehel_P	6FAM- CCTGTCTCCTTTGTACACACCGGCC
<i>Enterocytozoon bienewisi</i>	18S RNA ribosomique	Microspo_F	GGTGTGGTATCGGAAATGTAT
		Microspo_R	ACTATTCCACATGGAACCCAC
		Microspo_P	6FAM- GTGCCGGTGGTGTGTAGGC
<i>Enterocytozoon intestinalis</i>	18S RNA ribosomique	Eint_F	GCAAGGGAGGAATGGAACAGAACAG
		Eint_R	CACGTTCAGAAGCCCATTACACAGC
		Eint_P	6FAM- CGGGCGGCACGGCCACTACGATA
<i>Necator americanus</i>	ITS-2	Neca_F	CTGTTTGTCCGAACGGTACTTGC
		Neca_R	ATAACAGCGTGCACATGTTC
		Neca_P	6FAM- CTGTACTACGCATTGTATAC-MGB
<i>Schistosoma mansoni</i>	tandem repeat units M61098	Smans_F	CAACCGTTCTATGAAAATCGTTGT
		Smans_R	CCACGGCTCTCGCAAATAATCT
		Smans_P	6FAM- TCCGAAACCACCTGGACGGATTTTATGAT
<i>Strongyloides stercoralis</i>	18S RNA ribosomique	Angui_F	GAAATCCAAGTAAACGTAAGTCATTAGC
		Angui_R	TGCCTCTGGATATTGCTCAGTTC
		Angui_P	6FAM- ACACACCGGCCGTCGGCTGC
<i>Taenia solium</i>	oncosphere protein gene	Tsol_F	GCTCTGCAGGCCACCTATTTC
		Tsol_R	CTAGGGACTTGGCCGAGAGTG
		Tsol_P	6FAM- GGAATGTGATCGGCTTGTCCACA
<i>Taenia saginata</i>	ITS	Tsag_ITS_F	GCGTCGTCTTTGCCGTTACAC
		Tsag_ITS_R	TGACACAACCGCCGCTCTG
		Tsag_ITS_P	6FAM- TTGCTGCTGTCGGTGGTGTGTGG
<i>Trichuris trichiura</i>	18S RNA ribosomique	Trich_F	TTGAAACGACTTGTCTCAITCAACTT
		Trich_R	CTGATTCCTCCGTTAACCGTTGTC
		Trich_P	6FAM- CGATGGTACCGTACGTTACCATGG

ITS : internal transcribed spacer ; SSU : Small sub units ; FAM 6 carboxyfluorescein, MGB : minor groove binder

Annexe 4 : Systèmes PCR disponibles au laboratoire de Parasitologie

		Master Mix Roche LC 480 (2X)	H2O RNase free	Amorce F (20µM)	Amorce R (20µM)	Sonde_TaqMAn (5µM)	Sonde_MGB (5µM)
<i>G.intestinalis</i>	V*1 réaction	10	1.8	1.1	1.1	1	-
	Concentration finale	1X	-	1100 nM	1100 nM	250 nM	-
<i>Microsporidies</i>	V*1 réaction	10	1.6	0.7	0.7	2	-
	Concentration finale	1X	-	700 nM	700 nM	500 nM	-
<i>Schistosoma mansoni</i>	V*1 réaction	10	3.5	0.5	0.5	0.5	-
	Concentration finale	1X	-	500 nM	500 nM	125 nM	-
<i>Cryptosporidium spp</i>	V*1 réaction	10	1.8	1.1	1.1	-	1
	Concentration finale	1X	-	1100 nM	1100 nM	-	250 nM
<i>Taenia solium</i>	V*1 réaction	10	1.8	1.1	1.1	1	-
	Concentration finale	1X	-	1100 nM	1100 nM	250 nM	-
<i>Blastocystis hominis</i>	V*1 réaction	10	3.5	0.5	0.5	0.5	-
	Concentration finale	X	-	500 nM	500 nM	125 nM	-
<i>E.histolytica</i>	V*1 réaction	10	1.1	1.1	1.1	1.7	-
	Concentration finale	1X	-	1100 nM	1100 nM	425 nM	-
Autres systèmes	V*1 réaction	10	3.5	0.5	0.5	0.5	-
	Concentration finale	1X	-	500 nM	500 nM	125 nM	-

Autres systèmes : *A.duodenale*, *A.lumbricoides*, *C.belli*, *C.cayetanensis*, *E.vermicularis*, *N.americanus*, *S.stercoralis*, *T.saginata*, *T.trichura*
V*1 : volume pour une réaction de PCR en µL, F : forward ; R : reverse ; µM : micromolaire ; nM : nanomolaire
Annexe 5 : Tableau des résultats de notre étude

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant Novodiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	Novodiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine	
Témoins négatifs PATIENTS 1-10																	
11	1948	M	03/12/2020	SI/réa	2	Cristaux Charcot Leyden	NR	Neg	Neg	Neg	Anémie profonde Insuffisance cardiaque	N	N	O	Laos	Laos	
12	1960	M	25/09/2019	IHU	17	<i>G. intestinalis</i>	NR	<i>G. intestinalis</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp.</i>	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>G. intestinalis</i>	Aucune info	N	N	N	NR		
13	1998	M	28/07/2020	IHU	7	K d'Endolimax nana Œufs et anneaux de <i>T. saginata</i> Œufs de <i>S. mansoni</i>	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>S. mansoni</i> <i>T. saginata</i>	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>S. mansoni</i> <i>T. saginata/asiatica</i>	Douleurs épigastriques	N	O (0,84)	NR	NR	Ethiopie Arrivé en 2017, passage Soudan, Libye et Italie	
14	1952	M	20/08/2020	IHU	7	K d' <i>E. histolytica</i> FV d' <i>E. histolytica</i>	NR	<i>E. histolytica</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp.</i>	NR	<i>Blastocystis</i> spp.	Aucune info	NR	NR	NR	NR	NR	

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant Novodiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	Novodiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine
15	1947	F	28/12/2020	Gériatrie	2	K de <i>G. intestinalis</i>	NR	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	Diarrhées glaireuses	N	N	O	NR	
16	1991	M	21/08/2020	HORS APHM	6	K d' <i>Entamoeba coli</i> K d' <i>E. histolytica</i> / <i>dispar</i> **	NR	<i>Blastocystis</i> spp.	N	<i>Blastocystis</i> spp.	Aucune info	NR	NR	NR	NR	NR
17	2000	F	04/11/2019	IHU	15	K d' <i>Entamoeba coli</i>	Anguillule	<i>S.stercoralis</i> <i>D.fragilis</i>	N	Neg	Bilan hyperéosinophilie	N	O (1,9)	N	Née à Mayotte Réunion de 2009-2019	
18	2018	F	07/02/2021	SAU	1-2 Sem	<i>A.lumbricoides</i>	NR	<i>A.lumbricoides</i>	N	<i>A.lumbricoides</i> <i>Hymenolepis nana</i>	Vers dans les selles	NR	NR	NR	NR	Bosnie
19	1965	M	05/02/2021	SI/réa	1-2 Sem	K de <i>G. intestinalis</i> <i>Blastocystis</i> spp.	NR	<i>G. intestinalis</i> <i>Blastocystis</i> spp.	<i>G. intestinalis</i>	<i>Blastocystis</i> spp.	Aucune info (découverte fortuite)	N	N	O	NR	Comores

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant Novodiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	Novodiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine
20	1952	M	19/01/2021	IHU	1	K de <i>G. intestinalis</i>	NR	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	Nausées, Vomissement, Diarrhées	N	N	N	NR	
21	1950	M	21/02/2020	Chir gè	12	K d' <i>E. histolytica</i> et /ou dispar***.	Ambiase	<i>E. histolytica</i>	N	Neg	AEG (asthénie, perte poids) Diarrhées	GH	O (1,8)	N	NR	
22	1993	M	03/03/2020	Chir gè	11	Scolex	NR	<i>E. granulosus</i>	N	<i>Schistosoma spp.</i>	Toux fébrile Lésions hépatiques	N	O (0,7)	O	NR	Algérie France depuis 2019
23	2012	M	03/03/2020	Chir ped	11	K de <i>G. intestinalis</i>	NR	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	Diarrhées Douleurs abdo	GR	N	O	NR	
24	1959	M	28/04/2020	HORS AP	10	NR	NR	<i>C. parvum</i>	N	<i>Cryptosporidium spp.</i>	Aucune info	VIH	NR	NR	NR	NR

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant Novodiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	Novodiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine
25	2012	M	24/09/2020	SAU	5	<i>Endolimax nana</i>	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Neg	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Contexte social difficile Encoprésie Selles moulées	NR	O (1,5)	NR	NR	
26	1967	M	23/11/2020	IHU	3	<i>Blastocystis</i> spp.	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	N	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Diarrhées Constipation Douleurs abdominales	N	N	N	NR	
27	2002	F	20/12/2020	SAU	2	<i>Blastocystis</i> spp.	NR	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Neg	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Diarrhée aigüe, sang dans selles Vomissement Apyrétique	N	NR	N	NR	
28	1959	F	28/09/2020	COVID	4	Neg	NR	<i>E.bienneusi</i>		<i>E.bienneusi</i>	Diarrhées liquidiennes persistantes	GR	N	N	NR	
29	2019	M	25/01/2020	Hématoped	13	Neg	NR	Neg	Neg	Neg	Bilan pré greffe MO Abcès marge anale, sang dans selles	N	O	O	NR	

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant Novodiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	Novodiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine	
30	1952	M	17/01/2020	Neuro	13	Neg	Anguillule	<i>S.stercoralis</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp.</i>	N	<i>Blastocystis</i> spp.	Découverte fortuite	N	O (1,4)	N	NR	Né en guadeloupe	
31	1987	F	06/03/2020	IHU	11	Neg	NR	<i>G.intestinalis</i>	N	<i>G.intestinalis</i>	Suivi paludisme au retour du Soudan	N	N	N	Soudan		
32	1977	F	31/01/2020	IHU	12	Neg	Neg*	<i>E.histolytica</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp.</i> <i>D.fragilis</i>	N	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Amibiase Asthénie, nausées, céphalées	N	N	N	Bali, Chine, Singapour Cambodge, Laos	Thaïlande France depuis 2 ans	
33	1976	M	06/03/2020	IHU	11	<i>K d'Entamoeba</i> <i>coli</i> <i>K d'E.histolytica</i> <i>et/ou dispar***</i>	NR	<i>E.histolytica</i> <i>D.fragilis</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp</i>	N	<i>Blastocystis</i> spp. <i>D.fragilis</i>	Douleurs abdo exquise flanc gauche Diarrhée, Nausées Céphalées, Apyrétique	N	N	N	Voyages en Afrique +++ Retour d'Angola depuis 2 semaines		
34	1984	M	12/02/2020	IHU	1-2 Sem	<i>K d'E.histolytica</i> <i>et/ou dispar***</i>	NR	<i>E.histolytica</i> <i>Blastocystis</i> <i>spp.</i>	N	<i>Blastocystis</i> spp.	Aucunes infos	N	N	N	NR		

Patient	Année de naissance	Sexe	Date pvt	Service	Durée congélation avant NovoDiag	ED	Sérologie positive	PCR routine	Résultats BioFire	NovoDiag®	Clinique	Immunodépression	Hyperéosinophilie (G/L)	SIB	Voyage	Origine
35	1950	F	20/05/2021	SI/réa	1	NR	NR	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	<i>G. intestinalis</i>	Anevrisme cérébral	NR	NR	NR	NR	
36	1979	F	22/04/2021	COVID	2	<i>G. intestinalis</i>	NR	<i>G. intestinalis</i>	N	<i>G. intestinalis</i>	Rejet de greffe mixte Diarrhée	GR	N	O	NR	

Pvt : prélèvement, M : masculin ; F féminin ; N : non ; O : oui ; NR : non renseigné ; GH : greffe hépatique ; GR : greffe rénale ; K : kyste ; FV : formes végétatives ; REA : réanimation ; CT : cycle threshold ; SAU : service d'accueil des urgences ; CHIR : chirurgie ; PED : pédiatrie ; hemato : hématologie ; SI : soins intensifs ; sem : semaines ; abdo : abdominale ; SIB : syndrome inflammatoire biologique ; ED : examen direct ; PCR : Polymerase Chain Reaction.

* : sérologie helminthe négative

** : PCR routine *Entamoeba histolytica* négative

*** : PCR routine *Entamoeba histolytica* positive

Annexe 9 : tableau des données démographiques, biologiques, cliniques de la cohorte de l'étude NovoDiag® Stool Parasite

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans **aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions**. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas **usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité**.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai **jamais leur confiance** et **n'exploiterai pas le pouvoir hérité** des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

Résumé

Les protozoaires et les helminthes font partie de la famille des parasites intestinaux. Ils ont une répartition cosmopolite avec un gradient entre le Nord et le Sud, touchant majoritairement les régions à ressources limitées. L'augmentation de la population, les mauvaises conditions sanitaires (tout à l'égout, purification de l'eau, lavage des mains...) expliquent la prévalence importante des maladies parasitaires intestinales dans ces régions du monde. Du fait d'un flux de population importante (lié à la guerre, au tourisme), nos régions tempérées sont de plus en plus amenées à être confronté au diagnostic de ces parasites, qui ne doit pas être négligé en raison d'un sur-risque important de morbi-mortalité. Pour ce faire, les laboratoires de diagnostic microbiologique doivent s'orienter vers des outils diagnostic permettant de cibler un large spectre de pathogènes intestinaux.

L'objectif de mon travail a été d'évaluer un nouveau kit commercial de PCR multiplex : NovoDiag[®] Stool Parasite qui regroupe un large panel de vingt-six cibles différentes correspondant à trente pathogènes intestinaux, protozoaires et helminthes.

La cohorte étudiée comporte trente-six échantillons de selles, vingt-six appartenant au groupe test et dix témoins négatifs, issus de donneur de greffe fécale. Le groupe test a été sélectionné d'après les résultats de l'examen parasitologique des selles positif (examen direct au microscope et/ou PCR routine) ou grâce à des conditions épidémiologiques favorables (notion de voyage...).

En dépit d'une cohorte restreinte, le kit NovoDiag[®] Stool parasite a montré une bonne sensibilité (100%) pour les pathogènes suivants : *Ascaris lumbricoides*, *Blastocystis spp*, *Cryptosporidium spp*, *Enterocytozoon bienewisi*, *Schistosoma mansoni* et *Taenia saginata* et une bonne sensibilité pour *Giardia intestinalis* (87.5%).

Concernant *Entamoeba histolytica* et *Strongyloides stercoralis* les résultats sont très décevants. Aucuns des échantillons positifs n'a pu être confirmé par le kit NovoDiag[®] Stool Parasite (zéro sur cinq pour *E. histolytica* et zéro sur deux pour *S. stercoralis*).

Mots-clés : protozoaires, helminthes, NovoDiag[®] Stool Parasite, *Entamoeba histolytica*, examen parasitologique de selles, *Strongyloides stercoralis*.