



HAL
open science

Schistosomiase urinaire chez les patients pris en charge au CHU de Marseille. Description des cas et détermination des espèces par séquençage

Maïssane Mehadji

► **To cite this version:**

Maïssane Mehadji. Schistosomiase urinaire chez les patients pris en charge au CHU de Marseille. Description des cas et détermination des espèces par séquençage. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03513256

HAL Id: dumas-03513256

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03513256>

Submitted on 5 Jan 2022

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 30 SEPTEMBRE 2021

PAR

Mme Maïssane MEHADJI

Née le 02 Juillet 1995 à ORSAY

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE:

**SCHISTOSOMIASE URINAIRE CHEZ LES PATIENTS
PRIS EN CHARGE AU CHU DE MARSEILLE.
DESCRIPTION DES CAS ET DÉTERMINATION DES ESPÈCES
PAR SÉQUENÇAGE**

JURY:

Président : Mme le Pr. Nadine AZAS (PU-PH)

Membres : M. le Dr. DUMETRE Aurélien (MCU)
Mme le Dr. L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
M. le Dr. DRIOUICH Jean-Sélim

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI, M. Guillaume HACHE
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Henri PORTUGAL, M. Philippe CHARPIOT
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

ATER

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Anne-Claire DUCHEZ
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Mélanie VELIER
----------------------------	--------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOGNOSIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC
--	---------------

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE Mme Frédérique GRIMALDI M. Joseph CICCOLINI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE PHARMACIE CLINIQUE	Mme Anaïs MOYON M. Florian CORREARD
---	--

ATER.

TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Anne RODALLEC
----------------------------------	-------------------

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 janvier 2020

REMERCIEMENTS

À Madame le Professeur Nadine AZAS,

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse. Recevez toute ma gratitude et tout mon respect.

À Monsieur Aurélien DUMETRE,

Je vous remercie d'avoir bien voulu accepter de devenir mon maître de thèse, de votre bienveillance à cet égard et de l'attention portée à mon travail.

À Madame Coralie L'OLLIVIER,

Je te remercie pour tellement de choses ...

Tout d'abord merci d'avoir été un encadrant absolument génial pour l'externe pleine d'étoiles dans les yeux que j'étais. Merci de m'avoir accordé ta confiance et de m'avoir permis de réaliser tous ces travaux différents très formateurs pour moi.

Merci d'avoir bien voulu encadrer cette thèse, de m'avoir proposé ce sujet tellement intéressant et de t'être plongée dans cette masse de travail avec et pour moi. Je ne te l'ai jamais dit mais tu as réellement marqué ma vie et je n'oublierai jamais ces moments partagés. Tu es une personne d'une bienveillance incroyable et d'un dévouement comme on en trouve plus. Ton professionnalisme mais aussi ton altruisme sont sans nom. Je me sens profondément honorée d'avoir pu croiser ton chemin et espère sincèrement le croiser encore et encore.

J'en profite pour te remercier encore de m'avoir donné ma chance pour ce beau projet de recherche qui nous attend. Je crois qu'on peut se sentir chanceux quand on rencontre quelqu'un qui, comme toi, nous donne une chance, croit en nous et se bat pour nous alors merci infiniment.

Tu es mon mentor et pour tout cela tu as mon plus grand respect et mon amitié éternelle.

À Monsieur Jean-Sélim DRIOUICH,

Je te remercie pour toutes nos conversations diverses et variées, des dates d'anniversaires familiales au foot (allez l'OM) en passant par les capitales du monde (que je ne connais toujours pas désolée, mais gardons espoir), sans oublier la musique et j'en passe ... Merci d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse aussi, j'espère que tu en garderas un bon souvenir.

À mes parents,

Merci pour votre éducation, pour vos conseils, pour votre acharnement à vouloir faire de moi quelqu'un de bien (j'espère que vous pensez avoir réussi hein ...). Merci pour votre soutien dans les épreuves de la vie, merci pour ce toit au dessus de ma tête depuis 26 ans. Merci pour m'avoir toujours gâtée et avoir fait en sorte que je ne manque jamais de rien (jusqu'à faire tout un département pour trouver le carrosse de Barbie). Merci pour m'avoir supportée quand je croyais que j'allais devenir gymnaste dans toutes mes compétitions avec mon justaucorps bleu pétant. Merci d'avoir subi avec le sourire toutes mes entrées chorégraphiées sur le générique de la Star Academy tous les jours à 18h10. Merci pour tout.

À mon Papa,

Merci pour ces passions partagées, pour ces moments incroyables au stade, ces matches fous, notamment face à Milan où on a littéralement pris une douche tellement il pleuvait (mais la ferveur ...) et pour ce championnat en 2010 avec ce dernier match où on se savait déjà champions. Merci pour cette passion de la musique que tu m'as transmise. Pour toutes ces longues discussions sur la vie, qui n'aboutissaient pas toujours à un accord mais qui ont permis, je pense, à mon cerveau de se développer différemment :). Et enfin merci pour ces moments de partage, à vélo quand je croyais bombarder, en moto avec nos pronostics à travers nos casques, ou encore à Monaco pour l'achat le plus cliché mais rêvé de ma vie.

À ma Maman,

Merci pour ces moments de complicité, pour cet amour sans limite, pour cette écoute sans faille (et je sais que je t'en ai raconté des choses, même tellement inintéressantes j'en suis désolée). Merci pour tes conseils de maman, de grande sœur et de meilleure amie. Merci pour cette alchimie entre nous, j'adore tellement quand on parle en même temps pour dire exactement la même chose au mot près ou quand on a exactement la même idée improbable en même temps aussi ! Merci pour tellement de choses que je ne saurai toutes les citer. Merci pour ta confiance et ton soutien dans tous les domaines de ma vie. Merci d'être la meilleure des mamans.

À mon frère, mon étoile et mon combat,

Grandir à tes côtés a été incroyable, tu es ma première raison de vivre et d'avancer tous les jours. Tu es mon aîné et à la fois la personne que je souhaite le plus protéger. Ce lien entre nous est inconditionnel et je sais qu'au fond je suis ta sœur préférée :) ... Je suis fière de t'avoir à mes côtés depuis ma naissance car je suis certaine qu'évoluer avec toi m'a fait grandir et mûrir comme peu en sont capables. Tu m'as rendue plus adulte, plus responsable et sûrement plus aimante. Tu es une force et un combat perpétuel, que je te promets de toujours mener. Je t'aime très fort grand frère.

À ma sœur, ma Pupu, mon soleil des îles,

Je crois que la première chose qu'il me vient c'est merci pour ces fous rires. Si nombreux que personne ne peut les compter. Quotidiens, rituels, absurdes, évidents, mais tellement bons. Tu es mon petit bijou depuis le jour où tu es arrivée dans nos vies (je t'ai attendue 7 ans quand même!), même si je n'ai pas pu profiter de toi comme d'une poupée bien longtemps (ma sœur ne veut pas jouer à la Barbie, bon ok ...). Tu es mon bébé ça pour toujours, même s'il faut que tu arrêtes de profiter de ça d'ailleurs et je suis très fière de la femme que tu deviens. Tu as toute la vie devant toi et je serai toujours à tes côtés. À notre fratrie, Truc, Truc1 et Truc3 (bah oui parce qu'on est 3!). Je t'aime pas du tout tu le sais, mais pour une fois je te le dis quand même, je t'aime.

À mes grands-parents,

Pour leur amour depuis toutes ces années, pour leur bienveillance pour m'avoir toujours gâtée et traitée comme une princesse (oui oui je suis la première fille de la famille c'est normal) et merci pour notre histoire,

À mon Gedé Habib,

Mon papichou, merci pour ton amour inconditionnel dans toutes les situations, pour ton sourire si bienveillant, pour tes petits mots plein d'amour, pour toutes ces histoires quand j'étais petite, ces leçons de jardinage l'été et ces parties de dames, d'échecs, de dominos, et d'Uno. Sans oublier que tu es mon binôme préféré à la ronda.

À ma Mouïma,

Merci pour ces moments de rigolade, à se déguiser pour amuser tout le monde. Ces heures à préparer de grands repas de famille, ces goûters interminables à refaire le monde, ces commérages tellement drôles avec Adèla et ces discussions tellement comiques sur tes ambitions de vie et de mariage pour nous tous.

À mon Gedé Lakdar,

Merci pour tous ces fous rires, ces chansons improbables (c'est moi Jim!), ces imitations à pleurer de rire. Merci pour ces heures d'histoires de famille et de légendes urbaines. Merci de toujours dire que mon thé est le meilleur (et mon tiramisu aussi haha). Merci de toujours penser à me préparer les fruits que j'aime, ma glace café et mon ice tea quand j'arrive. Merci de toujours me faire rire tout simplement.

À ma Nena, mon ange partie trop tôt ...

Merci pour ta gentillesse, sans égal, pour ton amour sans condition. Merci pour tous ces cadeaux, pour ces dizaines de boucles d'oreille à chaque fois (tu as dépassé la centaine). Merci pour les punch-lines que tu pouvais nous sortir d'un coup sans même t'en rendre compte. J'aurai aimé que tu sois là aujourd'hui, que tu puisses me voir accomplir certaines choses. Mais je suis sûre que tu me regardes quand même d'où tu es et que tu es fière. Je vois très bien ton petit sourire discret se dessiner. Tu me manques.

À toute ma famille,

Merci pour toutes ces années, qu'elles aient été belles ou moins bonnes, ça fait partie de l'histoire d'une vie et ça me construit encore chaque jour. Merci pour les bons moments partagés, pour les vacances, Noël, anniversaires et autres.

À mes oncles,

Vous êtes des super tontons et je n'oublierai pas tous les moments passés depuis mon enfance.

À Lahcen,

Merci d'avoir été un oncle, un presque grand frère, un conseiller d'orientation, un conseiller en image, en littérature ou encore en musique. Merci pour m'avoir emmenée voir la Star Ac' en concert il y a 16 ans hihhi. Et merci de toujours me soutenir dans tout ce que j'entreprends.

À mes amis,

À Johanna,

Parce que tu es une personne incroyable merci. Une amie que je souhaite garder toute ma vie. Parce qu'avec toi « loin des yeux loin du cœur » ne fonctionne heureusement pas. Parce que tu es une amie tellement géniale que je n'ai pas de mots. Parce que oui je suis tellement heureuse que tu m'aies appelée avec ton « psssstt » ce fameux jour en TP de galénique.

Merci pour tous ces moments ensemble, pour ton dévouement, ton écoute, tes conseils, pour ton sang froid. Et demande pardon à Marc An pour moi pour tous nos messages vocaux, mais ce sont vraiment mes moments préférés de la semaine ! Hâte (d'enfin) venir en Corse te voir et faire la visite guidée de toute ta vie dont on parle depuis si longtemps.

Ma plus belle réussite en pharma c'est toi. Love you.

À Emma,

Merci pour tous ces aprem tea-time sur ton canapé, pour ces moments de rigolade en haut de l'amphi avec Jo, pour ces déjeuners à l'IB, pour nos confidences de mamie sous un plaid. Je suis tellement fière de toi et du cran que tu as eu de nous quitter pour ta passerelle médecine (même si tu nous as manqué avec Jo en cours). Une amitié pour de longues années !

À Anaïs,

Une amitié née de nos galères pendant cette période toute rose de concours. Merci pour ces heures partagées avec toi à réviser et à s'arracher les cheveux. Merci pour tes plannings au top ! Merci pour ces échanges de confiance qu'on a qu'avec ses vrais amis. Merci aussi pour m'avoir donné la motivation sur plein de sujets différents (et au moins pour la danse!). Hâte de continuer toutes ces aventures avec toi sur nos belles années qui arrivent.

À Marine,

Avec qui tout a commencé en 2013 sur les bancs de la fac. Cette fameuse PACES on l'a eue ! Hâte que tu deviennes mon médecin préféré !

À Tous,

De l'école primaire, au lycée, en passant par le collège, si vous avez participé à ma vie et à mon bonheur merci : Agosta mon petit chat depuis la seconde pour ces fous rires et ces dîners en tête à tête chez toi pour rattraper le temps perdu, Marie depuis la maternelle pour ces vieux souvenirs de nos chorégraphies à jamais gravés dans ma mémoire, Élodie depuis le collège, Sid depuis le lycée aussi pour ton humour et ton personnage que je peux pas m'empêcher d'apprécier (et ta présence bien sûr), Greg pour me martyriser avec les tours spin. Et tous les autres que je n'oublie pas.

À mes amis et collègues de l'IHU,

À Ludivine,

La seule et l'unique. Si tu n'existais pas il faudrait clairement t'inventer ! Déjà merci pour avoir été la première à me former sur toutes ces techniques diverses et variées. Merci pour avoir décidé un jour de me raconter ta vie dans un couloir, ça a lancé le début d'une amitié géniale ! Merci pour ton personnage brut de décoffrage que j'adore, pour ces fous rires sur des sujets tous plus aberrants les uns que les autres. Merci aussi pour ton sérieux quand il fallait et ton écoute. Tu es une personne atypique mais c'est ta plus grande qualité et c'est ce qui fait de toi la personne entière que tu es.

À Julien et Sabine,

Merci pour votre bienveillance et votre amitié, pour votre écoute. Pour tous ces moments « en famille » avec ma petite fraise d'amour, votre princesse de fille que j'aime. Merci pour tous ces Mcdo haha et pour ces heures de rigolade, de bagarre avec Julien et de confidences avec Sabine. Comme je vous dis souvent vive les Baume !

À Majda,

Une belle rencontre, une belle amitié, un chaperon et une conseillère hors-pair. Merci pour ta gentillesse comme on en retrouve peu. Merci pour tes recadrages violents mais aussi pour tes mots rassurants. J'espère vite qu'on va réinstaurer le confessionnal dans ton bureau ! Merci aussi pour ta confiance, ça compte beaucoup pour moi.

À Naouel,

J'attends toujours l'aprem nehneh déjà ! Merci pour ces fous rires pour rien, pour ces expressions typiques qui me cassent le ventre, pour ces claques aussi parce qu'il en faut. Merci pour tous tes encouragements et pour ta bienveillance.

À tous,

Momo, Amael, Aurélie, Nouria, Nico, Safdar, ...

Merci pour les rires, les blagues nulles, les repas improvisés, les pauses café (chocolat pour moi), les expressions qui restent pour rien mais qui me font tellement rire (je suis bon public mais c'est tellement drôle) vous êtes tous dans mon cœur et promis il y a beaucoup de place !

À mes amies et collègues de mes pharmacies,

Vanessa, Anaïs, Lolo Champion, Valérie, Coco, Martine, la team poypoy ! Merci pour ces huit mois passés à vos côtés, pour votre accueil mais aussi pour l'aventure COVID qu'on a partagé au moment de son lancement ! Pour ces imitations magiques de Coco, pour le rire de Vanessa, pour les petites danses d'Anaïs quand elle est contente, pour les blagues et proverbes de Lolo (toujours un coup d'avance voire deux si t'es un bon), pour les aventures folles de Martine, et pour la sagesse de Val. Un grand merci.

Hermine, Christine et Anna, merci pour cette aventure (courte mais intense n'est-ce-pas) à vos côtés. Pour ces journées en musique et nos fous rires (J-Lo n'a qu'à bien se tenir). Je vous embrasse.

Carine ma binôme du jeudi tacos, Laetitia, Elisabeth, Amandine, et toute l'équipe Canino, merci pour ces quelques mois de rires aussi, de délires bêtes, de compliments cachés par des piques, et de blagues sur tout et n'importe quoi.

Au Professeur Stéphane RANQUE,

Pour son accueil dans son service de parasitologie au moment de mon externat en mars 2019, pour m'avoir confiée à Coralie et donc avoir participé à égayer mon cursus. Merci aussi pour m'avoir acceptée dans votre équipe sur le projet de recherche qui nous attend et pour avoir bien voulu encadrer mon master de recherche.

À Géraldine,

Pour son aide précieuse pour ce projet de thèse. Merci pour ces manip NGS et merci pour ton aide dans la rédaction de cette partie totalement obscure pour moi.

Au CHU de Clermont-Ferrand,

Pour nous avoir donné un échantillon d'ADN positif qui nous a permis de mettre au point nos techniques de diagnostic

En espérant n'avoir oublié personne ...

« FAIS-LE OU NE LE FAIS PAS. IL N'Y A PAS D'ESSAI »
MAÎTRE YODA

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	1
Généralités	2
Partie 1 : Schistosomiase urinaire, pathologie et agent causal	3
I. <i>Schistosoma spp</i> : description	4
1. Taxonomie et description morphologique	4
2. Cycle parasitaire	7
3. Espèces et répartition géographique	10
II. Physiopathologie de la schistosomiase urinaire	12
1. Symptomatologie et manifestations cliniques	12
a) Phase de pénétration cutanée des furcocercaires	12
b) Phase d'invasion	12
c) Phase d'état	12
2. Traitement et prise en charge	13
III. Hybrides et espèces animales	15
Partie 2 : Diagnostic biologique et clinique	18
I. Tableau clinique	19
II. Examen direct : microscopie	20
1. Prélèvement et traitement	20
2. Analyse microscopique	20
III. Autres examens	22
IV. Biologie moléculaire : principe général	24
1. Extraction de l'ADN	24
2. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) standard et temps-réel	24
Matériel et Méthodes	27
Partie 3 : Détermination des espèces par séquençage	28
I. Présentation des patients	29
1. Épidémiologie	29
2. Dosage de l'ADN	34
II. Biologie moléculaire	35
1. Extraction sur Nuclisens® EasyMAG (Biomérieux)	35
2. PCR standard	36
3. Électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose	40
III. Séquençage et identification de l'espèce	43
1. Principe général	43
2. Méthode Sanger	43
3. Méthode NGS ou séquençage haut débit	45
4. Traitement des séquences et identification	46
Partie 4 : Résultats et discussion	49
I. Résultats	50
II. Discussion	58
1. Méthodes utilisées et interprétation des résultats	58
2. Enjeux de la prise en charge de la bilharziose	62
Conclusion	63
Bibliographie	64
Annexes	68

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : arbre phylogénétique de *Schistosoma*
- Figure 2 : morphologie de schistosomes adultes mâle et femelle
- Figure 3 : comparaison morphologique des œufs par espèce (μm)
- Figure 4 : œufs de *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma mansoni*
- Figure 5 : *Bulinus truncatus* dans une boîte de pétri vide
- Figure 6 : furcocercaire de *S. mansoni* au microscope ($500\mu\text{m}$)
- Figure 7 : cycle parasitaire du schistosome
- Figure 8 : répartition géographique de la bilharziose selon l'OMS en 2012
- Figure 9 : comparaison schématique des œufs de *S. bovis* et *S. curassoni*
- Figure 10 : illustrations de manifestations cliniques allergiques cutanées de schistosomiase
- Figure 11 : microscope et pot stérile à urine
- Figure 12 : œuf de *S. haematobium* mis en évidence chez un patient de notre étude, grossissement x10
- Figure 13 : œufs de *S. haematobium* mis en évidence chez un patient de notre étude, grossissement x40
- Figure 14 : schéma du processus de PCR
- Figure 15 : séquence de la région répétée *DraI*, numéro GenBank DQ1557698.1
- Figures 16 - 18 : biopsie vésicale du patient 11 entre lame et lamelle à plusieurs grossissements
- Figures 19 - 22 : prélèvement d'urines observé au microscope à plusieurs grossissements
- Figure 23 : schéma du protocole d'utilisation du Qubit pour le dosage d'ADN
- Figure 24 : Qubit[®] 2.0 Fluorometer (Invitrogen by Life Technologies)
- Figure 25 : automate NucliSens[®] easyMAG de Biomérieux
- Figure 26 : thermocycler 2720 de AppliedSystems[®] utilisé pour l'amplification par PCR
- Figure 27 : schéma récapitulatif de la réalisation des mix
- Figure 28 : programme PCR pour Mix standard
- Figure 29 : programme PCR Mix High Fidelity
- Figure 30 : schéma d'un gel d'électrophorèse sur lequel on observe plusieurs bandes représentant différentes tailles de segments d'ADN
- Figure 31 : E-gel imager (life technologies)
- Figure 32: exemple légendé de gel obtenu
- Figure 33: échelle de poids moléculaire de BenchTop pGEM[®] DNA Markers de Promega
- Figure 34: schéma récapitulatif de la PCR BigDye
- Figure 35: schéma expliquant la composition d'un run au séquenceur
- Figure 36: séquenceur utilisé, le 3500 XL Genetic Analyzer de Applied Biosystems
- Figure 37: Représentation des étapes de l'amplification clonale en émulsion [UVE]
- Figure 38: chromatogrammes obtenus sur le logiciel ChromasPro pour une amorce sur un des patients de cette étude
- Figure 39 : présentation globale du système BLAST
- Figure 40 : exemple de résultat obtenu après la reconnaissance de la séquence proposée par la banque de données NCBI
- Figure 41 : morphologies des œufs retrouvés dans l'épidémie Corse
- Figure 42 : CNOPS et al, tableau comparatif des détections obtenues pour la *DraI*PCR avec d'autres types de PCR

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Exemples de caractéristiques morphologiques des œufs de Schistosoma selon l'espèce

Tableau 2 : Répartition des espèces selon leur réservoir et leur zone géographique

Tableau 3 : Différentes possibilités d'hybridation inter-espèces et pays où ces hybrides ont été décrits

Tableau 4 : Présentation de quelques tests sérologiques utilisés pour le diagnostic indirect

Tableau 5 : Séquences des amorces et sonde utilisées pour la PCR Dra1

Tableau 6 : Liste des patients étudiés avec leurs caractéristiques

Tableau 7 : Amorces utilisées dans cette étude

Tableau 8 : Amorces utilisées et dessinées avec l'Unité des Virus émergents

Tableau 9 : Règle de codification universelle et corrections

Tableau 10 : Résultat final séquençage par patient

Tableau 11 : Résultats des gels par patient et selon le couple d'amorces utilisé (ANNEXES)

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ANOFEL : Association Française des enseignants des praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicales
BLAST : Basic Local Alignment Search Tool
CHU : Centre Hospitalo-Universitaire
EIA : Enzyme ImmunoAssay
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
HAI : Hémagglutination Indirecte
HAS : Haute Autorité de Santé
IFI : ImmunoFluorescence Indirecte
IHU : Institut Hospitalo-Universitaire
NCBI : National Center of Biotechnology Information
NFS : Numération Formule Sanguine
NGS : Next Generation Sequencing
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PCR : Polymerase Chain Reaction
RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
S. : *Schistosoma*
WB : Western-Blot

INTRODUCTION

La schistosomiase, aussi appelée bilharziose, est une affection due à un parasite du genre *Schistosoma* et sévit dans les régions tropicales et subtropicales, principalement en Afrique. Vers plat aussi appelé plathelminthe ou encore trématode, le schistosome se transmet à l'Homme par la pénétration transcutanée de larves lors de bains en eau douce et stagnante généralement aux heures les plus chaudes de la journée. La transmission a lieu quand les personnes atteintes de schistosomiase contaminent les sources d'eau douce avec leurs excréments contenant les œufs du parasite qui vont y éclore. L'hôte intermédiaire est le bulin, un gastéropode d'eau douce.

Il existe plusieurs espèces de *Schistosoma* dont cinq sont considérées comme pathogènes pour l'Homme : *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma japonicum* et *Schistosoma mekongi*.

La plus répandue, *Schistosoma haematobium*, est responsable de formes urinaires pouvant aboutir dans les cas graves à une insuffisance rénale terminale si elles ne sont pas prises en charge. Les autres espèces sont responsables de formes intestinales, hépatiques ou encore rectales.

Au total, on estime à 200 millions le nombre de personnes atteintes dans le monde. La schistosomiase touche essentiellement les communautés pauvres et rurales, en particulier les populations d'agriculteurs et de pêcheurs. Les femmes qui accomplissent leurs tâches domestiques dans de l'eau infestée, le lavage du linge par exemple, sont également exposées au risque. Le manque d'hygiène et le contact avec de l'eau contaminée rendent les enfants particulièrement vulnérables à l'infection. L'exode rural et les déplacements de populations introduisent la maladie dans de nouvelles régions. La croissance démographique, allant de pair avec une augmentation des besoins en énergie et en eau, est souvent à l'origine de programmes d'aménagement, et de modifications de l'environnement qui facilitent la transmission. La bilharziose est considérée comme une maladie tropicale négligée, c'est-à-dire une maladie répandue et confinée aux régions en développement. Cela pourrait changer car plusieurs cas sont survenus en Europe depuis 2011, en particulier en Corse, faisant craindre l'émergence de cette parasitose en Europe. De plus avec le développement de l'écotourisme et des voyages hors des sentiers battus, un nombre croissant de touristes contractent la schistosomiase.

Le diagnostic de cette schistosomiase urinaire repose sur la mise en évidence des œufs du parasite à l'examen direct des urines, mais aussi depuis récemment sur la mise en évidence, toujours dans les urines de l'ADN du parasite et on parlera alors de diagnostic moléculaire.

Toutefois, une identification de l'espèce ne peut se faire qu'au travers d'un séquençage génomique de l'ADN extrait. Il s'agira dans ce travail d'identifier la ou les espèces mises en cause chez les patients pris en charge au service des maladies infectieuses de l'IHU Méditerranée-Infection de Marseille par séquençage de gènes nucléaires et mitochondriaux.

GÉNÉRALITÉS

PARTIE 1:

SCHISTOSOMIASE URINAIRE, PATHOLOGIE ET AGENT CAUSAL

I. *Schistosoma spp* : description

1 Taxonomie et description morphologique

Décrit en 1852 par le pathologiste allemand Theodor Bilharz, le schistosome est un parasite à sexes séparés : la femelle filiforme vient se loger dans le canal gynécophore du mâle lors de l'accouplement. Ils sont tous deux très reconnaissables : la femelle possède un corps long (environ 20mm) et cylindrique, plutôt étroit tandis que le mâle est plus aplati, plus large et plus court (~10mm). La femelle est de teinte foncée, alors que le mâle est blanc.

Quelques différences morphologiques peuvent toutefois être relevées d'une espèce de schistosome à l'autre [1, 2, 4].

Figure 1: arbre phylogénétique de *Schistosoma* [1]

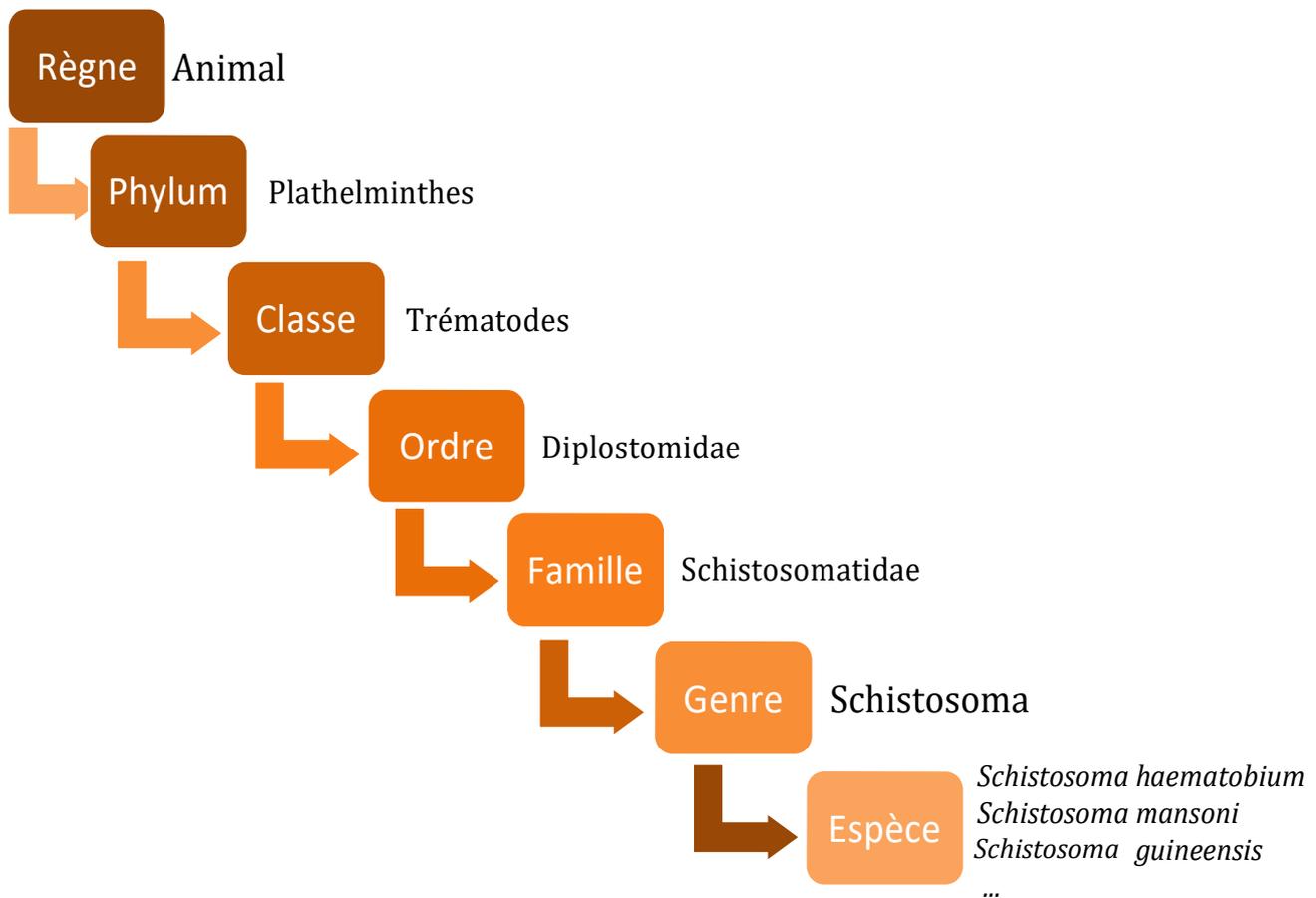
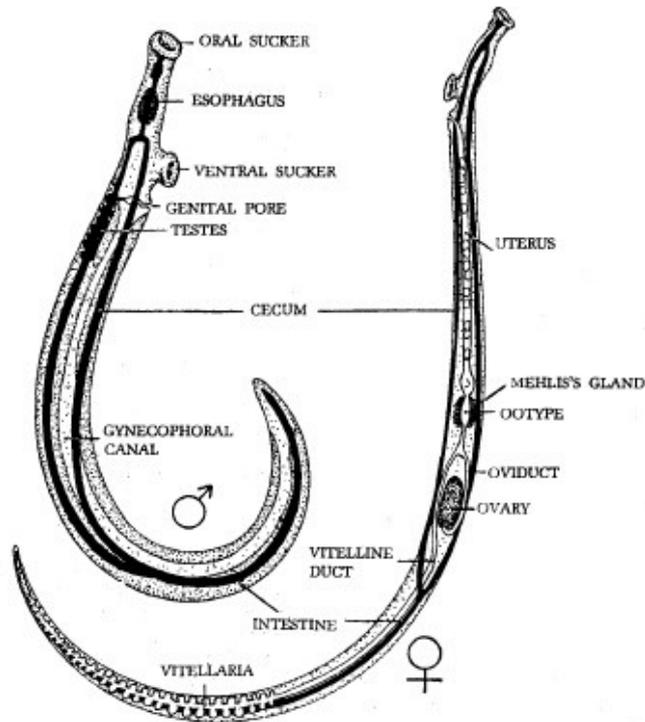


Figure 2: morphologie de schistosomes adultes mâle et femelle

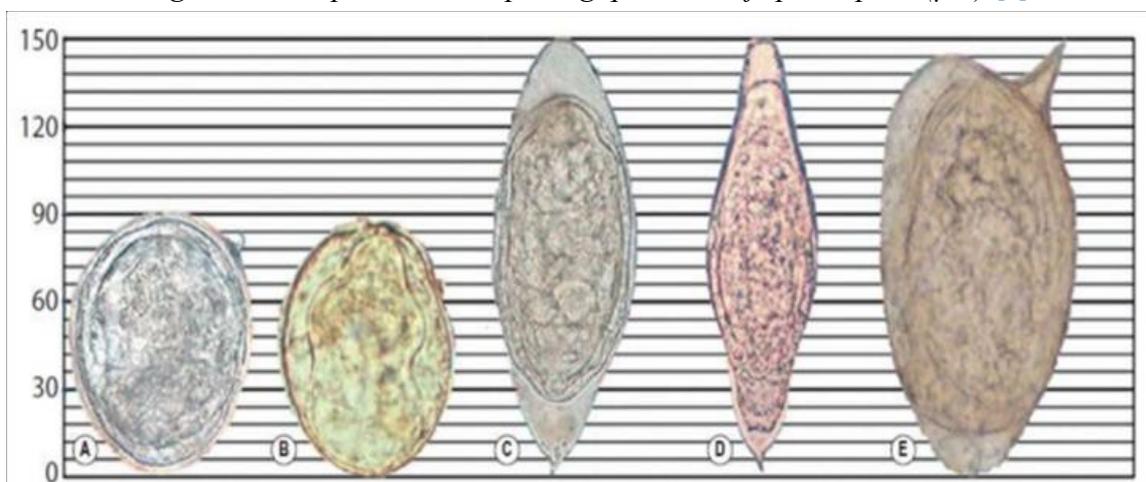


<https://www.slideshare.net/rajud521/schistosomes>

Chez les deux sexes il existe deux ventouses : la ventouse orale qui s'ouvre dans l'œsophage et qui se dédouble ensuite en deux branches intestinales qui se soudent pour former le caecum, et une ventouse ventrale qui est l'organe de fixation. Leur taille et leur morphologie diffèrent aussi au niveau des œufs.

La longévité de *Schistosoma haematobium* est de plus de 10 ans et l'Homme est son seul hôte définitif [2, 3, 8].

Figure 3 : comparaison morphologique des œufs par espèce (µm) [6]



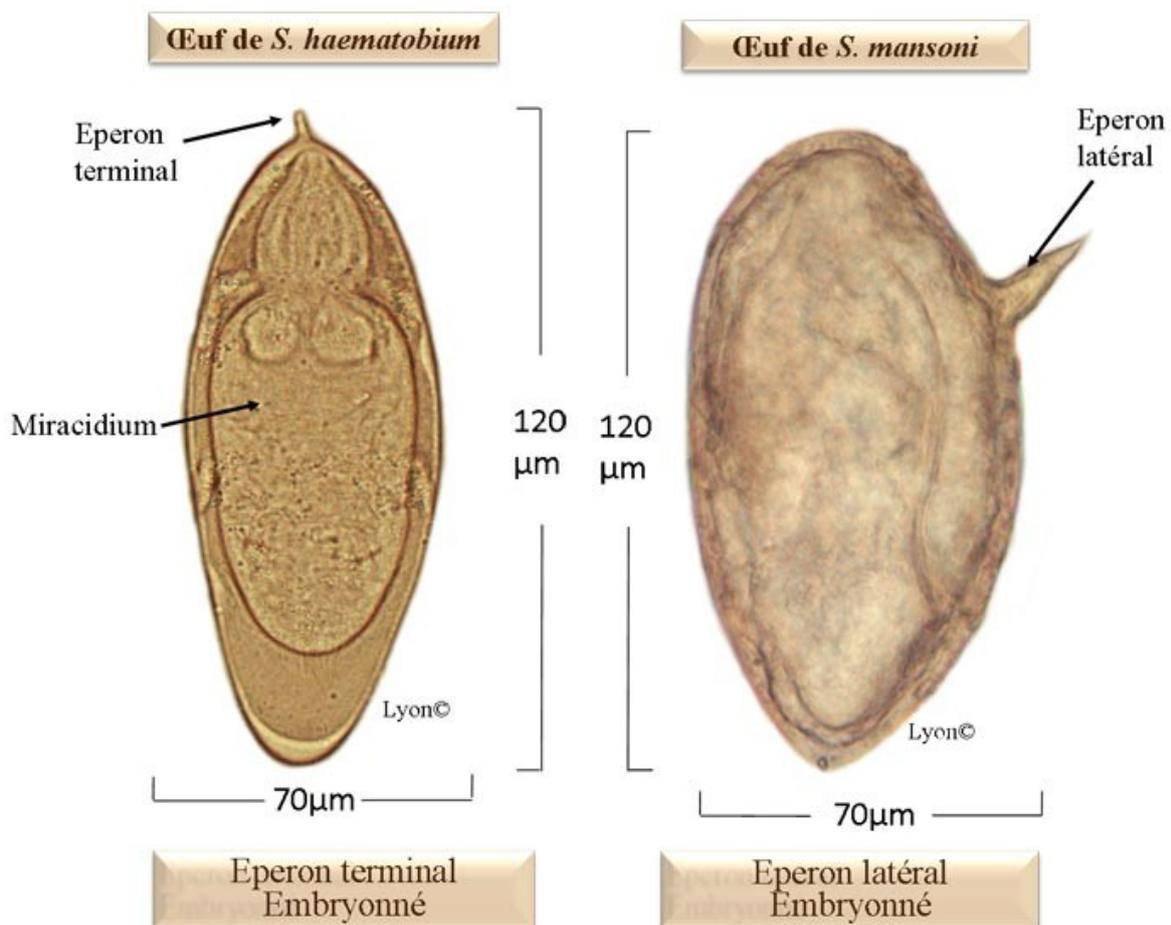
- (a): *Schistosoma japonicum*
- (b): *Schistosoma mekongi*
- (c): *Schistosoma haematobium*
- (d): *Schistosoma intercalatum*
- (e): *Schistosoma mansoni*

Tableau 1: exemples de caractéristiques morphologiques des œufs de *Schistosoma* selon l'espèce [2, 4, 5]

Espèce	Localisation parasite	Nombre d'œufs/jour	Forme des œufs	Prélèvement pour diagnostic
<i>S. haematobium</i>	Plexus veineux uro-génitaux	20-200	Ovale à éperon terminal 150/60 μm	Urines Biopsies vésicales
<i>S. mansoni</i>	Veine mésentérique supérieure	100-300	Ovale à éperon latéral 140/60 μm	Selles, biopsies rectales
<i>S. guineensis</i>	Plexus veineux périrectal	inconnu	Ovale à éperon terminal 200/65 μm	Selles, biopsies rectales

L'œuf de schistosome possède une caractéristique typique : la présence d'un éperon, terminal chez *S. haematobium*, et plutôt latéral chez *S. mansoni*. Il permet de différencier les deux espèces lors de l'examen microscopique d'une lame (sur un prélèvement d'urines principalement).

Figure 4 : œufs de *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma mansoni*



http://www.memobio.fr/html/para/pa_fi_shi.html

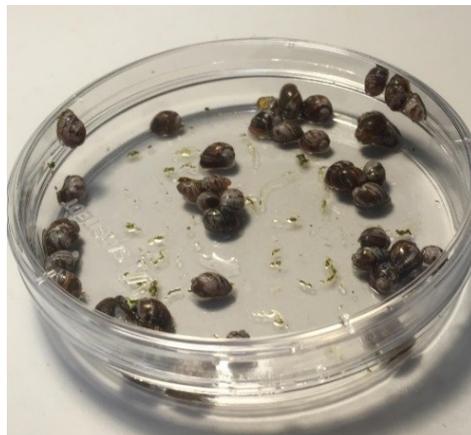
L'œuf de *Schistosoma mansoni* est de plus petite taille que celui de *Schistosoma haematobium*.

Cette caractéristique permet souvent l'identification de l'espèce au microscope, bien qu'une infection à *Schistosoma mansoni* soit beaucoup plus rare en routine.

2 Cycle parasitaire

La schistosomiase est une parasitose due à un vers hématoophage, à sexes séparés, vivant dans le système circulatoire des mammifères à son stade adulte et évoluant chez un mollusque d'eau douce qui servira d'hôte intermédiaire, à son stade larvaire. D'une espèce à l'autre, l'hôte intermédiaire n'est pas identique : par exemple pour *S. haematobium* l'hôte est le bulin alors que pour *S. mansoni* l'hôte est la planorbe.

Figure 5 : *bulinus truncatus* dans une boîte de pétri vide



<https://twitter.com/PaulJBrindley/status/635084782075006981/photo/1>

L'infection chez l'Homme se fait lorsque les larves du parasite pénètrent par la peau après leur libération par le gastéropode : l'Homme est l'hôte définitif.

On parle de cycle hétéroxène car le parasite a besoin de plusieurs hôtes pour se développer.

Le cycle existe et s'entretient selon des conditions d'hygiène particulières : une fois arrivés au stade adulte chez l'Homme, les vers migrent à contre-courant dans la circulation et le schistosome femelle se loge dans les cavités veineuses de la vessie ou de l'intestin où il va pondre ses œufs qui vont passer par effraction et être rejetés dans les urines ou dans les selles selon l'espèce mise en cause.

Dans des conditions de vie précaires, ces déjections se retrouvent dans le milieu extérieur, dans les eaux douces stagnantes locales notamment. Ainsi, en conditions favorables de pH et de température (pH neutre et température entre 18°C et 33°C), les œufs vont libérer leur forme larvaire ciliée : le miracidium. Cette forme a une durée de vie courte de quelques

heures et doit trouver son hôte intermédiaire, le bulin ou la planorbe, pour survivre. Son évolution chez l'hôte intermédiaire dure environ 1 mois.

A maturation, le miracidium est à l'origine de la formation de milliers de forme terminale évolutive : le cercaire. Possédant une queue bifide, cette forme, aussi appelée furcocercaire devient donc la forme infestante, circule en eau douce et pénètre par voie transcutanée toute partie du corps humain qui serait immergée en quelques minutes. Il perd sa queue lors de cette pénétration pour devenir un schistosomule [2, 3, 4, 5].

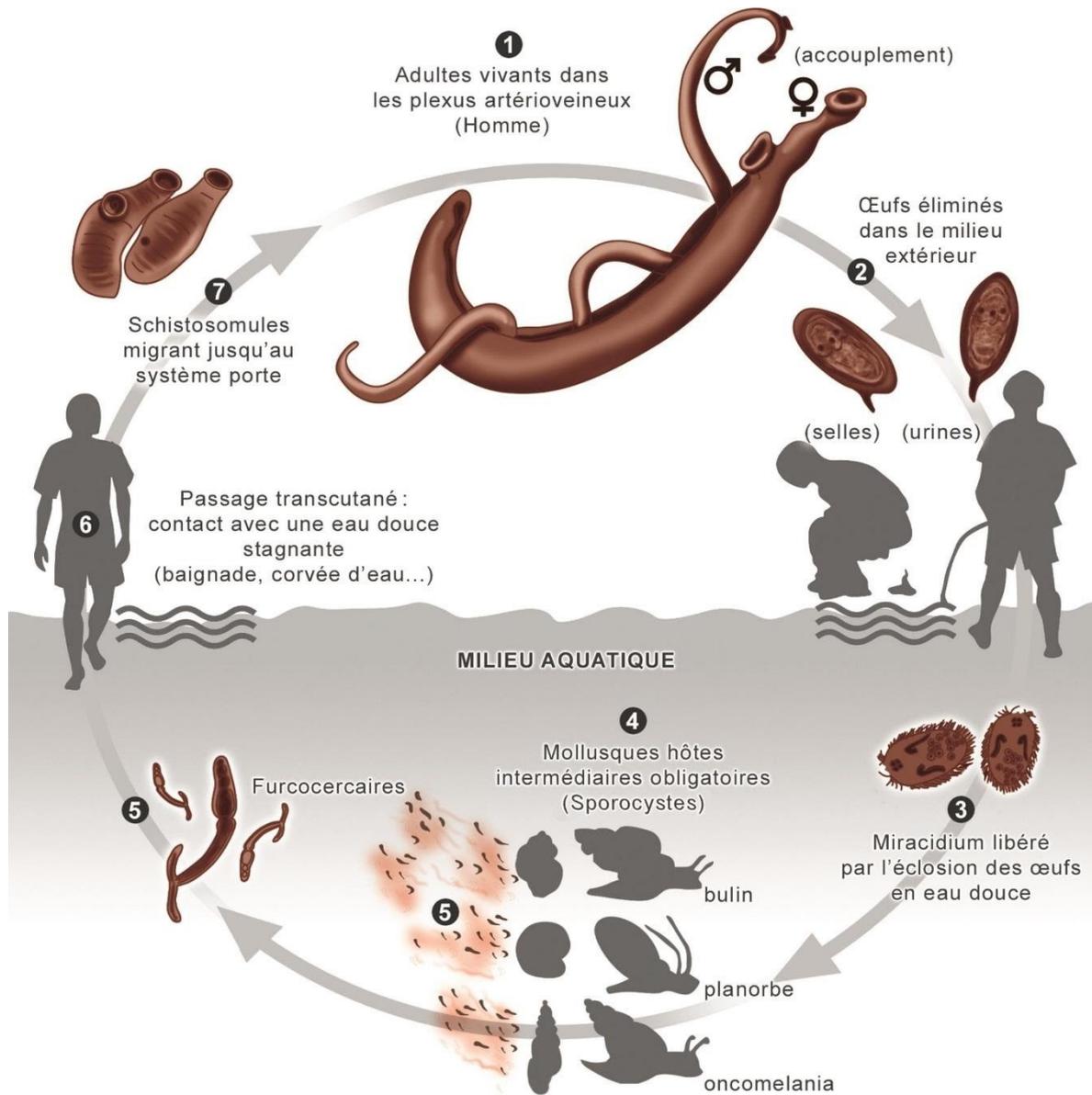
Figure 6 : furcocercaire de *S. mansoni* au microscope (500 μ m)
[2]



Si les œufs ne sont pas libérés dans ces conditions favorables, que les défenses de l'organisme de l'Homme arrivent à lutter contre eux ou qu'ils sont pondus dans des organes pleins (poumon, foie) ils ne peuvent pas évoluer et seront retrouvés calcifiés.

Dans le système veineux mésentérique les larves se transforment en forme adulte en environ deux mois puis s'accouplent. Les adultes vivent environ trois à cinq ans mais pour certains cela peut aller jusqu'à vingt voire trente ans !

Figure 7: cycle parasitaire du schistosome [2]



Certains facteurs sont considérés comme favorisant au développement de cette parasitose :

- Niveau socio-économique faible: utilisation des eaux naturelles pour des besoins domestiques et rejets des excréments, natation ou pêche dans des eaux infestées (enfants jeunes principalement qui sont rendus vulnérables à l'infestation)
- Activités professionnelles: agriculture, élevage, tâches ménagères

Pour lutter contre ce fléau, plusieurs techniques sont mises en place : assainissement approprié des eaux, accès à l'eau potable pour les zones reculées ainsi qu'une lutte contre les gastéropodes qui représentent les hôtes intermédiaires.

Un traitement préventif par du praziquantel est aussi instauré de façon périodique à grande échelle pour limiter le nombre de cas.

3 Espèces et répartition géographique

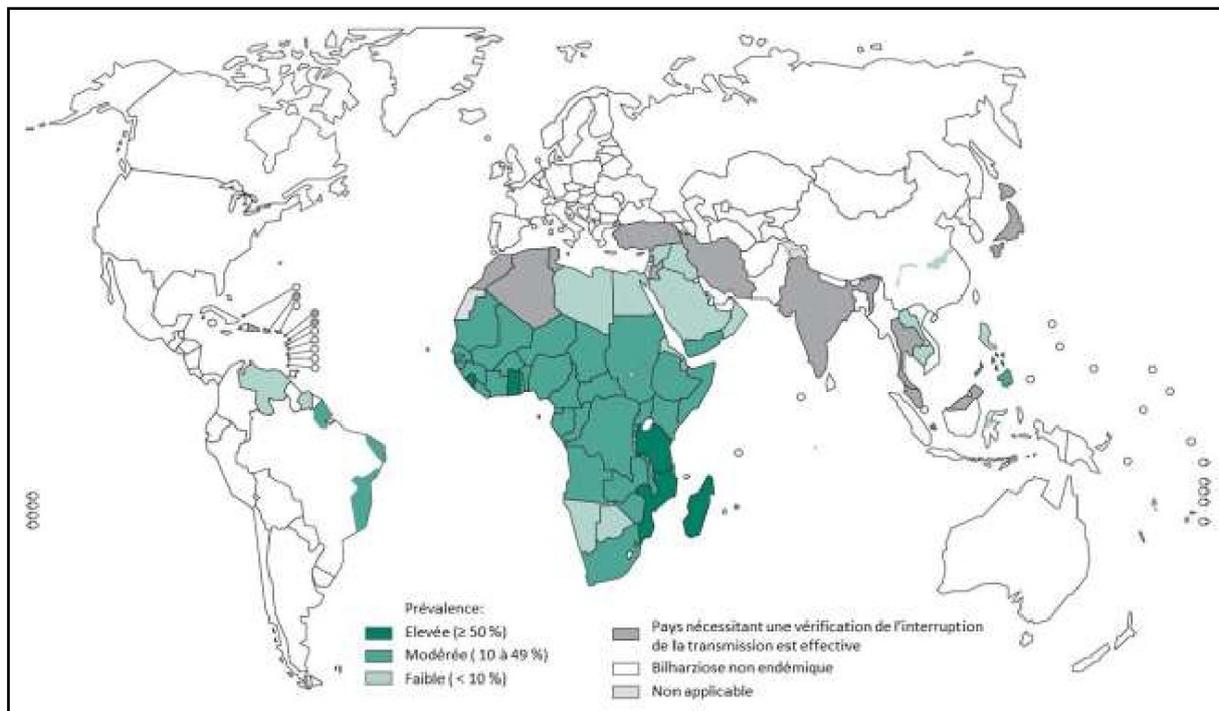
On considère que cinq espèces de *Schistosoma* sont pathogènes pour l'Homme. Elles sont responsables d'infections à localisation différente :

- *Schistosoma haematobium* : bilharziose urogénitale (ou urinaire)
- *Schistosoma mansoni* : bilharziose intestinale, quelques formes hépatospléniques
- *Schistosoma japonicum* : bilharziose hépatique sévère
- *Schistosoma mekongi* : bilharziose hépatique sévère
- *Schistosoma intercalatum* : bilharziose intestinale

L'Homme est considéré essentiellement comme l'hôte définitif des schistosomes.

La principale zone endémique est l'Afrique : on y retrouvera plusieurs espèces et notamment *S. haematobium* et *S. mansoni*, à moindre mesure *S. intercalatum* dans des zones humides d'Afrique centrale [2, 3, 4, 5].

Figure 8: répartition géographique de la bilharziose selon l'OMS en 2012



Schistosoma haematobium est l'espèce la plus répandue, elle est retrouvée au Moyen-Orient, à Madagascar et même exceptionnellement dans le sud-est de la Corse (France) entre 2012 et 2013. Sa caractéristique d'être non zoonotique et les températures élevées nécessaires à son développement expliquent toutefois l'absence de cette pathologie dans la liste des maladies parasitaires présentant un fort risque d'introduction en Europe.

S. mansoni a aussi une prévalence élevée dans les Caraïbes, en Amérique du Sud et a aussi été retrouvé à Madagascar.

Ces deux principales espèces ont aussi été mises en évidence dans la vallée du Nil. Les espèces *S. japonicum* et *S. mekongi* sont quant à elles plutôt retrouvées sur le continent asiatique (Chine, Indonésie, Philippines, Cambodge).

Tableau 2 : répartition des espèces selon leur réservoir et leur zone géographique
[2, 5, 31]

Espèce <i>Schistosoma</i>	Zoonose	Réservoir	Zone géographique
<i>S. haematobium</i>	Non	Hommes Eau	Afrique Moyen-Orient
<i>S. mansoni</i>	Oui	Hommes Eau	Amérique du Sud Afrique Moyen-Orient
<i>S. mekongi</i>	Oui	Hommes Chiens Eau	Asie
<i>S. japonicum</i>	Oui	Hommes Bovins Porcins Singes Rats, souris Eau	Asie
<i>S. intercalatum</i> / <i>S. guineensis</i>	Non	Hommes Eau	Afrique
<i>S. bovis</i>	Oui	Hommes Bovins Ovins Eau	Afrique du Nord Europe
<i>S. curassoni</i>	Oui	Hommes Ovins Caprins Bovins Eau	Afrique Occidentale Sénégal ++

II. Physiopathologie de la schistosomiase urinaire

1 Symptomatologie et manifestations cliniques

La bilharziose évolue en trois phases cliniques successives. [2, 4, 7]

Les effets pathogènes sont principalement causés par la présence d'œufs qui provoquent une réaction immunitaire granulomateuse avec hyperlymphocytose (augmentation des lymphocytes circulants) et hyperéosinophilie (augmentation des polynucléaires éosinophiles) : on parle de granulome bilharzien. Cette manifestation immuno-allergique peut devenir à long terme un bilharziome suite à la confluence de plusieurs granulomes bilharziens.

La bilharziose peut aussi être asymptomatique, notamment en zone endémique (40% des cas).

a Phase de pénétration cutanée des furcocercaires

Souvent asymptomatique, elle permet l'orientation du diagnostic quand elle est signalée lors de la phase d'invasion. Elle se manifeste par un prurit et des éruptions cutanées. On peut parler de dermatite cercarienne. Elle survient quelques heures après l'infestation par les furcocercaires et jusqu'à sept jours après.

b Phase d'invasion

Elle correspond à la migration des vers dans le système veineux et se manifeste par de la fièvre, des céphalées, une dyspnée asthmatiforme, hépatomégalie et diarrhée. On retrouve dans cette phase aussi une éruption cutanée de type urticaire. Plus rarement on pourra retrouver une encéphalopathie et/ou une pneumopathie. Elle survient entre deux et douze semaines post-infestation. L'hyperéosinophilie est constante et marquée.

Cette phase peut être inapparente chez le patient vivant en zone d'endémie alors qu'elle sera bien visible chez le voyageur mais ce syndrome pseudo-grippal peut induire en erreur vers une autre pathologie typique d'un retour de zone endémique, le paludisme.

c Phase d'état

C'est la phase qui va différer en fonction de l'espèce impliquée, elle peut se révéler quelques semaines à plusieurs années après l'infestation.

- Bilharziose urinaire ou uro-génitale par *S. haematobium* :
 - ✓ Hématurie macroscopique : signe le plus classique retrouvé dans cette forme de bilharziose, il s'explique par l'effraction des parois vasculaires provoquée par les œufs induisant ainsi des microsaignements
 - ✓ Symptômes typiques d'une cystite : pollakiurie, brûlures mictionnelles
 - ✓ Forte inflammation provoquant des infections et une insuffisance rénale
 - ✓ Atteintes génitales chez la femme : saignements du vagin, douleurs au moment des rapports sexuels, nodules dans la vulve
 - ✓ Un cancer de la vessie peut être une complication en cas de forme avancée
 - ✓ Pathologie des vésicules séminales ou de la prostate chez l'homme
 - ✓ Stérilité possible sur le long terme

Les autres formes de bilharziose auront aussi un tableau clinique typique :

- Bilharziose intestinale par *S. mansoni* et *S. intercalatum* : diarrhées sanglantes, rectorragies, douleurs abdominales et spasmes coliques
- Bilharziose hépatosplénique par *S. mekongi*, *S. japonicum* et *S. mansoni* : hépatite granulomateuse évoluant vers une fibrose

Il existe d'autres formes, plus rares, de type rénales, pulmonaires, cutanées, digestives ou encore cardiaques.

De plus, cette pathologie provoque des séquelles graves notamment chez l'enfant pour lequel on peut observer un retard de croissance, une anémie, une diminution des capacités d'apprentissage comme chez l'adulte qui pourra être limité dans sa capacité de travail. Ces effets sont cependant généralement réversibles en présence de traitement.

2 Traitement et prise en charge

Toute bilharziose évolutive doit être traitée afin d'éviter les complications.

Le traitement de première intention de la bilharziose à *S. haematobium* repose sur l'administration en dose unique de praziquantel (antihelminthique), à titre de 40mg/kg de poids corporel, dose à répéter après un mois. [2]

Le praziquantel augmente la perméabilité des membranes cellulaires pour les ions calcium par perturbation des phospholipides membranaires. Ce mécanisme induit une contraction des schistosomes et leur téτανisation et ainsi la destruction des téguments. Les parasites morts sont ensuite éliminés par l'immunité de l'hôte par phagocytose ou libérés dans la circulation systémique.

Sa pharmacocinétique est relativement classique : absorption rapide avec pic en 1 à 3 heures, métabolisme hépatique et élimination rénale avec demi-vie de 1h à 1h30.

Il est conseillé de prendre le traitement au cours d'un repas ou peu après, le soir en cas de prise unique (et dans un intervalle de quelques heures en cas de prises répétées).

Quelques interactions médicamenteuses sont à prendre en compte avec les inducteurs de cytochromes. Le traitement est possible chez la femme enceinte, quel que soit le terme et à surveiller chez l'insuffisant hépatocellulaire ou en cas de troubles du rythme cardiaque. [9, 10]

Il est important de souligner que le praziquantel n'est efficace que sur les formes adultes de schistosome et qu'ainsi il est primordial de retarder le traitement de plusieurs semaines (entre six et huit en moyenne) afin que les schistosomules aient atteint leur maturation : le traitement ne doit jamais être administré en phase d'invasion car il peut aggraver la symptomatologie.

Il est efficace sur toutes les espèces de schistosome.

Un traitement chirurgical peut être proposé si les lésions n'ont pas régressé suite au traitement médicamenteux.

Le traitement doit être répété si lors de l'examen de suivi six semaines après la prise du traitement il persiste encore des œufs.

On pratiquera aussi une NFS et une sérologie de contrôle. La surveillance thérapeutique doit se faire à 2 mois, 6 mois et 1 an plus tard.



Il est à noter que des œufs morts peuvent être émis pendant plusieurs mois.

Un traitement préventif est aussi instauré afin de réduire la morbidité de la pathologie, ciblant les populations pour un traitement à grande échelle (on estime à 52 le nombre de pays touchés par l'endémie).

Dans les zones de forte transmission il est recommandé de traiter les populations à risque tous les ans et ce durant plusieurs années. Cette méthode permet de guérir les symptômes bénins et d'éviter aux sujets infectés de développer la maladie au stade chronique avec une forme sévère.

Mesures préventives :

- éviter le contact avec de l'eau douce contaminée
- bouillir l'eau douce utilisée comme bain pendant au moins 1 minute
- accès à l'eau potable pour les villages reculés
- lutte contre les mollusques
- se sécher vigoureusement la peau avec une serviette en cas de contact avec une eau potentiellement contaminée
- émission des urines et des selles dans des latrines réduit le risque d'infection
- traitement de masse par le praziquantel en ville ou milieu scolaire, régulièrement et sur le long terme

Ce traitement possède l'avantage d'être efficace sur toutes les formes de schistosomiase et de ne pas avoir un coût considérable.

Il est à noter que les réinfestations post-traitement sont toutefois possibles mais que le risque de développer une forme grave est alors fortement diminué voire nul quand les cures ont été initiées dès l'enfance.

III. Hybrides et espèces animales

La diversité génétique de *Schistosoma* ainsi que sa possibilité d'hybridation inter-espèces ont un impact sur la dynamique de transmission, l'interaction hôte-parasite, la virulence du parasite ou encore la sensibilité du traitement. [3, 29, 30, 31, 32]

L'hybridation permet au parasite d'élargir son spectre d'hôte, que ce soit pour l'hôte intermédiaire ou l'hôte définitif.

Les phénomènes migratoires et le réchauffement climatique sont deux phénomènes qui augmentent la probabilité de rencontre entre le parasite et deux hôtes potentiels.

L'hybridation entre espèces génétiquement proches plus souvent rapportée est :
S. haematobium* / *S. bovis* > *S. haematobium* / *S. mansoni

Ces cas d'hybridation sont de plus en plus souvent retrouvés chez l'Homme : *S. mansoni* et *S. rodhaini* au Kenya, *S. mansoni* et *S. haematobium* au Sénégal, *S. guineensis* et *S. haematobium* au Bénin et au Cameroun.

Récemment, un foyer de bilharziose a été mis en évidence en Corse du Sud, plus particulièrement au niveau de la rivière Cavu dont les eaux peuvent approcher les 30°C au cours de l'été. Des cas ont été rapportés en janvier 2014 avec la mise en évidence d'œufs de *Schistosoma* dans les urines d'un jeune garçon pris en charge pour une hématurie. Quelques semaines plus tard, des familles ont aussi été diagnostiquées positives à *Schistosoma haematobium*. Cependant, aucun de ces patients ne faisait état d'un voyage en zone endémique. Il a été ensuite mis en évidence que tous avaient voyagé en Corse.

Schistosoma haematobium est considérée spécifique de l'Homme, qui est le principal réservoir de l'infection. Toutefois, de nombreuses espèces de schistosome sont retrouvées chez l'animal, mais peuvent aussi être retrouvées exceptionnellement chez l'Homme (*S. bovis* notamment).

Dans le foyer Corse, il a été retrouvé une majorité de formes hybrides à *S. haematobium* et *bovis*, quelques formes pures à *S. haematobium* et très rarement des formes de *S. bovis*. [30,31]

L'espèce *S. bovis* est capable de se développer chez les deux types de mollusques (planorbe et bulin) et peut aussi être retrouvée dans les mêmes zones géographiques que *S. haematobium*, avec laquelle elle s'hybride.

Cette hybridation profère de nouvelles capacités infectieuses qui sont alors supérieures : la capacité d'adaptation particulière permet l'infection d'une plus grande diversité d'hôtes.

En effet, *S. bovis* peut infecter le *Bulinus truncatus*, mollusque naturellement présent dans les îles méditerranéennes et dans tout le sud de l'Europe, mais il peut aussi infecter des mollusques du genre *Planorbarius*, retrouvé dans la péninsule ibérique.

Il n'est cependant pas certain que cet hybride *S. haematobium* x *S. bovis* puisse être retrouvé dans ce mollusque, ni qu'il puisse infecter des ruminants.

Des études en laboratoire ont montré l'augmentation de la virulence du parasite vis-à-vis de l'Homme suite à une hybridation : 30 % des cercaires de *S. haematobium* sont capables de se développer en parasite adulte, contre 23 % pour *S. intercalatum*. L'hybridation des deux espèces montre une capacité infectante bien supérieure avec 66 %. En conséquence, la pathogénèse induite est elle aussi accrue. [30]

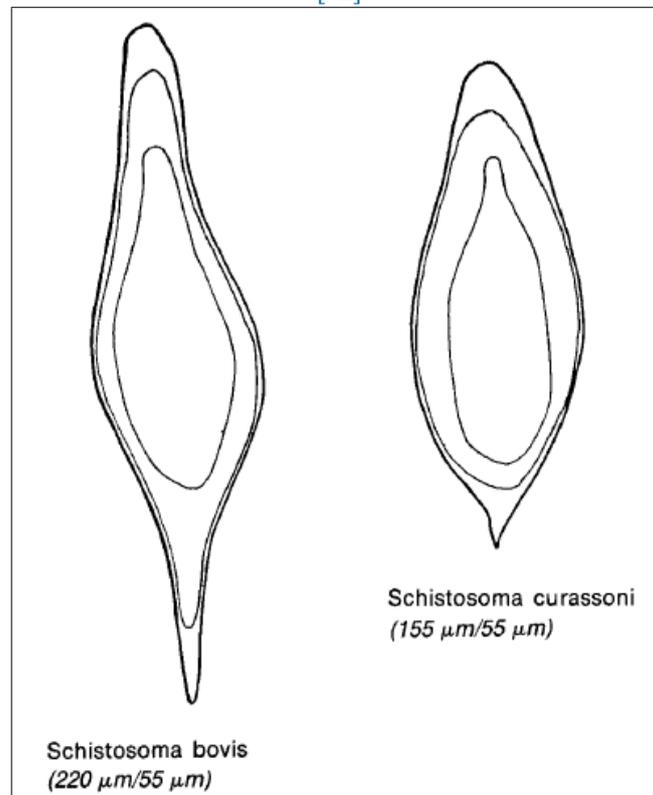
De la même manière, l'excrétion des œufs peut être modifiée ou bien évoluer : chez *S. haematobium* les œufs sont retrouvés dans les urines tandis qu'avec *S. bovis* ils sont émis dans les selles. Dans le cas d'hybride il semblerait que les deux voies d'élimination soient possibles ! Il convient alors de réaliser un examen direct pour les deux types de prélèvement, au risque d'obtenir de faux négatifs par exemple si seules les urines sont recueillies. [30]

Une autre espèce a longtemps été confondue avec *S. bovis* : *S. curassoni*.

Il est retrouvé au Sénégal, et infecte principalement le mollusque *Bulinus umbilicatus*.

Ces deux espèces diffèrent par la morphologie de leurs œufs [41,42] : pour *S. bovis* l'œuf est fusiforme et étiré aux deux extrémités tandis que pour *S. curassoni*, l'œuf est plus petit, arrondi à une extrémité et pointu à l'autre (il ressemble à l'œuf de *S. haematobium*).

Figure 9: comparaison schématique des œufs de *S. bovis* et *S. curassoni* [42]



S. bovis est plus répandu car sa distribution est plus large, tandis que *S. curassoni* sera plus localisé, infestant principalement les petits ruminants.

De nombreuses autres possibilités d'hybridation existent et sont retrouvées chez les animaux. Elles sont cependant moins fréquentes.

Tableau 3 : différentes possibilités d'hybridation inter-espèces et pays où ces hybrides ont été décrits
[31]

Hybrides de schistosomes humains	<i>S. haematobium</i>	<i>S. intercalatum</i>	Cameroun, Gabon
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. mansoni</i>	Sénégal, Côte d'Ivoire
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. guineensis</i>	Cameron, Bénin
Hybrides de schistosomes animaux	<i>S. bovis</i>	<i>S. curassoni</i>	Sénégal, Mali
Hybrides de schistosomes humains et animaux	<i>S. mansoni</i>	<i>S. rodhaini</i>	Kenya, Tanzanie
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. bovis</i>	Sénégal, Niger, Bénin
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. mattheei</i>	Afrique du Sud
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. curassoni</i>	Sénégal

PARTIE 2 :

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE ET CLINIQUE

I. Tableau clinique

La schistosomiase urinaire doit être suspectée selon les arguments suivants : [2, 3, 6, 7, 8]

- Épidémiologiques : patient de retour d'une zone endémique avec notamment la notion de baignade ou contact prolongé en eaux douces (étang, marigot, rivière)
- Cliniques : syndrome fébrile (« fièvre des Safaris ») survenant quelques semaines après l'exposition (phase d'invasion), hématurie (phase d'état)
- Biologiques : hyperéosinophilie sanguine, élevée en phase d'invasion mais discrète voire absente en phase d'état

On relève dans les heures qui suivent l'exposition une réaction d'hypersensibilité au cours de la phase d'invasion sous forme de dermatite cercarienne (éruption érythématoprurigineuse) liée à la pénétration de la peau des cercaires. Ces manifestations allergiques sont cependant plus rarement présentes chez le patient vivant en zone d'endémie, on les relèvera principalement chez le voyageur en retour de voyage.

Figure 10 : illustrations de manifestations cliniques allergiques cutanées de schistosomiase



Après une période de quelques semaines de latence, on peut observer le syndrome de Katayama lié à la migration des larves de schistosomules : fièvre, toux sèche, urticaire, myalgies, hyperéosinophilie. Enfin, la phase d'état est peu symptomatique chez le voyageur (faible charge parasitaire) et est plus marquée chez les patients vivant en zone endémique. Dans cette forme urogénitale, les œufs se fixant au niveau des parois de la vessie et des uretères, ils provoquent une réaction granulomateuse intense avec ulcérations et pseudo-polypes. Cela est responsable de phénomènes de dysurie, de pollakiurie, protéinurie, uréthro-hydronéphore, surinfections bactériennes

(*Salmonella spp.*), hématurie terminale et stérilité. Si la prise en charge se fait avant le développement d'une fibrose et de calcifications, les atteintes du système vésical peuvent être réversibles. Dans le cas inverse, l'obstruction du col vésical et le méga-uretère mèneront à une insuffisance rénale terminale.

Il est à noter qu'une schistosomiase urinaire est aussi un facteur de risque de développer un cancer de la vessie tandis que la forme génitale de la maladie peut entraîner des lésions ulcératives et hypertrophiques de l'appareil génital avec comme conséquence une infertilité.

II. Examen direct : microscopie

Le diagnostic de schistosomiase urinaire repose sur la mise en évidence des œufs du parasite dans les urines. En principe, elle est possible à la phase d'état lorsque le ver est arrivé à maturité (soit 2 à 3 mois après l'infestation par les furcocercaires de l'hôte). [2, 3, 5]

Les biopsies ne sont pas un examen de première intention et sont réservées aux lésions macroscopiques suspectes.

Il est à noter que si la présence d'œufs dans un produit biologique affirme le diagnostic de bilharziose, leur absence n'exclut pas l'existence d'une bilharziose évolutive ou chronique. En effet, la ponte n'arrive qu'au bout de quelques semaines et de plus les œufs ne sont pas retrouvés dans tous les cas. La sensibilité de l'examen parasitologique des urines ne dépasse pas les 50 %.

1. Prélèvement et traitement

Les œufs de *S. haematobium* sont recherchés dans les urines.

L'analyse se fait idéalement sur des urines de 24h ou à défaut sur des urines collectées en fin de miction matinale, suite à un exercice de contraction de la sangle abdominale ou un effort physique de type marche à pied (permettant le détachement des œufs de la paroi vésicale). Elles sont ensuite concentrées par centrifugation, sédimentation ou filtration. C'est le culot de centrifugation qui est examiné en totalité.

2. Analyse microscopique

Les œufs de *S. haematobium* mesurent environ 150µm sur 60 µm. Ils sont arrondis, de forme ovale sans rétrécissement au pôle opposé à l'éperon. L'éperon est en position terminale.

La coque est épaisse, plus ou moins incolore.

Figure 11 : microscope et pot stérile à urine

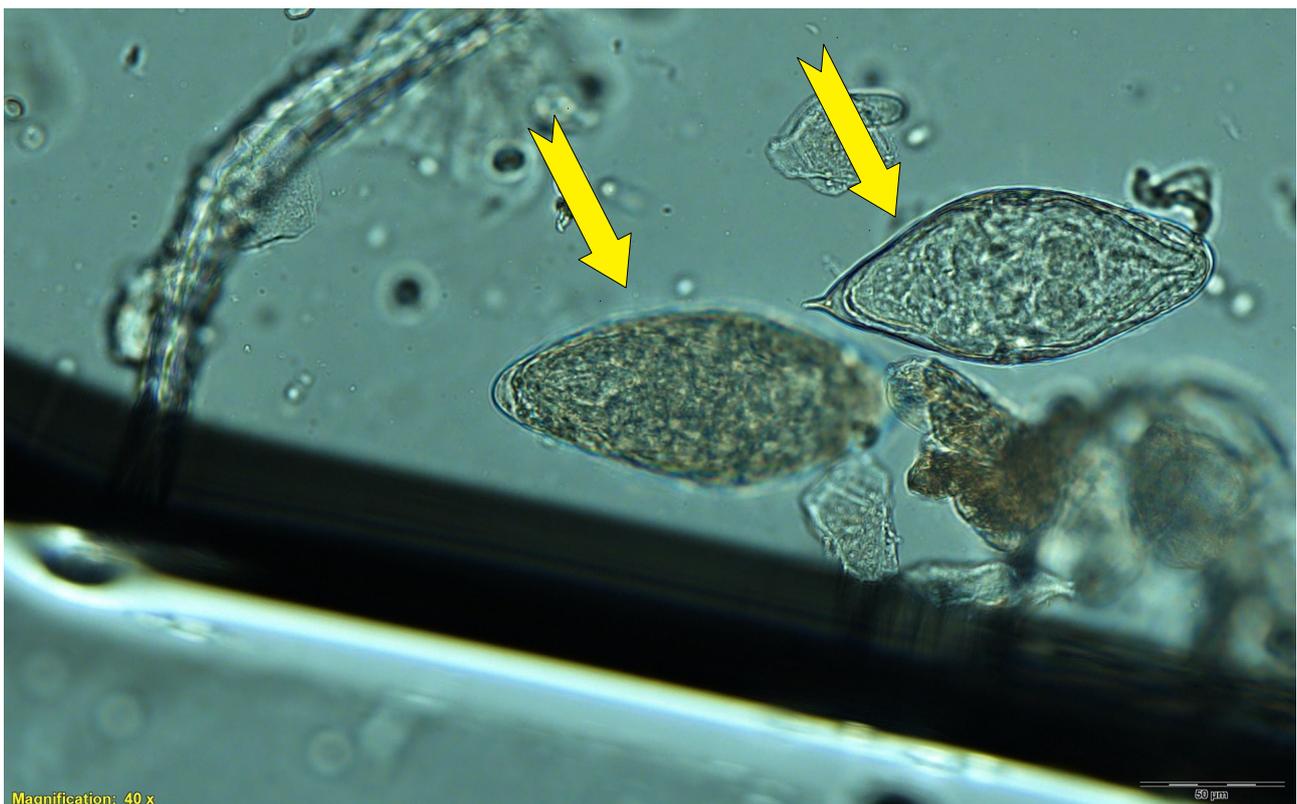


<https://www.socimed.com/pot-a-urine-sterile-60-ml-en-ps.html>

Figure 12 : œuf de *S. haematobium* mis en évidence chez un patient de notre étude, grossissement x100



Figure 13 : œufs de *S. haematobium* mis en évidence chez un patient de notre étude, grossissement x400



III. Autres examens

L'examen sérologique est indissociable de la recherche directe des œufs dans les urines, il permet une orientation diagnostique aboutissant parfois à la décision thérapeutique en l'absence de preuve parasitologique. Pour une sensibilité optimale, il est recommandé de réaliser deux techniques de sérodiagnostic de dépistage associant des antigènes de natures différentes (ELISA, HAI).

En cas de résultats discordants seul le Western-Blot permet de confirmer ou d'infirmer les diagnostics.

De façon générale, on fait appel à une technique de screening généralement par ELISA suivi d'une technique de confirmation en cas de résultat douteux. [2, 3, 5]

- Immunofluorescence indirecte (IFI) : méthode basée sur l'utilisation de deux anticorps, le premier reconnaît la protéine d'intérêt de façon spécifique tandis que le deuxième est dirigé contre l'anticorps primaire. Ce second anticorps, marqué par un fluorochrome, permet un marquage par haute affinité avec l'anticorps dirigé contre l'antigène recherché.
- Hémagglutination indirecte (HAI) : technique associant des antigènes particuliers et des anticorps peu agglutinants pour laquelle il sera nécessaire de potentialiser l'agglutination par ajout de macromolécules diminuant les forces de répulsion (albumine) ou encore par diminution du potentiel zêta (ajout d'antiglobulines).
- ELISA indirect (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) ou EIA (Enzyme ImmunoAssay) : technique de détection immunoenzymatique des complexes antigènes-anticorps d'intérêt ; l'antigène spécifique des anticorps recherchés est absorbé sur une microplaque.
- Western blot (WB) : technique qualitative qui permet de mettre en évidence des anticorps dirigés contre les protéines spécifiques de *Schistosoma*, ces protéines étant séparées par électrophorèse dénaturante puis transférées sur une membrane de nitrocellulose.

Tableau 4 : présentation de quelques tests sérologiques utilisés pour le diagnostic indirect

Technique	Avantage	Inconvénient	Caractéristiques
IFI	Sensible Spécifique	Entretien de souches au laboratoire	Utilisation antigène figuré Réaction se positivant à partir de la 5 ^e semaine Négativation 10-15 mois post-guérison
ELISA	Sensible Spécifique	Antigènes ovulaires	Utilisation extrait antigénique
Hémagglutination indirecte	Sensible, simple	Manque de Spécificité	Utilisation extrait antigénique
Western-Blot	Sensible Spécifique		Proposé en test de confirmation en cas de résultat douteux des autres techniques

Les tests ne se positivent en moyenne qu'à partir de la 6^e semaine après la contamination. En phase d'invasion, la sérologie est positive dans environ 90% des cas (mais seulement 20% des cas montrent un taux assez élevé pour poser le diagnostic).

En cas de tableau évocateur avec une sérologie négative, la sérologie devra être répétée 15 jours après.

Un rapport récent de la HAS (Janvier 2017) [3], rapporte que la sérologie trouve sa place dans le diagnostic de la schistosomose pour :

- Dépistage de cas autochtones
- Toute personne migrante originaire de zone endémique
- Devant une symptomatologie évocatrice d'une parasitose mais non spécifique de la schistosomose (éosinophilie, fièvre, diarrhée, hématurie ...)

La recherche d'anticorps anti-schistosomes se fait par au moins une des deux techniques principales : immunoenzymatique « ELISA » ou d'hémagglutination indirecte (HAI).

La confirmation sérologique devant un résultat positif ou discordant si les deux techniques ont été réalisées se fait par la réalisation d'une immunoempreinte, le western-blot.

Il est à noter que la sérologie ne donne aucune indication sur le caractère ancien ou aigu de l'infection, mais aussi sur l'espèce de *Schistosoma* responsable, la charge parasitaire ou encore le pronostic de la maladie.

D'autres examens pourront être prescrits pour mettre en évidence ces dégradations lors de la phase évolutive de la maladie :

- Cytoscopie : plusieurs stades sont décrits selon le type et le degré d'atteinte d'organe
 - Stade 1 : « grains de sucre semoule », avec la présence de fines granulations en forme de tête d'épingle, correspondant à un granulome bilharzien centré sur un œuf et sur une muqueuse érythémateuse
 - Stade 2 : « grains d'acné », avec des nodules plus ou moins ulcérés correspondant à la réunion de lésions primaires et formant des granulomes bilharziens géants centrés par plusieurs œufs
 - Stade 3 : « tumeur framboisée », avec hyperplasie épithéliale ou papillome bilharzien correspondant à une formation arrondie d'environ 1 cm de diamètre, rougeâtre, siégeant au niveau du bas fond vésical et saignant au contact
 - Stade cicatriciel : aspect terne et calcifications diffuses, la fibrose s'étend à toute l'épaisseur de la paroi, la rendant inextensible
- Radiographie : calcifications vésicales et urétrales visibles. La vessie peut être entièrement calcifiée (« vessie porcelaine »)
- Urographie intraveineuse : indispensable pour faire le bilan des lésions vésicales et urétrales et pour évaluer le retentissement rénal en amont. 4 stades au niveau rénal : hypotonie (*retard d'excrétion*), stase (*image nette*), hydronéphrose (*dilatation des cavités*), mutisme
- Echotomographie : permet de repérer les papillomes vésicaux et dilatations rénales

IV. Biologie moléculaire : principe général

L'avènement de la biologie moléculaire a amené naturellement cet outil à être positionné dans la démarche diagnostique de la bilharziose. [2, 7]

Sa grande sensibilité permet de rendre un diagnostic positif pour des charges parasitaires plus faibles. Son utilisation en routine reste encore réservée aux laboratoires spécialisés.

Toutefois elle commence à faire son apparition dans les panels syndromiques commercialisés.

1. Extraction de l'ADN

L'extraction est une technique permettant d'isoler l'ADN des cellules ou des tissus à partir d'un prélèvement biologique. Elle consiste en un processus complexe nécessitant la lyse des cellules, l'élimination des inhibiteurs de PCR (*polymerase chain reaction*) notamment dans les selles, l'inactivation des nucléases libérées et l'élution des acides nucléiques. [2]

La lyse cellulaire est initiée par des étapes de concentration ou séparation cellulaire (centrifugation par exemple) et utilise un traitement chimique (détergents, agents réducteurs, ...), une digestion enzymatique et/ou une rupture mécanique (broyage, chocs thermiques, ...).

Le choix de l'échantillon à extraire est déterminé par la pathologie recherchée : dans le cas de parasitoses intestinales, un prélèvement de selles et/ou d'urines sera préféré.

Dans le cas d'une suspicion de schistosomiase, on prélève principalement les urines du patient. Le prélèvement est traité afin d'en extraire l'ADN total : mélangé dans un tampon de lyse afin d'éclater les parois cellulaires il est vortexé puis centrifugé. La technique utilisée en routine pour le diagnostic de schistosomiase urinaire sera développée dans la partie 3.

2. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) standard et temps-réel

L'ADN obtenu suite à l'extraction est amplifié par PCR ou réaction d'amplification génique. Cette amplification permet d'augmenter considérablement la séquence cible d'ADN d'intérêt recherchée à partir d'amorces spécifiques.

Le but est de multiplier de façon exponentielle le nombre de séquences de l'ADN d'intérêt afin de favoriser son identification.

Elle consiste en une étape d'initialisation, à haute température (environ 95°C entre 5 et 10 minutes) pour l'activation de l'enzyme utilisée, suivie d'une série de plusieurs cycles de température, en moyenne entre 20 et 40 cycles puis enfin d'une étape finale d'extension.

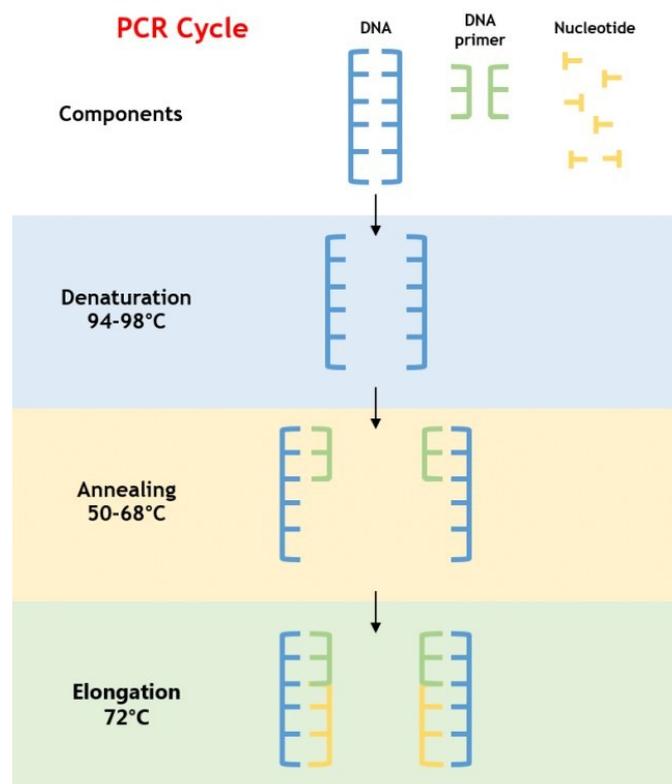
Cette technique nécessite différents composants :

- Nucléotides (dNTPs) : nécessaires à la synthèse des nouveaux brins d'ADN
- Polymérase : enzyme résistante à la température du processus de dénaturation
- Amorces spécifiques ou *primers* : deux amorces complémentaires (fonctionnant par couples), permettant l'élongation d'un double brin d'ADN
- Solution tampon (permettant un environnement chimique stable pour la polymérase), cations bivalents (principalement le magnésium ou Mg^{2+}), ions potassium monovalent (K^+)

Chaque cycle se compose de 3 étapes se réalisant chacune à une température différente : les températures sont déterminées selon l'enzyme utilisée pour la synthèse d'ADN, la concentration en ions et en dNTPs et la température d'hybridation T_m spécifique des amorces.

- **Dénaturation** : haute température (94-98°C), durant environ 30 secondes. Elle permet de casser les liaisons hydrogènes entre les bases d'ADN du double brin, le séparant ainsi en 2 molécules d'ADN simple brin
- **Hybridation** : température plus faible, spécifique, en moyenne 30 secondes. Elle permet l'hybridation des amorces aux brins d'ADN
- **Élongation** : température moyenne, strictement dépendante de la polymérase utilisée (en moyenne 72°C pour la Taq polymérase, enzyme la plus commune). Elle permet la synthèse d'un nouveau brin complémentaire par ajout de dNTPs.
La durée de cette étape dépend de la polymérase utilisée mais aussi de la longueur du fragment à amplifier

Figure 14 : schéma du processus de PCR



<https://www.clinisciences.com/achat/cat-pcr-conventionnelle-3473.html>

Actuellement, le diagnostic moléculaire de la schistosomiase se fait par une PCR en temps réel (RT-PCR pour *Real-Time Polymerase Chain Reaction*) alors que la PCR standard est réservée aux techniques de séquençage du génome. Cette RT-PCR repose sur la technique de sonde d'hybridation ciblant le gène *Dra1*, gène le plus décrit pour le diagnostic de *S. haematobium*. Cette séquence répétée de 121 paires de bases est considérée comme spécifique à *S. haematobium* et elle constitue environ 15 % de son génome. [15, 20, 21]

Figure 15 : séquence de la région répétée *Dra1*, numéro GenBank DQ1557698.1

```
>DQ157698.1 Schistosoma haematobium repeat region sequence
GATCTCACCTATCAGACGAAACAAAGAAAATTTTAAAATTGTTGGTGGAAGTGCCTGTTTCGCAATATCT
CCGGAATGGTTGGTTCGTATCGTTGTGAAAATTGTTTCATATTATTGGTGAC
```

La technique repose sur l'hydrolyse de la sonde d'hybridation qui émet un signal de fluorescence. Les amorces complémentaires dites *forward* et *reverse* utilisées sont celles décrites dans les publications et une sonde fluorescente a été ajoutée pour cette méthode.

Tableau 5 : séquences des amorces et sonde utilisées pour la PCR *Dra1*

Amorce Forward : ShFW	5'-GATCTCACCTATCAGACGAAAC-3'
Amorce Reverse : ShRV	5'-TCACAACGATACGACCAAC-3'
Sonde	5'-TGTTGGTGGAAGTGCCTGTTTCGCAA-3'

MATÉRIEL ET MÉTHODES

PARTIE 3 :

DÉTERMINATION DES ESPÈCES ET RECHERCHE DES HYBRIDES PAR MÉTHODES DE SÉQUENÇAGE

I. Présentation des patients

1. Épidémiologie

Nous avons retenu pour cette étude des patients pour lesquels le diagnostic de bilharziose a été prouvé par un examen direct positif ou des patients suivis pour leur bilharziose urinaire (échantillon à distance du diagnostic et du traitement).

Les patients de cette étude seront tous anonymisés. Leur numérotation est arbitraire. L'âge noté correspond à celui au moment du diagnostic.

Le tableau suivant résume les principales caractéristiques de ces patients : âge, sexe, pays d'origine, résultat de l'examen direct au microscope et origine du prélèvement observé, résultat de l'examen biomoléculaire mis en place en routine au laboratoire.

*Tableau 6 : Liste des patients étudiés avec leurs caractéristiques
Voir annexe pour tableau complétement*

PATIENT	AGE	SEXE	Pays d'origine	Examen direct	PCR Dra1	Sérologie	Origine prélèvement
Patient 1	17 ans	M	Non renseigné	+	-	+	Urines
Patient 2	18 ans	M	Guinée	+	-	+	Urines
Patient 3	14 ans	M	Côte d'Ivoire	+	-	Non technique	Urines
Patient 4	18 ans	M	Mali	+	+	+	Biopsie vésicale
Patient 5	18 ans	M	Mali	+	+	+	Urines
Patient 6	16 ans	M	Mali	+	+	+	Urines
Patient 7	17 ans	M	Non renseigné	-	+	Non technique	Urines
Patient 8	21 ans	M	Tchad	-	+	Non technique	Biopsie vésicale
Patient 9	22 ans	M	Libye	+	+	+	Urines
Patient 10	63 ans	M	France voyages RDC	+	+	-	Biopsie vésicale
				+	+	-	Biopsie pulmonaire
				-	-	-	Urines
Patient 11	27 ans	F	Guinée	+	-	+	Urines

M : masculin

F : féminin

RDC : République Démocratique du Congo

+ : résultat positif (Ct <40)

- : résultat négatif (Ct >40)

Dra1 : nom du gène cible de la PCR [20,21]

Le patient 10, de nationalité française, est connu pour une bilharziose urinaire sans antécédent médical notable. Des scanners sont réalisés suite à une thrombose veineuse profonde spontanée de la jambe droite dans lesquels trois nodules pulmonaires sont retrouvés associés à un épaissement de la paroi antérieure de la vessie. Des résections au niveau de la vessie et du poumon sont réalisées et leur examen anatomo-histo-pathologique montre la présence d'œufs caractéristiques de schistosomes. La PCR Dra1 revient positive pour les deux types de prélèvements. Les urines sont analysées mais sont négatives à l'examen direct et en biologie moléculaire.

La biopsie vésicale est observée au microscope et montre des œufs caractéristiques à plusieurs grossissements.

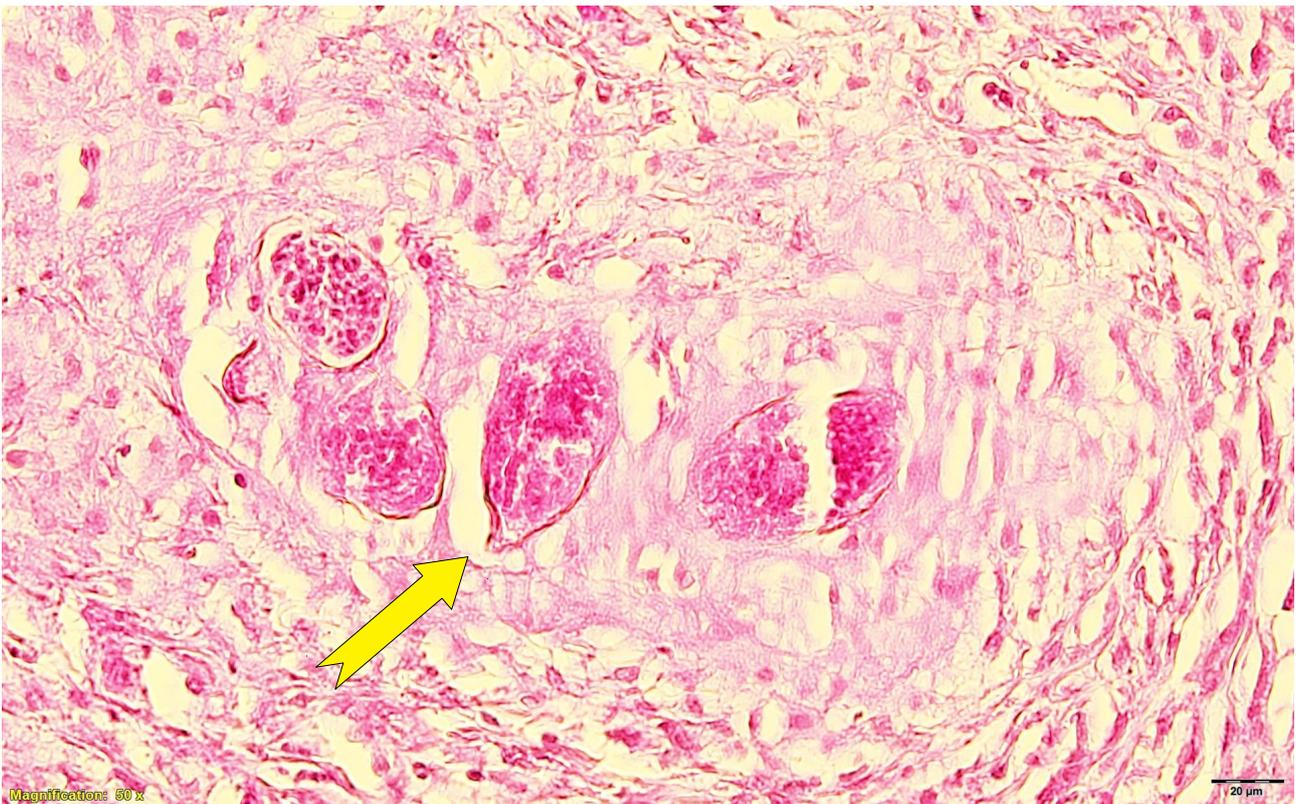
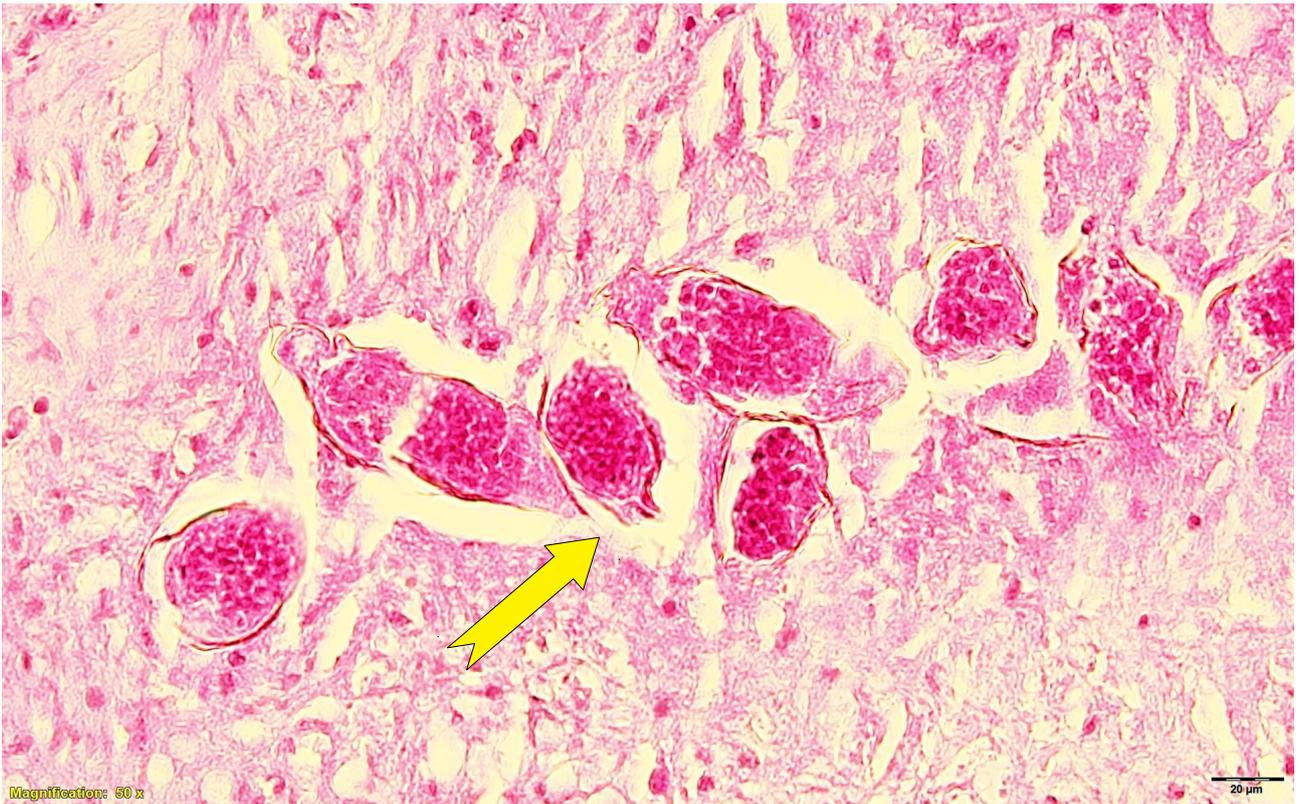
Ils sont photographiés grâce au microscope *Olympus BX53* et au logiciel *CellSens Standard*. La présence de l'éperon terminal permet d'identifier *Schistosoma haematobium* et est indiqué par une flèche sur les images.

Figures 16 - 18 : Biopsie vésicale du patient 11 entre lame et lamelle à plusieurs grossissements

Grossissement x1000



Grossissement x500



Le patient 2 est à l'initiation de cette étude. Pour ce patient, un prélèvement d'urines a été observé au microscope et des œufs caractéristiques de *S. haematobium* ont été mis en évidence. La RT-PCR Dra1 est quant à elle revenue négative.

Figures 19 - 22 : Prélèvement d'urines observé au microscope à plusieurs grossissements
Grossissement x400





L'éperon de l'œuf en position terminale est visible et permet l'identification de *S. haematobium*. Selon la lame, les œufs sont plus ou moins clairs, parfois rassemblés en amas, et il peut être plus difficile de les identifier selon la qualité de l'urine recueillie.

Ces images ont aussi été capturées comme pour la biopsie du patient 10 grâce au microscope *Olympus BX53* et au logiciel *CellSens Standard*.

2. Dosage de l'ADN

Au cours de l'étape d'optimisation des PCR de séquençage, les ADN des patients de notre étude ont pour la plupart été dosés par la technologie Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen by Life Technologies).

Cette technique repose sur une quantification par fluorimétrie. Une fois préparés les échantillons sont déposés dans l'automate, le couvercle est bien fermé pour que la lumière n'interfère pas dans la lecture et l'appareil donne la mesure de la concentration en ADN. Cette méthode ne sera pas développée, elle a simplement été un outil supplémentaire pour tenter d'expliquer l'absence de réponse des ADN de certains patients aux amorces utilisées au moment de l'amplification.

Figure 23 : schéma du protocole d'utilisation du Qubit pour le dosage d'ADN

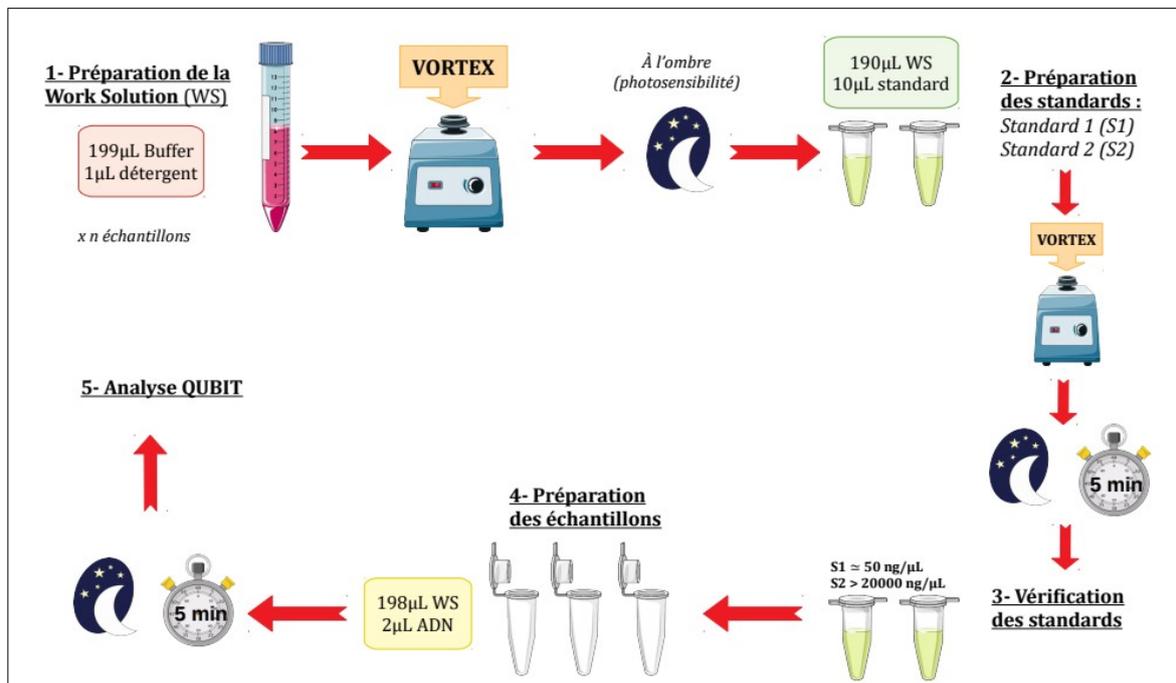


Figure 24 : Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen by Life Technologies)



II. Biologie moléculaire

1. Extraction sur NucliSens® EasyMAG (Biomérieux)

L'extraction d'ADN de nos échantillons a été réalisée sur l'automate NucliSens® EasyMAG de Biomérieux selon le protocole suivant :

- les urines sont centrifugées pendant 10 minutes à 3500 rpm (rotation par minute)
- le culot urinaire est repris dans 500µL de tampon de lyse EasyMag (Nuclisens® easyMAG Lysis Buffer) dans des tubes à microbilles de céramique puis vortexé pour éclater les parois des œufs et récupérer l'information génétique
- 800 µL (capacité maximale) de surnageant sont récupérés et envoyés à l'extraction

L'automate traite par « run » se composant de navettes de 8 prélèvements avec une capacité de 3 navettes par lancement. La durée de l'extraction varie d'environ 50 à 61 minutes.

Figure 25 : Automate NucliSens® easyMAG de Biomérieux



2. PCR standard

La PCR est composée d'une étape d'initialisation à haute température puis de la succession de plusieurs cycles de températures correspondant aux étapes de dénaturation, hybridation et d'élongation pour se terminer enfin par une étape d'extension finale. Ces différentes étapes se déroulent dans un thermocycler où le programme de PCR est enregistré manuellement et peut être sauvegardé dans la mémoire de l'appareil.

Figure 26 : Thermocycler 2720 de AppliedSystems® utilisé pour l'amplification par PCR



<https://www.htds.fr/sciences-analytiques/thermocycleur-2720/>

Au cours de cette étude, plusieurs protocoles ont été mis en place et testés dans un but d'optimisation des résultats.

En s'appuyant largement sur la littérature scientifique (*tableau 7 Annexes*), [20, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28] des amorces ciblant différentes régions du génome de *S. haematobium* (numéro d'accèsion PRJNA78265 génome complet [13]) ont été utilisées alors que d'autres ont été désignées au laboratoire, recouvrant des zones caractéristiques du génome :

- ✓ **COX** ou *cytochrome oxydase* : marqueur mitochondrial à hérédité uniquement maternelle (numéro d'accèsion DQ157222.2)
- ✓ **ITS** ou *internal transcribed spacer* : marqueur nucléaire à hérédité biparentale
- ✓ **28S** : ARN ribosomique, marqueur nucléaire. Les résultats obtenus avec cette cible n'ont pas été concluants

Les marqueurs *cox* et *its* combinés permettent d'obtenir des résultats concluants pour le séquençage des espèces pures et des hybrides de *Schistosoma*.

Tableau 7 : amorces utilisées dans cette étude (voir Annexes)

Cible	Nom Amorce	Séquence amorce
COX	1F	CCTYGGGGATTACTGAGTAAAG
	4F	GTAACATGGTAGTGCCTGAAGAATC
	4R	GATTCTTCAAGCACTACCATGTTAC
	5F	AGTGTCAGTTTGAAGKTCTGGAG
	5R	CTCCAGAKCTTCAAACCTGACAGT
	8R	CTMCTAGCTTCAGCATGAACTA
	COIF	TGAAGAATCAGGCGCTAG
	COIR	CTATAGGCATATAACTATGTC
	COX1-SCHIST-5'	TCTTTRGATCATAAGCG
	16S-SCHIST-3'	GATAAGAACCAACCTGGC
	UCOBF	TGRCRYCARATGTCNTATTGRGCTGC
	UNAD1R	CCAACCTTDTTHGGNCCCTTACG
	UNAD1F	CGTAAGGGNCCDAAHAAGGTTGG
	UPROR	CCTYAAACACCCAAAGTTYRTATTCT
	UPROF	AGAATAYRAACTTTGGGTGTTTRAGG
	ShCO1R1	GCCTCAAACCTAAACCAATAAAACCCCC
	ShND1_1	TTGGGAGAAGTTTAGTGGGG
	ShND1_2	AACAACGAAAATCATCTGCG
	SsND1_proF1	GTTTTGATTAGCTGACTAC
	SsND1_proR1	ATCACAAGCAAATATAACC
	ShPro_CO1F1	GAGTTTATAGTGAGTTGGTTAG
	ShPro_CO1R1	GAAAGCAAGCAGTCTTCTAAC
	ShND1_proF1	TGTATGGTGGTTATAGG
ShND1_proR1	CTCTCCTATAGTCCACTC	
28S RNA	FW	GTGGAGTTGAACTGCAAGC
	RV1	CCATAGCAGACAGGCAGC
	RV2	GCTCAACAWTAATAGTCAAACCTG
COX	Sh.R	TGATAATCAATGACCCTGCAATAA
	Sb.R	CACAGGATCAGACAAACGAGTACC
	Asmit1	TTTTTTGGTCATCCTGAGGTGTAT
COX	Schisto 3'	TAATGCATMGGAAAAAACA
ITS	ITSF	TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAA
	ITSR	TGCTTAAGTTCAGCGGGT
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAG
ITS	ITS2 F	GGAACCAATGTATGGGATTATTG
	ITS2 R	ATTAAGCCACGACTCGAGCA

Tableau 8 : amorces utilisées et dessinées avec l'Unité des Virus émergents (UVE)

ITS	1S	GGTGAACCTGCGGAAGGATC
	965R	CCCGACCTGGATCAGACG
	58S	GCATGCACCTGGCTTCKYGC
	981R	TTAAGTTCAGCGGTAATCAG
	525R	GTTGGCTGCACTTTCATCG
	394S	CTGCATGTACGCTGGCTTAG
COX	1S	GATTTGATATCTTGATTTGTCTC
	1160R	CCCATAATAAAMGGCCATCAYC
	121S	TGTGATCCWTATTATAAHTTRRTTYC
	604R	GCAGTACCAAATTTACGATCAAA
	718R	GTCTTACCATACCAAAWCCNGG
	689S	GGTGATCCDDTRTTATTTCARCA

Les premières étapes de mise au point ont utilisé la Taq polymérase de type standard (AmpliTaq Gold 360 Master Mix de Applied Biosystem®), suivant le protocole suivant.

Le mix est réalisé à partir de ces dilutions d'amorces tel que :

- ⇒ pour **100µL d'AmpliTaq**
- **10 µL amorce (20 µM) R** (dite reverse)
- **10 µL amorce (20 µM) F** (dite forward)
- **60 µL eau PPI**

Ce mix est ensuite réparti dans des cupules pour PCR selon le mélange 23µL de mix + 2µL d'ADN. Celles-ci sont ensuite placées au thermocycler pour amplification (figure 27).

Figure 27 : schéma récapitulatif de la réalisation des mix

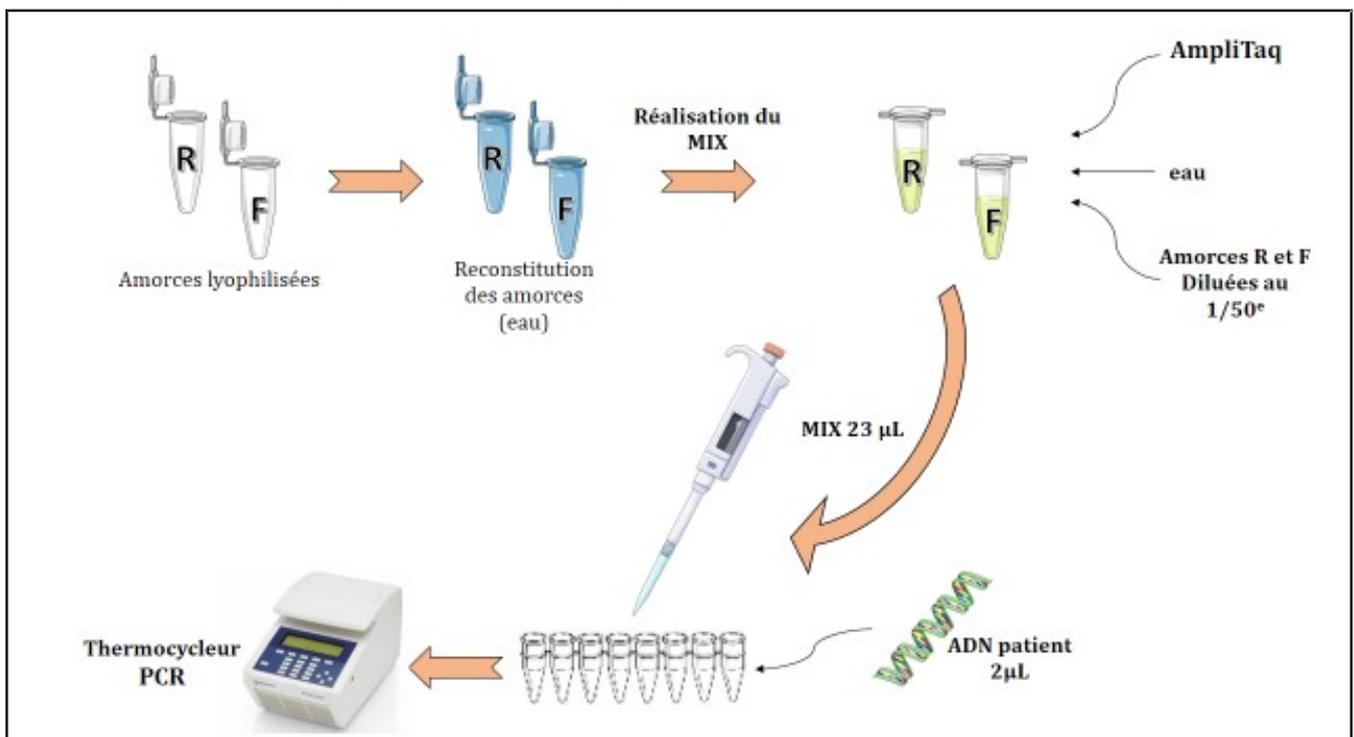
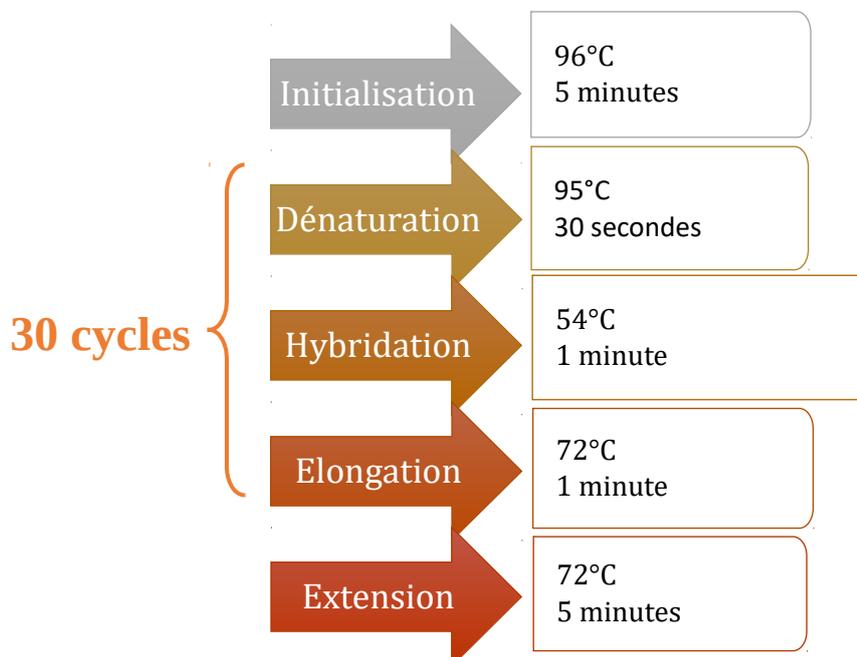


Figure 28 : programme PCR pour Mix standard



Ensuite, une autre polymérase a été testée, dite « *High Fidelity* » pour séquencer des régions plus grandes : la Platinum® PCR SuperMix High Fidelity de Invitrogen (*Thermo Fisher Scientific*). Les mêmes amorces ont été utilisées, selon le schéma suivant :

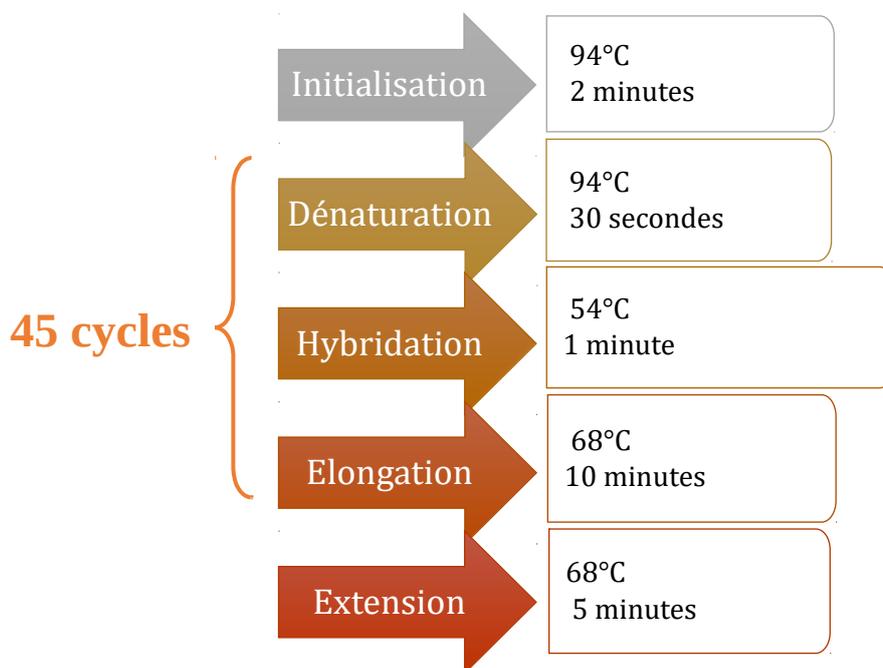
Le mix est réalisé à partir des dilutions d'amorces tel que :

- ⇒ pour **44µL de Taq Platinum®**
- **0,5 µL amorce (20 µM) R** (dite reverse)
- **0,5 µL amorce (20 µM) F** (dite forward)

Le programme d'amplification est différent, avec une température d'hybridation spécifique de cette nouvelle Taq.

Aussi, le temps d'élongation a été allongé à 10 minutes et le nombre de cycles a été élevé à 45.

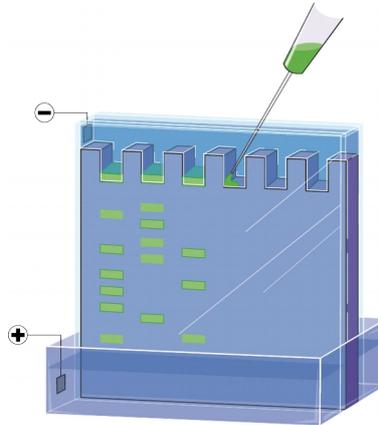
Figure 29 : programme PCR Mix High Fidelity



3. Électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose

Pour valider le résultat de la PCR, un gel d'agarose est réalisé. Cette technique permet de mettre en évidence la présence et la taille des fragments d'ADN. La révélation se fait grâce au SYBR® Safe DNA gel stain (*Invitrogen by ThermoFisher Scientific*), colorant dont la fluorescence augmente très sensiblement quand il interagit avec l'ADN. Après migration, le gel est placé sous lampe UV pour observer les fragments d'ADN.

Figure 30 : schéma d'un gel d'électrophorèse sur lequel on observe plusieurs bandes représentant différentes tailles de segments d'ADN



Classiquement préparé à 2% d'agarose, dans cette étude les gels sont préparés à 3% d'agarose pour permettre un temps plus long de migration selon le protocole suivant :

- Préparation du TBE (*Tris Borate EDTA-Buffer*) à 0.5X : dilution du TBE 10X au 1/20^e avec de l'eau stérile (*Versilène*)
- Dans une bouteille en verre, verser 100mL de TBE 0.5X
- Peser 3g d'agarose sur une balance de précision et le verser dans la bouteille
- Agiter
- Placer au four micro-ondes le mélange et faire chauffer jusqu'à ébullition pour obtenir un mélange translucide (sous surveillance)
- Sous hôte chimique, pipeter 6 μ L de Sybr®Safe et dans un *falcon* de 50mL, le mélanger par retournement avec du gel d'agarose chaud
- Couler les 2 *falcons* de 50 mL dans un support de gel avec peigne large
- Laisser refroidir
- Placer le gel solide dans une cuve à électrophorèse.
- Prélever 6 μ L de chaque cupule d'ADN amplifié et mélanger à du DNA Loading Buffer (~2 μ L) pour que l'échantillon reste au fond du puits
- Déposer sur gel
- Dans un puits, déposer 6 μ L de l'échelle de poids moléculaire fournie ou adéquate
- Faire migrer

Dans cette étude, les gels migrent à 135 Volts pendant 1h30 en moyenne.

- Retirer le gel et le placer sous lampe UV (E-Gel Imager, life technologies)

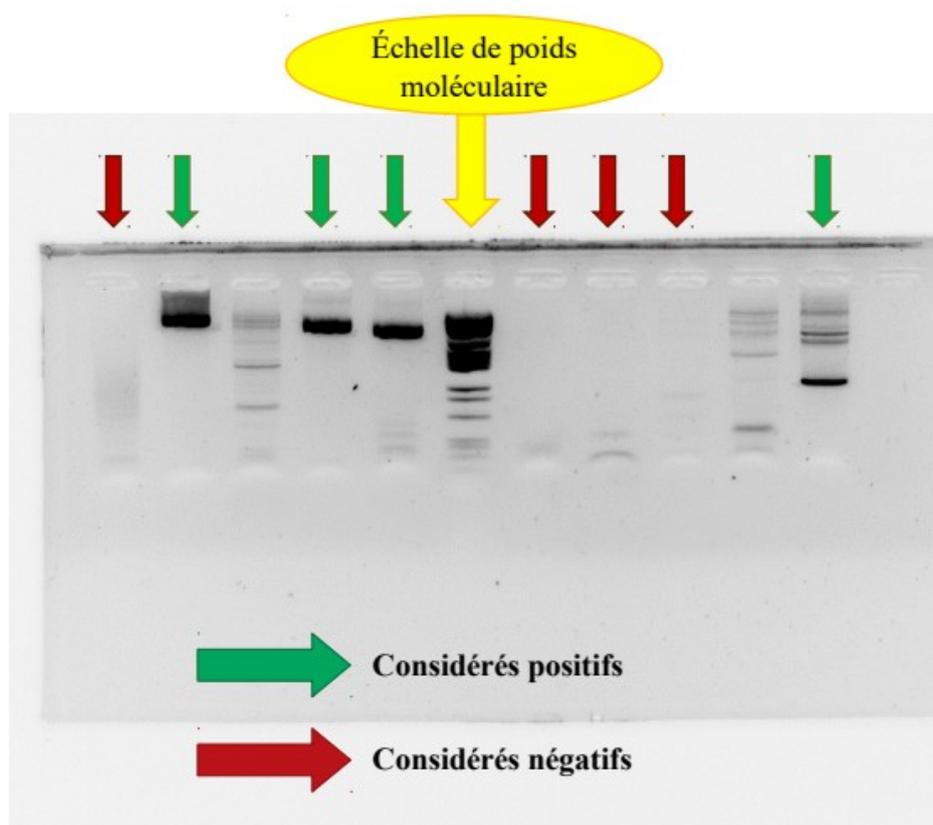
- Sur le logiciel GelCapture, sélectionner le mode et régler brillance et luminosité pour avoir l'image de gel la plus nette possible
- Enregistrer les images obtenues sur fond noir ou sur fond blanc (« invert »)
- Le gel est ensuite jeté dans la poubelle adéquate et l'appareil nettoyé et éteint

Figure 31 : E-gel imager (life technologies)



Les bandes apparaissant montrent un échantillon positif mais il convient de préciser que dans ce travail tous les échantillons testés sont connus comme étant bilharzirose-positifs par la mise en évidence d'œufs caractéristiques à l'examen direct au microscope.

Figure 32 : exemple légendé de gel obtenu



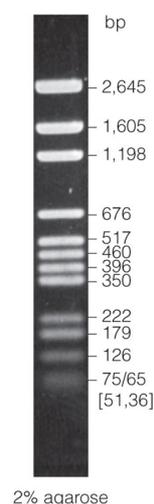
Les flèches vertes indiquent un échantillon positif qui sera séquencé. Les flèches rouges montrent un échantillon négatif, qui ne répond pas au couple d'amorces utilisé. Il ne sera pas séquencé.

NB : les dépôts non indiqués par des flèches représentent des résultats considérés comme douteux. Ils sont quand même séquencés.

Les échantillons sortis positifs en électrophorèse sont ensuite passés au séquençage classique (méthode Sanger) et/ou haut-débit (méthode NGS) pour identification de l'espèce parasitaire. La méthode NGS a été favorisée pour le patient 2.

L'échelle de poids moléculaire utilisée ici (BenchTop pGEM® DNA Markers de Promega) permet de comparer les tailles de fragments obtenus dans nos amplifications, elle propose une échelle étalon.

Figure 33 : échelle de poids moléculaire de BenchTop pGEM® DNA Markers de Promega



Les tailles de fragments obtenues après révélation à la lampe UV permettent de reconnaître les potentielles espèces mises en évidence.

III. Séquençage et identification de l'espèce

Les produits d'amplification obtenus peuvent ensuite être séquencés selon plusieurs méthodes. Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence de nouvelles espèces ou de populations hybrides de *Schistosoma* dans les prélèvements de nos patients. [11, 12, 13, 14]

1. Principe général

Le séquençage d'ADN est un outil essentiel en biologie moléculaire. Cette méthode permet de déterminer l'ordre dans lequel se succèdent linéairement les bases A, C, G et T de l'ADN (Adénine, Cytosine, Guanine et Thymine). La lecture de cette séquence permet d'étudier l'information génétique et donc biologique qu'elle contient. Cette technique est utilisée dans de nombreuses applications différentes : médecine, enquêtes épidémiologiques, criminelle, anthropologique ...

Trois types d'amorces sont utilisées selon la région du génome qu'elles ciblent :

- ✓ la région cible *cox*, pour cytochrome oxydase, est un marqueur mitochondrial à hérédité maternelle.
- ✓ La région 28S, marqueur nucléaire. Des amorces ciblant cette zone ont été utilisées, n'apportant pas de résultats concluants.
- ✓ la séquence cible *its* pour *internal transcribed spacer* à hérédité biparentale, correspond à une portion de l'ADN ribosomique. Elle possède un taux de mutation plus élevé, rendant la comparaison de séquences *its* entre espèces très éloignées infructueuse. A l'inverse, elle est utilisée de façon très pertinente dans l'analyse phylogénétique d'espèces voisines.

Pour la suite de l'étude, seules les régions *cox* et *its* sont exploitées et étudiées.

2. Méthode Sanger

Cette méthode, souvent dite classique ou standard, est la plus utilisée en laboratoire, on parle aussi de séquençage de première génération.

Après amplification de l'ADN par une technique de PCR et mise en évidence des échantillons répondant positivement aux amorces utilisées par un gel d'électrophorèse, ces derniers sont séquencés.

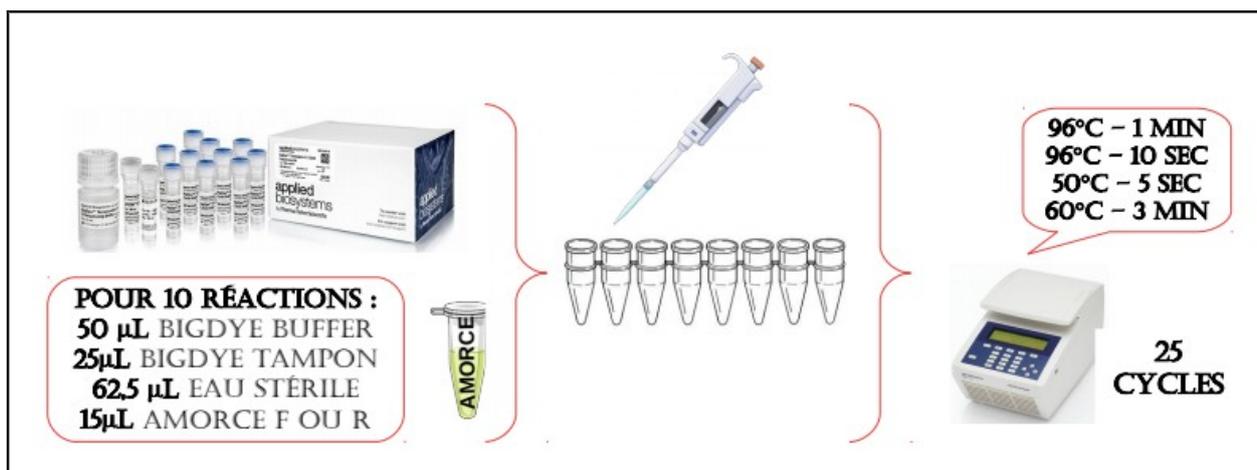
Pour cela, les produits d'amplification sont d'abord traités par deux étapes de purification entre lesquelles on réalise une nouvelle étape d'amplification par une PCR appelée BigDye®.

- * La première purification consiste en l'aspiration sous vide (Millipore®) des produits après un ajout d'eau stérile et homogénéisation à travers une plaque à filtre NucleoFast® 96 PCR Plate Macherey-Nagel durant 10 minutes. Les résidus sont remis en suspension avec 20µL d'eau stérile et placés à l'agitation pendant 15 minutes. L'ADN purifié est ensuite récupéré et remis dans des cupules ou dans des tubes micronisés pour une conservation au congélateur.

La PCR BigDye® est réalisée comme une PCR classique dans un thermocycler selon 25 cycles d'amplification avec un programme de PCR spécifique. Cette fois l'amplification ne concerne, à la différence de la PCR classique, qu'un seul brin à la fois.

Le mix est réalisé à partir de BigDye® Terminator v1.1 cycle sequencing kit.

Figure 34 : schéma récapitulatif de la PCR BigDye



NB : on réalise un mix par amorce, chaque brin de séquence séparément

- * La deuxième purification utilise une plaque Durapore® Membrane (96 Wellplate MultiScreen Millipore) dans laquelle de la Sephadex G-50 Superfine est disposée et sur laquelle on ajoute 300 μ L d'eau stérile, elle est ensuite couverte et laissée pendant 2 heures pour qu'elle gonfle. Elle est ensuite centrifugée 5 min à 1300 tours/min pour enlever l'excédent d'eau. 13 μ L d'ADN purifié et 7 μ L d'eau stérile sont ajoutés pour le dernier lavage avec en dessous une plaque de séquençage PCR® Microplate pour la récupération de l'ADN final purifié

La plaque est couverte par un septa (Plate Septa 96-Well de Applied Biosystems) et déposée dans le séquenceur. Le plan de plaque est enregistré sur le logiciel d'Applied Biosystems 3500.

L'automate traite un run en 40 minutes, qui correspond à 3 colonnes de la plaque. Il est important de remplir les cupules inutilisées par un run lancé avec de l'eau comme sur le schéma suivant.

Figure 35 : schéma expliquant la composition d'un run au séquenceur

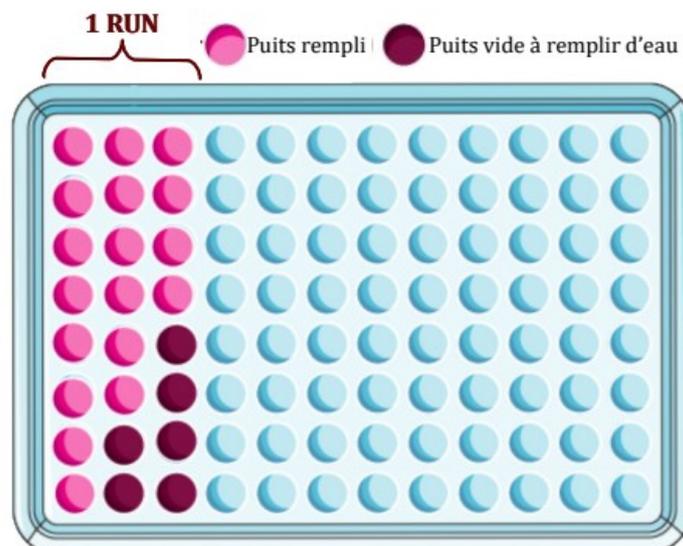
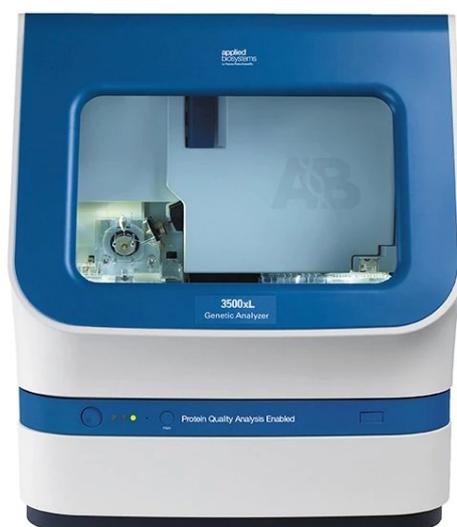


Figure 36 : séquenceur utilisé, le 3500 XL Genetic Analyzer de Applied Biosystems



Une fois l'analyse terminée, les données sont récoltées par dossier et traitées pour correction et analyse des séquences obtenues.

3. Méthode NGS ou séquençage haut débit

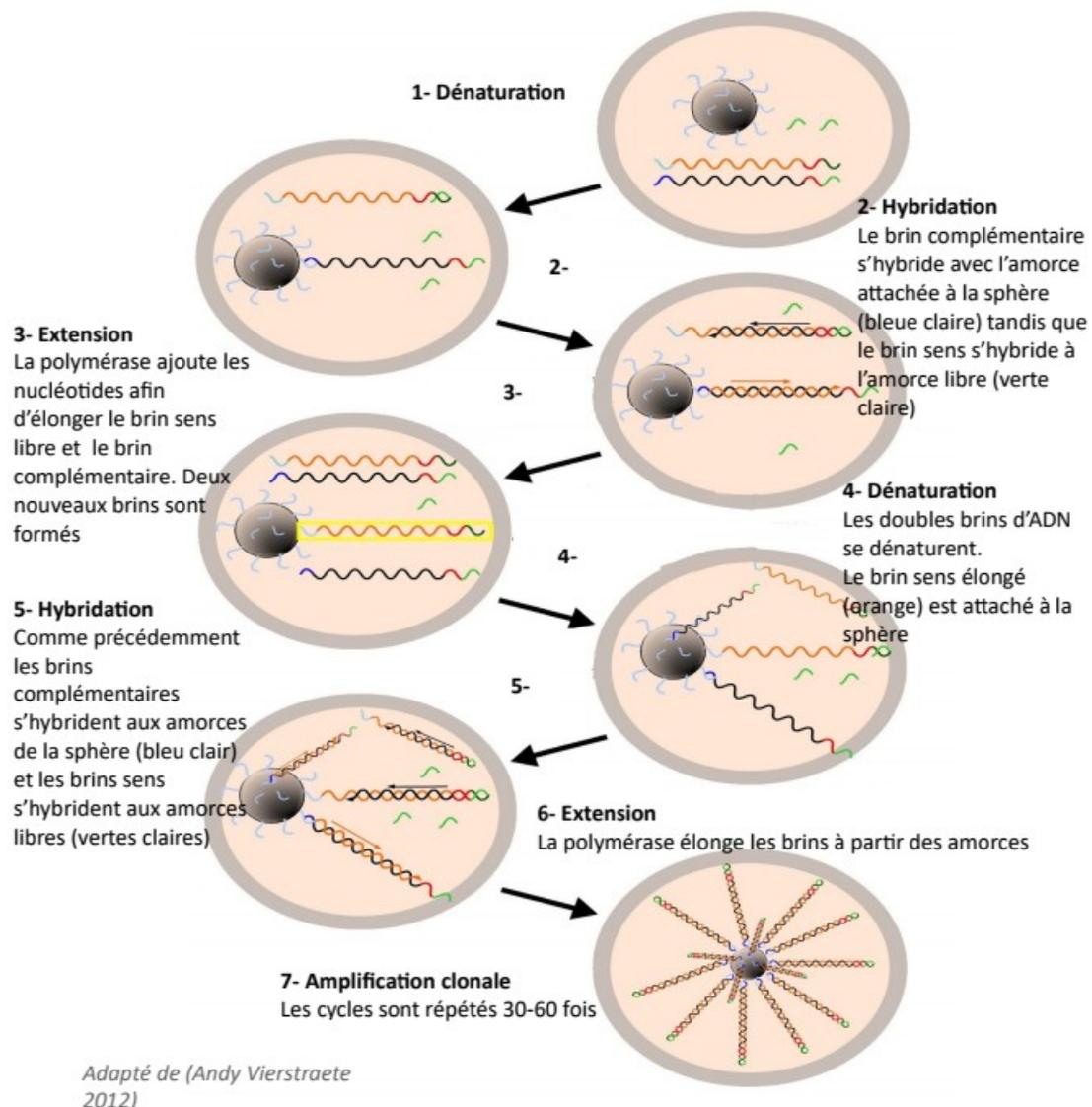
Le séquençage à haut débit ou *Next-Generation Sequencing* (NGS) permet un séquençage rapide de milliers à millions de molécules d'ADN ou d'ARN simultanément. Ainsi, plusieurs gènes de plusieurs individus peuvent être séquencés en même temps, en comparant la séquence du patient à une séquence de référence. [17, 18, 19]

De plus en plus utilisé dans divers domaines, le séquençage a aussi évolué au cours du temps. Différentes techniques et automates ont été développés pour donner naissance à plusieurs générations de séquenceurs.

L'ensemble du séquençage haut-débit de cette étude a été réalisé en collaboration avec l'unité des virus émergents [UVE] du Pr De Lamballerie suivant la technique Ion Torrent S5, séquenceur de deuxième génération qui nécessite plusieurs étapes :

- * la construction de banques de séquençage ou réalisation d'une librairie : l'ADN extrait est fragmenté suite à un traitement enzymatique puis ses fragments sont ligaturés à des adaptateurs universels
- * l'amplification clonale : permet la multiplication de la quantité de molécules matricielles. Cette méthode varie d'un type de séquenceur à un autre. Par exemple elle repose sur la lecture du pH suite à la libération d'un proton (ion H⁺) pour la société Ion Torrent alors que la société Illumina utilise des nucléotides fluorescents Cette étape est réalisée en émulsion dans cette étude (*figure 37*)
- * le séquençage : les fragments issus de l'étape d'amplification sont individualisés pour être lus afin de produire autant de séquences nucléotidiques courtes

Figure 37 : Représentation des étapes de l'amplification clonale en émulsion [UVE]



4. Traitement des séquences et identification

Les séquences obtenues sont ensuite corrigées : dans cette étude, ce sont les logiciels Codon-code® et ChromasPro® qui ont été utilisés. Pour tous les deux, l'utilisation est relativement simple et le principe général est le même.

Les séquences sont lues et sont accompagnées d'un graphique comprenant des pics de couleur, chacune correspondant à une base nucléique. Les bases pour lesquelles il existe un doute sont de couleur différente et seront identifiées par une autre lettre. Cette lettre est déterminée selon une règle pré-établie en fonction des bases soupçonnées telle que :

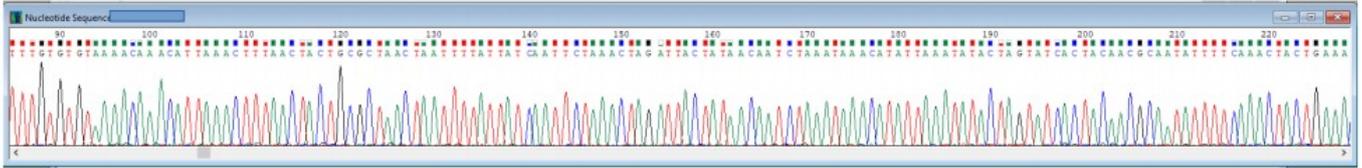


Tableau 9 : règle de codification universelle et corrections

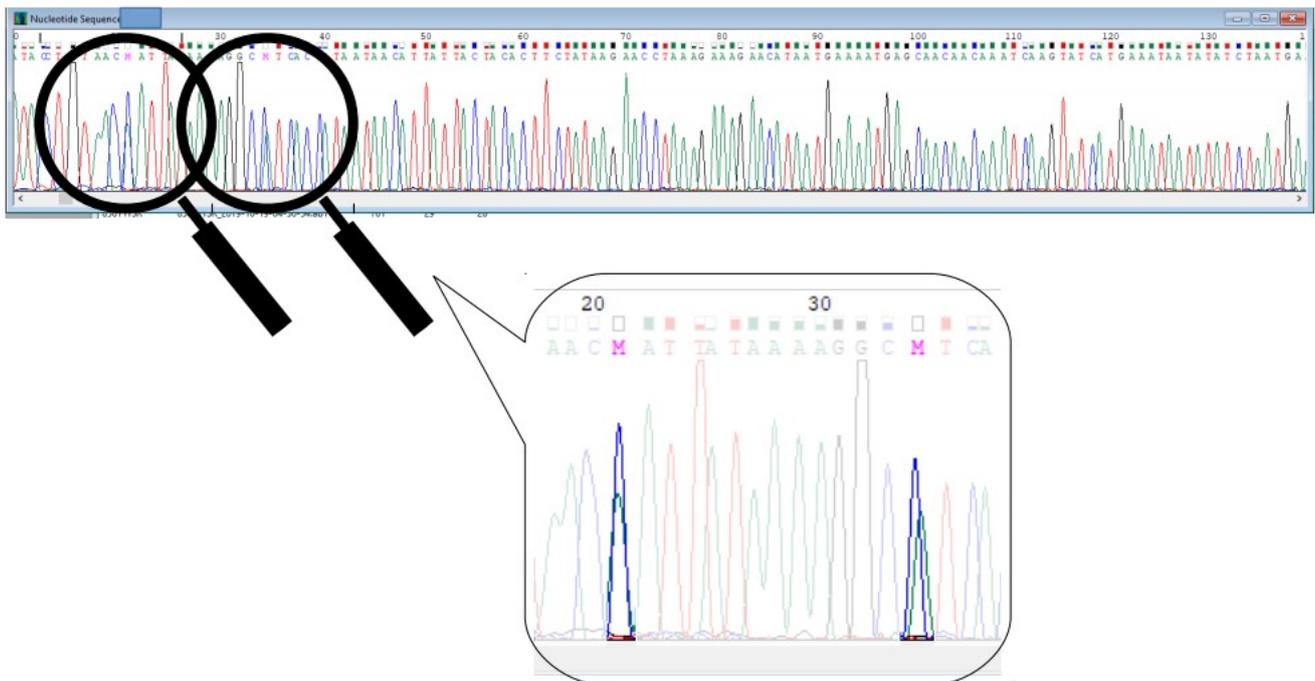
A+T	C+G	T+G	A+C	C+T	A+G
W	S	K	M	Y	R

C'est en observant le graphique que la correction peut se faire. En effet lorsqu'on observe un pic de couleur bleue et un pic de couleur verte, ce sera celui qui prédomine qui donnera la base présente. Parfois, les deux pics se chevauchent parfaitement aussi il n'y aura pas de correction possible.

Figure 38 : Chromatogrammes obtenus sur le logiciel ChromasPro® pour une amorce sur un des patients de cette étude



Sur ce premier chromatogramme (figure 38) dont la partie sélectionnée se trouve approximativement entre les paires de bases 90 et 220 on peut observer des pics uniques donnant pour chacun une base bien déterminée, aucune correction n'est nécessaire.



Sur ce second chromatogramme, les pics mis en surbrillance donnent comme base un M, ce qui correspond à un doute entre la base A et la base C. Cependant on constate que c'est le pic bleu qui prédomine largement sur le pic vert dans les deux cas, on corrigera donc cette base en C.

Une fois corrigées, les séquences des amorces complémentaires sont assemblées afin d'obtenir une séquence dite consensus. Dépendant de la qualité des séquences obtenues, cet assemblage ne fonctionne pas à chaque fois. Il faudra dans ce cas lire les séquences par brin, donc par amorce.

Les séquences obtenues sont ensuite exportées par le logiciel au format FASTA et rassemblées sur un document texte par exemple ou tableur.

Une banque mondiale de données en ligne est disponible et permet d'identifier un espèce biologique selon la séquence observée : NCBI pour *National Center for Biotechnology Information*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>



Les séquences étudiées sont copiées et comparées par le système BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) avec la banque de données enregistrées en ligne. Une liste d'espèces est alors proposée selon des pourcentages de similitudes avec la séquence d'intérêt. Ceci permet l'identification de l'espèce et/ou de l'hybride recherchés. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Figure 39 : présentation globale du système BLAST

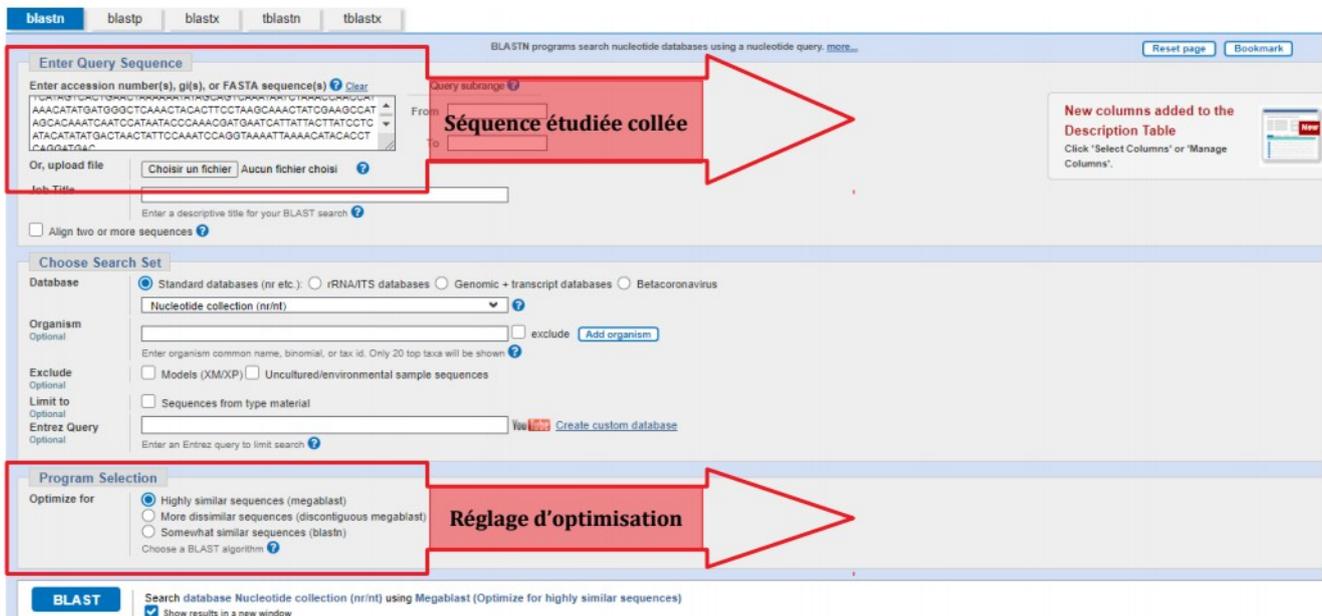


Figure 40 : exemple de résultat obtenu après la reconnaissance de la séquence proposée par la banque de données NCBI

SÉQUENCE RÉFÉRENCÉE RECONNUE
PAR RAPPORT À LA SÉQUENCE ÉTUDIÉE
→ PERMET L'IDENTIFICATION DE L'ESPÈCE

POURCENTAGE DE
SIMILITUDES ENTRE LA
SÉQUENCE RÉFÉRENCÉE
ET CELLE TESTÉE

NUMÉRO D'ACCESSION
DE LA SÉQUENCE
RÉFÉRENCÉE

Sequence format FASTA
Descriptif, ...

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrial partial genome	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	15315	MK253577.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrial partial genome	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	15393	MK253567.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium isolate Pointe Noire cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene partial cds...	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	1175	KY967520.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene partial cds mitochondrial	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	1175	KT354661.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene partial cds mitochondrial	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	1175	KT354660.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene partial cds mitochondrial	Schistosoma ha...	952	952	100%	0.0	99.24%	1175	KT354659.1

Par exemple, ces résultats obtenus sur un patient « test » à partir du couple d'amorces Asmit1-Sh ciblant la région *cox* montrent une identification de l'espèce *Schistosoma haematobium*.

PARTIE 4 :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

Tous les couples d'amorces utilisés dans cette étude n'ont pas toujours fonctionné pour chaque patient. Plusieurs tests ont été effectués, et seuls les plus probants seront présentés. Seules les séquences consensus, s'il y en a, seront décrites dans cette partie. Le résultat de toutes les séquences obtenues pour chaque patient et par amorce sera détaillé en annexe.

1. Patient 1 : *Schistosoma haematobium*

Le patient a mal répondu pour la majorité des amorces de l'étude. La séquence obtenue pour l'amorce Schisto3' a donné *Schistosoma haematobium* à l'identification, de même pour le couple d'amorces ITS2 F et ITS2 R avec un pourcentage de similitudes de 100 % avec le numéro d'accèsion GenBank MT580959.1.

Séquence consensus couple ITS2 F – ITS2 R :

```
TGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCG
ATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACCTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTG
AACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTTCATCTATC
ACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACGCG
GGTTGCTGGTTCGAAGGCTCCGTCTAATAGTCCGGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGA
TCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATA
```

L'espèce identifiée est *Schistosoma haematobium*, la présence de séquences d'hybrides entre *S. haematobium* et *S. bovis* dans la liste des résultats de reconnaissance de la banque de données ne sera pas retenue car la séquence obtenue par l'amorce Schisto3' ciblant la zone COX du génome donne aussi une identification à *S. haematobium*.

2. Patient 2 : *Schistosoma haematobium*

Patient à l'initiation de cette étude, avec pour rappel un examen direct positif et une PCR Dra1 négative, il a pu être testé une grande partie des amorces, avec un taux de réponse très faible. La qualité de l'ADN a été un peu remise en question cependant un dosage a été réalisé avec la technologie Qbit® donnant une concentration en ADN de 23,1 ng/μL, supérieure à certains autres patients dont les réponses en PCR étaient meilleures.

À partir des amorces conçues avec l'unité des Virus Émergents de Pr LAMBALLERIE pour un séquençage NGS, il a pu être mis en évidence une positivité pour certains couples, qui ont ensuite été séquencés par la méthode NGS en « poolant » toutes les amorces ayant la même cible : pool COX et pool ITS.

Sur COX l'identification a donné l'espèce *S. haematobium* (numéro d'accèsion DQ157222.2) avec un pourcentage de similitudes à 98,69 % tandis que sur la cible ITS l'identification propose une hybride *S. haematobium x S. bovis* (numéro d'accèsion MT158882.1) avec 99,49 % de similitudes.

L'identification finale est *S. haematobium*.

Séquence consensus obtenue sur la cible COX :

TGGGATTAGTATTAGTTTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAAGCTTA
AGTGTAGGTATAATTTATATTGTAATATTAATGTTATCTATTTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAG
GAGAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAGATAGTAAAAAAGTGTGTCAGCA
TATTTTGTGGTCAAAGGGTGGTTAGTTGATACCAGTTTTAAATAGTGTAATTAATTGTAT
AGTAAAGGTGAAAGGTAGCTGATAGTCTTAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATG
TTATAGATATGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAA
TAAAAAATGTTTAAATTAAGTTCAGCATTATTAACAGTTATATTTTTAGTATTATTACCAGTTATATTA
ACTCATTATAATGTTTTGGAGTTAAGAGTTTAAAGGGGTAATCATTATAGTAATATATCAGAATGATA
TTCAAGGTTTGAATGTGGGTTTTAGGGCATGGGTTAAATGAAAAATTTTTAGCTTTTCTTACTTA
AATCTATTAATATTTTGTAGTCTTTGATTTAGAAATATCGTTATTATTAATATAGTTTACGATGGA
ATATGATATTACATCTGGTGTTTTTGTTGTTTTTGGTTACATGGTAGAACTTAAGTTAGGTT
ATGTAAGGTGAATTAATAAGTAGTTAGGAATATTCATATATACATATTGAGAATATGCACTTAGTATT
ATGAAGAATAAAAGTTTGTCTAGCTTTTGGTGATTAGATTGTTTATAGTCAGTGTATGAAGATTTAG
TATAATGATATACCATAGTATTTGATATTAGATTTAGTTAATTTAAATGTATAATAGTATGTATATGTTA
GAGTTAGTTTTAAGAATCGAGAGTTAATAATGACTTTATTATTAGTAGCTTTTTATATAATGAGTGA
GCGTAAGGTCTTGTCATATATAAATTACGCAAGGGACCTAAAAAGGTTGGTATTATGGGACTATT
ACAAAGGTTTGCTGATTTTATAAAGTTAATAAATAAGAGTAAGTTTAAAAAT

Séquence consensus obtenue sur la cible ITS:

ATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAGTTCATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCG
TACAACCTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAAT
TAATGTGAACGTATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCC

3. Patient 3 : *Schistosoma haematobium*

Des résultats positifs ont été obtenus avec de nombreux couples d'amorces chez ce patient. Le dosage de son ADN au Qbit® a pourtant donné une concentration très faible de 0,15 ng/μL.

Le détails des séquences obtenues par couple d'amorce ainsi que le résultat de leur identification est détaillé en annexe, seuls le résultat ciblant la région COX et obtenu par NGS ainsi qu'un couple ciblant la région ITS (ITSF – ITSR) et obtenu par méthode Sanger seront présentés ici.

Le pool de couple d'amorces COX donne une identification à *S. haematobium* (numéro d'accension MW067227.1) à 99,05 % de similitudes et la région ITS amplifiée donne *S. haematobium* (MT580959.1) avec une pourcentage de similitudes 99,89 %.

Séquence consensus obtenue sur la cible COX :

NNNGTATTG
GGATTAGTATTAGTTTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAAGCTTAAG
TGTAGGTATAATTTATATTGTAATATTAATGTTATCTATTTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAGGA
GAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAGATAGTAAAAAAGTGTGTCAGCATA
TTTTGTTTTGGTCAAAGGGTGGTTAGTTGATACCAGTTTTTAAATAGTGTAATTAATTGTATAG
TAAGCTGTAAAGGTGGCTGATAGTAGCTTAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATGTT
ATAGATATGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATA
AAAAATGTTTAAATTAAGTTCAGCATTATTAACAGTTATATTTTTAGTATTATTACCAGTTATATTAAC
TCATTATAATGTTTTGGAGTTAAGAGTTTAAAGGGGTAATCATTATAGTAATATATCAGAATGATATT
CAAGGTTTGAATGTGGGTTTTAGGGCATGGGTTAAATGAAAAATTTTTAGCTTTTCTTACTTAAA
TCTATTAATATTTTGTAGTCTTTGATTTAGAAATATCGTTATTATTAATATAGTTTATGATGGAATA
TGATATTATACATCTGGTGTATTTTTTTTTTTTTNNNNNNNNNNTTTTGGTTACATGGTAGAAC
TTAAGTTAGTTATGTAAGGTGAATTAATAAAGTAGTTAGGAATATTCATATATACATATTGAGAATA
TGCACCTAGTTTATGAAGAATAAAAGTTTGTCTAGCTTTTGGTGATTAGATTGTTTATAGTCAGTGT
ATGAAGATTTAGTATAATGATATACCATAGTATTTGATATTAGATTTAGTTAATTTAAATGTATAATAG
TATGTATATGTTAGAGTTAGTTTTAAGAATCGAGAGTTAATAATGACTTTATTATTAGTAGCTTTTTTA
TATAATGAGTGAGCGTAAGGTCTTGTCATATATAAATTACGCAAGGGACCTAAAAAGGTTGGTAT
TATGGGACTATTACAAAGGTTTGTCTGATTTTATAAAGTTAATAAATAAGAGTAAGTTTAAAAATNNN
NN
NN

Séquence consensus couple ITSF – ITS R :

TAACCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTG
GTTATTACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTG
ATGGTGTTCGTAACCTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTAT
TGTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCCCT
ATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTACAGGGTTTGGCTGCTGGC
ATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCG
TTAACCATTAGTTCATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGT
GGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACCTGCATA
CTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTC
CGAGGGTCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGC
GTGTATACCCGCATATCAACGCGGGTTGCTGGTCCGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGCCACAGCC
TAGTCCGGTCTAGATGACTTGTATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATGAC
ATTATACGCGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGATCTGTCTCTATG
GTTCCGGTCTACGGTTTGTACCGATGGTGTGTGTAATACGCACGAATTGTATAATKACCCGA

4. Patient 4 : *Schistosoma haematobium*

Ce patient a permis d'obtenir des résultats avec de nombreux couples d'amorces, avec une concentration en ADN de 23 ng/μL, identique à celle du patient 2.

Seuls les résultats d'un couple ciblant la région COX (*Asmit1-Schisto3'*) et d'un couple ciblant ITS (*ITS 58S - ITS 525R*) seront présentés ici. Les autres couples et amorces sont rapportés en annexe.

La séquence obtenue pour le couple d'amorces *Asmit1-Schisto3'* est similaire à 99,83 % avec la séquence MK253577.1 de *S. haematobium*.

La séquence obtenue avec *ITS 58S – 525R* est assimilée à 98,77 % à la séquence de *S. curassoni* (numéro d'accèsion MT580961.1). Cette séquence a été alignée avec celle proposée par le BLAST® correspondant à *S. curassoni* et à *S. haematobium* grâce au logiciel en ligne Multialin® mis à disposition par l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) de Toulouse.

Les séquences s'alignent parfaitement avec les deux espèces *S. curassoni* et *S. haematobium*. Malheureusement ces amorces ciblent une région ITS commune aux deux espèces. A ce stade nous ne pouvons donc pas définitivement conclure à la présence d'un hybride *S. curassoni x S. haematobium*. Par défaut nous retenons la forme pure *S. haematobium*.

Séquence consensus couple *Asmit1-Schisto3'* :

TTTTGGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAAATAGTTAGTCATATATGTATG
AGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTG
CTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTGACTGCTATATTTT
TTAGTTCAGTACTATGATTATAGGGATTCCACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTT
AAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTATATTTTATTTAC
GATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTTTCATGATACTTGATT
TGTGTGTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATG
GTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTATTGCAGGGTCATTGATTATTATCAAT
GGTTGGGTTAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

Séquence consensus couple *ITS 58S – ITS 525R* :

TGCATGCACCTGGCTTCTCGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCA
GTGGTTGATATTTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTTCGTAACCTT
CGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCA
AAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCCATTTCAAAACCTTTTACACT
GTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTACAGGGTTTGGCTGCCKGGCATGCACCTGGCTTCGYG
CTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATAGTTCAT
GCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTG
TGTCGATGAAGAGTGCGCCCAACTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATAT
GCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCCATTTCAAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGG
CTTGCCATTACAGGGTTTGGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCKTGCTGGACTGCATGTACGCTGGC
TTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATAGTTCATGCATTTGGGAAACCAATGTATG
GGATTATTGGCGTACAACCTTGGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCC
AACA

5. Patient 5 : *Schistosoma haematobium*

L'analyse des séquences obtenues chez ce patient donne une identification à *S. haematobium* à 99,44 % de similitudes (MK253577.1) et à *S. curassoni* pour les couples ciblant la région ITS 99,79 % (numéro GenBank MT580961.1). Les séquences ITS obtenues avec les couples 58S – 525R et 58S-965R ont été alignées comme pour le patient précédent. Les séquences s'alignent parfaitement avec les deux espèces *S. curassoni* et *S. haematobium*. Comme précédemment nous ne pouvons pas conclure à la présence d'un hybride de ces deux espèces et nous retenons la forme pure *S. haematobium*.

Tous les couples ciblant la région COX ayant été testés sur ce patient sont revenus positifs et séquencés à *S. haematobium* (MT580959.1), exemple ci-dessous du couple Asmit1-Schisto3'.

Séquence consensus couple Asmit1-Schisto3' :

```
GGTCATCCTGAGGTGTATGTTTAATTTTACCTGGATTGGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGAT
AAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAG
GAAGTGATGTTTGGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGT
TCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAG
CTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAG
GTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTTTCATGATACTTGATTGTTG
TTGCTCATTTTTATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGAT
GGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATKATTATTACA
```

Séquence consensus couple ITS 58S – ITS 525R :

```
TGCATGCACCTGGCTTCTYGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCA
GTGGTTGATATTTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTT
CGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCA
AAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTTATTCAAACCTTTTACACT
GTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTACGGGTTTGGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCGTG
CTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAGTTCTAT
GCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGT
GTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACA
```

6. Patient 6 : *Schistosoma haematobium*

Les amorces COX Asmit1-Schisto3' donnent une identification de l'espèce *S. haematobium* à 99,83 % (MK253577.1). Un pool d'amorces COX séquencées par méthode NGS a aussi donné une identification de *S. haematobium* à 99,70 % (DQ157222.2).

Pour les amorces ITS l'identification donne un hybride *S. haematobium* x *S. bovis* pour les couples ITSF – ITSR ainsi qu'ITS4- ITS5 à 99,57 % (MW027655.1).

On peut conclure à la présence certaine de *S. haematobium*.

Séquence consensus couple Asmit1-Schisto3' :

```
GGTCATCCTGAGGTGTATGTTTAATTTTACCTGGATTGGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGAT
AAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAG
GAAGTGATGTTTGGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGT
TCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAG
CTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAG
GTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTTTCATGATACTTGATTGTTG
TTGCTCATTTTTATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGAT
GGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGATTATATCAATGGTT
GGGTTAATCTTTGTTTTTTTCTTATGCATTA
```

Séquence consensus couple ITSF – ITSR :

```
TATAACCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGG
TGGTTATTACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCC
```

TGATGGTGTTCGTAACCTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGC
TATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTT
CCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTGGCTTGCCATTCACGGGTTTGCTGCCT
GGCATGCACCTGGCTTCGTGTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAAATATCCTAGGCTGCA
GCGTTAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGC
GGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTGCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAAGTGY
ATACTGCTTTGAACATCGACATCTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCT
GTCCGAGGGTCCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCTGGATTGGGCGAGTGCCTGCC
GGCGTGTATACCCGCATATCAACGCGGGTTGCTGGTCAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGCCAC
AGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCTGTGGCTTA
ATGACATTATACGCGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGATCTGTGTC
TCTATGGTTCCGGTCTACGGTTTGTACCGATGGTGTGTGTAATACGCACGAATTGTATAATKACCCGA
CCCG

7. Patient 7 : *Schistosoma haematobium*

Chez ce patient, les amorces ciblant la région COX ont permis d'identifier l'espèce *S. haematobium* à 98,39 % pour le couple Asmit1-Sh et à 99,65 % pour le couple Asmit1-Schisto3' (MK253577.1)

Séquence consensus couple Asmit1-Sh :

AAGATTAACCCAACCATTGATWATAATCAATGACCCTGCAATAAATAMTTATTAATRCTGTAACC
CATTATAAAAGGCCCTACCATAATAACATTATTACTACTTCTATAAAGAACCTAAAGAAAGAACAT
AATGAAAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAG
CTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTATAGGATC
TCATACACGAGACCCACAGCTTTTAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTTATACCTGTAGGAAT
CCCTATAATCATAGTCACTGAACATAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATA
TGATGGGCTCAAACACTACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATAC
CCAAACGATGAATCATTATCTTATCCTCAACATATATGACAACTATTCCAAATCCAGGTAAATTA
AAACATACACCTYAGGATGACC

Il est à souligner que les couples ciblant la région ITS n'ont donné aucun résultat. L'identification d'un hybride n'est donc pas possible.

8. Patient 8 : Hybride *Schistosoma haematobium* x *Schistosoma bovis*

Les amorces COX permettent deux identifications : tout d'abord avec les couples Asmit1-Schisto3' et Asmit1-Sh l'espèce identifiée est *S. haematobium* à 99,31 % (MK253577.1).

Cependant avec le couple Asmit1-Sb, dont la seconde amorce cible spécifiquement *S. bovis*, on identifie à 99,28 % de similitudes un hybride *S. haematobium* x *S. bovis* (MT579427.1).

Les amorces ITS4 – ITS 5 permettent l'identification à 99,58 % de similitudes d'une forme hybride *S. haematobium* x *S. bovis* (MW027665.1), ce qui fait conclure à la présence de la forme hybride *S. haematobium* x *S. bovis* et de la forme pure *S. haematobium*.

Séquence consensus couple Asmit1-Sh :

TAATGGCATAGGAAAAAACAAAGATTAACCCCAACCATTGATAATAATCAATGACCCTGCAATAA
ATACTTATAATACCTGTAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTACTACTTCTATA
AGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATAT
CTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAAATATAAAACCAA
CCAATCATCAAACCTATAGGATCTCATAACAGGACCCACAGCTTTTAAGCATATATAATCAAGAAA
AAACCTTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACATAAAAAATATAGCAGTCAAATA
ATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACACTACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCCAT
AGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATAATATGACTAA
CTATTCCAAATCCAGGTAAAATTAACATACACCTCAGGATGAC

Séquence consensus couple Asmit1-Sb :

GTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAA
GTAATAATGATTCATCGTTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGA
AGTGTAGTTTGAGCTCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTTAGTTC
AGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCT
GTGGKTAC

Séquence consensus couple ITS4 – ITS5 :

CTGATCCGAGGTCCGGTCAATTATACAATTCTGTGCGTATTACACACACCATCCGGTACAAACCGTAG
ACCGAACCATAGAGACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGC
GCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAG
ACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCGCGTTGATATGC
GGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAG
CCGACCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGAT
GTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTACACAGTTGGCTGCACTCTTCATCGACACACGAG
CCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTTCCCAAATGCATAGA
ACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCAGC
AAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCGGATCGCTTCAACAGT
GTAAAAGTTTGAAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTGTCATGCATATAGCATACAATTCTCTTTG
AACCTAGCACACAACAATAGCGTCATGCACTGTCCCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAA
AGTTACGAGAACCATCAGGGCATACGACAGGCTAGGTACCCCGGTCAAGAAAATATCAACCAC
TGAAGCCTAGGTAATAACCACCAAGCGGTACATACAGTCCAGCAAGAAGCCAGGTGCATG
CATCATTATATATTTTTGGGTTATATAATATC

9. Patient 9 : *Schistosoma haematobium*

Tous les couples d'amorces testés pour ce patients et ayant pu être séquencés ont donné une identification à *S. haematobium*.

Le couple COX Asmit1-Schisto3' permet une identification de l'espèce à 99,83 % de similitudes (MK253577.1) et à 99,35 % pour le couple ITSF – ITSr (MT158873.1).

Séquence consensus couple Asmit1-Schisto3' :

GTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATA
AGTAATAATGATTCATCGTTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGG
AAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTTAGTT
CAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGC
TGTGGGTCTCGTATGAGATCCTATAGTTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAG
TGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGT
TGCTCATTTTTATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATG
GCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGATTATTATCAATGGTTG
GGTTAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

Séquences consensus couple ITSf – ITSr :

TTATATAACCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGC
TTGGTGGTTAATACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCTGAT
GCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATG
ACGCTATTGTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTAT
TGTTCCATTTCAAACTTTTACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTACGGGTTTGCT
GCCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATAATCCTAGGC
TGCAGCGTTAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTT
GAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACTGTGTGAATTAATGTGAA
CTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCAC
GCCTGTCCGAGGGTCCGGTTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCTGGATTGGGCGAGTGC
TGCCGGCTGTATACCCGCATATCAACGGGTTGCTGGTTCGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGC
CACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGATCGTGGC
TTAATGACATTATACGCGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGATCTT
GTCTCTATGGTTCGGTCTACGGTTTGTACCGATGGTGTSTKTTTTTCGCACGAATTGTATAA

10. Patient 10 : *Schistosoma haematobium*

Pour ce patient, peu d'amorces ont fonctionné. Un couple d'amorces ciblant la région COX a permis d'obtenir une identification de *S. haematobium* mais leur assemblage n'a pas pu donner de séquence consensus. L'amorce ShND1_1 a permis une identification à 100 % (MK253578.1) contre 94,62 % pour l'amorce ShND2_1 (MK253567.1).

Pour la région ITS, l'identification donne 100 % de similitudes avec *S. haematobium* (MT580959.1).

Séquence consensus couple ITSF – ITS R :

```
CGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGT
GCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCC
GTTATTGTTCTATTTCAAACTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTTGGCTTGCCATTCACGGGTT
TGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCT
AGGCTGCAGCGTTAAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACA
ACTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAAT
GTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTG
GCCACGCCTGTCCGAGGGTCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGA
GTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACGCGGGTTGCTGGTTCGAAGGCTCCGTCCTAATAGT
CCGGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGTGTGTGCTCGAGTC
GTGGCTTAATGACATTATACGCGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTG
ATCTTGTCTCTATGGTTCGGTCTACGGTTTGTACCGATGGTGTGTGTAATACGCACGAATTGTA
```

11. Patient 11 : *Schistosoma haematobium*

L'identification ici ne repose que sur le couple COX Asmit1-Sh qui est le seul ayant fonctionné. Le dosage de l'ADN a été réalisé et donnait une concentration faible de 1,76 ng/ μ L mais toutefois quasi équivalente au patient 4 pour qui la plupart des couples d'amorces ont bien répondu.

De plus la séquence obtenue correspond à *S. haematobium* avec 99,16 % de similitudes (MT579447.1), mais aussi avec une forme hybride *S. haematobium* x *S. bovis* pour le même pourcentage (MT 579443.1).

Aucun couple d'amorces ciblant la région ITS n'a fonctionné.

Ces résultats ne permettant pas de conclure à une forme hybride, la présence de *S. haematobium* sera retenue.

Séquence consensus couple Asmit1-Sh :

```
AGGTGTATGTTTAAATTTMCCTGGATTGGGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATG
ATTCATCGTTTGAGTATTATGGATTGATTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTT
TGAGCCCATCATAATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTGACTION
GATTATAGGGATTCCCTACAGGTATAAAGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTC
GTGTATGAGATCCATAGTTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTIATTACGATAGGTGGTGTACT
GGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTT
CATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGAGGCCTTT
```

Tableau 10 : résultat final du séquençage par patient

<i>Patient 1</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 2</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 3</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 4</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 5</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 6</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 7</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 8</i>	<i>Schistosoma haematobium x bovis</i>
<i>Patient 9</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 10</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Patient 11</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>

II. Discussion

L'hybridation est un phénomène évolutif fascinant qui soulève la question de savoir comment les espèces maintiennent leur pérennisation. L'hybridation inter-espèces se produit entre certaines espèces de *Schistosoma* qui peuvent causer d'importants problèmes de santé publique et vétérinaire. En particulier, des hybrides entre *S. haematobium* et *S. bovis* associés respectivement à l'Homme et à l'animal sont fréquemment identifiés en Afrique [32, 36, 38, 39, 40].

Le but de cette étude a été de mettre en évidence la présence de formes hybrides ou de nouvelles espèces de *Schistosoma* chez les patients pris en charge à l'IHU depuis 2017. Ce travail a été initié suite à une discordance entre les tests diagnostiques pour un des patients (patient 2) : un examen direct positif (œufs caractéristiques de *S. haematobium* dans les urines) et une PCR Dra1 utilisée en routine négative. Notre hypothèse était alors celle d'une nouvelle espèce.

En s'appuyant largement sur les données de la littérature [21, 22, 23] concernant le séquençage de *Schistosoma* et de ces hybrides, et en dessinant de nouvelles amorces pour la région ITS, plusieurs méthodes d'amplification ont été testées et mises au point ainsi que deux générations de séquençage pour optimiser les résultats obtenus.

1. Méthodes utilisées et interprétation des résultats

Selon l'espèce, le schistosome élimine ses œufs selon le site où vit la femelle gravide. En effet, on sait que pour *S. haematobium* les œufs sont émis dans les urines. Pour *S. bovis*, espèce parasitant des ruminants, les œufs sont retrouvés dans les selles.

Dans le cas d'une hybridation de deux espèces les œufs pourraient être émis dans les selles et/ou dans les urines [30, 31, 36]. Ainsi par exemple, chez un patient chez qui on suspecte une bilharziose une urine négative à l'examen direct ne pourrait pas totalement exclure un diagnostic positif à *Schistoma* si ce patient était parasité par une forme hybride.

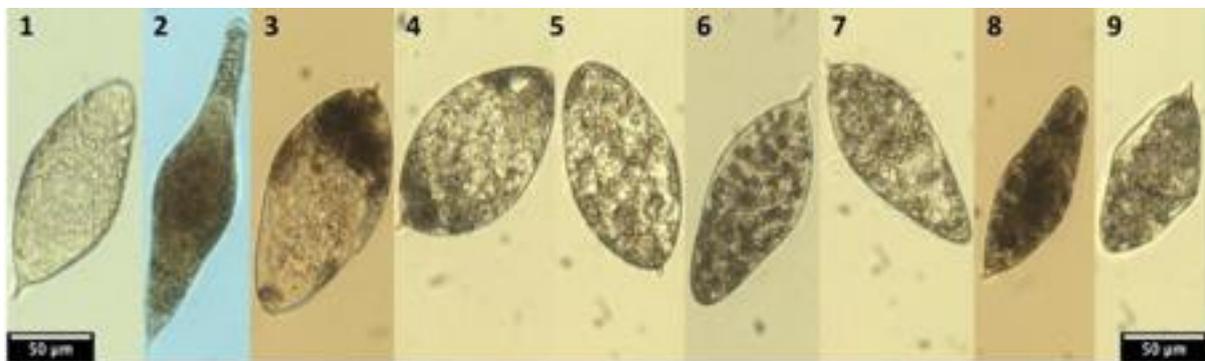
En effet, chez les schistosomes la rencontre entre le mâle et la femelle se produit au niveau de la veine porte. Les deux vers s'accouplent et se dirigent ensuite vers le site de ponte, le mâle portant la femelle dans son canal gynécophore. On peut donc supposer que lors d'un croisement de première génération, le mâle d'une espèce conduit la femelle de l'autre espèce vers son propre site de reproduction. Pour les générations suivantes, le choix du site de ponte pourrait dépendre du niveau d'introgression génétique. En conséquence, il serait maintenant d'usage que pour toute suspicion de bilharziose urinaire, des prélèvements d'urines et de selles soient réalisés systématiquement.

L'une des études les plus récentes rapportant des cas d'hybrides chez l'Homme est celle rapportant l'épidémie de schistosomiase en Corse [30, 31]. En effet plusieurs cas d'hématurie ont été constatés chez des patients consultant en maladies infectieuses et l'anamnèse de ces patients n'a rapporté aucun voyage en zone endémique de bilharziose. Cependant tous avaient voyagé dans une région de Corse où une rivière est connue pour héberger le *Bulinus truncatus*, mollusque hôte intermédiaire de *S. haematobium*. En outre, la température de l'eau dans la rivière du Cavu est très chaude et avoisine les 30 degrés, ce qui en fait un milieu de choix pour le développement de notre parasite.

Seules les urines des patients pris en charge lors de cette épidémie ont été collectées et après analyse, des œufs caractéristiques de *S. haematobium* ont été retrouvés chez certains alors qu'une forme atypique a été identifiée chez un seul patient. Plus tard il a été identifié que ces œufs étaient ceux de *S. bovis*.

Figure 41 : morphologies des œufs retrouvés dans l'épidémie Corse [31]

l'œuf 1 correspond à *S. haematobium*, l'œuf 2 à *S. bovis*
les œufs 3 à 8 correspondent aux formes hybrides retrouvées dans l'épidémie Corse



Sur les 38 patients de l'étude, seuls 6 ont présenté des urines positives à l'examen direct. Pour les autres patients, les auteurs émettent l'hypothèse que les œufs ont été excrétés dans les selles ou alors que la charge parasitaire était trop faible pour être détectée.

◇ Si l'on remonte dans l'histoire, une précédente étude avait déjà montré la présence de *S. bovis* en Corse au cours des années 1920-1930 [33]. Cette identification avait eu lieu dans la région de Porto-Vecchio et de Bonifacio. Le genre *Schistosoma* sous la forme *S. haematobium* ou *S. haematobium* x *S. bovis* peut donc être considéré comme endémique en Corse.

Diverses équipes scientifiques [33, 34] ont réalisé plusieurs expériences d'hybridation entre différentes espèces en laboratoire montrant une plus grande « vigueur hybride » ou « heterosis » chez les hybrides formés par rapport à leurs espèces pures (fécondité plus élevée, temps de maturation plus court, infectivité plus élevée et spectre d'hôte plus large).

Il est plus commun de retrouver une hybridation à partir d'un mâle *S. haematobium* (information donnée par le résultat du séquençage de la région ITS) et d'une femelle *S. bovis* (dont l'information sera donnée par le résultat de la séquence COX obtenue). Ce croisement a été étudié et testé expérimentalement en laboratoire il y a plusieurs décennies et a montré une descendance viable. [34]

Dans notre étude, trois de nos onze patients (27 % de notre cohorte) sont originaires du Mali. Une étude a été réalisée sur une cohorte de patients de retour de voyage de ce pays [38].

Suite à un voyage au Mali, dix patients rapportaient s'être baignés 15 minutes en eau douce. Ils se présentaient avec un tableau clinique varié dont certains avec une forme grave.. Sur ces dix patients, sept avaient des œufs de schistosomes dans les selles et deux dans les urines. Le séquençage COX et ITS réalisé sur les œufs retrouvés dans les selles a montré chez un patient un hybride *S. haematobium* x *S. bovis*. Pour les autres patients il a été montré principalement *S. mansoni*.

Aucun séquençage n'a été réalisé sur les urines.

Le séquençage des prélèvements des patients originaires du Mali de notre étude n'a donné que des formes pures à *S. haematobium*.

Le patient 8 qui est le seul ayant donné une forme hybride *S. haematobium* x *S. bovis* est originaire du Tchad [44]. Nous n'avons pas pu trouvé de description de la présence de cette forme dans ce pays dans la littérature scientifique.

Il est difficile de connaître la prévalence de la présence des hybrides en Afrique.

Des cas d'hybridation *S. haematobium* x *S. bovis* ont aussi été rapportés lors d'une étude en Côte d'Ivoire [39]. Celle-ci a été menée chez des écoliers dans plusieurs écoles à partir d'échantillons d'urines collectés. Après éclosion des œufs, les miracidiums ont été collectés individuellement [35, 37, 39]. L'analyse moléculaire a été réalisée en fonction des régions COX et ITS2, et après amplification, il a été mis en évidence la présence de formes pures et hybrides de ces deux espèces. Les séquences COX ont donné des identifications de *S. haematobium* pour environ 45 % contre 55 % d'identification à *S. bovis*. Pour la région ITS2, 77,5 % des séquences analysées donnent *S. haematobium* pur, 10 % *S. bovis* pur et 12,5 % des hybrides de *S. haematobium* x *S. bovis*.

Webster et al [29] ont aussi démontré qu'au niveau des régions ITS les variations entre les espèces et notamment entre *S. haematobium* et *S. bovis* diffèrent peu, à quelques nucléotides près.

Par conséquent, des profils de double chromatogramme doivent être recherchés afin de mettre en évidence la coexistence d'une forme hybride avec une forme pure. Dans ce travail il a été parfois observé des doubles pics corrigés en respectant les règles de codification universelle.

Cependant aucun de ces doubles pics ne correspondait à un hybride. Pour pallier à ce problème de doubles pics chromatographiques, certaines études isolent individuellement les miracidiums du prélèvement par la technique d'extraction par micropipette afin de procéder à l'extraction de l'ADN d'un seul « individu » [37]. Cette technologie de précision n'étant pas disponible au laboratoire de l'IHU-Méditerranée, elle n'a pas pu être réalisée.

Dans ce travail, nous avons donc travaillé sur un extrait d'ADN du culot urinaire. Nous avons donc potentiellement un mélange entre les formes pures et hybrides. La lecture des chromatogrammes a été réalisée sur ChromasPro® attentivement afin de visualiser ces fameux double pics.

À l'inverse, la région COX d'héritage maternelle diffère plus entre *S. haematobium* et *S. bovis*.

Huyse et al [24] ont montré suite à une analyse précise par paire de base qu'il existait 12 % de divergence de séquences en *S. haematobium* et *S. bovis*, contre 6 % de différence entre *S. bovis* et *S. curassoni*. Ces chiffres peuvent expliquer la difficulté d'identification des espèces présentes au moment du diagnostic par séquençage Sanger. C'est pourquoi pour le patient 2 nous avons essentiellement travaillé en NGS afin d'optimiser les chances d'identifier une potentielle nouvelle espèce.



Au final, des hybrides de *S. haematobium* x *S. bovis* ont été retrouvés chez un seul patient de notre étude (patient 8).

L'hybridation de ces deux espèces montre qu'il y a eu un changement d'hôte à un moment donné du cycle parasitaire soit des espèces zoonotiques vers un humain soit de l'espèce humaine vers un animal. Ainsi, le site de ponte est probablement modifié lors d'une hybridation mais il n'a pas encore été parfaitement décrit dans quelle proportion avait lieu cette modification au cours des générations ultérieures. Il est seulement supposé que la ponte aurait lieu de la façon préférentielle de l'espèce du vers mâle pour la première génération d'hybrides [29].

Chez l'Homme, *S. haematobium* reste encore l'espèce majoritaire dans des formes urinaires. Une PCR en temps réelle décrite dans la littérature est ainsi utilisée en routine ciblant une séquence répétée du génome de l'espèce parasitaire, le gène Dra1 [20,21].

Cette étude belge a montré que la Dra1-PCR donnait de bons résultats pour le diagnostic de *S. haematobium* avec une détection à environ 15 Ct (cycle de seuil), alors que pour *S. bovis* le signal émis était moyen (environ 30 Ct), faible pour *S. mansoni* (plus de 40 Ct) et enfin inexistant pour *S. japonicum* et *S. mekongi*.

Figure 42 : CNOPS et al, tableau comparatif des détections obtenues pour la Dra1PCR avec d'autres types de PCR

Table 1. Species-specificity of the draPCR in comparison to the Sm1-7PCR and the genusPCR.

complex	species	host	extract from	draPCR	Sm1-7PCR	genusPCR
S. mansoni complex	<i>S. mansoni</i>	human	adult worm	41.93*	15.08	21.35
S. haematobium complex	<i>S. haematobium</i>	human	adult worm	15.21	29.44	20.67
	<i>S. intercalatum</i>	human	adult worm	16.65	39.16	23.64
	<i>S. guineensis</i>	human	adult worm	15.12	38.97	23.26
	<i>S. bovis</i>	cattle	adult worm	29.68	13.49	18.92
S. japonicum complex	<i>S. japonicum</i>	human	cercariae	0.00	0.00	23.52
	<i>S. mekongi</i>	human	clinical sample	0.00	0.00	27.98

Ct-values indicate a strong (Ct<28, highlighted in bold), medium (Ct between 28–38), weak (Ct>38) or no (Ct=0) recognition of the species.
*a 5-fold dilution series on this DNA demonstrated that the weak signal resulted from cross-amplification and not from a-specific background noise.
doi:10.1371/journal.pntd.0002413.t001

Notre étude a toutefois montré que des prélèvements de deux patients dont l'examen direct au microscope était positif (présence d'œufs caractéristiques de schisosomes dans les urines) ne sont pourtant pas sortis positifs en RT-PCR, et ce même après ré-extraction des prélèvements et recherche d'inhibiteurs (contrôle interne d'inhibition inclus dans la PCR et dilution de l'échantillon au 1/20e). Aussi, il a été question de mettre en évidence d'éventuelles nouvelles espèces ou des espèces hybrides qui ne seraient pas ou mal diagnostiquées par cette méthode.

Après technique d'amplification et séquençage il a été identifié chez un patient dont le diagnostic moléculaire était négatif (patient 2) une infection à *S. haematobium* ce qui remet donc en question la performance spécifique à cette espèce de la méthode de RT-PCR Dra1.

Plus encourageant, le prélèvement d'un patient (patient 8) avait été diagnostiqué positif en Dra1, laissant donc penser à une forme *S. haematobium* alors qu'il s'agissait en réalité d'une forme hybride *S. haematobium* x *S. bovis*. Cette cible peut donc mettre en évidence les formes hybrides.

Il est donc indispensable dans des travaux futurs d'élucider l'absence d'amplification de la région Dra1 chez quelques formes pures de *S. haematobium*. Pour rappel la PCR Dra1 cible une région répétée de 121 paires de bases (DQ157698.1) mais aucune information sur sa position au sein du génome n'est accessible.

Il reste donc nécessaire de trouver une meilleure cible commune à *S. haematobium* et de même efficacité pour les hybrides dans le cadre du diagnostic de routine de la bilharziose par PCR.

L'examen direct reste une technique indispensable pour la diagnostic.

2. Enjeux de la prise en charge de la bilharziose

La lutte contre la bilharziose vise à réduire la prévalence de la maladie par l'administration périodique de praziquantel à grande échelle.

De la même façon, une démarche préventive dans le but de faire régresser la transmission est instaurée par le traitement et l'assainissement des eaux notamment ou encore grâce à un meilleur accès à l'eau potable et à une éducation sanitaire.

L'OMS coordonne une stratégie de lutte contre la pathologie par la mise en place d'un calendrier chimioprophylactique par le praziquantel de façon régulière pour les populations considérées à risque. Sont visés les enfants en bas âge, les adultes exposés en zone d'endémie, ayant des activités en eaux infestées (agriculteurs, pêcheurs, femmes effectuant des tâches domestiques ...).

Dans les zones à forte transmission le traitement préventif est annuel et ce durant plusieurs années avec un suivi indispensable. Celui-ci permet de traiter les symptômes bénins et d'éviter le passage à une forme chronique grave. Enfin, un traitement initié dès l'enfance permet de diminuer fortement le risque de développer une forme sévère même s'il est important de souligner que des réinfections sont possibles.

L'hybridation inter-espèces soulève un problème quant à la virulence du parasite. On retrouve dans la littérature de nombreuses données qui montrent que le croisement entre deux espèces permet au parasite d'élargir son spectre d'hôte mais aussi ses capacités infectieuses vis à vis de l'hôte intermédiaire mais aussi chez l'Homme [29, 30] grâce notamment à une capacité d'adaptation aux milieux et climats. Ces phénomènes d'introgession soulèvent le problème de l'émergence de nouvelles espèces parasites, sous forme d'hybrides, modifiant ainsi la transmission et spectre d'hôtes, l'épidémiologie des parasites (leurs traits de vie, résistance ...), l'évolution de la pathologie et donc leur virulence auprès de l'Homme et des espèces animales mais aussi sa prise en charge et ses éventuelles résistances au traitement [31].

Si initialement l'infection touchait principalement les populations pauvres et rurales, elle se retrouve aujourd'hui de plus en plus en dehors de ces zones défavorisées.

En effet, les mouvements de population exportent la maladie dans de nouvelles régions induisant une expansion des zones endémiques. De plus, le développement du « tourisme rural » ou encore « écotourisme » provoque aussi une hausse des infections chez les voyageurs.

En zone endémique, certains changements écologiques (pH de l'eau, salinité) ainsi que l'augmentation de l'irrigation ont créé de nouveaux habitats et permettent le développement ou la prolifération de nouveaux hôtes intermédiaires [24].

La prise en charge de cette parasitose devient donc un enjeu mondial, tant au niveau sanitaire qu'économique.

CONCLUSION

La recrudescence des flux migratoires et le réchauffement climatique que nous subissons depuis maintenant de nombreuses années favorisent le développement des parasitoses et leur exportation. Ces phénomènes sont aussi responsables de l'émergence de nouvelles espèces et de croisements inter-espèces appelés hybrides, de plus en plus décrits. Tous ces changements mettent en difficulté le diagnostic de schistosomiase.

La schistosomiase urinaire doit être surtout suspectée en cas d'hématurie terminale et d'éosinophilie chez un patient potentiellement exposé à l'eau douce dans les zones endémiques. Le diagnostic repose sur l'identification à l'examen microscopique des œufs ou des miracidiums (une forme plus rare du cycle de vie du schistosome) dans l'urine et en biologie moléculaire [31].

Toutes les espèces du parasite sont traitées par une dose unique de praziquantel à 40 mg/kg, dose à répéter après un mois.

Cette étude a eu pour but de déterminer les espèces mises en cause chez des patients atteints par une forme de schistosomiase urinaire. La technique de biologie moléculaire utilisée en routine au laboratoire de parasitologie a été remise en question lorsqu'un patient a été testé négatif à partir d'un prélèvement d'urines pour lequel on observait des œufs caractéristiques de *Schistosoma haematobium* au microscope. Cette méthode d'amplification étant supposée être spécifique à cette espèce, nous avons pu remarquer qu'elle n'avait pas diagnostiqué une infection pourtant présente chez un patient. À l'inverse, elle a permis de diagnostiquer positif un patient infecté par des formes hybrides de schistosomes.

On peut alors conclure que la RT-PCR disponible au laboratoire ne permet pas de diagnostiquer 100 % des schistosomiasis, certaines espèces n'étant pas détectées tandis que celle visée par les amorces disponibles peut aussi ne pas être détectée.

Pour un séquençage plus précis des prélèvements étudiés ici, il conviendrait de réaliser l'extraction et l'amplification œuf par œuf. Ceci permettrait un diagnostic précis des espèces présentes chez un patient, chez qui il pourrait être retrouvé plusieurs espèces en cohabitation mais aussi plusieurs formes croisées.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Bilharzioses – INPN** : *Inventaire National du Patrimoine Naturel*
2. **Bilharzioses – ANOFEL, 2014** : *Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie*
3. **HAS Argumentaire, 2017** : *Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic de la schistosomose (bilharziose)*
4. **Orphanet - Schistosomiase**, *portail des maladies rares et médicaments orphelins*
5. **OMS – Schistosomiase, 2021** : *Organisation mondiale de la santé*
<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>
6. **Lancelot Julien, Thèse, 2013** : *Caractérisation des sirtuines de Schistosoma mansoni, cibles thérapeutiques potentielles*
7. **Guiguen et Preney, 2007** : *Schistosoma haematobium, agent de la bilharziose urogénitale*, Elsevier
8. **DAPméd Africa** : *Bilharziose* ; <https://www.dapmed-africa.com/pathologies/view/bilharzioses-ou-schistosomoses/>
9. **VIDAL** : Praziquantel, <https://www.vidal.fr/medicaments/biltricide-600-mg-cp-pellic-quadrise-2193.html>
10. **Pharmacomédical.org - Antihelminthiques** : *Site du Collège National de Pharmacologie Médicale*
11. **Lamoril et al, 2008** : *Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche*. Elsevier
doi:10.1016/j.immbio.2008.07.016
12. **Aghrouch et al, thèse** : *Séquençage de l'ADN, principe, indication et application*
13. **Young ND et al, 2012** : *Whole-genome sequence of Schistosoma haematobium*. Nature Genetics
doi.org/10.1038/ng.1065
14. **Stroehlein AJ et al, 2019** : *High-quality Schistosoma haematobium genome achieved by single-molecule and long-range sequencing*. GigaScience.
Doi:10.1093/gigascience/giz108
15. **Ibironke et al, 2011** : *Validation of a new test for Schistosoma haematobium based on detection of DraI DNA Fragments in urines : evaluation through latent class analysis*. PloS
doi:10.1371/journal.pntd0001464

16. **Séquençage nouvelle génération (NGS) - Clinisciences** <https://www.clinisciences.com/achat/cat-sequenage-nouvelle-generation-3452.html>
17. **Dekairelle et al, 2017** : *Le Next Generation Sequencing (NGS), un nouvel outil de biologie moléculaire au service des patients*. Louvain Médical
18. **Audebert et al, 2014** : *Le séquençage haut débit, vers un diagnostic basé que la séquence complète du génome de l'agent infectieux*. M/S Revues
doi:10.1051/medsci/20143012018
19. **Piorkowski G**, Thèse : collaboration avec l'Unité des Virus Emergents
20. **Cnops et al, 2012** : *Schistosoma real-time PCR as diagnostic tool for international travellers and migrants*. Tropical Medicine and International Health.
doi :10.1111/j.1365-3156.2012.03060.x
21. **CNOPS et al, 2012** : *A Schistosoma haematobium-specific real-time PCR for diagnosis of urogenital schistosomiasis in serum samples of international travelers et migrants*. PloS
doi:10.1371/journal.pntd.0002413
22. **Dekvota et al, 2015** : *The Schistosoma indicum species group in Nepal, presence of a new lineage of schistosome and use of the Indoplanorbis exustus species complex of snail hosts*. International Journal of Parasitology
doi : 10.1016/j.ipara.2015.07.008
23. **Timothy et al, 2006** : *The complete mitochondrial genomes of Schistosoma haematobium and Schistosoma spindale and the evolutionary history of mitochondrial genome changes among parasite flatworms*. Elsevier
doi : 10.1016/j.ympev.2005.12.012
24. **Huysse et al, 2009** : *Bidirectional introgressive hybridization between a cattle and human schistosome species*. PloS.
Doi : 10.1371/journal.ppat.1000571
25. **Depaquit et al, 2019** : *No limit in interspecific hybridization in schistosomes, observation from a case report*. Parasite
doi:10.1051/parasite/2019010
26. **Barber et al, 2000** : *PCR-RFLP analysis of the ITS2 region to identify Schistosoma haematobium and S. bovis from Kenya*. Trop Med Hyg Journal
doi:10.4269/ajtmh.2000.62.434
27. **Schols et al, 2019** : *A rapid diagnostic multiplex PCR approach for xenomonitoring of human and animal schistosomiasis in a « One Health » context*. Trop Med Hyg
doi:10.1093/trstmh/trz067
28. **Webster et al, 2010** : *Rapid diagnostic multiplex PCR (RD-PCR) to discriminate Schistosoma haematobium and S. bovis*. Journal of Helminthology
doi:10.1017/S0022149X09990447

29. **Webster et al, 2013** : *Introgressive hybridization of Schistosoma haematobium group species in Senegal, species barrier break down between ruminant and human schistosomes.* PloS
doi:10.1371/journal.pntd.0002110
30. **Boissier et al, 2016** : *Outbreak of urogenital schistosomiasis in Corsica (France), an epidemiological case study.* The Lancet Infectious Diseases
doi : 10.1016/S1473-3099(16)00175-4
31. **Julien Kincaid Smith, Thèse 2018** : *Modification des traits d'histoire de vie au cours de l'hybridation et analyse des mécanismes moléculaires sous-jacents chez les parasites plathelminthes du genre Schistosoma*
32. **Leger E et al, 2016** : *Hybridizations within the genus Schistosoma, implications for evolution, epidemiology and control.* Parasitology
doi : 10.1017/S0031182016001190
33. **Brumpt E, 1930** : *Cycle évolutif complet de Schistosoma bovis, infection naturelle en Corse et infection expérimentale de Bulinus contortus.* Annales de Parasitologie
34. **Taylor MG, 1970** : *Hybridisation experiments on five species of African schistosomes.* Journal of Helminthology
Doi:10.1017/s0022149x00021969
35. **Zanisi L et al, 2018** : *Diagnostic de schistosomiase urinaire par l'identification de miracidiums de Schistosoma haematobium.* Revue Médicale Suisse
14:944-8
36. **Huysse et al, 2013** : *Hybridization between two major African schistosome species of humans.* International Journal Parasitology
doi : 10.1016/j.ijpara.2013.04.001
37. **Beltran et al, 2008** : *Cheap, rapid and efficient DNA extraction method to perform multilocus microsatellite genotyping on all Schistosoma mansoni stages.* Mem Instit Oswaldo Cruz
doi:S0074-02762008000500017
38. **Soentjens P et al, 2016** : *Diagnosis and clinical management of Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis hybrid infection in a cluster of travelers returning from Mali.* Clinical Infectious Diseases.
Doi:10.1093/cid/ciw493
39. **Angora EK et al, 2020** : *High prevalence of Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis hybrids in schoolchildren in Côte d'Ivoire.* Parasitology
doi:10.1017/S0031182019001549
40. **Djuikwo-Teukeng et al, 2019** *Population genetic structure of Schistosoma bovis in Cameroon.* Parasites Vectors
doi.org/10.1186/s13071-019-3307-0
41. **Grétilat et al, 1964** : *Différences morphologiques entre Schistosoma bovis et Schistosoma curassoni.*

42. **Diaw et Vassiliades**, 1987: *épidémiologie des schistosomiasés du bétail au Sénégal*. Rev Med vet Pays trop, 265-274
43. **Bremond et al**, 1993 : *Arguments for the modification of the genome (introgression) of the human parasite Schistosoma haematobium by genes from S. bovis in Niger*. PMID 8019888
44. **Atlas** de la répartition mondiale des schistosomiasés, chapitre 6-Tchad.

ANNEXES

Tableau 7 : Amorces utilisées, décrites dans des publications

Article de référence	Cible	Nom Amorce	Séquence amorce
TIMOTHY et al, 2015	COX	1F	CCTYGGGGATTACTGAGTAAAG
		4F	GTAACATGTAGTCTGAAGAATC
		4R	GATCTTCAAGCACTACCATGTTAC
		5F	AGTGTCAAGTTGAAGKCTCTGGAG
		5R	CTCCAGAKCTTCAAACTGACAGT
		8R	CTMCTAGCTTCAGCATGAACATA
		COIF	TGAAGAATCAGGGCTAG
		COIR	CTATAGGCATATAACTATGTC
		COX1-SCHIST-5'	TCTTTRGATCATAAGCG
		16S-SCHIST-3'	GATAAGAACCACCTGGC
		UCOBF	TGRCRYCARATGTCNTATTGRGCTGC
		UNAD1R	CCAACCTTDTTHGGNCCCTTACG
		UNAD1F	CGTAAGGGNCCDAAHAAGGTTGG
		UPROR	CCTYAAACACCCAAAGTTYRTATTCT
		UPROF	AGAATAYRAACTTTGGGTGTTTRAGG
		ShCO1R1	GCCTCAAAACCTAAACCAATAAAACCCCC
		ShND1_1	TTGGGAGAAGTTAGTGGGG
		ShND1_2	AACAACGAAAATCATCTGCG
		SsND1_proF1	GTTTTGATTAGCTGACTAC
		SsND1_proR1	ATTCAACAAGCAAAATAAACC
ShPro_CO1F1	GAGTTTATAGTGAAGTTGGTTAG		
ShPro_CO1R1	GAAAGCAAGCAGTCTTCTAAC		
ShND1_proF1	TGTATGGTGGTTATAGG		
ShND1_proR1	CTCTCCTATAGTCCACTC		
CNOPS et al, 2012	28S RNA	FW	GTGGAGTTGAACTGCAAGC
		RV1	CCATAGCAGACAGGCAGC
		RV2	GCTCAACAATAAGTCAAACTG
		Sh.R	TGATAATCAATGACCCTGCAATAA
WEBSTER et al, 2010	COX	Sb.R	CACAGGATCAGACAAACGAGTACC
		Asmit1	TTTTTTGGTCATCCTGAGGTGTAT
		Schisto 3'	TAATGCATMGGAAAAAACA
		ITSF	TAACAAGGTTCCGTAGGTGAA
HUYSE et al, 2009	ITS	ITSR	TGCTTAAAGTTCAGCGGGT
		ITS4	TCCCTCCGCTTATTGATATGC
		ITS5	GGAAGTAAAAAGTCGTAACAAG
		ITS 2 F	GGAAACCAATGTATGGGATTATTG
SCHOLS et al, 2019	ITS	ITS2 R	ATTAAGCCACGACTCGAGCA

Tableau 8 : Amorces utilisées et dessinées avec l'Unité des Virus émergents

ITS	1S	GGTGAACCTGCGGAAGGATC
	965R	CCCGACCTCGGATCAGACG
	58S	GCATGCACCTGGCTTCKYGC
	981R	TTAAGTTCAGCGGGTAATCACG
	525R	GTTGGCTGCACTCTTCATCG
	394S	CTGCATGTACGCTGGCTTAG
COX	1S	GATTTGATATCTTGATTTGTCTC
	1160R	CCCATAATAAAMGGCCATCAYC
	121S	TGTGATCCWTATTATAAHTTRRTTYC
	604R	GCAGTACCAAATTTACGATCAAA
	718R	GTCTTACCATACCAAAWCCNGG
	689S	GGTGATCCDDTRTTATTTCARCA

Tableau 6 complément : Liste des patients étudiés avec leurs caractéristiques

PATIENT	AGE	SEXE	Pays d'origine	Tableau clinique	Examen direct	PCR Dra1	Sérologie	Origine prélèvement
Patient 1	17 ans	M	Non renseigné	<i>Douleurs dentaires persistantes</i>	+	-	+	Urines
Patient 2	18 ans	M	Guinée	Douleurs articulaires diffuses	+	-	+	Urines
Patient 3	14 ans	M	Côte d'Ivoire	Non renseigné	+	-	Non technique	Urines
Patient 4	18 ans	M	Mali	Hématurie terminale douloureuse chronique	+	+	+	Biopsie vésicale
Patient 5	18 ans	M	Mali	Douleurs abdominales avec vomissements post-prandiaux	+	+	+	Urines
Patient 6	16 ans	M	Mali	Non renseigné	+	+	+	Urines
Patient 7	17 ans	M	Non renseigné	Lombalgies	-	+	Non technique	Urines
Patient 8	21 ans	M	Tchad	Hématurie	-	+	Non technique	Biopsie vésicale
Patient 9	22 ans	M	Libye	Hématurie	+	+	+	Urines
Patient 10	63 ans	M	France <i>voyages RDC</i>	Syndrome pseudo-grippal en retour de zone d'endémie palustre, myalgies diffuses, asthénie et céphalées. (Ø chimioprophylaxie)	+	+	-	Biopsie vésicale
					-	-	-	Biopsie pulmonaire
Patient 11	27 ans	F	Guinée	Non renseigné	+	-	+	Urines

M : Masculin

F : Féminin

+ : résultat positif (Ct <40)

- : résultat négatif (Ct >40)

Dra1 : nom du gène cible de la PCR (CNOPS et al, 2013, PLOS Neglected Tropical Diseases)

Tableau 11: Résultats des gels par patient et selon le couple d'amorces utilisé

COUPLE D'AMORCES	Patient 1	Patient 2	Patient test	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7	Patient 8	Patient 9	Patient 10	Patient 11
<i>Asmit1 – Schisto3'</i>	X	X		X	X	X	X	X	X	X		X
<i>Asmit1 – Sh</i>		X		X		X	X	X	X	X	X	X
<i>Asmit1 – Sb</i>		X					X		X			
<i>ITS F – ITS R</i>	X			X					X	X	X	
<i>ITS 4 – ITS 5</i>	X			X		X	X		X	X	X	
<i>UPROF – ShCOIRI</i>					X							
<i>COXI_schist_5' – 16S_schist_3'</i>		X		X	X	X	X	X	X		X	X
<i>1F – 5R</i>												
<i>4F – 8R</i>												
<i>UCOBF – UNADIR</i>					X				X	X		X
<i>ShNDI_2 – ShNDI_1</i>		X		X	X	X	X		X	X		
<i>UNADIF – UPROR</i>					X		X		X	X		
<i>SsNDI_proFI – SsNDI_proRI</i>												
<i>ShPro COIF1 – ShPro COIRI</i>					X				X	X		
<i>ShNDI_proFI – ShNDI_proRI</i>					X				X	X		

RÉSULTATS DES SÉQUENCES OBTENUES POUR CHAQUE PATIENT

Patient 1 : *Schistosoma haematobium*

Amorce COX :

Schisto 3'

GATTCTCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCCATGGCTTCRATAGTTTGCTTAGGAAGTGTARTTTGAGCCCATCAAAT
GTTTATGGTTGGTTTARATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTAAGGTGTAAAGG
TTTTTCTTGATTATTATGCTTAAAAGCTGTGG

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium isolate RT16.1_NdgR.5 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial c...	Schistosoma ha...	322	322	100%	7e-84	95.50%	1005	MT579447.1

Amorce ITS :

Couple ITS2 F - ITS2R

Séquence CONSENSUS

TGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAG
CCAACCTGTGTAATTAATGTAAGTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCT
GTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCCG
CGTGATACCCGCATATCAACGGGGTTGCTGGTCCGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAG
ATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATA

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium voucher RT16_NW51.3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8...	Schistosoma h...	680	680	99%	0.0	100.00%	927	MT580959.1

>ITS2 F

CTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCACTGTGTGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTG
AACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGT
CGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCTGTATACCCGCATATCAACGGGGTTGCTGGTCCGAAGGCTCCGTCCTAATAGTC
CGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATA

>ITS2 R

TATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACAC
GCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGGCGTGGCCACA
GGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTGCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTG
CACTCTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCATACATTGGTTTCCA

Patient 2 : *Schistosoma haematobium*

Séquençage NGS où les amorces ayant la même cible (COX ou ITS) sont poolées

Amorces ITS :

couples 58S-965R, 58S-981R et 394S-965R

ATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATAGTTCTATGCATTTGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCG
GTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTGTATACTGCTTTGAACAT
CGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCC

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate Kg2_1 small subunit ribosomal RNA gene, p...	Schistosoma h...	363	363	100%	3e-96	99.49%	946	MT158882.1

Amorces COX :

couples COX1_schist_5'-16S_schist_3', ShND1_2-ShND1_1, UNAD1F-UPROR

TGGGATTAGTATTAGTTTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAGCTTAAGTGTAGGTATAATT
TATATTGTAATTAATGTTATCTATTTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAGGAGAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGAT
AGTATAATAAAGATAGTAAAAACTTAGTGTTCAGCATATTTGTTTTGGTCAAAGGGTGGTTAGTTGATACCACTTTT
TAAATAGTGTAATAATTAATTGTATAGTAAGCTGTAAAGGTAGCTGATAGTAGCTTAAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATC
TTAGTATGTTATAGATATGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATAAAAA
TGTTTTAAATTAAGTTCAGCATTATTAACAGTTATATTTTTAGTATTATTACCAGTTATATTAACCTATTATAATGTTTTGGAG
TTAAGAGTTTAAGGGTAATCATTATAGTAATATATCAGAATGATTTCAAGTTTGAATGTGGGTTTTAGGGCATGGGTT
AAATGAAAAATTTTTAGCTTTTCTTACTTAAATCTATTAATATTATTGTAGTCTTTGATTTAGAAATATCGTTATTATTA
TATAGTTTACGATGGAATATGATATTATACATTTCTGGTGTTTTTTTGTTGTTTTTTGGTTACATGGTAGAACTTAAGTTAGGT
TATGTAAGGTGAATTAATAAGTAGTTAGGAATATTCATATATACATATTGAGAATATGCATTTAGTTTATGAAGAATAAAA
GTTTGTACTGCTTTTGGTGATTAGATTGTTTTATAGTCAGTGTATGAAGATTTAGTATAATGATATACCATAGTATTGATATT
AGATTAGTTAATTTAATGTATAATAGTATGATATGTTAGAGTTAGTTTTAAGAATCGAGAGTTTAATAATGACTTTATTA
TTAGTAGCTTTTTATATAATGAGTGAGCGTAAGGCTTTGTCATATATACAATTACGCAAGGGACCTAAAAAGGTTGGTATT
ATGGGACTATTACAAAGGTTTGTGATTTTATAAAGTTAATAAATAAGAGTAAGTTTAAAAAT

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium mitochondrion, complete genome	Schistosoma ha...	2026	2026	100%	0.0	98.69%	15003	DQ157222.2

AGTAGCTTTTTATATAATGAGTGAGCGTAAGGTCTTGTTCATATATAACAATTACGCAAGGGACCTAAAAAGGTTGGTATTAT
 GGGACTATTACAAAGGTTTGTCTGATTTTATAAAGTTAATAAATAAGAGTAAGTTTAAAAATNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNN
 NNN

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium mitochondrion complete genome	Schistosoma ha...	2085	2085	87%	0.0	99.05%	33418	MW067227.1

Amorces ITS :

Couple ITSF – ITSR CONSENSUS

TAACCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGG
 CTTGAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCCGGTTGCC
 TGATCTGCCAAGGGCGATGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCAT
 GCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTT
 GCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAA
 CCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGT
 GTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATT
 GCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATT
 GGGCGAGTCCCTGCGGCGGTATACCCGCATATCAACGCGGGTTGCTGGTGAAGGCTCCTAATAGTCCGGCCA
 CAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGTATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATGACATTATACGC
 GCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGTCTCTATGGTTCGGTCTACGGTTTGTACCGA
 TGGTGTGTGAATACGCACGAATTGTATAATKACCCGA

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium voucher RT16_NW51.3 internal transcribed spacer 1, partial sequence...	Schistosoma h...	1685	1685	99%	0.0	99.89%	927	MT580959.1
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis voucher RT15_Ye1-10.6 internal transcribed space...	Schistosoma h...	1685	1685	99%	0.0	99.89%	927	MT580957.1

>ITS F

TAACCaAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTC
 AGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCCGGTTGCCCTGATCTG
 CCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAAATCCG
 CCCGTTATTGTTCCATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTTGTGCTGGCATG
 CACCTGGCTTCTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACATTAGTTCTATGCA
 TTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAG
 CCAACTGTGTGAATTAATGTGAACTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGT
 GGCCACGCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGT
 ATACCCGCATATCAACGCGGTTGCTGGTGAAGGCTCGTCTAATAGTCCCGGCCMCAGCCTAGTCCCGGTCTA

>ITS R

TcGGGTMAATTATAACAATTCGTGCGTATTACACACACCATCCGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAAGATCAAGTGA
 CCAACGTAGCGTACGATAAGGTGCGATTCTTCCCAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACAAACCCACCGCA
 GCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCGCGTTG
 ATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGCCGACCTCG
 GACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATgCAGTTCACATTA
 ATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCAT
 CATTGGTTTCCCAAATGCATAGAACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCC
 AGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCGGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTT
 TGAAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAACAATTCTCTTTGAACCTAGCACACACATAGCGTCATG
 CACTGTCCATCGCCTGCAGATCAG

Couple ITS4 – ITS5 CONSENSUS :

ATCCGTCTGATCCGGGTMGGGTAATTATACAATTCGTGCGTATTACACACACCATCCGGTACAAACCGTAGACCGAACCAT
 AGAGACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGCA
 CTCGAGCACAAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGGAGC
 CTTCCGACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTGCCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCG
 TGATAGATGAAAAGCCGACCCTCGGACAGCGCTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGAT
 GTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACC
 GCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATA
 TTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGC
 CAAACCGGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAACAAT
 TCTCTTTGAACCTAGCACACAACAATAGCGTACGACTGTCCCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTAC
 GAGAACACCATCAGGGCATAACGACAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCACTGAAGCCTAGGGTAATAAC
 CACCAAGCCAGGGTACATACAGTCCAGCAAGAAGCCAGGTGCATGCATCATTATATATTTTTGGGTTAKATAATATCCTCC
 CGCAGGTTCA

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU10_Hs_Profile8 small subunit ribosomal...	Schistosoma h...	1733	1733	100%	0.0	98.97%	983	MW027655.1

>ITS 4

ATCCGTCTGATCCGGGTMGGGTAATTATACAATTCGTGCGTATTACACACACCATCCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAG
 AGACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCG
 AGCACAAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCG

ACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACGCGGCGAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGA
 TGAAGGCCGACCCCTCGGACAGGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGC
 AGTATGCAGTTACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACCTCTTCATCGACACAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTG
 TACGCCAATAATCCCATACATTGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGC
 CAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCGGATCGCT
 TCAACAGTGTAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTGTCATGCATATAGCATAACAATCTCTTTG

>ITS 5

TGAACCTGCGGGAGGATATTATMTAACCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTG
 GCTTGGTGGTTATACCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGT
 CTCGTAACCTTCGGGTTGCTGATCGCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGCTAGGTTCAAAGAG
 AATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCT
 TGCCATTCACGGGTTTGGCTGCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTA
 GGCTGCAGCGTTAACATTAGTTCATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATC
 ACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTT
 GAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAG
 TCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGGTGATA

Patient 4 : Hybride Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Asmit1-Schisto3' CONSENSUS :

TTTTTGGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAAT
 GATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGTGTAGTTTGTAGCCCATCATAT
 GTTATAGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGG
 TTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTT
 TATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTTTCATGATACTTGATTTGTTGTTG
 CTCATTTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTT
 ACAGTATTAATAAGTATTTATTGACAGGGTCATTGATTATATCAATGGTTGGGTTAATCTTTGTTTTTTCTATGCATTA

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome	Schistosoma ha...	1072	1072	100%	0.0	99.83%	15315	MK253577.1

>Asmit1

GGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGAT
 AGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTGTAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCAGT
 GACTATGATTATAGGATTCCTACAGGTATAAAGCTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGTCTCGTGTATGAGA
 TCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTA
 GATATATTTTTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAAT
 GTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGATTATATCAATGGTTGGG
 TTTAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

>Schisto 3'

TTTTTGGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGA
 TTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGTGTAGTTTGTAGCCCATCATATGTT
 TAGTTGGTTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTT
 TCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTTA
 CGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTgATTAGATATATTTTTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTC
 CATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTTTTTTGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTA
 TTTCTTTATTGCAGGGTCATtATTA

Couple Asmit1-Sh CONSENSUS :

ACCCTGCAATAAATACTTATTAATACWGTAAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATATAAACATTACTACaCTTCTATAA
 GAACCTAAAGAAAGAACAATAATGAAAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTG
 ATAAAAGCTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTATAGGATCTCATAACAC
 GAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTTACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAAC
 TAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTAAGCAAACCTATC
 GAAGCCATAGCACAATCAATCCATAATACCAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATT
 CAAATCCAGGTAAAATTAACATACACCTCAGGAtGACCAAAAAA

<input checked="" type="checkbox"/> Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome	Schistosoma ha...	972	972	100%	0.0	99.62%	15315	MK253577.1
---	-------------------	-----	-----	------	-----	--------	-------	------------

Asmit1

TGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGT
 GTAGTTTGTAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTACTATGATTATAGGGA
 TTCCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGAT
 TGGTTGGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTARATATATTTTTCATGAT
 ACTTGATTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATARAARTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGC
 CTTTTATAATTGGTTACWGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGT

>Sh

TTATTACTACaCTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACAATAATGAAAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATA
 TCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTA
 TAGGATCTCATAACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATC
 ATAGTCACTGAACTAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTA
 AGCAAACCTAGCAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATCAACCAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGAC
 TAACTATTCCAATCCAGGTAAAATTAACATACACCTCAGGAtGACCAAAAAA

Couple COX1_schist_5'-16S_schist_3'

>COX1_schist_5'

CGCGCTCTGGGAAATTCCTTGGATGGGMAATTGTTGGGCCCGGGCATAGAGTTTGCCTGGGCCAAAATCCCCGATTTCMGCCT
CGATCCAGCGGAGCAAGAGATCTCTTGTAAAAAAGAAAAGAGTAAAAAATTGGACTGTATCCGGACATGAGGAATTT
CTGATCATTGTCTTATGAAAGTATTTCTTGWACCAGTAACTTATWAATGAGGACTGAAAAAAGGCTCTTATTAATAAA
GGTTCCAAATATTTTATAACTTTAAAATACGTACTCTTAATGCTTTGAATAAACATCCAAGTGTATG

Couple ShND1_1 – ShND1_2:

>ShND1_1

GTATTAGTTTATTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAGCTTAAGTGTAGGTATAATTTATATTGTAAT
ATTAATGTTATCTATTTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAGGAGAAAATGCATTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAG
ATAGTAAAAAATTAGTGTTCAGCATATTTTGTGGTCAAAAAGGGTGGTTAGTTGATACCAGTTTTTAAATAGTGTAAAT
TAATTGTATAGTAAGCTGTAAAGTTGGCTGATAGTAGCTTAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATGTTATAGAT
ATGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATAAAAAATGTTTAAATTAAGTTCA
GCATTATTAACAGTTATATTTTATGATTATTACCAGTTATATTAACCTCATTATAATGTTTTTGGAGTTAAGAGTTTAAAGGGTA
ATCATTATAGTAATATATCAGAATGATATCAAGGTTTGAATGTGGGTTTTAGGGCATGGGTTAAATGAAAAATTTTTTAGCT
TTCTTACTTAAATCTATTAATATTATTTGTAGTCTTTGATTAGAAAATATCGTTATTATTAATATAGTTTACGATGGAKATGAT
ATATACATTCTGTG

Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion, partial genome Schistosoma ha... 1253 1253 100% 0.0 99.42% 15819 MK253578.1

>ShND1_2

TAAAACCTTACTCTTATTTATTAACCTTTATAAAAATCAGCAAACCTTTGTMATAGTCCATAATACCAACCTTTTTAGGTCCTT
GCGTAATTGTATATGACAAGACCTTACGCTCACTCATTATATAAAAAGCTACTAATAATAAAGTCATTATTAACCTCTCGAT
CTTTAAAACCTAACTCTAACATATACATACTATTATACATTTAAATTAACCTAAATCTAATATCAAATACTATGGTATATCATATAC
TAAATCTTCATACTGACTATAAAACAATCTAATCACCAAAAAGCATGACAAAACCTTTTATTCTTCATAAACTAAGTGCATATTC
TCAATATGTATATGAATATTCCTAACTACTTATTTAATTCACCTTACATAACCTAAGTTCTACCATGTAACCAAAAAA
CAACAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAAATAAAAAA
TTTTTTTAAWYMAAAGCCTCCAATTAATTTATWRRTTTTARTTAAAAAARSCWAAAAATTTTTTYTTTTWACCCMKGGCCY
AAAAACMMMYTTTMAAMCYTKGRAAYMWTCCCKGTTTTTACTATKKGTTYCCCCTTWAACYYYTAAAMYCCAAAA
MAMTTWAWAGGRGTTWATWWASCKGGTAAKAAATMYWAAAAAWWWACKGTTWAWWAGSSTGAMYTTAWTTTAAACM
RTTTTTWT

Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion, partial genome Schistosoma ha... 808 808 59% 0.0 99.55% 15393 MK253567.1

Couple UNAD1F – UPROR CONSENSUS :

GAGTAAGTTTAAAAATTTAGATTTTCGCAGATGATTTTCGTTGTTAGGTTGTATAGTTTTAATTCATGTTTCAGTGTTCGATG
GTAATAGTCTATAGATTAGTAAATAGGAATATATGGTGTAAATTGAATATTACTTTATTTTTTAGTGGTTGGTCTATAGTGAG
TTACAGAACCTTTATTAATAGGCTGATGTTTCGTGATCAAAGTACAGTCTAATTAGTTCTATTTCGTGTTTCTTTTTCTAGTGTA
ATGTTTCGAGATGATACTAATGTGCATTATGATTTTGTGGCTTAATGTATGGTGGTTATAGGAAACCCAGAGTTAGAAGA
GTAATGTTATTATAGCACCTTTAGCTTTTATTGCATGGTTAATAGTGTATTAAAGAGAGAGTAATCGTACACCATGTGACT
ATTCCGAATCTGAAAGTGAGCTAGTAAGAGGAATTAGAGTGGAAATATAGGAGAGTATTATTTTTAGTTATATTTGCTTGGC
AGTATTTAATAATGTTTATATTAGCTGAGTGAGATTTATAGTATTTTGAAGCATAAATGAAATATTGATAGTAATAAACTTG
ATGTTATTTGTAGTAATGCGTGGTTCATTTTCTCGACTTCGATTTGATATATTTGTTTCAGTAGTTTGAAAATATTGCGTTGT
AGTGATAGTATATTAAATAGTTTATTTAGATTGTTATAGTAATAAAGTAAAGGTTAGAAATGATAAATAAATAGTTAGCCGAG
TAGTTAAAGTTAATGTTTGTTTTACACACAAAAGGTGAAGTAAGATCTTAGAATGCTTCCGGCGTTATAATTAATTTGTT

Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion, partial genome Schistosoma ha... 1517 1517 100% 0.0 100.00% 15819 MK253578.1

>UNAD1F

GAGTaagTTTAAaAAATTTTAGATTTTCGCAGATGATTTTCGTTGTTAGGTTGTATAGTTTTAATTCATGTTTCAGTGTTCGATGGTA
ATAGTCTATAGATTAGTAAATAGGAATATATGGTGTAAATTGAATATTACTTTATTTTTTAGTGGTTGGTCTATAGTGAGTTACA
GAACTTTATTAATAGGCTGATGTTTCGTGATCAAAGTACAGTCTAATTAGTTCTATTTCGTGTTTCTTTTTCTAGTGTAATGTTTCG
AGATGATACTAATGTGCATTATGATTTTGTGGCTTAATGTATGGTGGTTATAGGAAACCCAGAGTTAGAAGAGTAATGTTA
TTCATAGCACCTTTAGCTTTTATTGCATGGTTAATAGTGTATTAAAGAGAGAGTAATCGTACACCATGTGACTATTCCGAATCT
GAAAGTGAGCTAGTAAGAGGAATTAGAGTGGAAATATAGGAGAGTATTATTTTTAGTTATATTTGCTTGGCAGTMTTTAATAAT
GTTTATATTAGCTGAGTGAGATTATAGTATTTTGAAGCATAAATGAAATATTGATAGTAATAAATCTTGATGTTATYGTAGT
AATGCGTGGTTCATTTTCTCGACTTCGA

>UPROR

AAACAATTAATTATRACGCCGGRAGCATTCTAAGATCTTACTTCACCTTTTGTGTGTAACAACAACATTAACCTTTAACTACT
GCGCTAACTAATTTTATTATCAATTCTAACTAGATTACTATAACAATCTAAATAAACATATTAATATACTAGTATCACTACAA
CGCAATATTTTCAACTACTGAAACAAATATATCAAATCGAAGTCGAGAAAATGAACCACGCATTACTACAAATAACATCAA
GTTTATTACTATCAATATTTCAATTTATGCTTCAAATACTATAAATCTCACTCAGCTAAATATAAACATTATTAATACTCGCAA
GCAATATAACTAAAAATAACTCTCCTATATCCACTCTAATTCCTCTTACTAGCTCATTTCAGATTTCGGAATAGTCACAT
GCTGATAGTATCTCTCTTAAATAACACTATTAACCTATTAACCTATAAAGCTAAAGGTTGCTATGATAAATAAATAGTACTCTTAC
TCTGGGTTTCTATAACCACCATATTAAGCCAAAACAAATCATAATGCACATTAGTATCATCTCGAACATTACTAGAAA
AAGAAACACGAATAGAATAATTAGACTGTACTTTGATCAGCAACATCAGCCTATTAATAAAGTTCTGTAACCTACTATAGA
ACCAACCCTAAAAATAAAGTAATATTCAATTACMCCATWATATCTAWTTTACTAA

Amorces ITS :

Couple 58S – 525R :

TGCATGCACCTGGCTTCTCGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTTC
TTGACCGGGTACCTAGCCTGTCTGATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATG
GGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGCTTATTG
TTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTTGTGCKGGCATGCACCTG

GCTTCGYGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAAATATCCTAGGCTGCAGCGTAAACCATTAGTTCTATGCATTTG
GAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCGATGAAGAGTGCGCC
AACACTATTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTTATTCA
AACTTTTACACTGTGTAAGCGATCCGGTTGGCTTGCCATTCACGGGTTGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCKTGCTG
GACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAAATATCCTAGGCTGCAGCGTAAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAAT
GTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCGATGAAGAGTGCAGCCAACA

[Schistosoma curassoni voucher RT17_MbG8.6 internal transcribed spacer 1, partial sequence_5.8S...Schistosoma c...](#) 867 1437 99% 0.0 98.77% 927 [MT580961.1](#)

>ITS 58S

GTCGCTGGCTTGGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTASMTTAKTTCTATGCRITTTGGGAAACCAATGTRTGGGATTATTGGC
GTWCAACTTTGAKCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCGATGAAGAGTGCGCCAACACTATTGTTGTGCTAGGTTCAA
AGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTTATTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTT
TGGCTTGCCATTCACGGGTTTGTGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCKYGTGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAAATA
TCCTAGGCTGCAGCGTAAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGT
GGATCACTCGGCTCGTGTGCGATGAAGAGTGCAGCCAACA

>ITS 525R

GATCMCCGCTMAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTA
GGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCRMGAAGCCAGGTGCATGCMGGCAGCAAACCCGTTAATGGC
AAGCCAAACCGGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATA
AATTTCTTTGAACCTAGCACACAACAATAGCGTCACTGTCATCGCCCTTGCGAGATCAGGCAACCCGAAAGTTA
CGAGAACACCATCAGGGCATAACGAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCCTGAAGCCTAGGGTAATAACC
ACCAAGCCAGGTACATACAGTCCAGCRMGAAGCCAGGTGCATGCA

Patient 5 : Hybride Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Aमित1-Schisto 3' CONSENSUS

GGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATT
CATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCATCATATGTT
TATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGGATTCCCTACAGGTATAAAGGTTT
TTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTA
TTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTTATGATACTTGATTTGTTGTTGC
TCATTTTCAATTATGTTCTTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTA
CAGTATTAATAAGTATTTATGCAGGGTCAATKATTATTACA

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#) [Schistosoma ha...](#) 976 976 99% 0.0 99.44% 15315 [MK253577.1](#)

>Aमित1

CTGGTTTGGATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGC
TTCGATGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAG
TTCAGTACTATGATTATAGGGATTCCCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGT
ATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCT
TCATTAGATATATTTTATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTTCAATTATGTT

>Schisto 3'

GGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCA
TCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTTTAT
GGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGGATTCCCTACAGGTATAAAGGTTTTTCT
TGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGARATCCTAAAKTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTTATTTACGA

Couple Aमित1 – Sh :

TGGTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATT
CATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTT
TATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGGATTCCCTACAGGTATAAAGGTTT
TTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAgATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTAT
TTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTTATGATACTTGATTTGTTGTTGCT
CATTTTCAATTATGTTCTTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTAC
AGTATTAATAAGTATTTATGCAGGGTCAATTGATTATATCAATGGTTGGGTTTAACTTTGTTTTTTTCTTTGS

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#) [Schistosoma ha...](#) 1050 1050 99% 0.0 99.82% 15315 [MK253577.1](#)

>Aमित1

GAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTgTTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTAGGAAGTGTAGT
TTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGGATTCCCT
ACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAgATCCTATAGTTTGTATGATTGGTT
GGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTTTTCATTAGATATATTTTATGATACTTGA
TTTGTGTTGCTCATTTTCAATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTAT
AATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATGCAGGGTCAATTGATTATATCAATGGTTGGGTTTAACTTTGTTTTTTTCTTTGS

>Sh

ATACCTGTAACCcATTATAAAAAGGCcTCACCaTWTaACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACAATAATGA
AAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTA
TCGTAAATAAAAATATAAACAACAATCATCAAATATAGGATCTCATAACAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAAT
CAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAAC
CAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTAAGCAAACCTATYGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCC
AAACGATGAATCATTTACTTATCCTCATAATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAATAAATAAACAATACACCTCAGG
ATGACCA

Couple COX1_schisto_5' - 16S_schist_3' :

>COX1_schist_5'

CGAAAAAAAAAACAATACATTTGAGAGGCCYCTYCGGGGAGCTGAATACGGGGGCGCGCCTGCTCTGACACAGCAAATG
GGCTTCTCKTGAACCGGAATGARGTTGTGAATTGTTAAAGACCTCACAAACCTCTCCGTTGGGAGTTGAATACAAGGC
CCCCAMGCTTTTCATGTGCACACGATGT

Couple ShND1_1 - ShND1_2:

>ShND1_1

GTATTAGTTTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAGCTTAAGTGTAGGTATAATTTATATTGTAAT
ATTAATGTTATCTATTTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAGGAGAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAG
ATAGTAAAAACTTAGTGTTCAGCATATTTTGTTTTGGTCAAAAAGGGTGGTTTAGTTGATAACCAGTTTTTAAATAGTGTAAT
TAATTGTATAGTAAAGCTGTAAGGTGGCTGATAGTAGCTTAAAAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATGTTATAGAT
ATGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATAAAAAATGTTAAATTAAGTTCA
GCATTTAAACAGTTATATTTTTAGTATTTATTACCAGTTATATTAACCTATTATAATGTTTTTGGAGTTAAGAGTTTTAAGGGGTA
ATCATTATAGTAATATATCAGAATGATTTCAAGGTTTGAATGTGGGTTTTAGGGCATGGGTTAAATGAAAAATTTTTAGCT
TTTCTTACTTAAATCTATTAATATTATTTGTAGTCTTTGATTGAAATATCGTTATTATTAATATAGTTTACGATGATATGAT
ATACATTCTGT

[Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion .partial genome](#) | [Schistosoma ha...](#) 1245 1245 99% 0.0 99.42% 15819 [MK253578.1](#) |

>ShND1_2

TTTTAAACCTTACTCTTATTTATTAACCTTTATAAAATCAGCAAACCTTTGTAATAGTCCCATAATACCAACCTTTTTAGGTCC
CTTGCGTAATTGTATATATGACAAGACCTTACGCTCACTCATTATATAAAAAGCTACTAATAATAAAGTCATTATTAACCTCTC
GATTCCTAAAACCTAACTCTAACATATACATACTATTATACATTTAAATTAACCTAAATCTAATATCAAATACTATGGTATATCATT
TACTAAATCTTCATACACTGACTATAAAACAATCTAATACCAAAGCATGACAAAACCTTTATCTTCATAAACTAAGTGTCATA
TTCTCAATATGTATATATGAATATTCCTAATACTACTTAAATTAATTCACCTTACATAACCTAAGTTCTACCATGTAACCAAAA
AAACAACAAAATAAAAAAATAAAAAAWAMCCCRAAWGGTWWAAWAYCWTTTTCCMCCGWAAACTATTTTTAAWAAWA
ACAATTTTTCTAAWTCAAAGCCWMCAAATAAGGGWAWWAWMYWAAAAAWWAAACYKKTWAWWAKGSTGAACCTTAA
TTWAAMMATTTTTTTWTTT

[Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion .partial genome](#) | [Schistosoma ha...](#) 857 857 89% 0.0 94.91% 15393 [MK253567.1](#) |

Amorces ITS :

Couple 58S – 525R :

TGCATGCACCTGGCTTCTYGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTTC
TTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCCGGTTGCCGATCTGCCAAGGGCGATG
GGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTG
TTCCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTTGTCTGCCCTGGCATGCACCTG
GCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAGTTCTATGCATTTG
GGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTGGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGC
CAACA

[Schistosoma curassoni voucher RT17_MbG8.6 internal transcribed spacer 1 .partial sequence: 5.8S ...](#) [Schistosoma c...](#) 894 894 99% 0.0 99.79% 927 [MT580961.1](#) |

>ITS 58S

CCTAGGCTTAGTGgTTGAATTAATTTCTAAGCRITTTGGGAAACCCAGGTRTGGGCTTAGTGGGTGTTAACTTTGCTTTGtGGTT
GACTGAGCTGCCGTGGCGATGGGAGTGCAGCATGACRCAATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCAT
GCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTTGG
TGCTGGCATGCACCTGGCTTgTGCTGGACTGCATGTACGCTAGCCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAGTTCTATGCATTTG
TAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTGGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGA
TGAAGAGTGCAGCCAACA

>ITS 525R

GCTaAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTA
CCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCaCGAAGCCAGGTGCATGCMAGGCAGCAAACCCGTAATGGCAAGCCAAAC
CGGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATACAATTTCTCTTT
GAACCTAGCACACAATAGCGTACGCTATGCCCTTCCCATGTCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTACGAGAACAC
CATCAGGGCATAACGACAGGCTGACCCCGTCAAGAAAATATCAACCATGAAGCCTAGGGTAATAACCAACCAAGCCA
GGGTACATACAGTCCAGCRaGAAGCCAGGTGCATGCA

Couple 58S – 965R :

>ITS 58S

GGTAAATACCTAGGCTGCAGTGTTTGAWTTA_fTCTTATGCRITTTGGGAAACCCAGGTRTGGGCTTAGTGGCGTATAACTTTG
AGCGGTGGTTGACTGAGCTCGTGTGCTGTAAGAGTGCACATGACTGTGTTGATGAGTGCtAAGTGCAAACAGAAATTGATG
CTATATGCTGCAAATCATATYGC GGCTTGTTCATATCTGTGCTCACATCCTGTCCAAGCTATCcaGTTTGGCTTGCATTAC
GGTTTGTGCTGCCTKGCATGCACCTGGCTTCGTGCTG

[Schistosoma curassoni voucher RT17_MbG8.6 internal transcribed spacer 1 .partial sequence: 5.8S ...](#) [Schistosoma c...](#) 106 106 57% 1e-18 78.82% 927 [MT580961.1](#) |

>ITS 965R

CGTACCGCAATATGCGTTCAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTCTTCA
TCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATA
ATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCMAGGC
AGCAAACCCGTAATGGCAAGCCAAACCCGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGAT
TTGCATGCATATAGCATACAATTTCTTTTGAACCTAGCACACAACAATAGCGTCATGCATGCTCCATCGCCCTTGGCAGATC
AGGCAACCCGAAAGTTACGAGAACACCATCAGGGCATAACSACAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCCTGA
AGCCTAGGGTAATAACCAACCAAGCCAGGGTACATACAGTCCAGCGMGAAGCCAGGTGCATGCA

[Schistosoma curassoni voucher RT17_MbG8.6 internal transcribed spacer 1 .partial sequence: 5.8S ...](#) [Schistosoma c...](#) 992 992 100% 0.0 98.92% 927 [MT580961.1](#) |

Couple ITS4 – ITS5 :

GATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCGTGATAGATGAAAAGCCGACCC
TCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTC
ACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGCACACAGGAGCCGAGTGATCCACCCGCTCAAAGTTGTACGCCAATA
TCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACA
TGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCCGGATCGCTTCAACAG
TGTAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAAATCTCTTTGAACCTAGCACACA
ACAATAGCGTCATGCACTGTCCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTACGAGAACACCATCAGGGCATA
GACAGGCTAGGTACCCCGGTCAAGAAAATATCAACCACTGAAGCCTAGGGTAATAACCACCAAGCCAGGGTACATA
GTCCAGCAAGAAGCCAGGTGCATCATTTATATTTTTGGGGTTAKATAAaCCTCCGCAGGKTCAC

[Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate BK24_4 small subunit ribosomal RNA gene...](#) Schistosoma h... 1266 1266 100% 0.0 99.01% 946 [MT158881.1](#)

>ITS 4

GGGTATcCGTCTGATCCGgGTcGGGTcATTATACAATTTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCAT
AGAGACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTAGCATAGGTGCGATTCTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACT
CGAGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCCGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCCTC
GACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAG
ATGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGGCGTGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAG
CAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACAGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTT
GTACGCCAATAATCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAG
CCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCCGGATCGC
TTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAAGGAACAATAACGGGG

>ITS 5

GTGAMCCTGCGGAGGtaTTATMTAACCCCAAAAATAATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTG
GCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGATGTCCTGATGGTGT
CTCGTAACTTTCGGGTTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAG
AATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCT
TGCCATTCACGGGTTTGTGCTGCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTA
GGCTGCAGCGTTAACCATATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGATGTTGGGATTATTGGCGTACAACCTTTAGCGGGTGGATC
ACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAAGTGTGTAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCT
TGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCTGTATCACGCGGGTGGCTGTCGAGCTCGTCTAATAGTC

Patient 6 : Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Asmit1-Schisto 3' :

GGTCATCCTGAGGTGATGTTTAAATTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGATGAGGATAAGTAATAATGATT
CATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGTGTAGTTTGTAGCCCATCATATGTT
TATGGTTGGTTAGATTATTGACTGCTATATTTTATGTTAGTACTGATGATTATAGGGATTCTCAGGATAAAAGTTT
TTCTTGATTATATAGTCTTAAAGCTGTGGTTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTTGGTTGGTTTTATATTTTTTA
TTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTTTCATGATACTTGATTGTTGTGTC
TCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTA
CAGTATTAATAAGTATTTATTCAGGGTCAATTGATTATTATCAATGGTTGGGTTAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#) Schistosoma ha... 1062 1062 100% 0.0 99.83% 15315 [MK253577.1](#)

>Asmit1

TGGAATAGTTAGTCTATATGATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGA
TAGTTTGGTTAGGAAGTGTAGTTTGTAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAG
TGACTATGATTATAGGGATTCTACGGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCCTGTATGAG
ATCCTATAGTTCGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATT
AGATATATTATTCATGATACTTGATTGTTGTTGCTCATTTTCATATATGTTCTTTTATAGGTTCTTATMGAAGTGTAGTAATA
ATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCAATTGATTATTATCAATGGTTG
GGTTAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

>Schisto 3'

AATAATAATGACCCTGCAATAAATACTTATTAATACTGTAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTACTACAC
TTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGA
AGCTGATAAAGCTATACCAAGTAACACCACTATCGTAAATAAAAATATAAAAACCAACCAATCATCAAATATAGGATCTCATA
CACGAGACCCACAGCTTTTAAGCATATATAATCAAGAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAA
CTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTTAAGCAAACATATCG
AAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATAATATGACTAACTATTCCAA
ATCCAGTAAAATTAACATACACCTCAGGATGACC

Couple Asmit1 – Sh CONSENSUS :

GATAACAATGACCCTGCAATAAATACTTATTAATACCTGTAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTACT
ACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAA
TGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAAGTAACACCACTATCGTAAATAAAAATATAAAAACCAACCAATCATCAAATATAGGATCTCATA
GATCTACACAGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCA
TAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTCCT
AAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATAATATAT
GACTAACTATCCAAATCCAGGTAATAAATAACATACACCTCAGGATGACC

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#) Schistosoma ha... 970 970 99% 0.0 99.44% 15315 [MK253577.1](#)

>Asmit1

TTACCTGGTTTGGAAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCT
ATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATAGATTATTTGACTGCTATATTT
TTAGTTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCT
CGTGATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAG
CTTCTTCATTARATATATTATTTTCATGATACTTGATTTGTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGT
GTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGTTTATC

>Sh

ATACCTGTAACCCATTATAAAAAGGCCTCACCATAATAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAAGAACATAATG
AAAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCT
ATCGTAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTATAGGATCTCATACACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAA
TCAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAA
CCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACC
CAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAAAATTAACATACACCTCAG
GATGAC

Couple Asmit1 – Sb :

TTTTTTGGTCATCTGAGGTGTATGTTTTGATTCTGCCTGGATTGGTATAGTTAGTCATATATGTATGAGAATAAGTAATAA
TGATTCATCATTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCAATAGTTTGGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCACCAT
ATGTTTATGGTTGGTTTATAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAA
GGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATAT
TTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTARATATATTATTTTCATGATACTTGATTTGTTG
TTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTG
GTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGTTTATC

Schistosoma haematobium mitochondrion, complete genome Schistosoma ha... 946 946 99% 0.0 98.15% 33418 MW067227.1

>Asmit1

TTACCTGGTTTGGAAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCT
ATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATAGATTATTTGACTGCTATATTT
TTAGTTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCT
CGTGATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAG
CTTCTTCATTARATATATTATTTTCATGATACTTGATTTGTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGT
GTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGCAGGGTCATTGTTTATC

>Sb

TTTAGCTATATAATCAGAAAAACCTTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACAGAACTAAAAAATATAGCTGTCA
AATAATCCAAACCAACCATAAACATATGGTGAGCCAAACTACACTACCTAAACAAACTATTGAAGCCATAGCACAAATTA
TCCATAATATCCAAATGATGAATCATTATTACTAATTCTCATACATATATGACTAACTATACCAAATCCTGGCAGAATCAAAAAC
ATACACCTCAGGATGACCAAAAAA

NGS CONSENSUS COX :

NNNGTATTGGGATTAGTATTAGT
TTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAGCTTAAAGTGTAGGTATAATTTATATTGTAATATTAAT
GTTATCTATTTTCTTATAAATTAGTAGTTGTACGAGGAGAAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAGATAG
TAAAAACTTAGTGTTCAGCATATTTTGTGTTTGGTCAAAGGGTGGTTTAAAGTTGATACCAGTTTTTAAATAGTGTAATAA
ATTGTATAGTAAAGCTGTAAAGGTGGCTGATAGTAGCTTAAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATGTTATAGATA
TGAACCTATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCACTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATAAAAAATGTTTAAATTAAGTTC
AGCATTATTAACAGTTATATTTTATAGTATTATTACCAGTTATATTAACCTATTATAATGTTTTTGGAGTTAAGAGTTTAAAGG
GTAATCATTATAGTAATATATCAGAATGATATTCAAGGTTTGAATGTGGGTTTTTAGGGCATGGGTTAAATGAAAAATTTTT
TAGCTTTTCTTAAATCTATTAATATTTTGTAGTCTTTGATTTAGAAATATCGTTATTATTAATATAGTTTACGATGG
AATATGATATTACATCTGGTGTATTTTTTTTTTTTTTTTTNN
ATGTAAGGTGAAATTAATAAAGTAGTTAGGAATATTCATATATACATATTGAGAATATGCACCTTAGTTTATGAAGAATAAAG
TTTGTATGCTTTTGGTGATTAGATTGTTTATAGTCAGTGTATGAAGATTTAGTATAATGATATAACCATAGTATTTGATATTA
GATTTAGTTAATTAATGTATAATAGTATGTATATGTTAGAGTTAGTTTTAAGAATCGAGAGTTTAAATAATGACTTTATTATT
AGTAGCTTTTATATAATGAGTGAGCGTAAGGCTTTGTATATATACAATTACGCAAGGGACCTAAAAAGGTTGGTATTAT
GGGACTATTACAAAGGTTTGTGATTTTATAAAGTTAATAAATAAGAGTAAGTTTAAAAATTTTAGATTTTCGCAGATGATT
TTCGTTGTTAGGTTGTATAGTTTTAATTTTCATGTTTCAGTGTGATGGTAATAGTCTATAGATTAGTAAATAGGAATATATGGT
GTAATGAATATTACTTTATTTTTTAGTGGTTGGTTCTATAGTGAGTTACAGAACTTTATTAATAGGCTGATGTTCCGTGATC
AAAGTACAGTCAAATTAGTTCTATTCTGTTTCTTTTCTAGTGAATGTTCCGAGATGATACTAATGTGCATTATGATTTTGT
TTGGCTTAATGTATGGTGGTTATAGGAAACCCAGAGTTAGAAGAGTAATGTTATTCATAGCACCTTTAGCTTTTATTGCAT
GGTTAATAGTGTATTAAAGAGAGAGTAATCGTACACCATGTGACTATTCCGAATCTGAAAGTGAGCTAGTAAGAGGAATT
AGAGTGAATATAGGAGAGTATTATTTTATAGTTATTTGCTTGCAGTATTTAATAATGTTTATTTAGCTGAGTGAGATT
TATAGTATTTTGAAGCATAAATGAAATATTGATAGTAATAAAGTATGATGTTATTTGTAGTAATGCGTGGTTTCATTTCTCGA
CTTCGATTTGATATATTTGTTTCAGTAGTTTGAATAATTTGCGTTGTAGTGATACTAGTATATTTAATATGTTTATTTAGATTG
TTATAGTAATCTAGTTTGAATTTGATAATAAATTTAGTTAGCGCAGTAGTTAAAGTTTAAATGTTTGTGTTTACACACAAAAG
GTGAAGTAAGATCTTAGAATGCTTCCGGCGTTATAATTAATTTTAAATTTTATTTTATGATCAGTTAAGTAGTTTGTATAA
NN

Schistosoma haematobium mitochondrion, complete genome Schistosoma ha... 3661 3661 94% 0.0 99.70% 15003 DQ157222.2

Amorces ITS :

Couple ITSF – ITS R CONSENSUS :

TATAACCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAG
GCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTGCTGATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCGGGTTGC

CTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCA
TGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTGGCTTGCCATTACCGGGT
TGTCGCTGGCATTGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGACGCTGGCTTAGCGGTAATATCTAGGCTGCAGCGTTA
ACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGT
GTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACTGTGTGAATTAATGTGAACTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATA
TTGCGGCTACGGGATATCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGA
TTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACCGGGTTGCTGGTGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGC
CACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTAATGACATTATAC
CGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGATCTTGTCTCTATGGTTCGGTCTACGGTTTGTACC
GATGGTGTGTAAATACGCACGAATTGTATAATKACCCGACCCG

Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU10_Hs_Profile8 small subunit ribosomal R... Schistosoma h... 1687 1687 99% 0.0 99.57% 983 MW027655.1

>ITSF

TATAACCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGG
CTTCAGTGGTTGATATTTTCTTGACCGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTTCGTAACTTTCGGGTTGCCTG
ATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAA
ATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTACCGGGTTTGTGCC
TGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCTAGGCTGCAGCGTTAACATTAGT
TCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAA
GAGTGCAGCCAACTGTGTGAATTAATGTGAACTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGG
ATATCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTG
CCGGCGTATAC

>ITSR

CGGGTCCGGTMMATTATAACAATTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAAGATCA
AGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACAACCCA
CCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCG
CGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGCCGAC
CCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATRCAGTTC
ACATTAAGCCACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAAT
CCCATAACATTGGTTTCCCAAATGCATAGA ACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATG
CAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCCGATCGCTTCAACAGTGTA
AAGTTTGAAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAACAATTCTTTGACCTAGCACACAACATAGCG
TCATGCACTG

Couple ITS4 – ITS5 CONSENSUS :

TCTGATCCGGGTCCGGTMMATTATWCAATTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAG
ACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCG
AGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTC
GACCAGCAACCCCGGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGAT
AGATGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTT
AAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACAGCCGAGTGATCCACCGCTC
AAAGTTGTACGCCAATAATCCCATAACATTGGTTTCCCAAATGCATAGA ACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTA
CCGTAAAGCCAGCTACATGTCAGTCCAGCAGCAAGCCAGGTGCATGCCAGCCAGCAACCCGTGAATGGCAAGCCAA
ACCGGATCGCTTCAACAGTGTAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAACAATTCT
CTTTGAACTAGCACACAACAATAGCGTCACTGTCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTACGAG
AACACCATCAGGGCATAACGACAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCACTGAAGCCTAGGGTAATAACCACC
AAGCCAGGGTACATACAGTCCAGCAAGAAGCCAGGTGCATGCATCATTATATATTTTGGGGTTATATAATATCCTCCTCT
GATCCGGGTCCGGTMMATTATWCAATTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACA
AGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGC
ACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGAC
CAGCAACCCCGGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGA
TGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAA
GCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACAGCCGAGTGATCCACCGCTCAA
GTTGTACGCCAATAATCCCATAACATTGGTTTCCCAAATGCATAGA ACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCG
CTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACC
GGATCGCTTCAACAGTGTAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAACAATTCTCTT
TGAACCTAGCACACAACAATAGCGTCACTGTCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTACGAGAAC
ACCATCAGGGCATAACGACAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCACTGAAGCCTAGGGTAATAACCACCAAG
CCAGGGTACATACAGTCCAGCAAGAAGCCAGGTGCATGCATCATTATATATTTTGGGGTTATATAATATCCTCC

Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU10_Hs_Profile8 small subunit ribosomal... Schistosoma h... 1707 3414 99% 0.0 99.05% 983 MW027655.1

>ITS4

TCTGATCCGGGTCCGGTMMATTATWCAATTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGAC
AAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCA
CAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAG
CAACCCCGGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAA
AGCCGACCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTAT
GCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGC
CAATAATCCCATAACATTGGTTTCCCAAATGCATAGA ACTAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCG
TACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGG

>ITS5

GGAGGATATTATATAACCCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGACCTGGCTTGGTGG
TTATTACCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTTCCTCGTAACT
TTCGGGTTGCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATG
CTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTC
ACGGGTTTGTGCTGCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCA
GCGTTAACCATAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGC
TCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAAGTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGC
ATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTCGAGGGTCGGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGA
TTGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGATACCCGCATATCACGGGGTTGCT

Patient 7 : Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Asmit1-Schisto 3' CONSENSUS :

TTTTTTGGTCATCCTGAGGTGATGTTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAA
TGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGCCATCAT
ATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCCACAGGTATAAAA
GGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATAT
TTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTTTCATGATACTTGATTTGTTG
TTGCTCATTTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTG
GTTACATTAATAAGTATTTTATTCAGGGTCATTGATTATWATCAATGGTTGGTTTAAATCTT

Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion .partial genome Schistosoma ha... 1033 1033 100% 0.0 99.65% 15315 MK253577.1

>Asmit1

GCATAGTTGTCTATATGTTGAGGATAAGTMATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTT
TGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCAGTGACTAT
GATTATAGGGATTCCACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAG
TTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTAT
TCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTG
ATGGCCTTTTATAATTGTTTACAGYATTAATAAKTATTTATTGCAGGGTCATTGATTATWATCAATGGTTGGGTTTAAATCTT

>Schisto 3'

ATGACCCTGCAATAAATACATATTAATACTCCTAACCAATTATAAAAAGGCCATCACCATATAAACATTATTACTACACTTCTATA
AGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGA
TAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAATATAAAAACCAACCAATCATCAAATATAGGATCTCATAACCGA
GACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTTACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACCTAAA
AAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCC
ATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTTACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCA
GGTAAATTAATAACATACACCTCAGGATGACCAAAAAA

Couple Asmit1 – Sh CONSENSUS :

AAGATTAACCCAACCATTGATWATAATCAATGACCCTGCAATAAATAMTTATTAATRCTGTAACCCATTATAAAAGGCCT
CACCATATAACATTTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACAATAATGAAAATGAGCAACAACAATCAAGT
ATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAATATAAAACC
AACCAATCATCAAATATAGGATCTCATAACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTTATACC
TGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACCTAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATG
GGCTCAAACCTACACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTAT
ACTTATCCTCAACATATATGACAACCTATTCCAAATCCAGGTAATTAATAACATACACCTYAGGATGACC

Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion .partial genome Schistosoma ha... 985 985 100% 0.0 98.39% 15315 MK253577.1

>Asmit1

GCATAGTTGTCTATATGTTGAGGATAAGTMATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTT
TGCTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCAGTGACTAT
GATTATAGGGATTCCACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAG
TTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTTAT
TCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTG
ATGGCCTTTTATAATTGTTTACAGYATTAATAAKTATTTATTGCAGGGTCATTGATTATWATCAATGGTTGGGTTTAAATCTT

>Sh

CCCATTATAAAAGGCCTCACCATATAAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACAATAATGAAAATGAGC
AACAAACAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTATCGTAAATA
AAAATATAAAACCAACCAATCATCAAATATAGGATCTCATAACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAA
AACCTTTTACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACCTAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAA
ACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCCCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGA
ATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAATAATAACATACACCTYAGGATGACC

Patient 8 : Hybride Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis

Amorces COX :

Couple Asmit1-Schisto 3' CONSENSUS

GTCATCCTGAGGTGATGTTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCA
TCGTTTGGGTATFATGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGTGTAGTTTGGCCATCATATGTTTA
TGGTTGGTTTATGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCCACAGGTATAAAGGTTTTT
TCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATTTTTATTT

ACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTGTTGTTGCTCA
TTTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAAATGGTTACA
GTATTAATAAGTATTTATGTCAGGGTCATTGATTATTATCAATGGTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTCTATGCCATTA

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#)

[Schistosoma ha...](#) 1055 1055 100% 0.0 99.65% 15315 [MK253577.1](#)

>**Asmit1**

TGGATTGGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGG
CTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTTAG
TTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGT
ATGAGATCCTATAGTTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCT
TCATTAGATATATATTTTCATGATACTTGATTGTTGTTGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGT
AATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAAATGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGTCAGGGTCATTGATTATTATCAATG
GTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTTCTATGCCATTA

>**Schisto 3'**

TGATAATAATAATGACCCTGCAATAAATACTTATTAATACTGTAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTA
ACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATG
AAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACTATAGGATC
TCATACACGAGACCCACAGCTTTAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCA
CTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTTAAGCAAAC
TATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGACTA
TCCAAATCCAGGTAAAATTAACACATACACCTCAGGATGAC

Couple Asmit1 – Sh CONSENSUS :

TAATGGCATAAGGAAAAAACAAGATTAAACCCAAACCATTGATAATAATCAATGACCCTGCAATAAATACTTATTAATACC
TGTAACCATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAAGAACATAATGAAA
ATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTAT
CGTAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACTATAGGATCTCATACACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAA
TCAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAA
ACCAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAAT
ACCCAAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAAAATTAACACATACAC
CTCAGGATGAC

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#)

[Schistosoma ha...](#) 1044 1044 100% 0.0 99.31% 15315 [MK253577.1](#) >

Asmit1

TGGATTGGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGG
CTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTTAG
TTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGT
ATGAGATCCTATAGTTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCT
TCATTAGATATATATTTTCATGATACTTGATTGTTGTTGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGT
AATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAAATGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGTCAGGGTCATTGATTATTATCAATG
GTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTTCTATGCCATTA

>**Sh**

ATACCTGTAACCATTATAAAAGGCCCTCACCATAATAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAAGAACATAATGAA
AATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATAACCAGTAACACCACCTATCG
TAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACTATAGGATCTCATACACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAG
AAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCA
TAAACATATGATGGGCTCAAACCTACACTTCTTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCCAAACGAT
GAATCATTATTACTTATCCTCATACATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAAAATTAACACATACACCTCAGGATGAC

Couple Asmit1 – Sb CONSENSUS :

GTCATCCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAATAGTTAGTCATATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCAT
CGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCTCATCATATGTTTAT
GGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTAGTTCAGTACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTT
CTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGKTAC

[Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate BK17_NS2.1 cytochrome c oxidase subunit I \(CO...](#)

[Schistosoma ha...](#) 499 499 98% 5e-137 99.28% 487 [MT579427.1](#)

>**Asmit1**

TGGATTGGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGG
CTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTTGACTGCTATATTTTTTAG
TTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCTCGTGT
ATGAGATCCTATAGTTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCT
TCATTAGATATATATTTTCATGATACTTGATTGTTGTTGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGT
AATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAAATGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTGTCAGGGTCATTGATTATTATCAATG
GTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTTCTATGCCATTA

>**Sb**

GTAGRAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATAAACATATGATGAGC
TCAAACCTACACTTCTTAAGCAAACWATCGARGCCATAGCACAAATCAWTCCATAATACCCAAACGATGAATCATTATTACTT
ATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAAAATTAACACATACACCTCAGGATGAC

Amorces ITS :

Couple ITSF – ITS R CONSENSUS :

AAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCA
GTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTGCTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACTTTCCGGGTTGCCTGATC
TGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAA

TCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTCACGGGTTTGCTGC
CTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCAT
AGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCTG
ATGAAGAGTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGG
CTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCGTGCCGAGGGTCCGCTTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGC
GAGTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACGCGGGTGTGCTGGTCAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGCCACAGC
CTAGTCCGGTCTAGATGACTTGTATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATGACATTATACGCGCTC
GGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGCTCGGTCACTTGATCTTGTCTCTATAGTTCGGTCTACGGTTTGACCGATGGT
GTGTTAATACGCACGA

[Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis voucher RT15_ Ye1-10.6 internal transcribed spacer... Schistosoma h...](#) 1642 1642 99% 0.0 99.67% 927 [MT580957.1](#)

>ITSF

AAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCAGT
GGTTGATATTTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTCGGGTTGCCTGATCTGCC
AAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCC
CCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTCACGGGTTTGTGCTGCCTGGCATG
CACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAAGTTCTATGC
ATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCTGATGAAGAGTGC
AGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTGYATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCC
TGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTCCGGC

>ITSR

TCGTGCGTATTAACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACTATAGAGACAAGATCAAGTGACCGACGTAGCGTACGAT
AGGTGCGATTCTTCCCGAGCGGTATAATGTCAATTAAGCCACGACTCGAGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCA
TCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACG
CCGGCAGGCACTCGCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGCCGACCCCTCGACAGGCGTGGCCACA
GGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTTACATTAATTCACACAGTTGGCT
GCACTTTCATCGACACAGGACCGAGTGTCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATG
CATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTG
CATGCCAGGACGAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCGGATCGCTTACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACATAACG
GGCGGATTTGCATGCA

Couple ITS4 – ITS5 CONSENSUS :

CTGATCCGAGGTCGGGTCAATTATACAATTTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAG
ACAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCG
AGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTATCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTC
GACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACCGCGGACTCGCCCAATCCAGCTCAATAGTGGCCGCTGAT
AGATGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTT
AAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGTCCACCGCTC
AAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTA
CCGTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAA
ACCGGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTTGCATGCATATAGCATAAATTCT
CTTTGAACCTAGCACACAACAATAGCGTCACTGTCCCATCGCCCTTGGCAGATCAGGCAACCCGAAAGTTACGAG
AACACCATCAGGCGATACAGCAGGCTAGGTACCCCGTCAAGAAAATATCAACCCTGAAGCTATAGGTAATAACCACC
AAGCCAGGTTACATACAGTCCAGCAAGCAAGCCAGGTGCATCATATTATATTTTTGGGTTATATAATAT

[Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU10_Hs_Profile8 small subunit ribosomal... Schistosoma h...](#) 1725 1725 100% 0.0 99.58% 983 [MW027655.1](#)

>ITS4

CTGATCCGAGGTCGGGTCAATTATACAATTTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGA
CAAGATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGC
ACAACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCACTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCA
GCAACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACGCGCGGAGGACTCGCCCAATCCAGCTCAATGTGCGCCGCTGATAGATGAA
AAGCCGACCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTA
TGAGTTACATTAATTCACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGTCCACCCGCTCAAAGTTGTACG
CCAATAATCCCATACATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGTAAGCCAGC
GTACATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCCGATCGCTTCAA
CAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACAATAACGG

>ITS5

GATATTATATAACCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTA
CCCTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTTCTTGACCGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTCGGG
TTGCCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATG
CATGCAAATCCGCCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCCATTCACGGGTT
TGCTGCCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAAC
CATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGT
CKATGAAGARTGCAGCCAACCTGTGTGAATTAATGTGAACTG

Patient 9 : Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Asmit-Schisto 3' CONSENSUS :

GTCATCCTGAGGTGATGTTTTAATTTTACCTGGATTGGAAATAGTTAGTCAATATATGATGAGGATAAGTAATAATGATTCA
TCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTAGGAAGTGTAGTTTIGAGCCCATCATATGTTTA
TGGTTGGTTTATGATTTTACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGATTCCTACAGGTATAAAGGTTTTT
TCTTGATTATATATGCTTAAAGCTGTGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTT

ACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCA
TTTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACA
GTATTAATAAGTATTTATGCAGGGTCATTGATTATTATCAATGGTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#)

[Schistosoma ha...](#) 1061 1061 100% 0.0 99.83% 15315 [MK253577.1](#)

>**Asmit1**

TTACCTGGTTTGGAAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCT
ATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTGACTGCTATATTT
TTTAGTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCT
CGTGATGARATCCTATAGTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAG
CTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGT
GTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAAGTATTTATTCAGGGTCATTGATTATTATC
AATGGTTGGGTTTAAATCTTTGTTTTTTTCTATGCATTA

>**Schisto 3'**

TGATAATAATAATGACCCTGCAATAAATACTTATTAATACTGTAACCAATTATAAAAGGCCATCACCATAATAACATTATTA
CACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGA
AGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTATAGGATCT
CATAACGAGACCCACAGCTTTAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCCAC
TGAACATAAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAACCAACCATATAATGATGGGCTCAAACCTACTTCTAAGCAAACCT
ATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATCCAAACCATGAATCATTATTACTTATCCTCATAATATGACTAACTATT
CCAAATCCAGGTAATAAATAAACAATACACCTCAGGATGAC

Couple Asmit1 – Sh CONSENSUS :

GTCATCTGAGGTGTATGTTTTAATTTTACCTGGATTTGGAATAGTTAGTCAATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCA
TCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGTCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTA
TGTTTGGTTTAGATTATTGACTGCTATATTTTTAGTTTCACTGACTATGATTATAGGGATTCCTACAGGTATAAAGGTTTTT
TCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGCTCGTGATGAGATCCTATAGTTTGTGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATT
ACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCA
TTTTATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACA
GGTATTAATAASTATTTATTCASGGTCATTGATTATC

[Schistosoma haematobium from Tanzania haplogroup G1 mitochondrion, partial genome](#)

[Schistosoma ha...](#) 968 968 99% 0.0 99.25% 15315 [MK253577.1](#)

>**Asmit1**

TTACCTGGTTTGGAAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGGTATTATGGATTGATTTGTGCT
ATGGCTTCGATAGTTTGCTTAGGAAGTGTAGTTTGAGCCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTAGATTATTGACTGCTATATTT
TTTAGTTCAGTGACTATGATTATAGGGATTCTACAGGTATAAAGGTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTCT
CGTGATGAGATCCTATAGTTGATGATTGGTTGGTTTTATATTTTTATTACGATAGGTGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAG
CTTCTTCATTAAATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTTGCTCATTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGT
GTAGTAATAATGTTATTATGGTGATGGCCTTTTATAATTGGTTACAGTATTAATAASTATTTATTCASGGTCATTGATTATC

>**Sh**

ATACCTGTAACCATTATAAAAGGCCCTCACCATAATAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACATAATGA
AAATGAGCAACAACAAATCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTA
TCGTAATAAAAAATATAAAACCAACCAATCATCAAACCTATAGGATCTCATAACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAAT
CAAGAAAAAACCTTTATACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAATATAGCAGTCAAATAATCTAAAC
CAACCATAAACATATGATGGGCTCAAACCTACTTCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACCC
AAACGATGAATCATTATTACTTATCCTCATAATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGTAATAAATAAACAATACACCTCAGG
ATGAC

Amorces ITS :

Couple ITSF – ITSr CONSENSUS :

TTATATAACCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACC
CTAGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTGCTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTCGGG
TTGCCGTATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATA
TGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACAG
GGTTTGTGCTGCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGC
GTTAACCATTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCT
CGTGTTGCTGATGAAGAGTGCAGCAACTGTGTGAATTAATGTGAACCTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACG
CATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCG
TGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACGCGGGTTGCTGGTGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCC
GGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGATCGAGATGCTGCGGTGGGTTGTGCTCGAGTCTGGCTTAATGACATA
TACGCGCTCGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCACTTGATCTTGTCTCTATGGTTCCGGTCTACGGTTTGT
ACCGATGGTGTSTKTTTTTCGCACGAATTGTATAA

[Schistosoma haematobium isolate KE14_26 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, int...](#)

[Schistosoma h...](#) 1670 1670 100% 0.0 99.35% 946 [MT158873.1](#)

>**ITSF**

TTATATAACCCAAAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCT
AGGCTTCAGTGGTTGATATTTCTTGACCGGGGTACCTAGCCTGTGCTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTCGGGTTG
CCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATG
CAAATCCGCCCGTTATTGTTCTATTTCAAACCTTTTACACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGCATTACGGGTTTGT
GCCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATT
AGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGCTGAT
GAAGAGTGCAGCAACTGTGTGAATTAATGTGAACCTGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGGCGCTAC
GGGATATCCTGTGGCCACGCTGTCCGAGGGTCCGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCCGTGATT

>ITSR

TTATACAATTTCGTGCGAAAAMASACACCATCGGTACAAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAAGATCAAGTGACCAACGT
AGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACAACCCACCGCAGCATCTC
GATCAAGTCACTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCCGCTTGATATGCG
GGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGCCGACCCCTCGGACAGG
CGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCAC
ACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATTGG
TTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCAGC
AAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCGGATCGCTTACAGTGTA AAAAGTTTGAAAATAGG
ACAATAACGGGGCGGATTGCATGCATATAGCATACA

Couple ITS4 – ITS5 :

>ITS5

CTGATCCGgGTcGGGTaATTATACAATTTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAAG
ATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACA
CCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAA
CCGCGTGTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAGC
CGACCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATRCA
GTTACATTAATTACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCAA
TAATCCCATAATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGAAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTAC
ATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCSGATCGCTTCAACAGTG
TAAAAGTTTGAAAWAGGAACCA

Table with 10 columns: checkmark, name, accession, length, coverage, identity, gap, similarity, length, accession. Row 1: Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU5_Hs_Profile10 small subunit ribosomal RNA gene... 1208 1208 99% 0.0 99.11% 982 MW027657

>ITS4

CTGATCCGRGTCGGGTCATTATACAATTTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAA
GATCAAGTGACCAACGTAGCGTACGATAGGTGCGATTCTTCCCGAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACA
ACCCACCGCAGCATCTCGATCAAGTCATCTAGACCGGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCA
ACCCGCGTTGATATGCGGGTATACACGCCGGCAGGCACTCGCCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAAG
CCGACCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGC
AGTTCACATTAATTACACAGTTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGATCCACCGCTCAAAGTTGTACGCCA
ATAATCCCATAATTGGTTTCCCAAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCCTAGGATATTTACCGCTAAGCCAGCGTA
CATGCAGTCCAGCACGAAGCCAGGTGCATGCCAGGCAGCAAACCCGTGAATGGCAAGCCAAACCSGATCGCTTCAACAGTG
AAAAGTTTGAAATAGGAACAATAACGGGGCGGATTGTCATGCATATAGCATACAATTCTCTTTGACTAG

Table with 10 columns: checkmark, name, accession, length, coverage, identity, gap, similarity, length, accession. Row 1: Schistosoma haematobium isolate Mwenje_BGL_7 small subunit ribosomal RNA gene... 1293 1293 99% 0.0 99.17% 985 MT884914.1. Row 2: Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU5_Hs_Profile10 small subunit ribosomal RNA gene... 1290 1290 99% 0.0 99.03% 982 MW027657. Row 3: Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate KU10_Hs_Profile8 small subunit ribosomal RNA gene... 1290 1290 99% 0.0 99.03% 983 MW027655.

Patient 10 : Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple ShND1_1 - ShND2_1 :

>ShND1_1

TTTATTTATTTGATAATAGTAGAATTATTAGGTGTAATAATAATAAAAGCTTAAGTGTAGGTATAATTTATATTGTAATATTAATG
TTATCTATTTTCTTATAATTTAGTAGTTGTACGAGGAGAAAATGCATTTGAGTAAAGTCCAGATAGTATAATAAAGATAGTAA
AACTTAGTGTTCGAGCATATTTTGTGGTCAAAAAGGGTGGTTAGTTGATACCAGTTTTTAAATAGTGTAATTAATTTGT
ATAGTAAAGCTGTAAGGTGGCTGATAGTAGCTTAAGAATCAAAGCATAAGACTCTTAATCTTAGTATGTTATAGATATGAACC
TATTAGCACAGTTGAATTAGGCTATCAGTAGGTGCATAGTTAAGTTGATAAATAAAAAATGTTTAAATTAAGTTTACAGCATTAT
AACAGTTATATTTTATAGTATTATTACCAGTTATATTAACCTATTATAATGTTTTTGGAGTTAAGAGTTTAAAGGGGTAATCATTAT
AGTAATATATCAGAATGATATTTCAAGGTTTG

Table with 10 columns: checkmark, name, accession, length, coverage, identity, gap, similarity, length, accession. Row 1: Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion, partial genome 990 990 100% 0.0 100.00% 15819 MK253578.1

>ShND2_1

TTATTTATTAACCTTTATAAAATCGCAAACCTTTGTAATAGTCCCATAATACCAACCTTTTTAGGTCCCTTGGCGTAATTGTATATA
TGACAAGACCTTACGCTCACTCATTATATAAAAAGCTACTAATAATAAAGTCATTATTAACCTCTCGATTCTTAAACTAACT
CTAACATATACATACTATTATACATTTAAATTAACATAATCTAATATCAAATACTATGGTATATCATTATACTAAATCTTCATACA
CTGACTATAAAACAATCTAATCACCAAAAGCATGACAAAACCTTTTATTTCTCATAAACTAAGTGCATATTTCTCAATATGTATATAT
GAATATTTCTAACTACTTATTTAATTCACCTTACATAACCTAAGTTCTACCATGTAAACCAAAAAACAACAAAAAAA
AAAAAAAACCCCAAAGGGTTAATWCCTTTTCCMCCGAAAACCTATTTTTAAAAAAAACAATTTTTTWAAWCCAA
AGCCTCCAAATAATTTTAAWRR

Table with 10 columns: checkmark, name, accession, length, coverage, identity, gap, similarity, length, accession. Row 1: Schistosoma haematobium from Niger haplogroup G1 mitochondrion, partial genome 811 811 99% 0.0 94.62% 15393 MK253567.1

Amorces ITS :

Couple ITSF – ITSR CONSENSUS :

CGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTTCGGGTTGCTGATCTGCCAAGGGCGATGGGACAGTGCATGACGCTATTGT
TGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAATTGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCCCGTTATTGTTCCATTTCAAACTTTTACACT
GTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGGCAATCACGGGTTTGTGCTGGCATGCACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTAC
GCTGGCTTAGCGGTAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCTAGTTCTATGCATTTGGGAAACCAATGTATGGGATTATT
GGCGTACAACCTTTGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCGATGAAGAGTGCAGCCAAGTGTGTAATTAATGTGAAC
TGCATACTGCTTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTGTGGCCACGCCTGTCCGAGGGTC
GGCTTTTCATCTATCACGGCGCACATTGAGTCGTGGATTGGGCGAGTGCCTGCCGGCGTGTATACCCGCATATCAACGGC

GGTTGCTGGTCTGAAGGCTCCGTCCTAATAGTCCGGCCACAGCCTAGTCCGGTCTAGATGACTTGTGATCGAGATGCTGCGG
 TGGGTTGTGCTCGAGTCGTGGCTTAATGACATTATACGCGCTCGGGAAGAATCGCACCTATCGTACGCTACGTTGGTCA
 TTGATCTTGTCTCTATGGTTCGGTCTACGGTTTGTACCGATGGTGTGTGTAATACGCACGAATTGTA

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium voucher RT16_NW51.3 internal transcribed spacer 1, partial sequence_5.8...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	927	MT580959.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis voucher RT15_Ye1-10.6 internal transcribed spacer 1...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	927	MT580957.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis voucher BK17_FH21.6 internal transcribed spacer 1_p...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	927	MT580955.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium voucher BK17_LLod1.2 internal transcribed spacer 1, partial sequence_5.8...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	927	MT580954.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium voucher BK17_BB7.2 internal transcribed spacer 1, partial sequence_5.8S r...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	927	MT580953.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate DK23_5 small subunit ribosomal RNA gene, pa...	Schistosoma h...	1456	1456	100%	0.0	100.00%	946	MT158878.1

>ITS F

AAAATATATAATGATGCATGCACCTGGCTTCTTGCTGGACTGTATGTACCCTGGCTTGGTGGTTATTACCCTAGGCTTCAGTG
 GTTGATATTTTCTTGACCGGGTACCTAGCCTGTCGTATGCCCTGATGGTGTCTCGTAACCTTCGGGTTGCTGATCTGCCA
 AGGGCGATGGACAGTGCATGACGCTATTGTTGTGTGCTAGGTTCAAAGAGAAATGTATGCTATATGCATGCAAATCCGCC
 CGTTATTGTTCTATTTCAAACTTTTACTGTTGAAGCGATCCGGTTTGGCTTGGCATTACGGGTTTGTGCTGGCATGC
 ACCTGGCTTCGTGCTGGACTGCATGTACGCTGGCTTAGCGGTAAATATCCTAGGCTGCAGCGTTAACCATTAGTTCTATGCAT
 TTGGGAAACCAATGTATGGGATTATTGGCGTACAACCTTGGAGCGGTGGATCACTCGGCTCGTGTGTCATGAAGAGTGCAG
 CCAACTGTGTGAATTAATGTGAACTGCATACTGCTTGAACATCGACATCTTGAACGCATATTGCGGCTACGGGATATCCTG
 TGGCCACGCTGTCCGAGGGTCCGC

>ITS R

TACAATTCGTGCGTATTACACACACCATCGGTACAAACCGTAGACCGAACCATAGAGACAAGATCAAGTGACCAACGTAGC
 GTACGATAGGTGCGATTCTTCCCAGCGCGTATAATGTCATTAAGCCACGACTCGAGCACAACCCACCGCAGCATCTCGATC
 AAGTCATCTAGACCGACTAGGCTGTGGCCGACTATTAGGACGGAGCCTTCGACCAGCAACCCGCGTTGATATGCGGGTA
 TACACGCCGGCAGGCACTCGCCAATCCACGACTCAATGTGCGCCGTGATAGATGAAAGCCGACCTCGGACAGGCGTG
 GCCACAGGATATCCCGTAGCCGCAATATGCGTTCAGATGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATCACACAG
 TTGGCTGCACTTTCATCGACACACGAGCCGAGTGTACCCGCTCAAAGTTGTACGCCAATAATCCCATACATGGTTTCCC
 AAATGCATAGAATAATGGTTAACGCTGCAGCTAGGATATTACCGCTAAGCCAGCGTACATGCAGTCCAGCACGAAGCC
 AGGTGCATGCCAGCAGCAAACCCGTAATGGCAAGCCAAACCGATCGCTTCAACAGTGTAAAAGTTTGAATAGGAACA
 ATAACGGGGCGGATTTCATGCATATAGCATACTTCTYTTTACCT

Patient 11 : Schistosoma haematobium

Amorces COX :

Couple Asmit1 – Sh CONSENSUS :

AGGTGATGTTTAAATTTMCCTGGATTTGGAATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGAG
 TATTATGGATTGATTTGTGCTATGGCTTCGATAGTTTGGTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCATCATATGTTTATGGTTGGTT
 TAGATTATTTGACTGCTATATTTTGTAGTTCACTGACTATGATTATAGGATTCCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTA
 TATATGCTTAAAAGCTGTGGTCTCGTGTATGAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTATTTACGATAGG
 TGGTGTACTGGTATAGCTTTATCAGCTTCTTCATTAGATATATTATTCATGATACTTGATTTGTTGTGCTCATTTTCATTA
 TGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATAGAAGTGTAGTAATAATGTTATTATGGTGAGGCCTTT

99,16 % MT579447.1

MT 579443.1

<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium isolate RT16_1_NdgR.5 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial c...	Schistosoma ha...	856	856	100%	0.0	99.16%	1005	MT579447.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Schistosoma haematobium x Schistosoma bovis isolate RT16_NG55.5 cytochrome c oxidase subunit I (C...	Schistosoma ha...	856	856	100%	0.0	99.16%	1005	MT579443.1

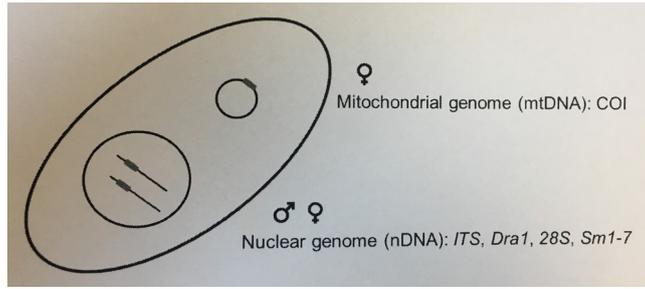
>Asmit1

TGGTTTGGATAGTTAGTCTATATGTATGAGGATAAGTAATAATGATTCATCGTTTGGATTTATGGATTGATTTGTGCTATGGCT
 TCGATAGTTTGGTTAGGAAGTGTAGTTTGGAGCCATCATATGTTTATGGTTGGTTTATGATTTTACTGCTATATTTTATGTT
 CAGTGACTATGATTATAGGGATTCCTACAGGTATAAAGGTTTTTTCTTGATTATATATGCTTAAAAGCTGTGGGTTCTCGTGTAT
 GAGATCCTATAGTTTGTATGATTGGTTGGTTTTATATTTTATTTACGATAGGTGGTGTACTGGTATASCTTTATCAGCTTCTTC
 ATTARATATATTTTTCATGATACTTGATTGTTGTGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAGGTTCTTATARAAGTGTAGYAA
 TAATGTTATTAT

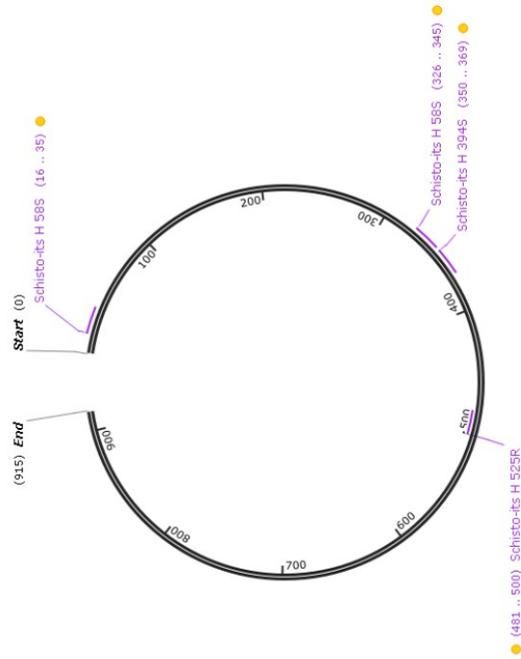
>Sh

AAAGGCCTCACCCAAAAACATTATTACTACACTTCTATAAGAACCTAAAGAAAGAACATAATGAAAATGAGCAACAACAAA
 TCAAGTATCATGAAATAATATATCTAATGAAGAAGCTGATAAAGCTATACCAGTAACACCACCTATCGTAAATAAAAAATATAA
 AACCAACCAATCATCAAATATAGGATCTCATACACGAGACCCACAGCTTTTAAAGCATATATAATCAAGAAAAAACCTTTAT
 ACCTGTAGGAATCCCTATAATCATAGTCACTGAACTAAAAAATATAGCAGTCAARTAAATCTAAGCAACCATAAACATATGAT
 GGGCTCAAACCTACACTTYCTAAGCAAACCTATCGAAGCCATAGCACAAATCAATCCATAATACTCAAACGATGAATCATTATT
 ACTTATCCTCATACATATATGACTAACTATTCCAAATCCAGGKAAAATTAACACATACACCT

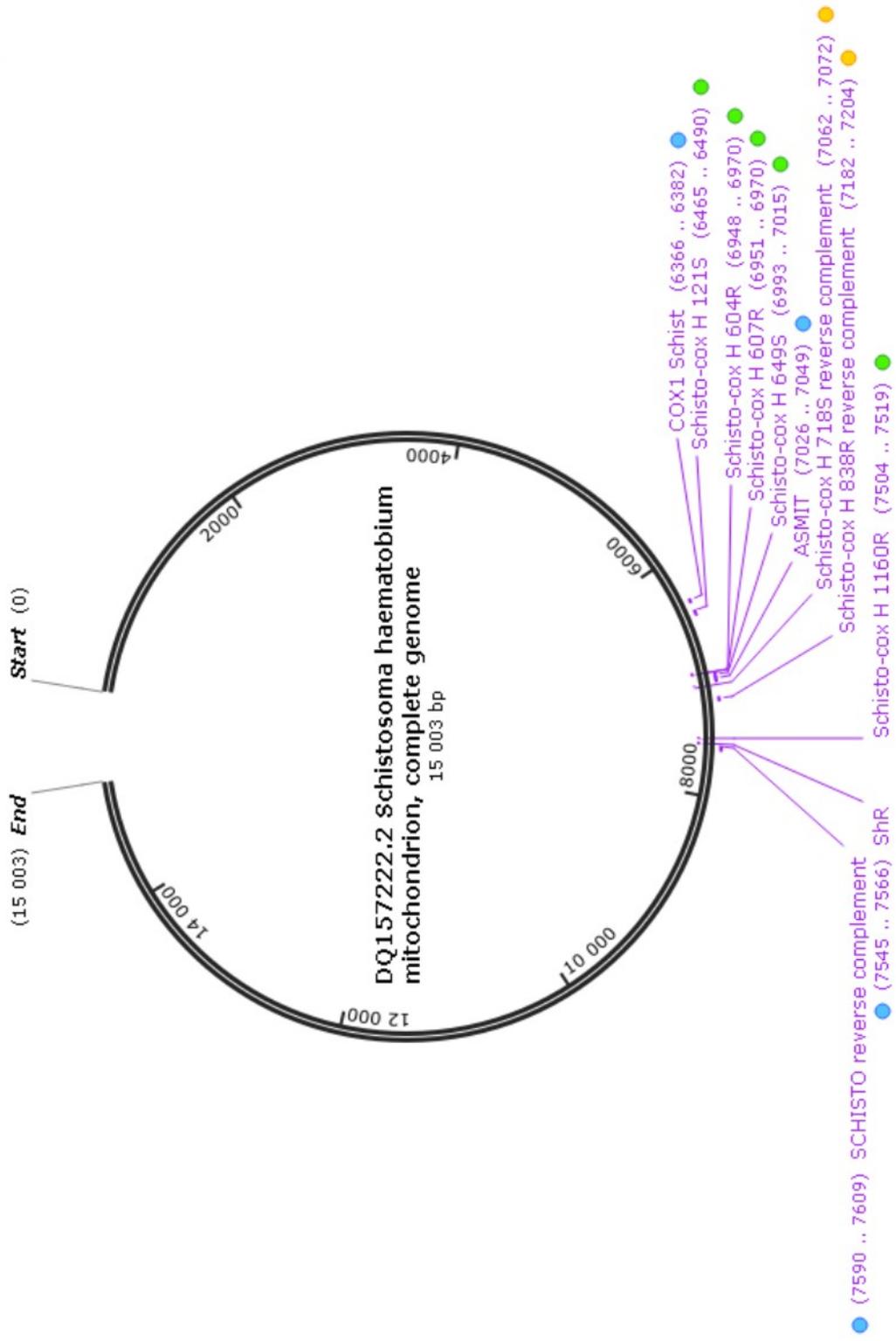
SCHEMAS



Created with SnapGene®



MK358857.1 Schistosoma haematobium internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal transcribed spacer 2, partial sequence 915 bp



SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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

RÉSUMÉ

La schistosomiase est une maladie causée par les parasites du genre *Schistosoma*. Cinq espèces sont considérées comme pathogènes pour l'Homme. L'espèce la plus retrouvée chez l'Homme, *Schistosoma haematobium*, est responsable de la schistosomiase urinaire.

Cette pathologie est endémique dans la plupart des pays d'Afrique mais a aussi été récemment redécouverte en Corse. Le réchauffement climatique, l'agriculture et le développement de l'« éco-tourisme » ont favorisé l'expansion de la maladie et l'apparition d'hybridations des espèces entre Homme et animal. Il faut également s'attendre à diagnostiquer cette pathologie plus fréquemment dans les pays tempérés, lié à la migration des populations et au tourisme. De nombreux cas humains infectés par des espèces hybrides ont été rapportés dans la littérature scientifique. Ces hybrides peuvent engendrer des tableaux cliniques différents voire atypiques. Ces formes hybrides associant espèces à élimination urinaire et élimination fécale compliquent le diagnostic, il est désormais nécessaire d'associer prélèvements d'urines et de selles devant toute suspicion de schistosomiase, même urinaire.

Ces phénomènes soulèvent un problème de santé publique au niveau mondial.

Ce travail a pour but de déterminer les espèces mises en cause chez les patients pris en charge au service des maladies infectieuses à l'IHU de Marseille depuis 2017.

Des résultats de diagnostic moléculaire ciblant le gène Dra1 négatifs associés pourtant à une clinique typique et à la présence d'œufs caractéristiques observés dans les urines au microscope ont initié ce travail avec l'hypothèse de la découverte de nouvelles espèces et/ou de formes hybrides non diagnostiquées par la méthode mise en place au laboratoire.

Mots-clés : *Schistosoma haematobium*, hybride, PCR Dra1, séquençage