



Infections digestives – pertinence et interprétation des examens microbiologiques

Nicolas BENECH MD. Ph.D
MCU-PH

DES Hépato-gastroentérologie - DESC Infectiologie



Groupe d'Etude du Microbiote





Disclosure



- Aucun conflit d'intérêt à déclarer en rapport avec cette présentation

Recherche de pathogènes dans les selles par méthodes moléculaires – Un changement de paradigme dans l’approche *diagnostique*

Culture



Détection antigénique



PCR ciblée

C. difficile



PCR multiplex



- Temps : 3- 5 jours de délai
- Nombre limité de pathogènes ciblés
- Sensibilités variables et limitées
- Dépendance aux conditions pré-analytiques (Ag+++)
- Expertise humaine spécifique +++
- Antibiogramme possible
- Veille épidémiologique

- Délai court (<24h)
- Nombreux pathogènes ciblés
- Lecture automatisée
- Pas d’ATBgramme

Sensibilité

Recherche de pathogènes dans les selles par méthodes moléculaires – Un changement de paradigme dans l'approche *thérapeutique*

Culture



- 50% des colites aiguës sans étiologies
- Traitements probabilistes ATB

Détection antigénique



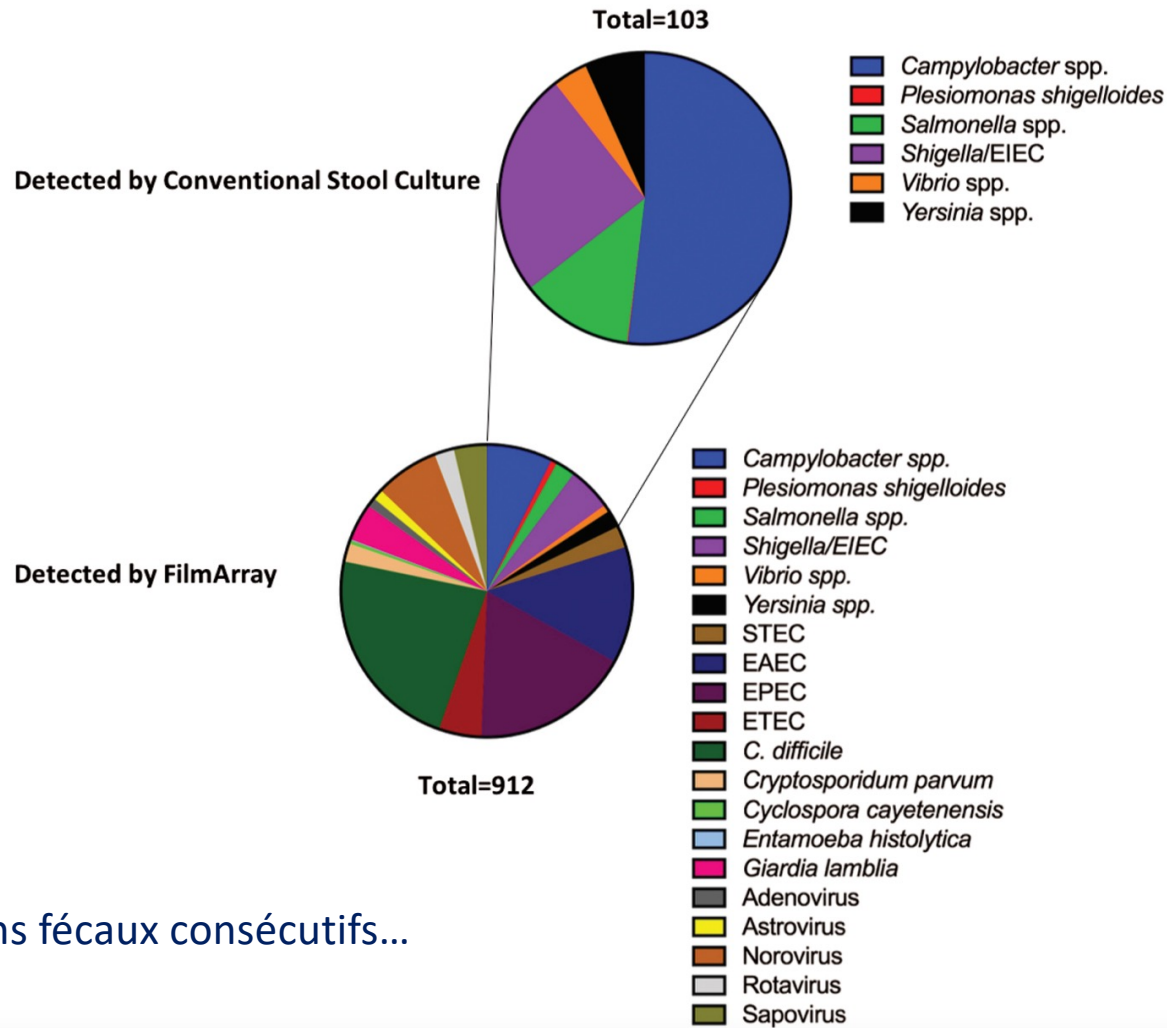
PCR ciblée

- ~x10 taux de test + (dont virus+++)
- Diminution du recours aux examens complémentaires (endoscopie/TDM)
- Diminution de la consommation ATB
 - ATB non justifiée
 - ATB probabiliste

PCR multiplex

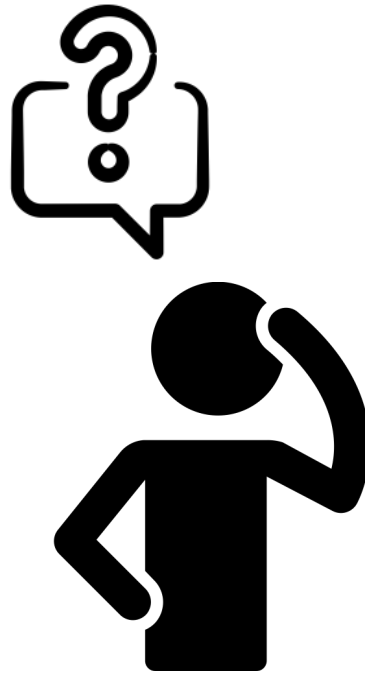


Une augmentation du rendu de résultats +...



Sur 1887 échantillons fécaux consécutifs...

INFECTION



PORTAGE





GEM -



Tests validés dans le contexte de diarrhée *vraie*+++



Clinical Infectious Diseases

IDSA GUIDELINE



2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea

≥ 3 selles *liquides* par jour

Echelle de BRISTOL



Type 6



Type 7

RENSEIGNEMENTS

Aspect des selles

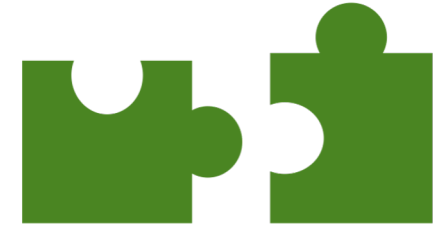
liquides

« Selles prenant la forme du contenant »

AVANT TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE SI POSSIBLE !

Un indispensable retour au contexte clinique et épidémiologique...

- Concordance tableau clinique / Pathogène identifié
- Concordance terrain du patient / Pathogène identifié

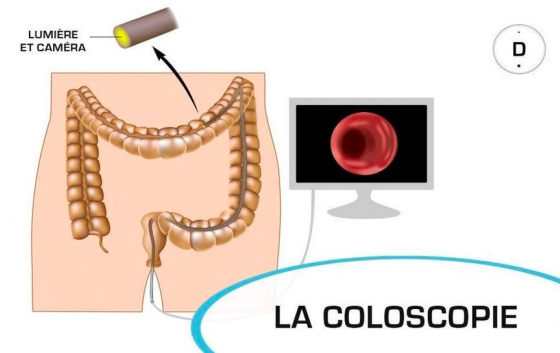


- Imputabilité incertaine ?



=> Recours à des examens moins sensibles - plus spécifiques : ensemencement pour **culture si PCR +**

=> Endoscopie avec histologie+++





Une approche au cas par cas...

Cas 1. PCR toxine B *C. difficile* +: portage vs infection ?

- Patient de 67 ans, insuffisant rénal chronique, infection à *C. difficile* résolutive sous fidaxomicine (fin du traitement il y a 10 jours).
- Se plaint d'un transit toujours perturbé avec 2 selles liquides par jour
- Une PCR tcdB à la recherche de *C. difficile* toxinogène est réalisée et revient positive

PCR Clostridioides (Clostridium)
difficile toxinogène (gène tcdB) Positive. |

Question :

???



- Est-ce que ce test est cliniquement pertinent ?



< 3 selles *liquides* par jour

- Souvent plusieurs semaines pour retrouver un transit normal dans les suites d'une ICD
- >50% des patients C. difficile ont un test PCR + à 6 semaines

Cas 1. PCR toxine B *C. difficile* +: portage vs infection ?

- Patient de 67 ans, insuffisant rénal chronique, infection à *C. difficile* résolutive sous fidaxomicine (fin du traitement il y a 10 jours).
- Se plaint d'un transit toujours perturbé avec ~~2 selles~~ mal formées par jour
6 selles
- Une PCR toxine B test à la recherche de *C. difficile* est réalisée et revient positive

PCR Clostridioides (Clostridium)
difficile toxinogène (gène tcdB)

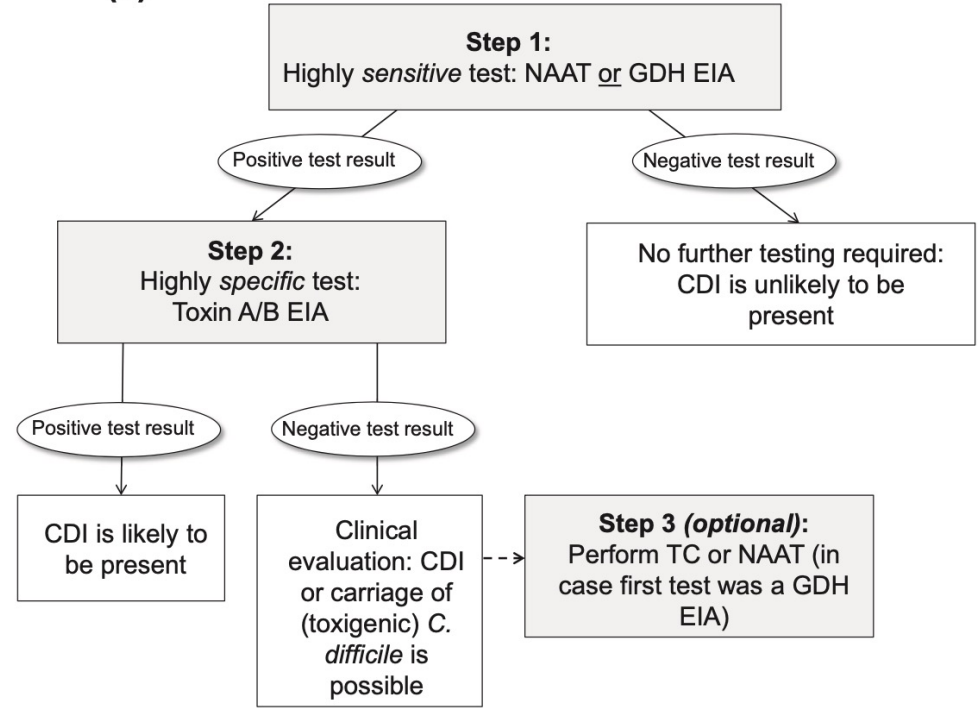
Positive. |



• Concluez-vous à une récurrence d'ICD ?



European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection





E. coli pathogènes – Un bref rappel pour les plus fréquemment testés

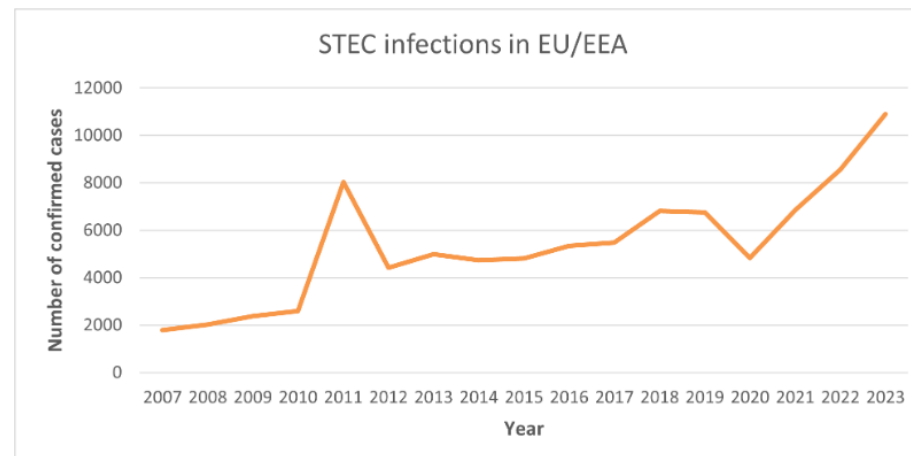


- **Leur détection repose sur la présence de gènes de virulence**
- **STEC/ EHEC/ECEH** : *Escherichia coli* entérohémorragique productrice de Shiga-toxin: colite hémorragique/ **SHU** -> détection du gène stx1/**stx2+++**
- **ETEC/ECET** : E. coli entérotoxinogènes : diarrhée aqueuse – « Turista »
- **EPEC/ECEP** : E. coli entéropathogènes : diarrhée liquide, peu ou pas fébrile, spontanément résolutive

Comment interpréter un test positif pour la Shiga-toxin ?



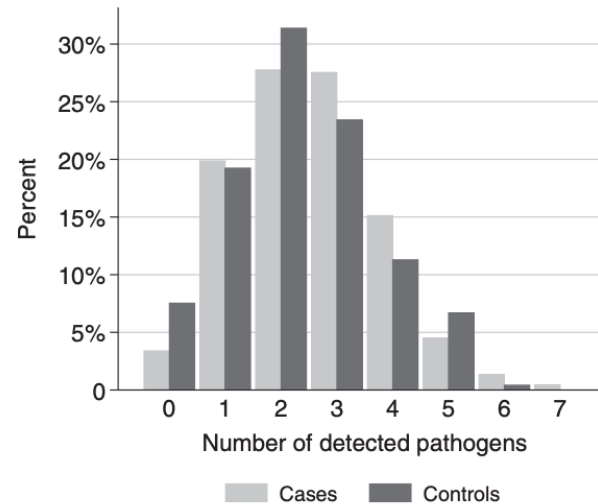
- **Contexte évocateur** : épidémie/ TIAC/ SHU/ Syndrome dysentérique : forte valeur prédictive positive !
- **Portage asymptomatique possible** : gènes stx portés par des phages libres, de l'ADN résiduel, ou de cellules non viables -> discordance cultures/ PCR



- Place de l'isolement des patients en contexte hospitalier en cas de test positif ? En fonction des symptômes ?

LA question : quelle est la valeur prédictive positive du test ?

- **Celle-ci dépend de la probabilité pré-test
= du contexte épidémique et des symptômes**



Ghana
443 cas et 239 contrôles

- **Détection d'un gène de virulence \neq présence d'un pathogène vivant**

Cas 2. Plusieurs pathogènes pour un même patient...

- Cas Mme D. 63 ans transplantée pulmonaire avec >10 selles par jour évoluant depuis 15 jours, pas d'élément clinique de gravité
- Vous obtenez les résultats suivants :
 - PCR toxin B *C. difficile* positive
 - PCR Cryptosporidies positive
 - Examen parasitologique des selles au microscope avec coloration dédiée négatif (1 seul prélèvement)

PCR Clostridioides (*Clostridium*)
difficile toxinogène (gène tcdB) Positive.

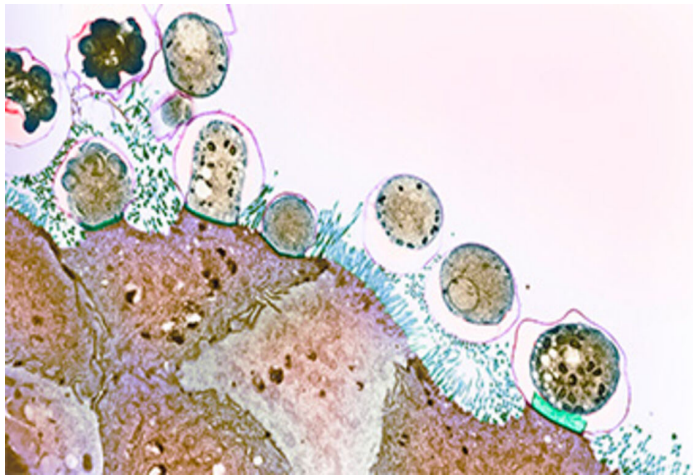
PCR Cryptosporidies Positive.

Quel(s) pathogène(s) traitez-vous ?

???



Cryptosporidies



Clostridioides difficile



En faveur d'un traitement de la Cryptosporidies ?



- Terrain compatible
- Charge infectante faible
- Risque de développer une infection ultérieure augmentée ?
- Un seul examen microscopique réalisé



- Examen direct négatif (charge faible)
- Cryptosporidies peut être asymptomatique y compris chez l'immunodéprimé
- Pas de gravité clinique
- Traitement par nitazoxanide avec une efficacité inconstante (72-88%)
- Accès en ATU
- Pas de clairance microbiologique certaine

En faveur d'un traitement du *C. difficile* ?



- Terrain compatible
- Argument de fréquence
- Traitement efficace avec balance bénéfice/risque favorable
- Réponse clinique attendue rapide sous traitement (3-5 jours)

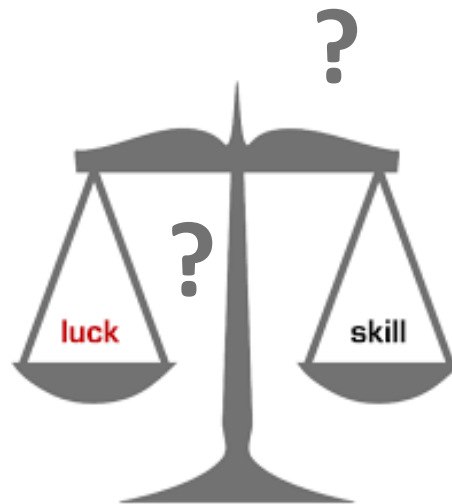


- Algorithme diagnostique incomplet : confirmation de la présence de la toxine libre ?

Cas 2. Plusieurs pathogènes pour un même patient...

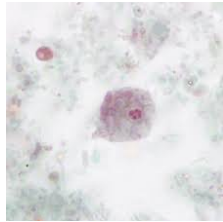
- Chez Mme D. :

Résolution du tableau clinique < 3 jours sous fidaxomicine seule

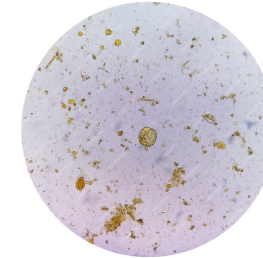


- Surtout pour les pathogènes incertains ...

Dientamoeba fragilis



Blastocystis hominis



- Augmentation des taux de recherche positives par PCR
- Fortes prévalences chez les sujets sains (>40%) par PCR
- Efficacité incertaine des traitements ciblés
- Transmission par transplantation de microbiote fécal sans conséquence clinique

Un « effet dose » à considérer ?

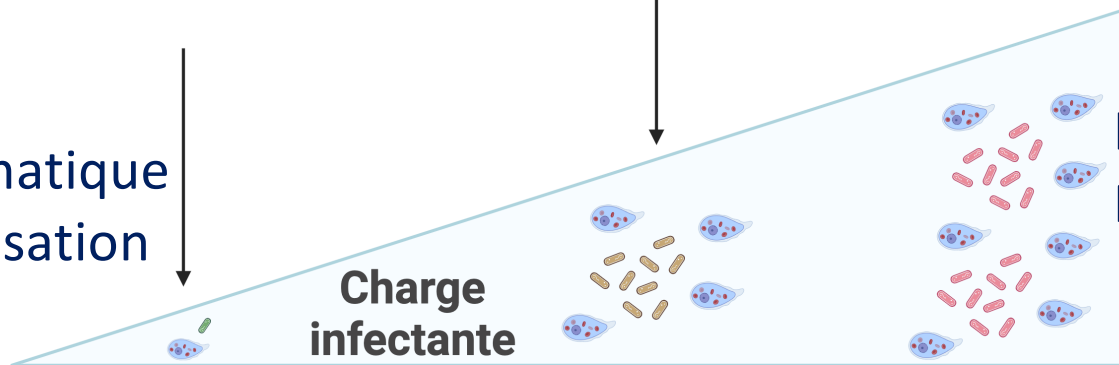
Contamination
Portage asymptomatique
Transit sans colonisation



Seuil de positivité de la PCR



Seuil de positivité de la culture/ examen microscopique



Impact clinique

- Campagne de recrutement de donneur sain pour TMF
- Sujets sains asymptomatiques

Tests norovirus positifs jusqu'à 18 mois après l'infection princeps !

Tests Microsporidies positifs

Tests Aeromonas positifs

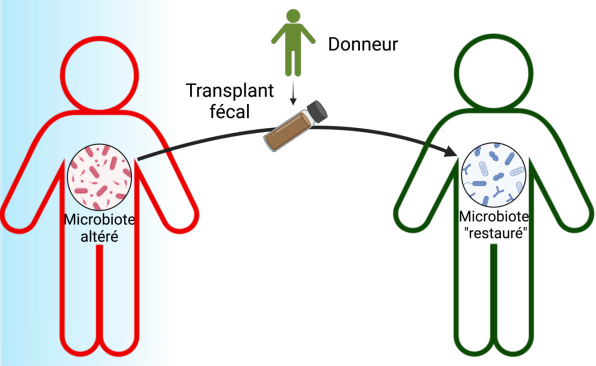


Table 2. Clinical Significance versus Aeromonas Species (n = 28 patients)

	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. sobria</i>	Total
Colonization	3	14	1	18
Indeterminate	2	7	1	10
Total	5	21	2	28



Cas particulier du patient immunodéprimé

Clostridioides difficile

10 – 27%

Norovirus

3 - 20%

CMV

6 – 45%



Campylobacter sp ; Salmonella sp, Cryptosporidia, Giardia intestinalis

Une présentation clinique aspécifique...

- **Diarrhée +++**

- 22-52% des patients transplantés rénaux
- 50 - 80% VIH stade SIDA
- 50- 100% Allo-greffés de CSH

- Dysphagie/ Nausées/ vomissement (Norovirus+++)

... avec des prélèvements infectieux souvent positifs

- Portage asymptomatique :
 - **Norovirus** : délai négativation post-infection jusqu'à 800 jours
 - ***C. difficile*** : 15-40% portage asymptomatique
 - **CMV**: virémie + sans atteinte digestive
 - **Cryptosporidies** : pas de négativation >10 jours après résolution clinique
 - ...

Tester les virus dans les selles – Pourquoi ?

- Pertinence clinique en contexte épidémique ?
- Quand le premier bilan est négatif et que la cause infectieuse reste la plus probable?
- Chez l'immunodéprimé ?



Le piège des diagnostics différentiels

- **Diarrhée médicamenteuse+++ >30 -50%**
 - Chimiothérapie
 - anti-calcineurine
 - tacrolimus
 - inhibiteur de mTOR
- MICI-like 5-10%
- GVHd 13-20%

vs Infection 20-25% (1ère année d'ID+++)

Echenique *et al*, CID 2015; Pittman *et al*, Am J Surg Pathol, 2017; Hamdeh *et al*, WJH, 2016; Jagasia *et al*, Blood, 2012; Holmberg, BMT, 2006

Les symptômes sont-ils bien liés à une infection active ?

- Persistance des symptômes \neq persistance de l'infection
- Persistance des prélèvements positifs \neq persistance de l'infection



Clostridioides difficile

10 – 27%

Norovirus

3 - 20%

CMV

6 – 45%

PCR Sang et
Inclusion à l'histologie ++++

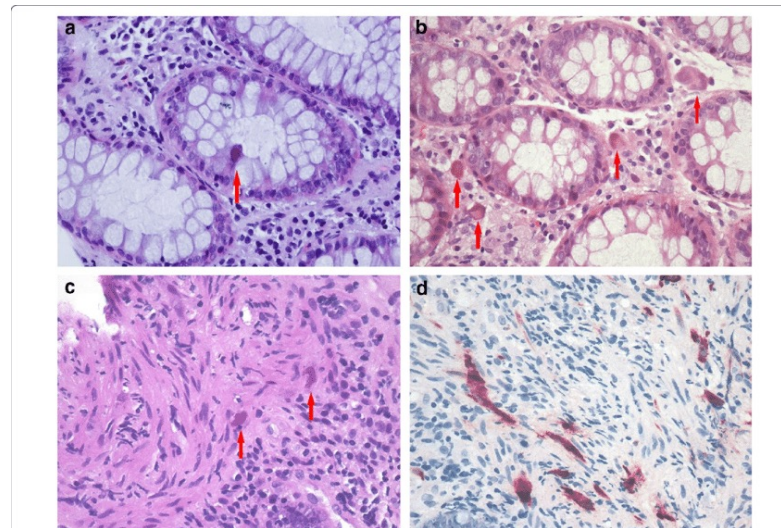
 **ASTCT**
American Society for
Transplantation and Cellular Therapy



Campylobacter sp ; Salmonella sp, Cryptosporidia, Giardia intestinalis

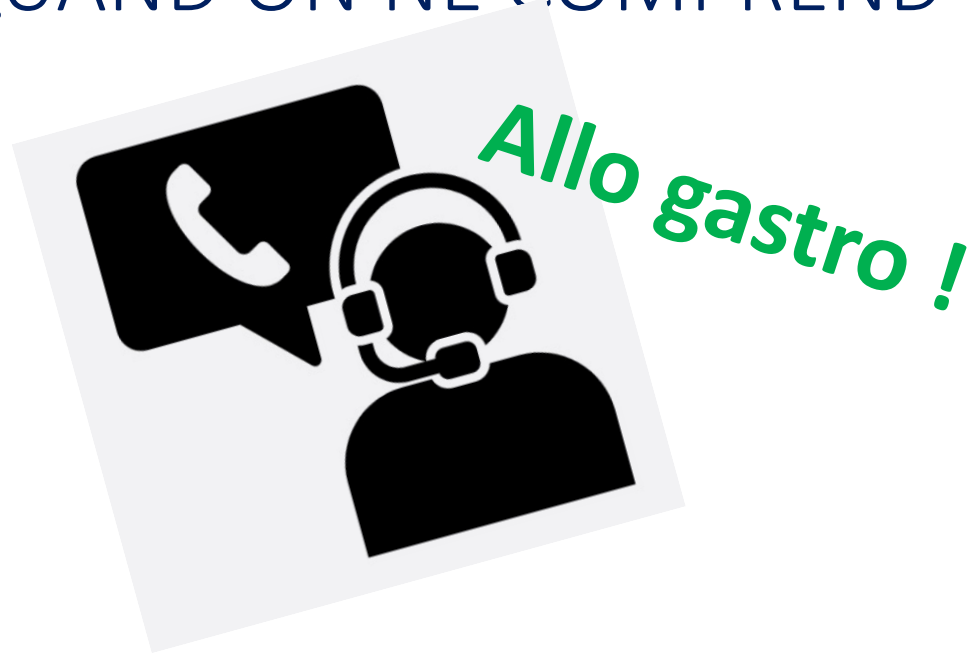
CMV – Infection vs ré-activation ? PCR sur biopsie ?

- Réactivation possible sur terrain inflammatoire (MICI, GVHd/...)
- Distinction Infection prouvée vs Réactivation :
 - **Histologie +++ (IHC/ FISH) +++ le GOLD STANDARD**



Discordance microbiologie/ clinique

QUE FAIRE QUAND ON NE COMPREND PAS ???



L'histologie des biopsies intestinales peut orienter !

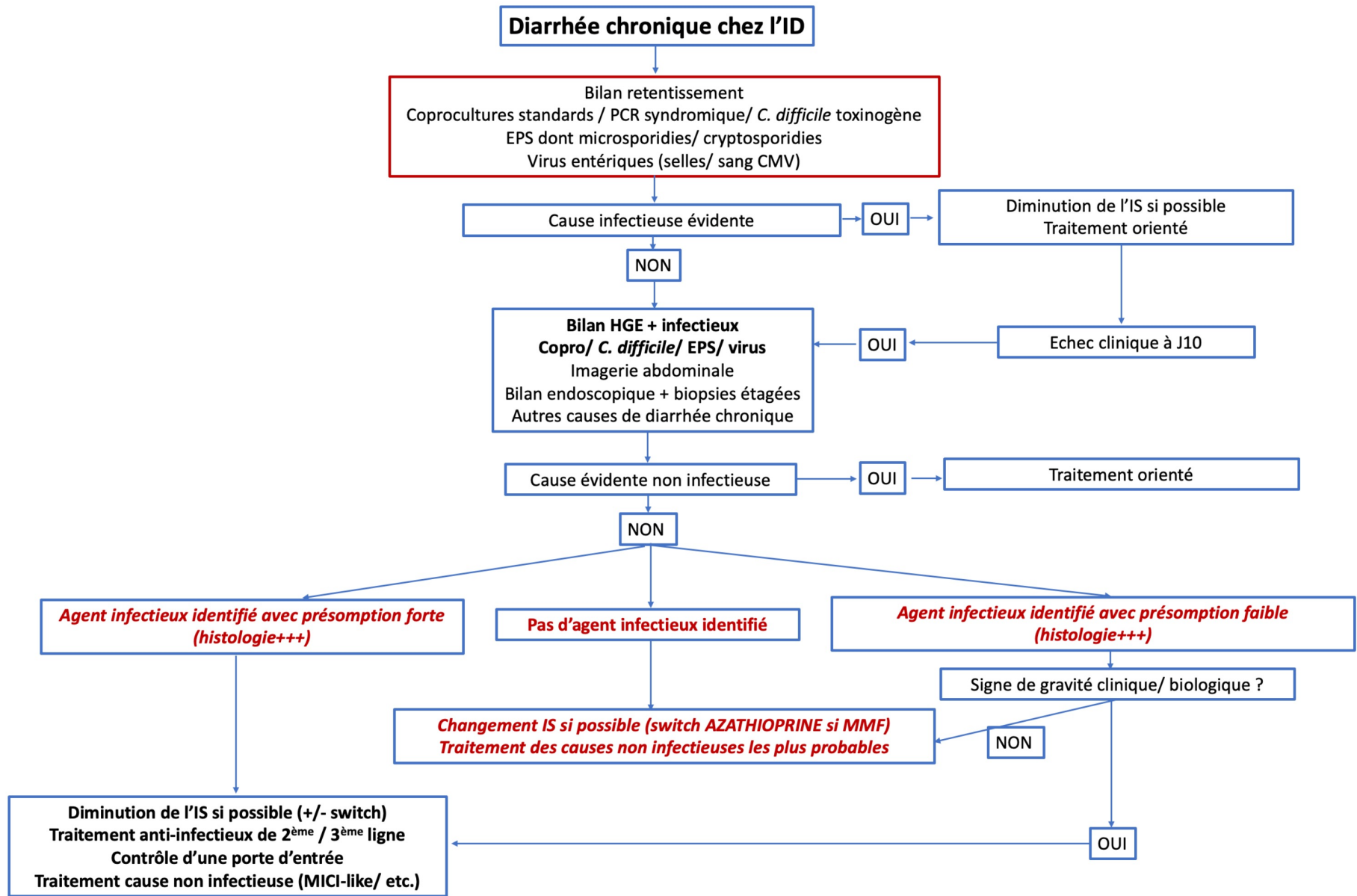
Caractéristiques	Entérocolite infectieuse	Toxicité des anti-rejets (MMF)	GVHd	MICI -like	Cause vasculaire/ischémique
Lésion épithéliale	Pas de dystrophie architecturale. Apoptose possible (superficielle+) Atrophie (protozoaire+)	Aucune/ Atrophie/ dystrophie architecturale/ Apoptose++	Apoptose au niveau des cryptes/ Cryptite	Atrophie/ dystrophie architecturale	Hyalinisation de la lamina propria, cryptes atrophiques "flétries" et épithélium adjacent d'apparence régénérative.
Infiltrat inflammatoire	PNN+++	Pas d'infiltrat lymphoplasmocytaire PNE+	+/-Infiltrat lymphoplasmocytaire +/- fibrose	Infiltrat lymphoplasmocytaire	PNN
Pathogènes	Inclusion virale (IHC)/ Protozoaire	-	-	-	-



Conclusion



- L'enjeu avec les tests moléculaires : différencier Portage vs Infection
- Ne réaliser l'examen qu'en cas de diarrhée confirmée (≥ 3 selles liquides par jour)
- En cas de discordance/ difficulté d'interprétation clinique:
 - Compléter les résultats PCR par culture/ examen direct/ recherche de toxine libre pour *C. difficile*
 - Discuter systématiquement les diagnostics différentiels (traitement +++ recours à l'endoscopie digestive +++)
- En cas de multiples pathogènes :
 - Traiter le plus probable avec la pathogénie la plus certaine
- De nombreuses questions non résolues... : isolement en contexte hospitalier ?





Infections digestives parasitaires: pertinence et interprétation des examens microbiologiques

Anthony Marteau

MCU-PH parasitologie-mycologie

DPC Bon usage des outils diagnostiques en microbiologie

Jeudi 26 mars 2026

Parasitoses digestives: lesquelles?

Essentiellement liées au **péril fécal** avec transmission féco-orale

Protozoaires:

Entamoeba histolytica, *Giardia intestinalis*,
Cryptosporidium sp., *Blastocystis* sp., *Dientamoeba fragilis*,...

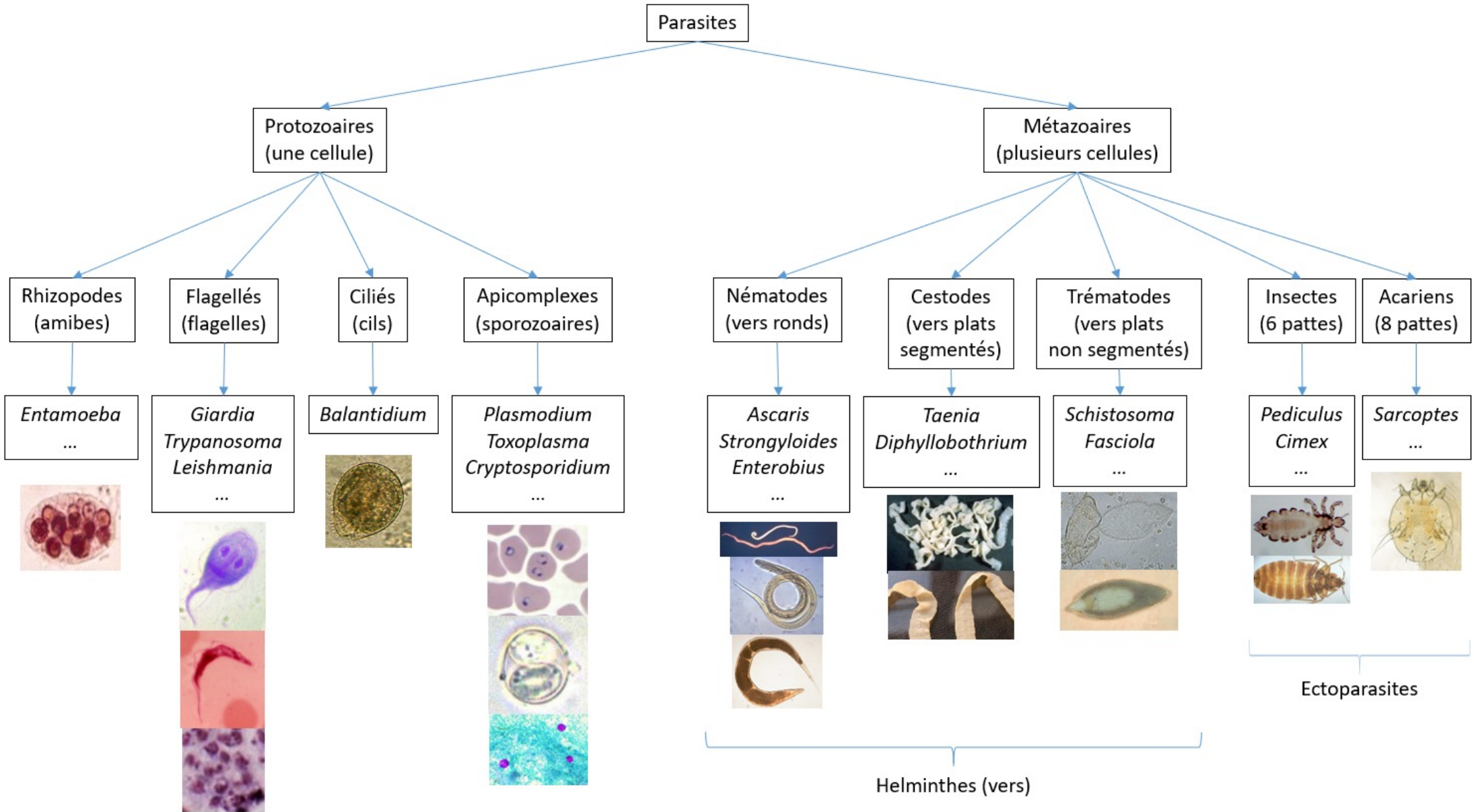
Helminthes:

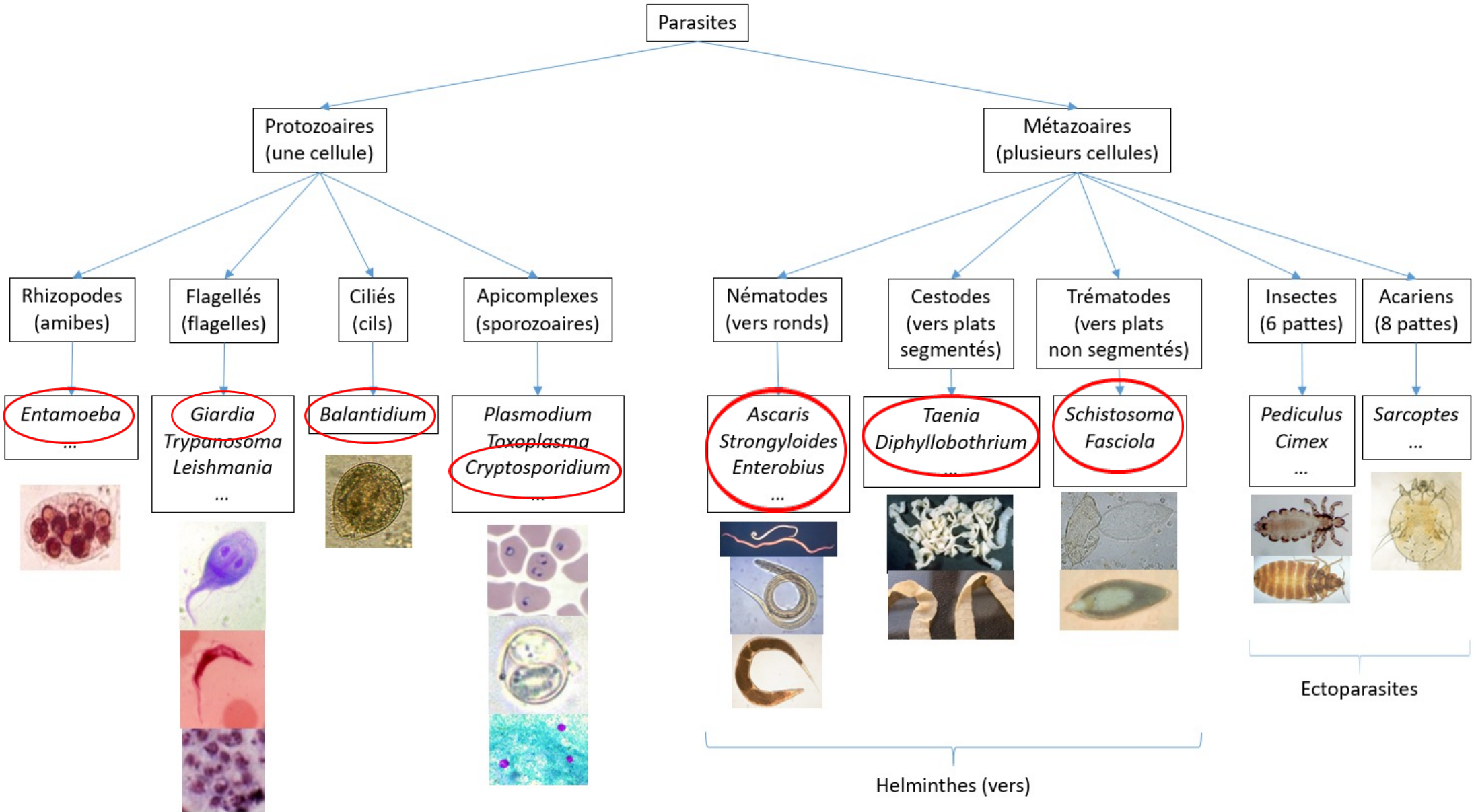
Ascaris lumbricoides, *Strongyloides stercoralis*,
Enterobius vermicularis, *Tænia* sp., *Schistosoma* sp.,
Fasciola hepatica,...

Tableau 1. Définition des parasites à rechercher lors d'un EPS selon la situation.

Panel minimal : autochtone ou voyage en Europe occidentale	Panel élargi : voyage hors Europe occidentale ou immunodépression ou polynucléaires éosinophiles sanguins > 500/mm³ ou signes cliniques persistants ou risque identifié sur questionnaire*
<i>Giardia intestinalis</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Enterocytozoon bienewisi</i> et <i>Encephalitozoon</i> spp. <i>Enterobius vermicularis</i> (oxyure) <i>Taenia</i> spp. <i>Strongyloides stercoralis</i> (anguillule)	Panel minimal plus : <i>Cyclospora cayentanensis</i> <i>Cystoisospora belli</i> <i>Sarcocystis</i> spp. <i>Schistosoma</i> spp. <i>Trichuris trichiura</i> <i>Necator</i> et <i>Ancylostoma</i> spp. (ankylostomidés) <i>Hymenolepis nana</i> <i>Dibothriocephalus</i> spp. Douves

Recommandations ANOFEL/LABAC 2025





Parasitoses digestives: pour qui?

Grands voyageurs ou migrants → **parasitoses importées +++**

5 à 10% des diarrhées des voyageurs → parasites (HCSP 2025)

Diarrhée majoritairement d'origine parasitaire → **durée > 14 jours** (CMIT Pilly 2023)

Diarrhées parasitaires en général **sans fièvre** et subaiguës ou chroniques

Recherche de parasitoses si diarrhée au retour d'une zone d'endémie...

...Mais possibilité de taeniose, d'oxyurose ou de giardiose en France

Autres signes associés: fièvre, asthénie, **éosinophilie**,...

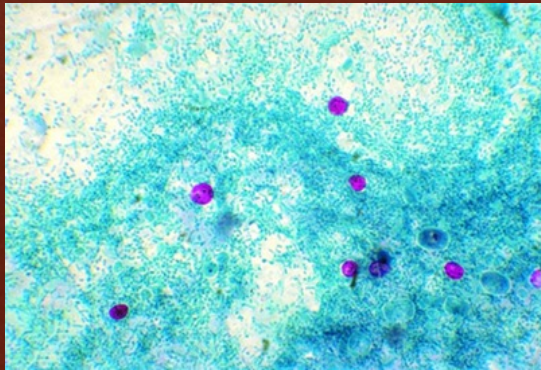


Parasitoses digestives: pour qui?

Recherche de giardiose, d'amoebose, d'helminthoses si diarrhée au retour d'un **voyage en zone d'endémie**

Recherche de cryptosporidiose si diarrhée aqueuse chez l'**immunocompétent**

Recherche de cryptosporidiose/microsporidiose/cystoisosporose si diarrhée chez l'**immunodéprimé** (CMIT Pilly 2023)



Parasitoses digestives: comment?

Examen parasitologique des selles (EPS):

A réaliser avant toute investigation « invasive »

Après arrêt (3/4 jours) de certaines substances médicamenteuses pouvant gêner la lecture au microscope (ex: huile de paraffine)

Contexte clinique nécessaire à fournir: origine géographique, voyages, immunodépression, biologie (hyperéosinophilie+++), traitements antiparasitaires,...

Différentes formes : adultes, larves, œufs, kystes, trophozoïtes, oocystes, ...

Faire **3 EPS à 2-3 jours d'intervalle**, à renouveler 2 à 6 semaines après arrêt du traitement

(Recos ANOFEL/LABAC 2025)



EPS: quel aspect pour quel parasite ?

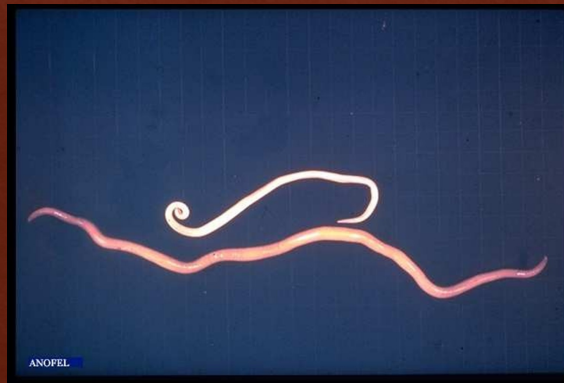
Orientation diagnostique dès la **macroscopie**

Crachat rectal, **selles glairo-sanglantes** : *Entamoeba histolytica* forme hématoophage

Selles liquides : amibes et flagellés (trophozoïtes et kystes), oocystes de coccidies, spores de microsporidies

Selles moulées : amibes et flagellés (kystes), œufs et larves d'helminthes

Présence de **vers dans les selles** : adultes de nématodes, anneaux de *Tænia*



Examen parasitologique des selles

Examen direct :

A traiter le **plus rapidement possible** (<2h), sinon **fixation** (MIF, SAF, formol 10%, bichromate de potassium 5%)

Selles glaireuses, glairo-sanglantes ou liquides :

ED +++, trophozoïtes/larves sensibles au froid et à la dessiccation

→ Baisse de mobilité des trophozoïtes d'*E. histolytica* hématophages après 20-30 min

→ Lyse des trophozoïtes de *Dientamoeba fragilis* après 30 min - 2 h

Selles moulées :

Examen possiblement retardé (< 24h)



N. Kapel



N. Kapel

Examen parasitologique des selles

Méthodes de concentrations :

Méthodes physiques: différence de densité entre parasite et réactif diluant

Techniques de sédimentation

Techniques de flottation → méthode de Willis au NaCl 25% → helminthes

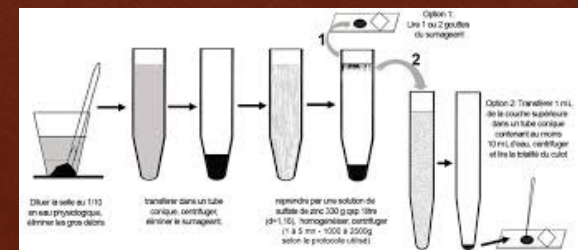


Méthodes physico-chimiques ou diphasiques: 2 phases liquides non miscibles (une aqueuse et une lipophile)

Bailenger (acétate de sodium/acide acétique, pH 5) → protozoaires

MIF concentration (Merthiolate-Iodine-Formaldehyde)

Ritchie modifié (formol à 10%) → helminthes et protozoaires



Limites de l'EPS

EPS non contributif lors de la période muette séparant la contamination de l'élimination fécale des parasites :

- quelques jours pour les protozoaires

- quelques semaines pour les helminthes (anguillule : 1 mois, schistosomes : 2 mois, *Tænia* : 3 mois) (ANOFEL 2025)

Sensibilité → [C]>ED, 3 EPS nécessaires (Sensibilité pour *Giardia*: 1 EPS 70%, 3 EPS 90%)

Faux négatifs: formes lysées (examen effectué tardivement pour *D. fragilis* par exemple) → ED rapide de la selle +++

Faux positifs: résidus alimentaires, desquamation entérocytaire, huile minérale laxative → opérateur-dépendant, expérience +++

Mise en place de **techniques spécifiques**: scotch test, Baermann, colorations spécifiques

Méthode de Baermann

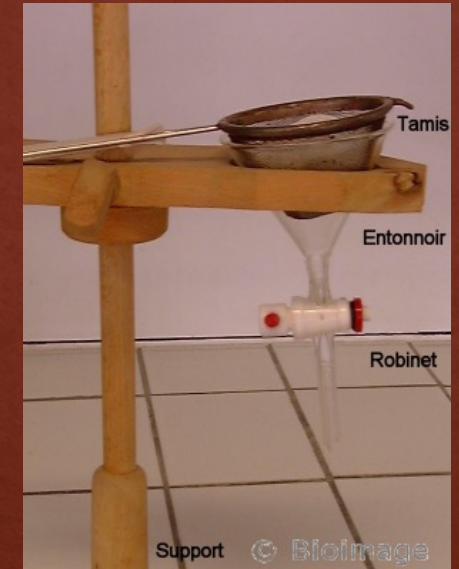
Recherche spécifique des larves d'anguillules (*Strongyloides stercoralis*)

Permet aussi de trouver des œufs d'helminthes par **sédimentation** simple (ex: œufs de *Schistosoma mansoni*)

Propriétés d'**hygrotropisme** et de **thermotropisme** des larves

Sensibilité de 53% (1 EPS), 74% (3 EPS), 100% (7 EPS)

(Nielsen et al, 1987)



Colorations spécifiques

Oocystes ou spores de petites tailles: de 2 à 5 μm

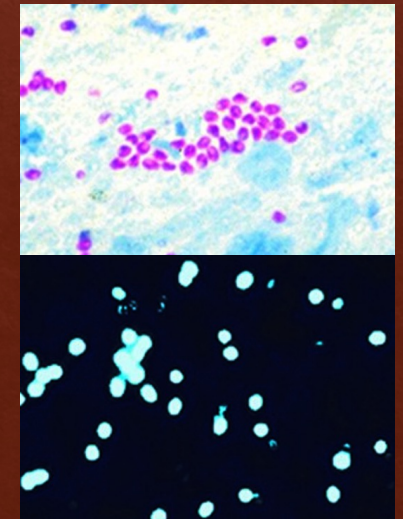
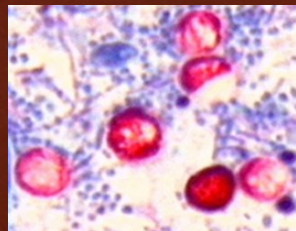
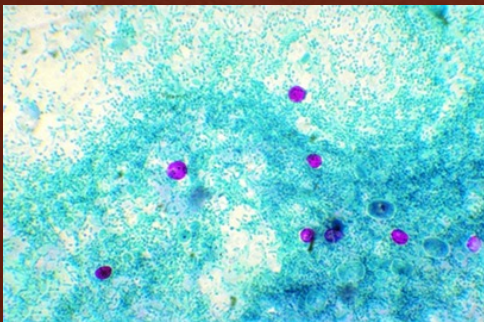
Recherche d'**oocystes** de *Cryptosporidium spp.* (Ziehl-Neelsen modifié de Henriksen), de *Cystoisospora belli* (Henriksen), de *Cyclospora cayetanensis* (Henriksen)

Recherche de **spores** de microsporidies (Weber, fluorochrome Uvitex, calcofluor)

Coloration Ziehl-Neelsen modifiée

- Fixation alcool éthylique 90° : 5 minutes
- Séchage sur platine chauffante
- Solution fuchsine RAL : 1 heure (peut rester une nuit)
- Lavage à l'eau courante
- Acide sulfurique 2 % : 20 secondes à 2 minutes
en agitant la lame
- Lavage à l'eau courante
- Vert malachite 5 % ou bleu méthylène 3 % : 5 minutes
- Lavage à l'eau courante
- Séchage puis lecture (x 400 et confirmation x 1 000)

Guyot et el, 2012



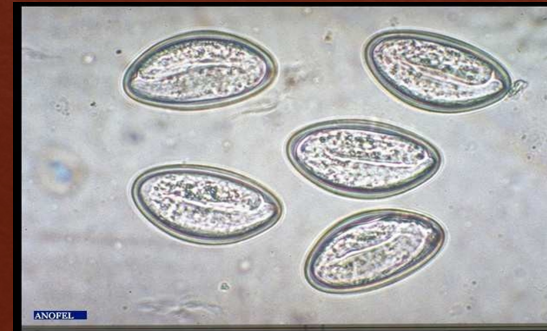
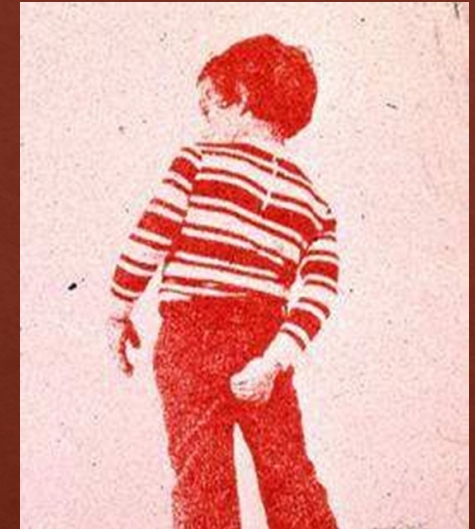
Scotch-test anal

Recherche de l'**oxyurose** (*Enterobius vermicularis*) +/- taeniose à *T. saginata*

Application d'un **scotch sur la marge anal**, puis application sur une lame en verre, le matin avant la toilette +++

Permet de récupérer les œufs +++, parfois l'adulte femelle

Examen à répéter **3 fois à 2-3 jours d'intervalle**



Parasitoses digestives: PCR?

Meilleure sensibilité que la microscopie (Moniot et al, 2024)

PCR simplexe: amébose (ADNr 18S), giardiose,...

PCR multiplexe: identification simultanée de **plusieurs parasites différents** (Ampliquick® de Biosynex, Allplex® GI Assay de Seegene, ParaGENIE® de Ademtech)

PCR multiplexe: identification de bactéries, virus et parasites (BioFire® FilmArray® Gastro-Intestinal Panel de BioMérieux, avec 22 cibles dont *Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*)

CURRENT STATUS OF HUMAN INTESTINAL PARASITES IN FRANCE: A RETROSPECTIVE STUDY COMBINING STANDARD MICROSCOPY WITH THE NEW AMPLIQUICK® PROTOZOANS AND HELMINTHS QPCR MULTIPLEX ASSAYS.

Maxime Moniot^{1,2}, Céline Nourrisson^{1,2,3}, Farah Boughanmi¹, Philippe Poirier^{1,2,3}

¹Service de Parasitologie-Mycologie, CHU Clermont-Ferrand, 3BP, Clermont-Ferrand, France

²Centre National de Référence Cryptosporidies, Microsporidies et autres protozoaires digestives (Laboratoire associé), CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

³Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte (M2SH), UMR Inserm/ Université Clermont-Auvergne U1071, USC INRA 2018, France



Background: Human intestinal parasitic infections are a global health concern, mostly in endemic areas but should not be neglected elsewhere. Recent nationwide epidemiological data are scarce, especially from community based care. Diagnosis by molecular tools are increasing and several commercial gastrointestinal panel assays including protozoans and/or helminths are now available.

Figure 1. Population study. Number of analyzed stools (n = 2036) and geographical distribution of their origin. Population pyramid (n = 1568 patients) with a sex ratio M/F of 0,74.

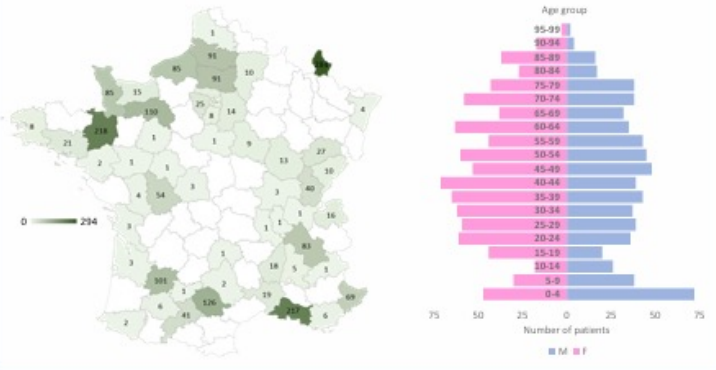


Figure 2. Total number of positive stools by microscopy and/or molecular biology (n = 2036, left table) with intestinal parasites prevalence per patient (n = 1568, right histogram). Each parasite could be diagnosed by only one or both techniques. Some parasites can not be detected by microscopy or by AMPLIQUICK® (see not applicable, n.a.). Histograms represent total number of positive patients for each parasite. Data not shown are equal to zero. The overall prevalence of intestinal parasitic infections was 31,25% (490/1568). *Blastocystis* sp and *Dientamoeba fragilis* were the most detected parasites in respectively 20,4% and 13,1% of patients, followed by *Giardia intestinalis* (2,0%), *Cryptosporidium* sp (1,9%), *Enterobius vermicularis* (1,8%), and amebae.

	Microscopy	Molecular biology	0	50	100	150	200	250	300	350
<i>Blastocystis</i> sp.	129	376	20,4%							
<i>Dientamoeba fragilis</i>	n.a.	260	13,1%							
<i>Giardia intestinalis</i>	16	35	2,0%							
<i>Cryptosporidium</i> sp.	7	35	1,9%							
<i>Enterobius vermicularis</i>	5	34	1,8%							
<i>Entamoeba coli</i>	27	n.a.	1,5%							
<i>Endolimax nana</i>	27	n.a.	1,2%							
<i>Entamoeba dispar</i>	6	24	1,1%							
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	n.a.	8	0,4%							
<i>Taenia</i> sp.	3	6	0,3%							
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	5	0,3%							
<i>Cystospora belli</i>	0	3	0,2%							
<i>Dicrocoelium</i> sp.	2	n.a.	0,1%							
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2	n.a.	0,1%							
<i>Iodamoeba butschlii</i>	3	n.a.	0,1%							
<i>Schistosoma</i> sp.	0	2	0,1%							
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	n.a.	0,1%							
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	0	1	0,1%							
<i>Encephalitozoon</i> sp.	0	1	0,1%							
<i>Hymenolepis</i> sp.	1	1	0,1%							
<i>Sarcocystis</i> sp.	1	n.a.	0,1%							
<i>Trichuris trichiura</i>	1	1	0,1%							

Table 1. Detected species by the two molecular panel assays used in this study. The AMPLIQUICK® Protozoans and AMPLIQUICK® Helminths (BIOSYNEX, France) are ready to use kits allowing detection of 20 parasites : 10 protozoa and 10 helminths.

AMPLIQUICK® Helminths	AMPLIQUICK® Protozoans
<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Blastocystis</i> sp.
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Cryptosporidium</i> sp.
<i>Diphyllobothrium</i> sp.	<i>Cyclospora cayentanensis</i>
<i>Enterobius vermicularis</i>	<i>Cystospora belli</i>
<i>Hymenolepis nana</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>
<i>Necator americanus</i>	<i>Encephalitozoon intestinalis</i>
<i>Schistosoma</i> sp.	<i>Entamoeba dispar</i>
<i>Strongyloides stercoralis</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>Taenia</i> sp.	<i>Enterocytozoon bieneusi</i>
<i>Trichuris trichiura</i>	<i>Giardia intestinalis</i>

Objective: Make an epidemiological update on intestinal parasites found in community care in France.

Figure 3. Intestinal parasites prevalence according to the season. Some parasites were more prevalent in the summer (*Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. and *Endolimax nana*) or in the winter (*Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba coli* and *Enterobius vermicularis*). No significant difference were found for parasite not shown.

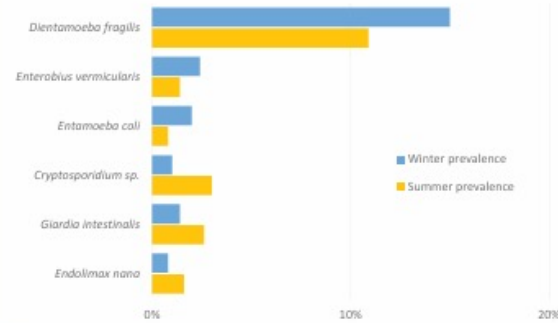
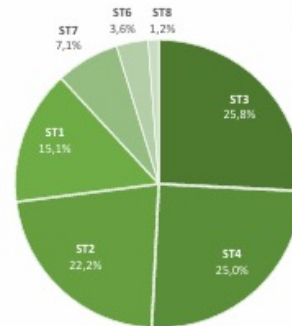


Figure 4. Blastocystis subtypes (ST) distribution among the population studied. On the 320 positive patients for *Blastocystis* sp., 252 were successfully subtyped. The mostly found subtypes were ST3, ST4, ST2 and ST1, respectively, which are frequently reported in Human.



Conclusion: In this study, a high prevalence of intestinal parasites above 30% was found from primary care patients, underlying the importance of the parasite diagnosis. Remarkably, the multiplicity of sampling increases the sensitivity of parasite detection, which is already known for microscopy but shown also true for molecular assay. Moreover, difference in the parasites circulating between seasons was shown and polyparasitism was found in a significant part of the population. Finally, molecular biology increases the sensitivity of the targeted species but microscopy remains absolutely necessary for parasites not detected by molecular tools (as *Sarcocystis* sp., *Capillaria* sp., *Dicrocoelium* sp., *Chilomastix* sp., or other amebae like *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii*, *Entamoeba coli* and *Entamoeba hartmanni*).

Material and methods: 2036 primary care stool for ova and parasites testing corresponding to 1568 patient from all over France and Luxembourg were analyzed during the winter and the summer 2022 combining standard microscopy (merthiolate-iodine-formaldehyde and Baillenger concentration procedures) with two molecular panel assays (AMPLIQUICK® Protozoans and AMPLIQUICK® Helminths, BIOSYNEX, France).

Figure 5. Polyparasitism. Coinfection with 2 or more parasites occurred in 7,7% of patients (120/1568) with 6,8% of patients (107/1568) diagnosed with 2 parasites, 0,7% (11/1568) with 3 parasites and 0,1% (1/1568) with respectively 4 and 5 parasites. The most represented associations between two parasite are *Blastocystis* sp./*Dientamoeba fragilis* (76/1568), followed by *Dientamoeba fragilis*/*Enterobius vermicularis* (18/1568), *Blastocystis* sp./*Giardia intestinalis* (16/1568), *Blastocystis* sp./*Endolimax nana* (12/1568) and *Blastocystis* sp./*Entamoeba coli* (11/1568).

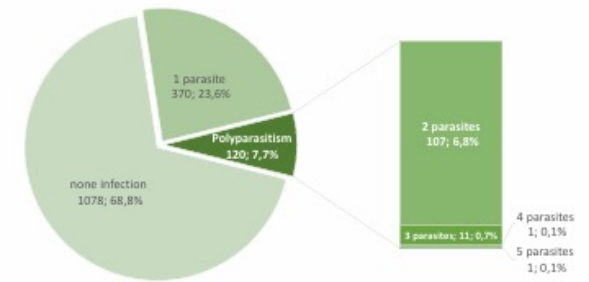
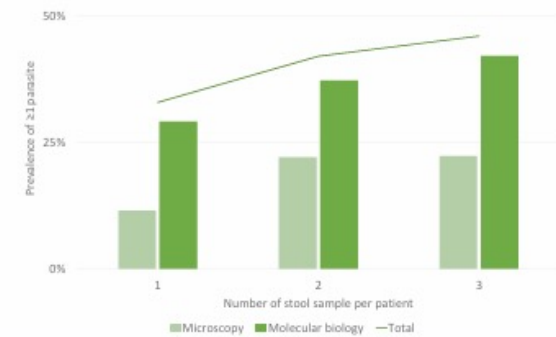


Figure 6. Prevalence of positive patients according to the number of stool collected. The multiplicity of sampling increases the prevalence of infected patient from 32,9% (417/1266) for only one stool examination to 46,1% (70/152) for three stools examination. This was expected for microscopic examination but, interestingly, was also true for molecular analysis.





Université de Paris

EVALUATION DES PERFORMANCES DU COFFRET PCR LARGE SPECTRE AMPLIQUICK® (BIOSYNEX®) POUR LE DIAGNOSTIC DES PARASITOSE DIGESTIVES.



J. Poireau¹, G. Giacometti², A. Ayachi¹, L. Perthuisot¹, D. Haouchine¹, S. Houzé¹, N. Argy¹

¹ Hôpital Bichat-Claude Bernard, APHP, Laboratoire de parasitologie-mycologie, Paris, France ; ² Biosynex, Illkirch-Graffenstaden, France.

Introduction:

L'examen microscopique des selles après concentration est considéré comme la technique de référence pour le diagnostic des parasitoses digestives. Bien qu'exhaustif, le diagnostic microscopique est long, peu sensible, et nécessite un personnel formé et expérimenté. L'approche diagnostique par biologie moléculaire s'est développée ces dernières années pour pallier les insuffisances du diagnostic microscopique. D'abord restreint à la détection des protozooses digestives cosmopolites, des coffrets de PCR multiplex ciblent désormais des panels plus larges mais leurs sensibilités n'ont pas toutes été évaluées. Le kit Ampliquick® (Biosynex®) propose une approche PCR temps réel simplifiée constituée de 2 panels permettant la détection d'une part de 10 protozoaires et d'autre part de 10 helminthes intestinaux. L'objectif de ce travail a été d'évaluer les performances analytiques de ce coffret par comparaison avec l'examen parasitologique standard pour le diagnostic des protozooses et des helminthiases digestives.

Matériels et méthodes:

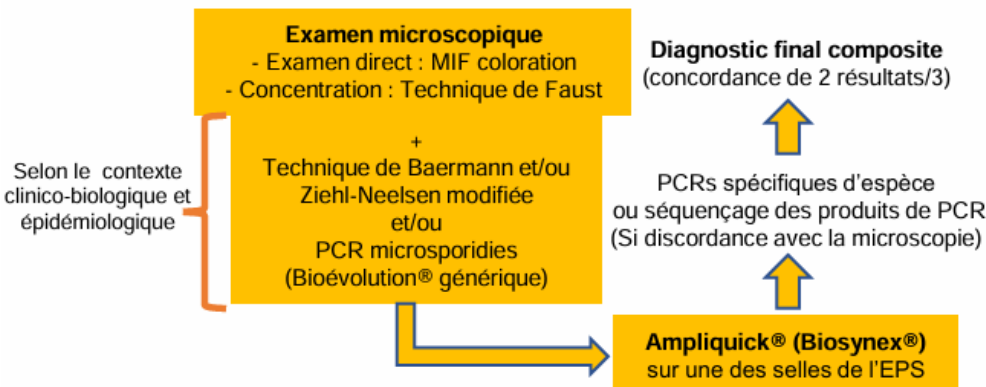
- Etude prospective entre Décembre 2022 et Mars 2023.
- 152 prélèvements de selles inclus (106 patients) reçus pour un examen parasitologique des selles (EPS)
- En cas de plusieurs prélèvements reçus pour un patient, la PCR Ampliquick® n'était réalisée que sur le premier prélèvement reçu alors que l'examen microscopique était réalisé sur tous les prélèvements.

Résultats:

13 prélèvements de selles positifs en microscopie (13 protozoaires et 2 helminthes) pour des parasites ciblés par Ampliquick® ((92% de 1^{ère} selle) versus 27 selles positives en PCR (31 protozoaires et 4 helminthes)

Parasites	Microscopie		Ampliquick®			Final
	N	Se (%)	N	Se (%)	Sp (%)	
<i>Blastocystis</i> sp	9	56.3	17	93.8	97.8	16
<i>D. fragilis</i>	1	20	7	100	98	5
<i>G. duodenalis</i>	0	0	3	100	100	3
<i>E. histolytica</i>	1	100	1	100	100	1
<i>E. dispar</i>	0	0	1	100	100	1
<i>Cryptosporidium</i> spp	2	100	2	100	100	2
<i>S. mansoni</i>	0	0	1	100	100	1
<i>S. stercoralis</i>	1	50	2	100	100	2
<i>E. vermicularis</i>	1	100	1	100	100	1
GLOBAL		46.9		96.9	99.6	

Un défaut de sensibilité a été observé pour la détection de *B. hominis* et des résultats faussement positifs en PCR ont été obtenus pour la détection de *B. hominis* et *D. fragilis*.



Algorithme diagnostique au cours de l'évaluation prospective du coffret Ampliquick®

Conclusions:

Ampliquick® présente des performances analytiques supérieures à la microscopie pour l'EPS. Ces résultats seront à confirmer mais questionnent sur la place de la microscopie dans l'examen parasitologique des selles et sur l'intérêt de conserver la recommandation de 3 prélèvements itératifs pour augmenter la sensibilité de cet examen.

Ampliquick Protozoans (Biosynex)

- Cryptosporidium spp*
- Dientamoeba fragilis*
- Enterocytozoon bienewsi*
- Encephalitozoon spp*
- Entamoeba histolytica*
- Entamoeba dispar*
- Blastocystis spp*
- Giardia intestinalis*
- Cystoisospora belli*
- Cyclospora cayentanensis*



Allplex GI-Parasite Assay (Seegene)

- Giardia intestinalis*
- Entamoeba histolytica*
- Cryptosporidium spp*
- Blastocystis hominis*
- Dientamoeba fragilis*
- Cyclospora cayentanensis*



ParaGENIE Crypto-Micro (Ademtech)

- Cryptosporidium spp*
- Enterocytozoon bienewsi*
- Encephalitozoon intestinalis*



Ampliquick Helminths (Biosynex)

- Schistosoma mansoni*
- Strongyloides stercoralis*
- Ascaris lumbricoides*
- Trichuris trichiura*
- Diphyllobothrium latum*
- Tænia spp*
- Hymenolepis nana*
- Enterobius vermicularis*
- Ancylostoma duodenale*
- Necator americanus*



Allplex GI-Helminth Assay (Seegene)

- Enterocytozoon spp*
- Encephalitozoon spp*
- Strongyloides spp*
- Hymenolepis spp*
- Ascaris spp*
- Tænia spp*
- Trichuris trichiura*
- Ancylostoma spp*
- Enterobius vermicularis*
- Necator americanus*



ParaGENIE Giardia-Amoeba (Ademtech)

- Entamoeba histolytica*
- Entamoeba dispar/moshkovskii*
- Giardia intestinalis*



Parasitoses digestives: sérologies?

Positivité dès la phase d'invasion

A faire en **phases d'invasion, de migration larvaire et/ou en phase d'état**

Indispensable en cas de localisation viscérale profonde (amoebose)

Parasites ayant une **partie du cycle extra-intestinale** uniquement

Parasites ayant une **faible charge parasitaire** (ex: anguillulose, bilharziose)

Risque de **réactions croisées** (ex: anguillulose et filariose)

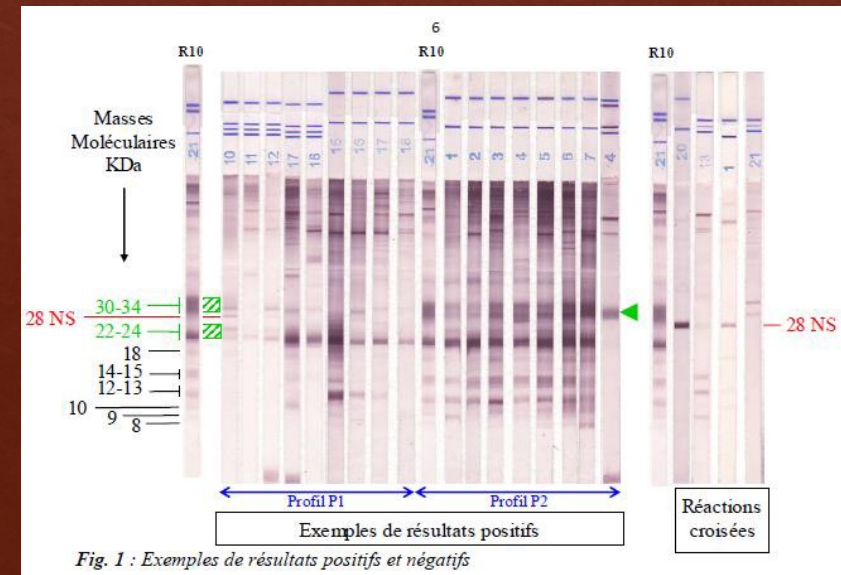
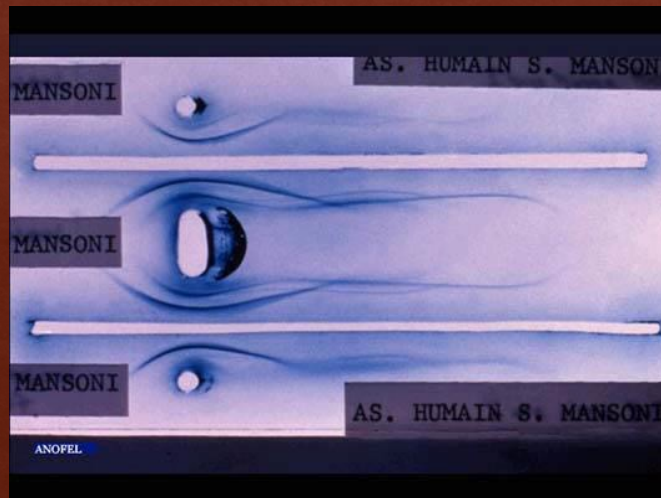
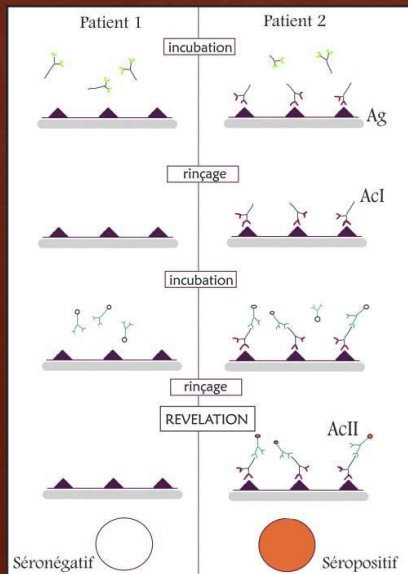
Augmentation puis décroissance du taux jusqu'à négativation suivant les mois post-traitement (6 mois → 18 mois)

Parasitoses digestives: sérologies?

Latex, hémagglutination, **ELISA**, IFI, **Western Blot**, IEP, Co-ES

Pas de distinction IgM/IgG

Combinaison d'une **technique de screening** (ELISA+++ sensible) et d'une **technique de confirmation** (WB+++ spécifique)



Parasitoses digestives: sérologies?

Amoebiose:

Latex (Spé 94,3%)

ELISA (Sen 97%, Spé 96%)

HMG

(Exp Parasitolo 2016)

Anguillulose:

ELISA (Sen 50-80%, Spé 73,4-96,7%)

(Rodrigues et al, 2007)

Bilharziose intestinale:

ELISA (Sen 93,3%, Spé 98,2%)

WB (Sen 98,9%, Spé 98,3%)

(Van Gool et al, 2002)

(LDBio)

Distomatose:

ELISA (Sen 52-100%)

WB (Sen 100%, Spé 100%)

(Caban-Hernandez et al, 2014)

(LDBio)

Trichinose:

ELISA (Sen 80%)

WB (Sen 97,5%, Spé 96,3%)

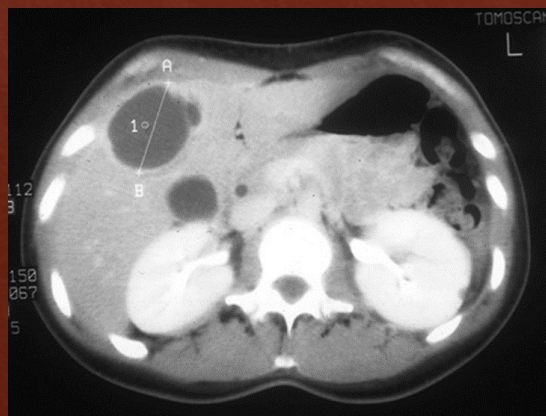
(CMI 2009)

Parasitoses digestives: imagerie?

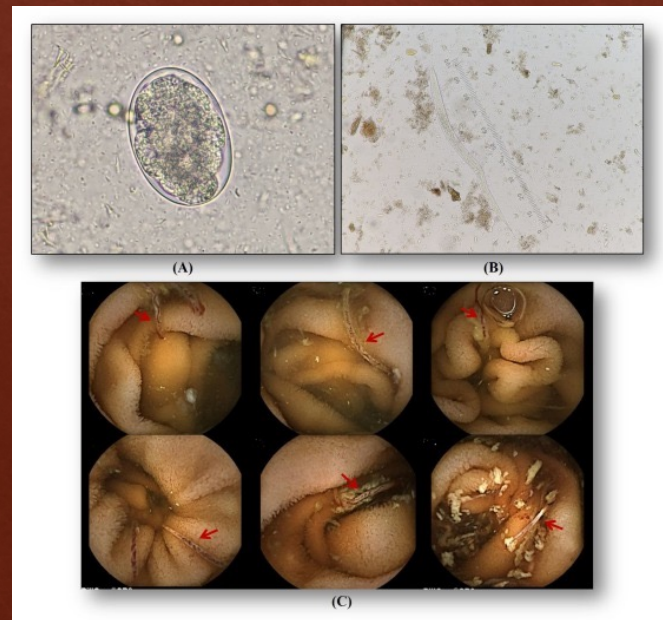
Examen non microbiologique

ASP, échographie hépatique, TDM, IRM, endoscopie, vidéocapsule

Amoebiose, ascariidiose, ankylostomose, distomatose



ANOFEL



Chergui et al, 2021

Parasitoses digestives: ponction/biopsie?

Non systématiques, bonne sensibilité si réalisée sur lésion visible

Biopsie de muqueuse rectale: bilharziose (émission discontinue des œufs)

Biopsie d'appendice: oxyurose

Biopsie colique: amoebose intestinale aigue (abcès en bouton de chemise)

Ponction d'abcès amibien du foie: abcès amibien hépatique (pus couleur chocolat → PCR), à faire si risque de rupture, si >10cm, si hyperalgique, si sérologie négative, si absence de réponse au traitement, si doute sur abcès à pyogènes (CMIT Pilly 2023)

Biopsie jéjunale: giardiose (bilan de malnutrition)



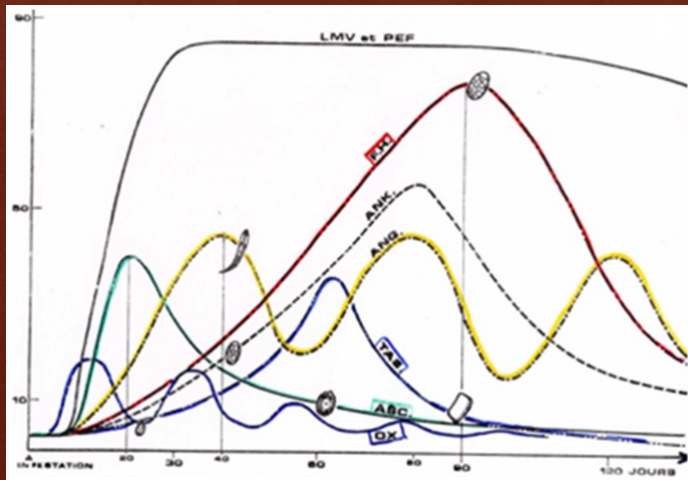
Parasitoses digestives: NFS?

Numération-Formule Sanguine:

Anémie → ankylostomose (microcytaire), bothriocéphalose (macrocytaire)

Polynucléose neutrophile → amoebose

Eosinophilie → helminthoses +++ (>500/mm³)



Larva Migrans Viscérale
Poumon Eosinophile Filarien
Oxyurose
ASCaridiose
ANGuillulose
Fasciolose Hépatique
ANKilostomose
TAEniasis

Parasitoses digestives: éosinophilie?

Allergies +++ (atopie, médicaments,...)

Parasitoses (**helminthoses** +++)

Dermatologie (eczéma, érythème polymorphe, toxidermie,...)

Connectivites (Wegener, Churg & Strauss,...)

Hémopathies malignes et cancers (leucémies, Hodgkin,...)

Maladies digestives (RCH, Crohn,...)

Eosinophilie autochtone

Modérée < 1500/mm³:

Oxyurose

Taeniose à *Tænia saginata*

→ EPSx3 + scotch-test anal

Elevée > 1500/mm³:

Trichinellose

Fasciolose

→ EPSx3 + sérologies

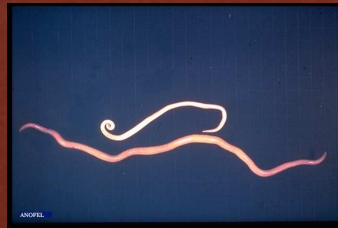


Eosinophilie tropicale

Nématodes:

Ascaridiose
Anguillulose
Ankylostomose

→ EPSx3,
Baermann,
sérologies



Trématodes:

Bilharziose intestinale
Distomatoses (ASE+++)

→ EPSx3 (phase d'état),
sérologie (phase d'invasion)



Cestodes:

Taeniose

→ EPSx3



Parasitoses digestives: que faire pour qui?

Voyageurs: EPSx3 (+PCR)

Migrants: EPSx3 (+PCR), Baermann, sérologie anguillulose et bilharziose

Immunodéprimés ou selles liquides: EPSx3 + rajout de cryptosporidies/microsporidies (PCR ou colorations spécifiques)

Enfants: scotch-test anal

(CMIT Pilly 2023, HAS 2025)

Merci pour votre attention !

