

Modes de transmission des parasites intestinaux généralités

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

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

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

II. Principaux signes cliniques

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

III. *Epidémiologie des parasitoses intestinales*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

IV. Méthodes d'identification des parasites intestinaux

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

a) Examen parasitologique des selles au microscope

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

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

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

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

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

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

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

1) Modalités de conservation de l'échantillon

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

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

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

2) Examen macroscopique de la selle

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

3) Examen microscopique (Annexe 3)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

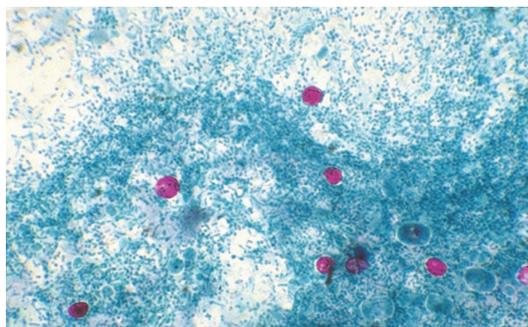


Figure 1 : *Cryptosporidium spp* après coloration de Ziehl-Neelsen (source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL)

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

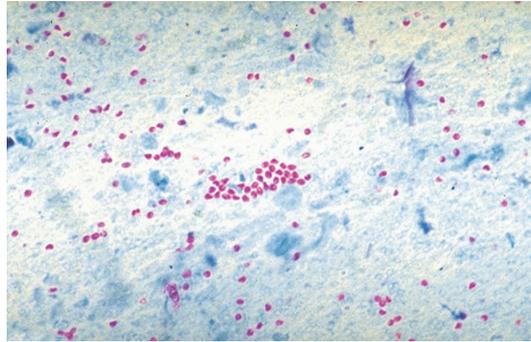


Figure 2 : Microsporidies spp après coloration de Weber (source : association française des enseignants de parasitologie-mycologie, ANOFEL)

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

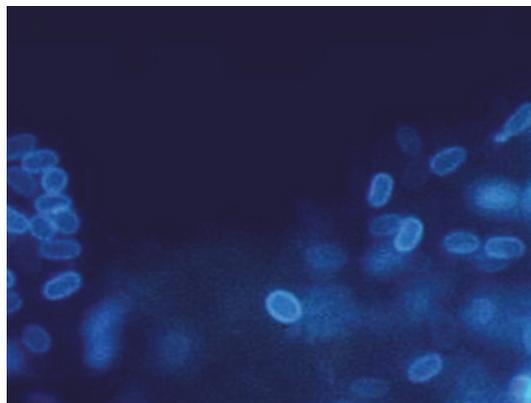


Figure 3 : Microsporides après coloration par CalcorFluor White (source : Medical Care Development International)

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

4) Proposition d'algorithme de prise en charge

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

b) Sérologie parasitaire

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

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

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

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

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

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

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

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

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

c) Tests moléculaires : détection du matériel génétique

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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