

Coprologie parasitaire : conduite de l'examen et pièges diagnostiques

Claude Guiguen, Brice Autier, Jean-Pierre Gangneux, Dominique Chabasse

▶ **To cite this version:**

Claude Guiguen, Brice Autier, Jean-Pierre Gangneux, Dominique Chabasse. Coprologie parasitaire : conduite de l'examen et pièges diagnostiques. Revue Francophone des Laboratoires, 2021, 2021 (529), pp.32-42. 10.1016/S1773-035X(21)00036-8 . hal-03520708

HAL Id: hal-03520708

https://univ-rennes.hal.science/hal-03520708

Submitted on 12 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 4.0 International License

ACCEPTED MANUSCRIPT / CLEAN COPY

Coprologie parasitaire : conduite de l'examen et pièges diagnostiques

Claude Guiguen[1], Brice Autier[2], Jean Pierre Gangneux[2] et Dominique Chabasse[3]

1- Professeur émérite de Parasitologie et Zoologie appliquée, UFR de médecine, 2 avenue du professeur Léon Bernard, 35043 Rennes cedex, France

2- Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en Santé Environnement Travail), UMR_S 1085, 35000, Rennes, France

3- Professeur émérite de Parasitologie – Mycologie, Pôle Santé de l'Université d'Angers, 28 rue Roger Amsler, 49045 Angers, France

Résumé

L'examen parasitologique des selles consiste, le plus souvent, à examiner celles-ci macro- et microscopiquement à la recherche de parasites intestinaux : formes végétatives et kystiques des protozoaires ; œufs, larves et adultes d'helminthes. Le principe du diagnostic fait appel à des techniques analytiques à la portée de tous les laboratoires de biologie médicale. Les renseignements épidémiologiques, cliniques et biologiques doivent être correctement documentés pour une démarche diagnostique optimale. L'examen parasitologique des selles doit être réalisé par un personnel averti, formé à la diagnose des différentes espèces de parasites pouvant infecter l'homme mais il doit également savoir reconnaitre les éléments non pathogènes et les faux-parasites.

Mots clés

Selles, parasites intestinaux, faux-parasites, protozoaires, helminthes

Summary

Examination of stool for parasites generally includes macroscopic and microscopic observation to look for intestinal parasites: protozoa trophozoites and cysts, helminth eggs, larvae or adults. Diagnosis is based on analytical techniques accessible to every clinical biology laboratory. Epidemiological, clinical and biological informations should be correctly noticed for an optimal diagnostic approach. Examination of stool for parasites have to be performed by experienced operators, trained to diagnose human pathogens but also to identify commensal agents and false-parasites.

Key words

Stools samples, intestinal parasites, false-parasites, protozoa, helminth

Introduction

En coprologie parasitaire l'examen de base consiste à examiner les selles sur le plan macroscopique et microscopique. Il permet le diagnostic d'un grand nombre de parasites intestinaux (vers ou protozoaires) et extra-intestinaux (œufs de douves des voies biliaires voire du poumon après déglutition [1]; œufs de schistosomes) pour lesquels les selles constituent le véhicule normal de leur forme de dissémination dans le milieu extérieur. L'examen parasitologique des selles (EPS) est demandé par le médecin généraliste ou spécialiste, par le médecin du travail. Il peut s'agir d'un examen systématique par exemple après un long séjour en zone chaude du globe ou dans le cadre d'une embauche (cuisiniers, égoutiers, …) à titre de prévention d'une transmission oro-fécale ou d'une demande guidée par des signes cliniques ou biologiques évocateurs. Une bonne collaboration entre le médecin et le biologiste est donc nécessaire, car les renseignements permettront d'orienter les recherches. Chaque parasite est mis en évidence par une ou plusieurs techniques plus ou moins spécifiques. On aura parfois recours à des prélèvements spéciaux, par exemple : test à la cellophane adhésive ou « scotch-test » anal, biopsie rectale, tubage duodénal [2].

Conduite de l'examen parasitologique des selles

L'interrogatoire du malade est indispensable, il précisera : l'origine géographique du malade et/ou ses éventuels voyages ; la durée du séjour, la date de début des troubles (au cours du voyage ou après le retour) ; les habitudes culinaires : cresson, viande rouge, poisson cru, etc... ; les antécédents personnels et familiaux ; la nature des troubles motivant l'examen : troubles du transit intestinal (diarrhée, alternance diarrhée-constipation), douleurs abdominales, nausées, vomissements, prurit anal (oxyurose), *larva currens* (anguillulose), élimination spontanée de vers (anneaux de ténia ou de bothriocéphale, adultes d'oxyure ou d'*Ascaris*) ; les résultats des explorations biologiques [3]. Par exemple, l'hyperéosinophilie oriente vers une helminthose et correspond généralement à la migration tissulaire du parasite ; l'examen des selles peut alors être négatif. Une anémie peut être due à une ankylostomose, exceptionnellement à une trichocéphalose (anémie microcytaire et hyposidérémique) [4]. En cas d'anémie mégaloblastique on peut pensez à la classique mais géographiquement limitée bothriocéphalose même si aujourd'hui une anémie est rarement observée dans cette cestodose [5]. Avant un traitement immunosuppresseur, il est impératif de rechercher une anguillulose si le patient a séjourné en zone d'endémie du fait du risque de provoquer une anguillulose maligne souvent mortelle, parfois même très longtemps après le retour [6].
Si l'examen est programmé à l'avance, le biologiste peut rappeler au patient de ne pas utiliser de charbon végétal, des sels de bismuth ou des produits laxatifs huileux dont les cristaux et les bulles peuvent gêner la lecture au microscope. Il faut également éviter les fibres végétales dans les 2 à 3 jours précédent l'analyse des selles, précautions qui permet d'obtenir un bol fécal de volume réduit, de consistance molle et de constitution homogène et donc conseiller un régime à faibles résidus cellulosiques (biscottes, pâtes,

riz, œuf, laitage, poisson). Il faut également éviter choux, salades, légumes verts et secs (lentilles, haricots, petits pois), pomme de terre, fruits (surtout poires, pommes, fraises, figues) qui épaississent les culots de concentration. De même on doit s'abstenir de consommer du foie de bovins et plus particulièrement de moutons (problème de faux positifs avec des œufs de douves en transit) [7].

Le prélèvement doit être examiné rapidement dans l'heure après l'émission des selles pour la recherche des formes végétatives d'amibes et de flagellés, si possible sur des selles émises au laboratoire. La totalité de la selle doit être recueillie sans urines (celles-ci tuent les protozoaires) et dans un récipient propre, sec et transparent mais non nécessairement stérile, permettant une étude macroscopique du recueil. L'examen peut être différé pour la recherche d'œufs ou de kystes. Dans ce cas le recueil des selles peut être effectué hors laboratoire. En effet ces éléments parasitaires se conservent pendant plusieurs jours à la température ambiante. Mais attention certains protozoaires ne donnent pas de kystes (*Dientamoeba fragilis*, *Pentatrichomonas hominis*) et sont donc fragiles. A noter que certains œufs de parasites se trouvent le plus souvent en dehors des selles, notamment les œufs d'oxyures généralement sur la marge anale. Il peut également y avoir un problème de diagnose entre anguillule et ankylostome si la selle est examinée plus de 48 heures après l'émission. En effet, les œufs de ce dernier peuvent s'embryonner et donner des larves rhabditoïdes en 48 heures, or l'anguillule femelle émet directement des larves rhabditoïdes, de morphologie très proche, dans les selles [8].

Un EPS négatif n'a pas de valeur. Il faut renouveler l'examen en tenant compte de l'existence de période de mutité dans l'expression de certains parasites (par ex. 5 à 8 jours pour l'amoebose ; 7 à 10 jours pour la giardiose, l'anguillulose). Généralement il est pratiqué 3 prélèvements de selles à 4-5 jours d'intervalle entre chaque recueil. Il faut également garder à l'esprit que la présence d'un ver dans l'organisme n'est le plus souvent décelée par l'analyse des selles que lorsque celui-ci a atteint l'âge de la reproduction. Ainsi la période d'invasion est coprologiquement muette alors que les signes cliniques sont manifestes [9].

L'examen macroscopique peut révéler la présence d'anneaux de *Tænia*, d'adultes d'*Ascaris* ou d'oxyures voire de faux-parasites éliminés par le patient. La consistance de la matière fécale peut orienter le diagnostic et aide à choisir la technique à utiliser. Elle est indifférente pour les œufs d'helminthes. Par contre les kystes de protozoaires seront recherchés dans une selle moulée, alors que les formes végétatives d'amibes, les flagellés, les cryptosporidies et microsporidies voire les larves de *Strongyloides stercoralis* seront plutôt recherchées dans une selle liquide, diarrhéique voire pâteuse [10]. L'aspect est également important. Les selles de couleur jaune chamois et fétides, évoquent une giardiose [11]. Les selles couvertes de stries muco-sanglantes ou de glaires (crachat rectal) peuvent contenir des amibes hématophages (*Entamoeba histolytica*) ou des œufs de schistosomes [12].

Pour l'analyse coprologique microscopique proprement dite, les dispositions légales exigent l'utilisation d'un examen direct et d'au moins deux techniques de concentration laissées à l'appréciation du biologiste [13]. La préparation des échantillons doit toujours être réalisée sous poste de sécurité

microbiologique. On veillera à prélever la selle à différents endroits en surface et en profondeur car la répartition des éléments parasitaires est inhomogène.

L'examen direct consiste à observer entre lame et lamelle un étalement mince de selle fraiche avec ou sans dilution, avec ou sans coloration. Il est essentiel et permet de trouver la plupart des parasites (kystes de protozoaires et œufs d'helminthes) et d'étudier la mobilité des formes végétatives des protozoaires. La préparation doit être lue extemporanément pour éviter la lyse de certains éléments parasitaires fragiles. Par exemple les oocytes des coccidiomorphes se vident dès le début de la dessiccation de la lame. Il faut parcourir méthodiquement la totalité de la lamelle avec un objectif à faible grossissement et vérifier à plus fort grossissement tout élément suspect (ne jamais commencer par le fort grossissement). Les formes végétatives de protozoaires doivent être recherchées en atmosphère chaude. On peut utiliser une étuve de Foot ou un microscope à platine chauffante intégrée ou *a minima* maintenir la préparation sur platine chauffante avant observation microscopique. En cas d'examen microscopique différé, il est possible de fixer les selles par la technique de Merthiolate-Iode-Formol (MIF) voire par colorations au noir chlorazole ou à l'hématoxyline ferrique mais ces dernières techniques sont plus contraignantes et nécessitent d'effectuer de suite un frottis fécal [2, 10]. Si l'examen direct montre des leucocytes et des hématies en abondance, une maladie intestinale inflammatoire doit être évoquée.

Les techniques de concentrations sont indispensables et doivent être faites systématiquement. Elles ont pour but de réunir dans un plus petit volume des éléments parasitaires en trop petite quantité pour être décelés à l'examen direct. Il existe de nombreuses techniques de concentration. Chaque laboratoire choisit "sa technique" de concentration, polyvalente pour le plus grand nombre de parasites courants. Mais il faut savoir recourir à une ou plusieurs techniques de remplacement pour rechercher des parasites particuliers. Chaque méthode à ses indications précises. Le choix des techniques appartient au biologiste et dépend donc de l'habitude que l'on en a, de l'origine géographique du patient ou du lieu de séjour, de l'aspect de la selle, du parasite recherché, de l'agressivité de la méthode pour le parasite, des moyens dont on dispose. Toutes les techniques de concentrations exigent la dilution homogène des selles avec un agitateur de Thoulet et une élimination des débris lourds ou volumineux par filtrage à travers un tamis. C'est sur le liquide résiduel que l'on travaille.

Il existe deux grands groupes de méthodes : les méthodes physiques par sédimentation ou par flottation et les méthodes diphasiques ou physico-chimiques qui comportent toujours deux étapes successives [2, 10].

- Les méthodes physiques consistent à diluer les selles dans un liquide de densité différente de celle des parasites. Lorsque le liquide à une densité inférieure à celle des parasites, ceux-ci se déposeront (sédimentation : Faust et Ingalls). A l'inverse si le liquide à une densité supérieure à celle des parasites, les éléments parasitaires remontent à la surface (flottation : Willis, Janeckso Urbanyi). Attention, dans ce cas, le prélèvement doit être effectué rapidement (dans les 30 minutes) pour être dans les conditions optimales.

- Les méthodes diphasiques utilisent un réactif qui dissout ou garde en suspension certains résidus fécaux. On obtient 2 phases liquides non miscibles, une aqueuse et l'autre solvant les lipides ainsi qu'une concentration des œufs et des kystes de parasites dans un culot sous l'effet de la centrifugation (Faust, Ritchie, Thébault, MIF concentration, …).

D'autres techniques spéciales sont à réaliser en fonction des renseignements fournis par le patient ou par le médecin prescripteur. C'est le cas du test de Graham à la cellophane adhésive pour la recherche d'œufs d'oxyures ou d'embryophores de *Tænia saginata*. La recherche de larves rhabditoïdes est optimisée par la technique de Baermann pratiquée sur des selles fraiches. Une alternative à la technique de Baermann est la coproculture parasitaire d'Harara-Mori ou d'Arakaki [9]. Ces techniques permettent d'obtenir le cycle stercoral des anguillules et donc une multiplication des différents stades parasitaires. Elles permettent aussi l'éclosion des œufs d'ankylostome et ainsi de faire la différence entre *Ancylostoma duodenale* et *Necator americanus* [4]. La protozooculture permet de multiplier les formes végétatives des amibes, des ciliés et des flagellés (sauf *Giardia*) pour l'étude, en particulier, de leur mobilité [2].

La taille d'un élément parasitaire est d'une importance capitale pour son identification. Il est donc nécessaire d'avoir à disposition un oculaire micrométrique étalonné. L'identification des parasites s'effectue grâce à des critères morphologiques précis. Pour les formes végétatives d'amibes, en dehors de la taille, doit être pris en compte la mobilité et la forme du pseudopode, la morphologie du noyau, le contenu du cytoplasme. Pour les formes kystiques en plus de la taille le biologiste apprécie la forme, le contenu kystique dont le nombre de noyaux. Pout les œufs outre la taille, il faut prendre en compte la forme, la couleur et la structure de la coque ainsi que son contenu.

D'autres techniques sont aujourd'hui utilisées ou en cours d'évaluation comme la recherche de coproantigènes, l'utilisation d'anticorps monoclonaux que ce soit par immunofluorescence ou par immunofixation ou Elisa et la biologie moléculaire [14-19]. Par exemple, pour les protozoaires les techniques immunoenzymatiques ciblent les antigènes de surface à la fois présents dans les formes végétatives et kystiques. Elles sont surtout utilisées pour la recherche d'amibes du genre *Entamoeba* ou *Giardia* mais également pour les cryptosporidies [15]. Plusieurs techniques de PCR ont été développées principalement des techniques de PCR en temps réel. Certaines d'entre elles permettent la détection de plusieurs pathogènes simultanément, les PCR multiplex [16-19]. Ces techniques, de plus en plus commercialisées et donc facilement accréditables s'insèrent peu à peu dans les outils des laboratoires. Leur sensibilité est très bonne mais l'interprétation est parfois délicate en terme de spécificité [20].

Causes d'erreurs de diagnostic

L'EPS peut être faussement négatif ou au contraire faussement positif.

A - Faux négatifs

1 - Absence de forme décelable

Certains parasites ne donnent pas de formes décelables dans les selles car l'intestin n'est pas la voie normale d'élimination (exemple: trichine, kyste hydatique, filaires). Parfois la ponte ne se fait pas dans l'intestin, mais au niveau de la marge anale (exemple: oxyures). A noter également la possible absence de parasite femelle, aucun œuf ne peut alors être émis (exemple: parasitisme uniquement par un ou des *Ascaris* mâles). L'examen parasitologique des selles a été effectué trop rapidement et les parasites sont encore immatures, (exemple: la grande douve met 3 mois pour devenir adulte et pondre des œufs or les signes cliniques apparaissent 1 mois après l'infestation) [21]. Enfin, il peut s'agir de parasites d'animaux en impasse parasitaire. Ils ne peuvent donc pas, normalement, devenir adultes chez l'Homme (exemple: *Toxacara canis* qui entraîne un syndrome dit de *Larva migrans* viscérale marqué souvent par une hyperéosinophilie, le diagnostic biologique est donc essentiellement sérologique) [22].

2 - Rareté du parasite

Le parasitisme est de modeste intensité ou la reproduction du parasite est très faible (exemple: grande douve du foie) rendant sa détection aléatoire. Comme nous l'avons déjà dit, il peut y avoir des périodes de mutité ou période "négative" chez certains parasites particulièrement les protozoaires [10].

3 - Mauvaise préparation du malade

Une purgation intempestive entraîne une dilution des selles et donc des parasites. Une prise médicamenteuse de charbon végétal, de bismuth, de composés barytés, d'huiles laxatives, de suppositoires,… peut entrainer une forte diminution de la lisibilité des selles lors de l'examen microscopique en augmentant le volume des culots de centrifugation ou des pellicules de flottation et dissimulant ainsi des parasites authentiques [23].

4 - Fautes techniques

L'examen est effectué trop tardivement après l'émission des selles. Nous rappelons que la lyse des formes végétatives de protozoaires est effective en 1 à 2 heures d'autant plus si la selle n'est pas conservée au chaud d'où l'intérêt de fixer les selles diarrhéique dans une solution de MIF. Parfois c'est le choix des techniques de concentration qui est inadapté au parasite recherché ou les techniques sont mal exécutées (dilution trop rapide ou trop importante des selles) par manque de compétence du technicien [23].

B - Faux Positifs

Certains éléments peuvent entraîner des confusions dans le diagnostic coprologique parasitaire. Ces aspects trompeurs peuvent être à l'origine d'examens faussement positifs induisant le clinicien en erreur et conduisant à prescrire au patient un traitement inutile.

1. Eléments non parasitaires confondus avec des parasites.

La reconnaissance de nombreux résidus de la digestion est fondamentale afin de ne pas les confondre avec des éléments parasitaires. Bien qu'il ne soit pas possible de mettre un nom sur tous les résidus, tous les biologistes doivent connaître la possibilité de pseudo-parasites [23-25]. Plusieurs pièges peuvent être listés.

Sur le plan microscopique, les savons alcalino-terreux et les diatomées, bien qu'optiquement vides mais à structure souvent striée, peuvent être confondus avec les embryophores de *Tænia*. Les dimensions des grains de pollens ou des spores de champignons est très variable en fonction des espèces végétales et fongiques et peuvent aller de 3µm (*Myosotis*) à 200µm (*Mirabilis* ou belle de nuit) pouvant donc être confondus avec des kystes ou des œufs de parasites. Par exemple, les spores de morilles ovalaires, incolores et au contenu limpide *(figure 1A)* peuvent être prises pour des œufs d'oxyures *(figure 1B)* mais ceux-ci sont plus grands (50µm) ou à des kystes de *Giardia intestinalis (figure 1C)* ou des oocyste de *Cystoisospora belli* voire leurs tailles sont identiques mais les kystes de *Giardia* et de *Cystoisospora belli* ont un contenu caractéristique. Les spores fusiformes de cèpe au contour net et couleur brune *(figure 2A)* ressemblent aux œufs de petites douves de chine mais ces derniers possèdent un opercule *(figure2B).* Les spores de girolle sont légèrement plus petites que les kystes incolores d'*Endolimax nanus* et leur paroi externe est un peu plus épaisse et d'aspect jaune brun. Les oospores du mildiou des petits pois (*Peronospora pisi*), les spores d'artichaut ou de truffe *(figure 3A)* ainsi que les pollens de chardon ou de tournesol peuvent faire penser aux œufs d'*Ascaris* mais leurs parois externes sont hérissées de petits piquants alors que la coque de l'œuf d'*Ascaris* est mamelonnée *(figure3B).* Le pollen de safran et celui de laurier sauce *(figure 4A)* ont la taille et la couleur des embryophores de *Taenia* ou d'*Hymenolepis diminuta (figure 4B)* mais le contenu est uniforme. Les poils de pêches ou de céréales évoquent les larves d'anguillules mais ces dernières possèdent un œsophage bien visible alors que le canal central des poils est vide et leur paroi épaisse et réfringente *(figure 5).* Les cellules de féculents ou grains d'amidon, de taille, de forme et d'aspect variable, sont de couleur jaune à brun plus ou moins foncé et sont parfois confondus avec toutes sortes d'œufs! Les sporozoaires parasite des écrevisses d'Europe de l'Est (*Psorospermium haeckeii)*, de grande taille (100 à 210µm), peuvent être confondues avec des œufs de schistosome, l'absence d'éperon est un élément déterminant du diagnostic différentiel. Un microscopiste débutant peut confondre les cellules épithéliales ou les leucocytes avec les formes végétatives d'amibes mais la présence d'un gros noyau visible à frais et d'un cytoplasme très granuleux doit permettre de les distinguer de ces dernières. Les macrophages sont plus grands et phagocytent des levures, des bactéries et même des hématies et peuvent, de ce fait, être confondus avec des amibes hématophages d'autant plus s'ils présentent des boursouflures cytoplasmiques qu'il ne faut pas prendre pour des pseudopodes. Les bulles d'air ou les globules de graisse peuvent être confondus avec des kystes de protozoaires mais ces dernières on une paroi épaisse, très réfringente et de couleur noire. De plus, en faisant varier la mise au

point du microscope on fait apparaitre le ou les noyaux des kystes. Pour en savoir plus, les biologistes intéressés peuvent consulter l'excellente revue réalisée à ce sujet par Pethitory et al. [25].

Les pièges existent également sur des formes macroscopiques. Un patient peut apporter au laboratoire un « ver » qu'il a retrouvé dans les toilettes et dont il est persuadé qu'il a bien été émis dans ses selles. L'observation du parasite se révèle parfois être un vulgaire ver de terre *(figure 6A)*, pris pour un *Ascaris lumbricoïdes (figure 6B)*, ver qui a remonté les canalisations lors de fortes pluies par exemple ou lors d'un défaut de fonctionnement de la fausse septique. Attention aussi aux petits vers blancs retrouvés sur les selles d'un enfant resté sur le pot assez longtemps pour qu'une mouches coprophile vienne déposée ses asticots, essentiellement en été, à la surface de la selle, et pouvant avoir la même taille qu'un adulte d'oxyure. Mais elles sont généralement plus grosses et possèdent des crochets buccaux et des stigmates respiratoires visibles à la loupe (parasite du pot de chambre). Certains patients persuadés d'être parasités par un *Tænia* résistant au traitement antihelminthique, pourtant bien conduit, recueillent dans un récipient, pour preuve irréfutable, des résidus alimentaires, souvent blancs et bien visibles à l'œil nu qu'ils assurent être les anneaux de « son » ver. En réalité, il s'agit d'agglomérats d'arthrospores de *Geotrichum* sp. liés à des fragments de muqueuse intestinale. Un syndrome d'Ekbom peut être à craindre. Celui-ci est réel lorsque le patient apporte au laboratoire des milles-pattes, des chenilles,… provenant soit d'une contamination exogène soit d'éléments ajoutés dans la selle par le malade lui-même. Si le patient s'obstine à rapporter à ces éléments les maux dont il se plaint, il relève de la compétence des psychiatres et non des parasitologues [23]. Les outils de séquençage moléculaire permettent de confirmer la nature parasitologique d'un élément et d'identifier avec une grande précision le genre et l'espèce du parasite en cause [26].

2. Utilisation d'eau du robinet au lieu de l'eau physiologique

Il peut y avoir souillure de cette eau par des flagellés, amibes libres, infusoires voire *Rhabditis* libres, d'autant que le tube d'eau du robinet reste ouvert sur la paillasse. Les fleurs coupées et les plantes en pot n'ont rien à faire dans un laboratoire d'analyse médicale car le moindre courant d'ait peut transporter de fines particules de ces fleurs ou de la terre des plantes chargées de kystes de protozoaires voire d'œufs ou de larves d'helminthes tellurique [27]. Ces larves de toutes tailles possèdent des stylets buccaux long et chitineux les différenciant des larves rhabditoïdes d'ankylostomes ou d'anguillule. Les paramécies, non pathogènes, sont à différencier des formes végétatives de *Balantidium coli* parasite normal du porc et très rarement rencontré chez l'homme.

3. « Parasites » en transit

Il est relativement fréquent d'observer des œufs de petites douves du foie lors d'un examen de selles. Il s'agit presque toujours d'œufs de *Dicrocoelium dendriticum* en transit chez un individu qui a consommé la veille ou l'avant-veille du foie de mouton, hôte définitif principale de cette douve. Des

globules réfringents à l'intérieur des œufs permettent d'évoquer une cuisson préalable ou des œufs immatures. Il suffit de renouveler l'analyse après une semaine de régime sans foie ni pâté pour éliminer une authentique parasitose [21]. Des œufs de douve de poissons du genre Didymozoida peuvent être également observés dans les selles de patients asiatiques. A noter que les œufs de *Capillaria hepatica (figure 7A),* parasite de mammifères habituellement en transit chez l'homme peuvent être confondus avec des œufs de *Trichuris trichiura (figure 7B)* mais ils sont plus grands et les bouchons polaires sont aplatis. Il en est de même pour les œufs de type ankylostomes comme ceux d'*Heterodera radicicola* ("anguillule" des betteraves, des radis, des carottes ...). Ces œufs sont cintrés avec un côté convexe et un côté concave. Les extrémités sont arrondies et le contenu est variable mais présente un globule réfringent à chacun des 2 pôles. Ils contiennent de 4 blastomères à 1 morula complète. Ils mesurent de 80 à 120 µm sur 45 à 50 µm *(figure 8A).* Il en est de même pour les œufs d'acariens, en particulier *Tyroglyphus farinae*. Ces œufs, également en transit, après la consommation de croûtes de fromages "secs" ou de farines contaminées par exemple, mesurent de 100 à 140 µm sur 50 à 80 µm. Ils sont ovalaires, incolores à brun clair. Le contenu est variable de plusieurs blastomères à une morula, voire même d'un embryon formé *(figure 8B).* Rappelons que les œufs d'ankylostome mesurent 60 à 70 µm sur 40 µm *(figure 8C).* Si les œufs d'acariens ont été cuits le diagnostic différentiel concerne alors les œufs de grande douve ou de bothriocéphale. Enfin il est également possible d'avoir sous le microscope des coccidies en transit, par exemple après consommation de poisson non éviscéré (sardines,…), de poulet ou de lapin mal éviscérés et insuffisamment essuyer ou lavé avant cuisson avec les chairs souillées par de micro déjections de l'animal lui-même. Il s'agit de coccidies du genre *Emeria*, non pathogènes pour l'homme [23].

4. Erreur de détermination

Chez les helminthes, les œufs de trichocéphale vus de ¾ peuvent être confondus avec des œufs de petite douve, de même certains œufs infertiles d'*Ascaris lumbricoïdes* confondus avec ceux de la grande douve du foie *Faciola hepatica,* mais ces derniers sont plus grands (>à 100 µm). Peuvent également être confondus avec les œufs d'ankylostome, les œufs de *Trichostrongylus* spp., nématodes parasites du mouton, de la chèvre, du chameau, de la vache, etc… mais parfois de l'homme. Ces œufs sont plus grands : 75 à 100 µm sur 35 à 45 µm, de forme ovoïde et asymétrique sur le grand axe (un côté bombé et un côté plat) et le petit axe (une extrémité plus étroite). Ils contiennent de 8 à 32 blastomères à l'émission suivant l'espèce *(figure 8D).* Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont : *T. colubriformis* et *T. orientalis* [28]. Plus accidentellement, les œufs de *Ternidens deminutus*, parasite habituel du singe peuvent être observés. Ces œufs de 70 à 80 µm sur 45 à 55 µm contiennent 2 à 8 blastomères. Ils sont de forme ovoïde mais asymétrique sur les 2 axes. Enfin, les œufs de *Syngamus laryngeus,* parasite du tractus respiratoire de certains mammifères peuvent exceptionnellement se rencontrer chez l'Homme provoquant une irritation de la trachée et des hémoptysies. Les œufs retrouvés dans les crachats et les selles sont ovoïdes, mesurent 80/50µm) et contiennent 2 blastomères [4]. Le pollen du pin, un peu plus petit, à une

morphologie similaire (figure9) [24, 25]. Les larves rhabditoïdes d'ankylostome ou d'anguillule peuvent être confondues avec des larves de *Rhabditis* libres mais celles-ci sont caractérisées par un pharynx très marqué épais et chitinisé. De plus le premier renflement œsophagien est plus trapu. En ce qui concerne les protozoaires, des erreurs de détermination peuvent se voir surtout si le microscopiste ne retient qu'un seul critère et non le faisceau de caractères que nous avons listé plus haut. Par exemple la taille entre les kystes d'*Entamoeba dispar* et ceux d'*Entamoeba coli* nain ou de *Iodamoeba (Pseudolomax) butchlii* est identique, environ 12 à 14 µm. Le nombre de noyaux ne suffit pas. A titre d'exemple, les kystes d'*Entamoeba polecki* à maturité ont 1 noyau, ceux d'*E. dispar* et d'*E. hartmanni* 4 noyaux et ceux d'*E. coli* 8 noyaux, or les prékystes de ces 3 espèces passent obligatoirement par le stade 1 puis 2, puis 4 noyaux. Les arthrospores de *Geotrichum* voire les levures peuvent être confondus avec les kystes d'*Endolimax nanus*, cependant leurs contours sont plus nets, plus marqués et contiennent des grains réfringents. Il ne faut pas confondre les trachéites provenant des vaisseaux spiralés de certains légumes avec des kystes d'amibes ; la taille peut correspondre mais les trachéites très réfringentes ont un contour double à reflet verdâtre et totalement vide. Les *Blastocystis* peuvent être confondus avec différent kystes de protozoaires du fait de leur taille variable (5 à 20 µm) mais ils présentent une morphologie caractéristique : vacuole centrale et coque épaisse à double contour contenant plusieurs petits noyaux. Enfin, la coloration de Zielh-Neelsen modifiée colore en rouge les bulles de graisse mais celles-ci n'ont ni paroi bien définie ni organisation interne ce qui permet de les différentier des oocystes de coccidies [24].

Enfin, la présence de cristaux de Charcot-Leyden en « aiguille de boussole » doit être signalée *(figure 10A)*. Ils proviennent de la lyse des polynucléaires éosinophiles et témoignent d'un état allergique de la muqueuse intestinale et peuvent être le reflet d'une véritable helminthose, parfois tissulaire comme les anisakiases, les bilharzioses, les distomatoses,…. Il ne faut pas les confondre avec les cristaux en aiguille d'origine alimentaire comme ceux d'épinards, d'asperge d'ananas, de kiwi *(figure 10B)* [25].

Conclusion

L'EPS met en évidence et identifie les parasites vivant dans le tube digestif de l'homme ou ses annexes biliaires, voire de l'appareil respiratoire (paragonimose) ou ceux pour lesquels les selles sont la voie normale de leurs formes de dissémination dans le milieu extérieur (parasites des muqueuse intestinale). Cet examen de selles demande du personnel hautement qualifié, qui saura mettre en place des techniques adaptées et qui pourra reconnaitre les différents éléments parasitaires et non parasitaires avec certitude, l'identification des parasites restant encore essentiellement très morphologique. Les avancées de la biologie moléculaire laissent envisager l'usage de ces nouveaux outils étant donné leur bonne sensibilité, la possibilité d'identification par séquençage, le tout avec des contraintes pré-analytiques plus souples que pour la microscopie.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Points à retenir

- Trois examens parasitologiques de selles à 4 ou 5 jours d'écart sont conseillés en cas de suspicion d'une parasitose digestive.
- Le diagnostic biologique de certitude des parasitoses intestinales repose essentiellement sur la découverte de formes végétatives, de kystes, d'œufs et de larves caractéristiques dans les selles.
- L'identification des différentes espèces de parasites intestinaux repose sur différents critères comme la taille, la forme, la couleur, le contenu de l'élément parasitaire après examen direct et techniques de concentrations appropriées selon les parasites recherchés.
- La détection de plusieurs helminthes ou protozoaires par PCR multiplex devient une technique accessible et sensible mais d'interprétation parfois délicate en termes de spécificité.
- Certains résidus alimentaires peuvent être confondus avec des éléments parasitaires et de vrais parasites peuvent être en transit chez l'homme nécessitant un personnel de laboratoire hautement qualifié.

Références

[1] Stobel M, Veasna D, Saykham DN, et al. La paragonimose pleuro-pulmonaire. Med Mal Inf 2005 ; 35 :476-81.

[2] Bailenger J. Coprologie parasitaire et fonctionnelle. Ed Drouillard, Bordeaux, 1965.

[3] Anofel. Parasitoses et Mycoses des régions tempérées et tropicales. Elsevier Masson, Issy-Les-Moulineaux ; 2016. 470pp.

[4] Guiguen C, Robert-Gangneux F. Oxyurose, trichocéphalose et ankylostomoses. Encyclopédie médico chirurgicale, 2018, volume15, N°4, 8-515-A-25, 17pp.

[5] Bourée P, Dahane N, Resende P, et al. Les cestodes et leur diagnostic au laboratoire. Rev Fr Labo 2012; 440: 67-73.

[6] Robert Gangneux F, Mergey T. Les nématodes intestinaux à transmission transcutanée.ESKA Section XIII Parasitologie chapitre 10 2012 ;2 :1-13.

[7] Haridy FM, Morsy TA, Ibrahim BB, et al. A preliminary study on dicrocoeliasis in Egypt, with a general review. J Egypt Soc Parasitol 2000; 30:451-4.

[8] Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Stongyloïdes stercoralis* infection. Clin Infect Dis 2001;33:1040-7.

[9] Desoubeaux G, Chandenier J. Nématodoses intestinales : aspect épidémio-cliniques et diagnostic. Rev Fr Labo 2012; 440 :39-55.

[10] Anofel. Diagnostic par nature du prélèvement. In Parasitologie et mycologie médicales - Guide des analyses et pratiques diagnostiques. Elsevier Masson, Issy-Les-Moulineaux ; 2017. p 95-155.

[11] Favennec L. Epidémiologie et diagnostic de la giardiose humaine : quoi de neuf ? Rev Fr Labo 2012, 440 : 35-8.

[12] Guiguen C, Belaz S, Robert-Gangneux F, Gangneux JP. Les bilharzioses : aspects épidémio-cliniques et diagnostiques. Rev Fr labo 2013, 457 : 75-85.

[13] Nomenclature des actes de biologie médicale – CNAMTS – version 53, décision du 31 janvier 2019.

[14] Nkouawa A, Sako Y, LI T, et al. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method using fecal specimens for differential detection of *Taenia* species from humans. J Clin Microbiol 2010; 48:3550-2.

[15] Gaafar MR. Evaluation of enzyme immunoassay techniques for diagnosis of the most common intestinal protozoa in fecal samples. Int J Infect Dis 2011;15:e541-4.

[16] Verweij JJ, Blange RA, Templeton K, et al. Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real time PCR. J Clin Microbiol 2004; 42:3317-20.

[17] Basuni M, Muhi J, Othman N, et al. A pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of four species of soil-transmitted helminths. Am J Trop Med Hyg 2011; 84:338- 43.

[18]Taniuchi M, Verweij JJ, Noor Z, et al. High Throughput Multiplex PCR and Probe-based Detection with Luminex Beads for Seven Intestinal Parasites. Am J Trop Med Hyg 2011; 84:332-7.

[19] Autier B, Belaz S, Razakandrainibe R, et al. Comparison of three commercial multiplex PCR assays for the diagnostis of intestinal protozoa. Parasite 2018 ; 25 :48.

[20] Lemétail D. Retour d'expérience pour l'examen parasitologique des selles : revue des techniques et implications pour l'accréditation. Rev Fr Labo 2020 ; 518 :20-31.

[21] Collet JP, Récopé S, Dreyfuss G, Dardé ML. Les distomatoses et leur diagnostic au laboratoire. Rev Fr Labo 2012; 440:57-66.

[22] Smith HV, Holland C, Taylor M, et al. Hox common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. Trends Parasitol 2009; 25:182-8.

[23] Golvan YJ, Ambroise Thomas P. Les nouvelles techniques en parasitologie. Ed Flammarion, Paris, 1984, 298pp.

[24] Mougeot G. Conduite des examens en parasitologie. Ed Masson, Paris 1995, 99pp.

[25] Pethitory JC, Ardoin Guidon F. Vrais et faux parasites en coprologie microscopique. Cahier de formation, Biologie médicale 1995, 3: 184pp.

[26] Autier B, Belaz S, Degeilh B, et al. *Dibothriocephalus nihonkaiensis*: an emerging foodborne parasite in Brittany (France)? Parasit Vectors. 2019 28;12(1):267.

[27] Guiguen C, Simitzis Leflohic A.M, Beaucournu J.C. Des aléas de la coproculture en parasitologie. Ann Biol clin 1984 ; *42* : 321.

[28] Thibert JB, Guiguen C, Gangneux JP. Diagnostic microcospique différentiel des œufs de type Ankylostomidé : à propos d'un cas de trichostrongyloïdose. Ann Bio Clin 2006 ; 64 : 281-5.

Légendes des figures

Fig 1: A: Spore de morille, B: Œuf d'oxyure, C: Kyste de *Giardia* (e.anofel)

Fig 2: A : Spore de cèpe, B : œuf de douve de chine (e.anofel)

Fig 3: A : Spore de truffe (e.anofel), B : Œuf d'*Ascaris* (parasitologie-Rennes)

Fig 4: A : Pollen de laurier sauce [25], B : Œuf d'*Hymenolepis diminuta* (parasitologie-Rennes)

Fig 5: Poil de pêche et larve rhabditoïde d'anguillule (e.anofel)

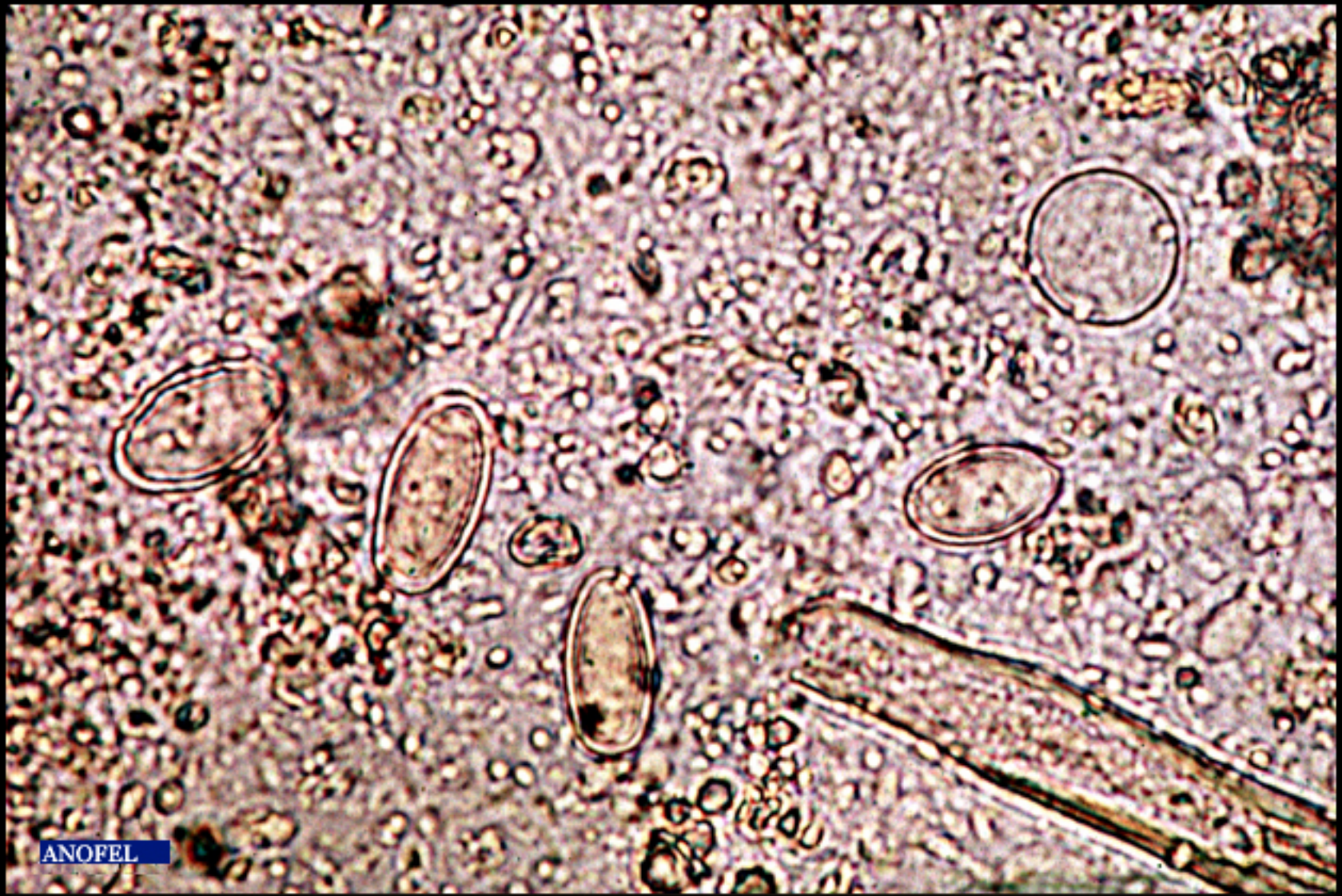
Fig 6: A : Ver de terre (e.anofel), B : *Ascaris* femelle (parasitologie-Rennes)

Fig 7: A : Œuf de *Capillaria,* B : Œuf de trichocéphale (e.anofel)

Fig 8: Œufs de type ankylostome: A : *Heterodera radicicola*; B : Acarien; C : *Ancylostoma duodenale*; D : *Trychostongylus* sp. (e.anofel ; parasitologie-Rennes)

Fig 9: Œuf de *Syngamus laryngeus* et Pollen de pin (e.anofel)

Fig 10 : A : Cristaux de Chacot-Leyden (e.anofel), B :cristaux en aiguille d'origine alimentaire [25]

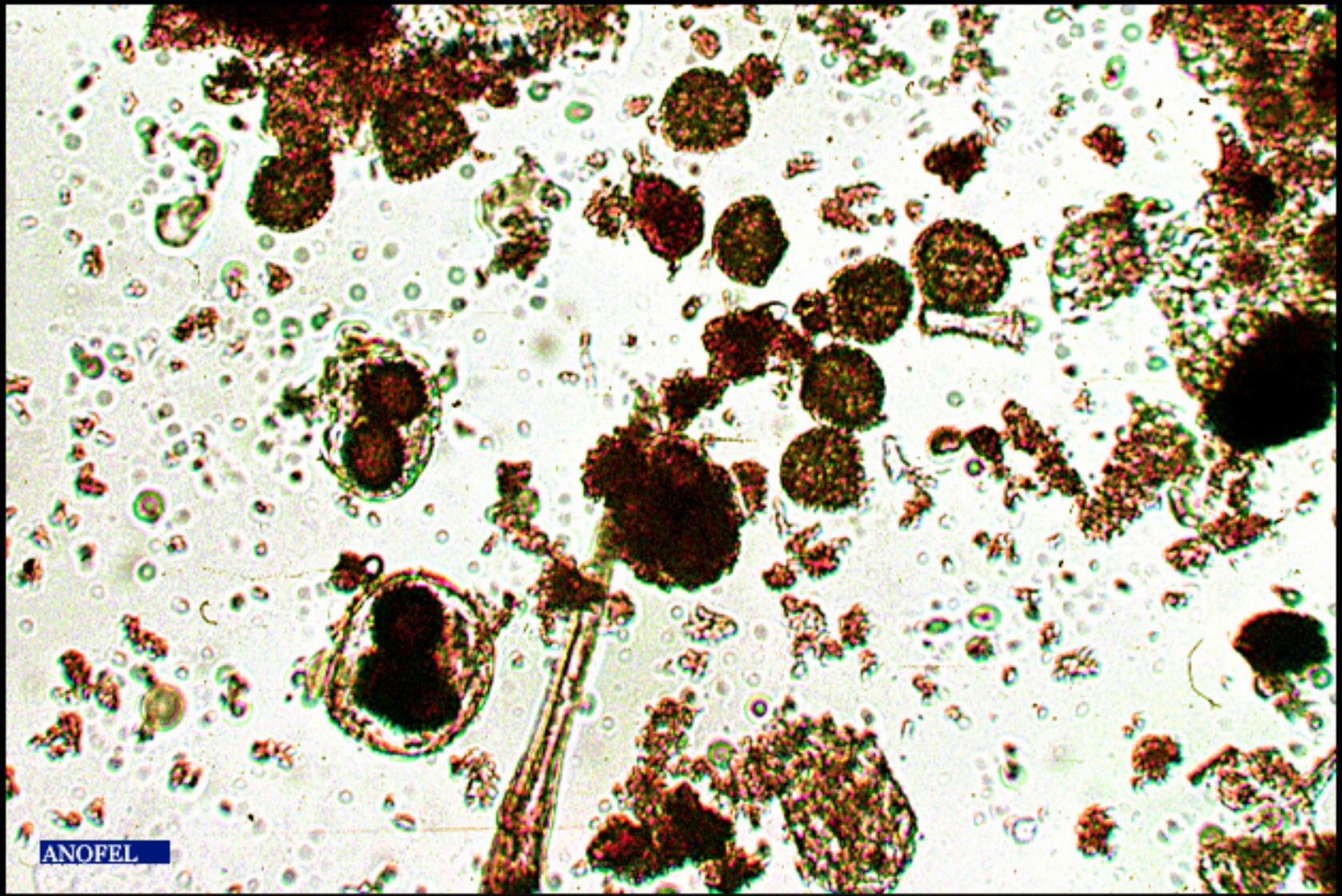

ANOFEL


ANOFEL


ANOFEL

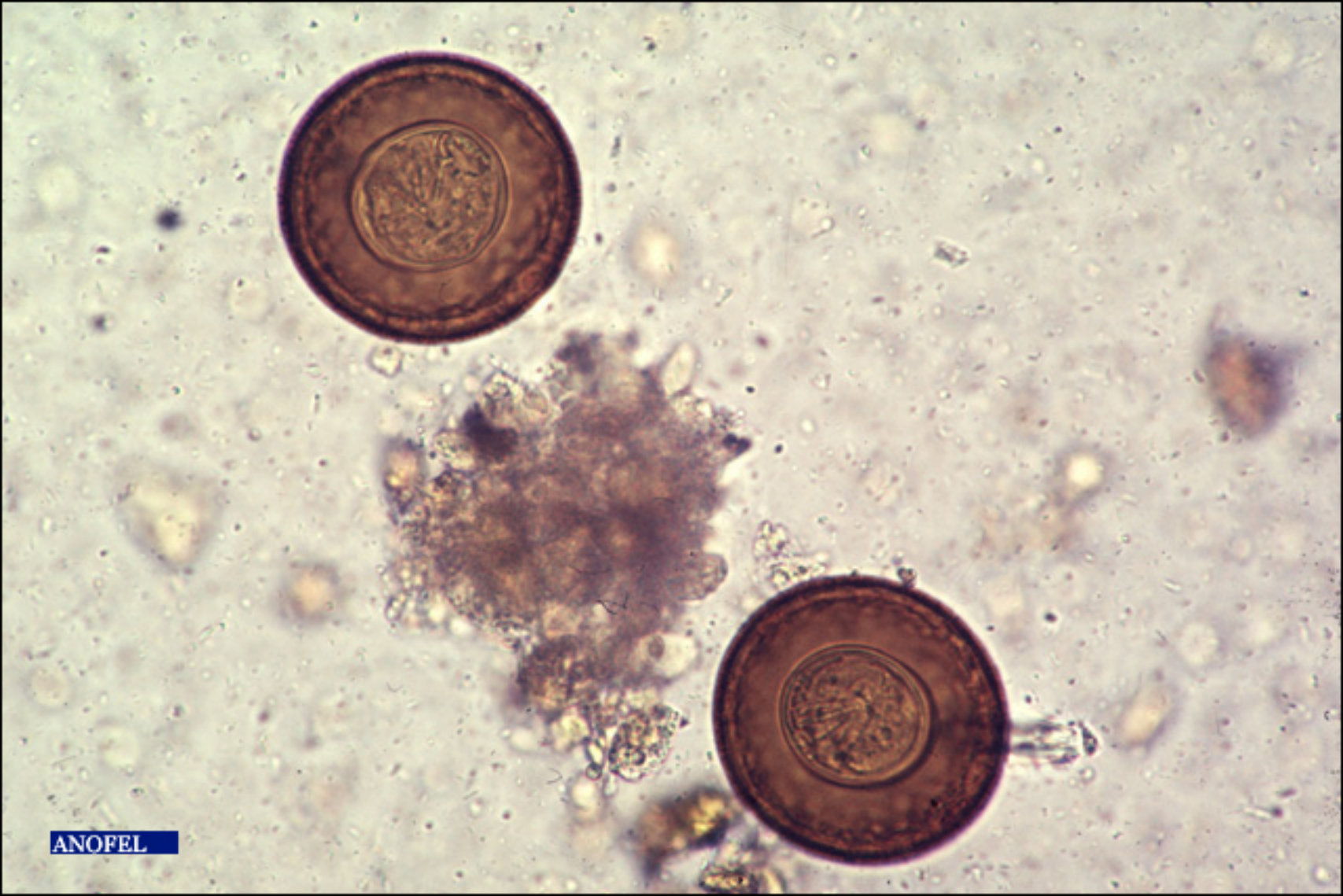

ANOFEL


ANOFEL


ANOFEL






ANOFEL


ANOFEL

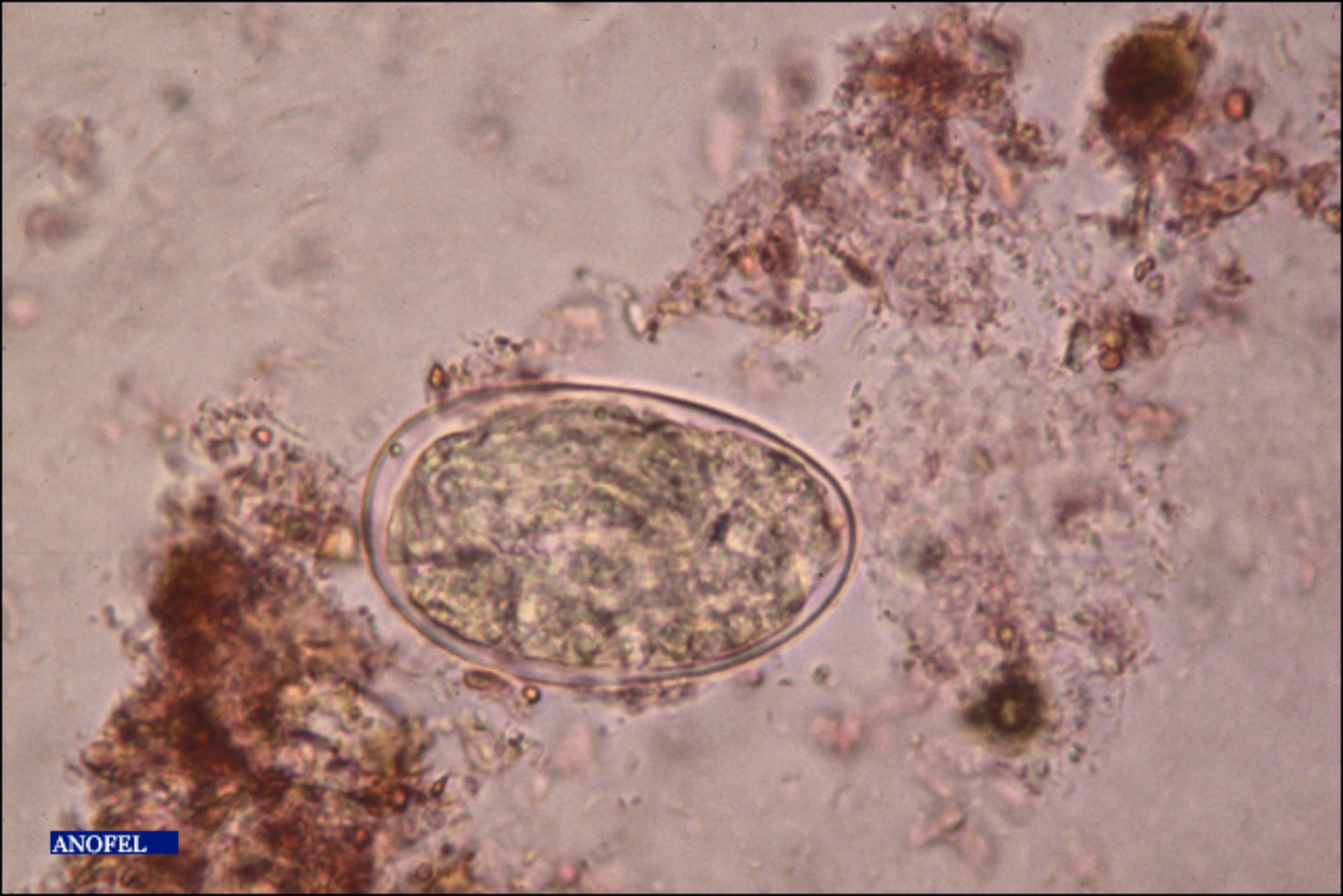

ANOFEL

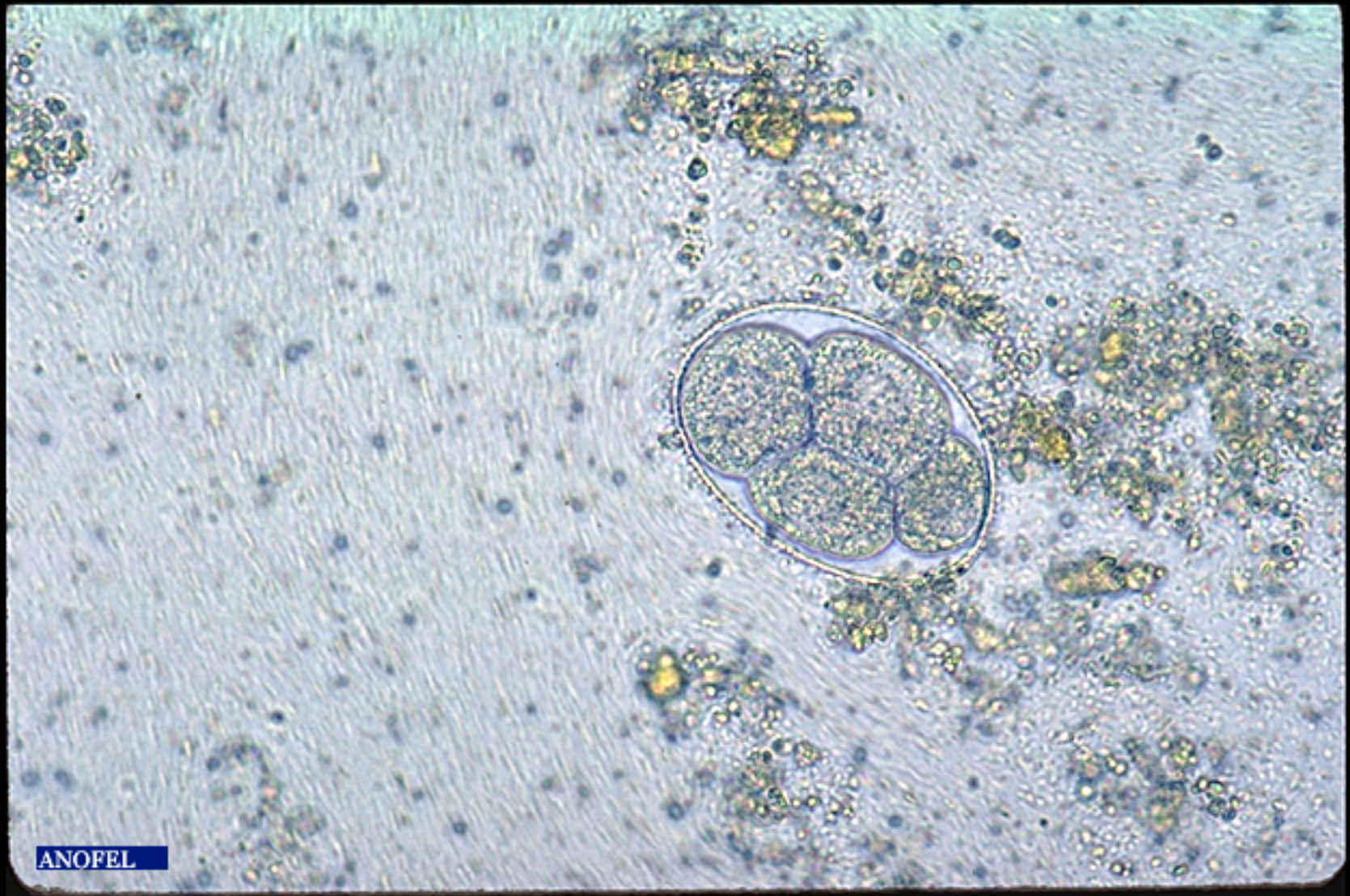



ANOFEL


ANOFEL

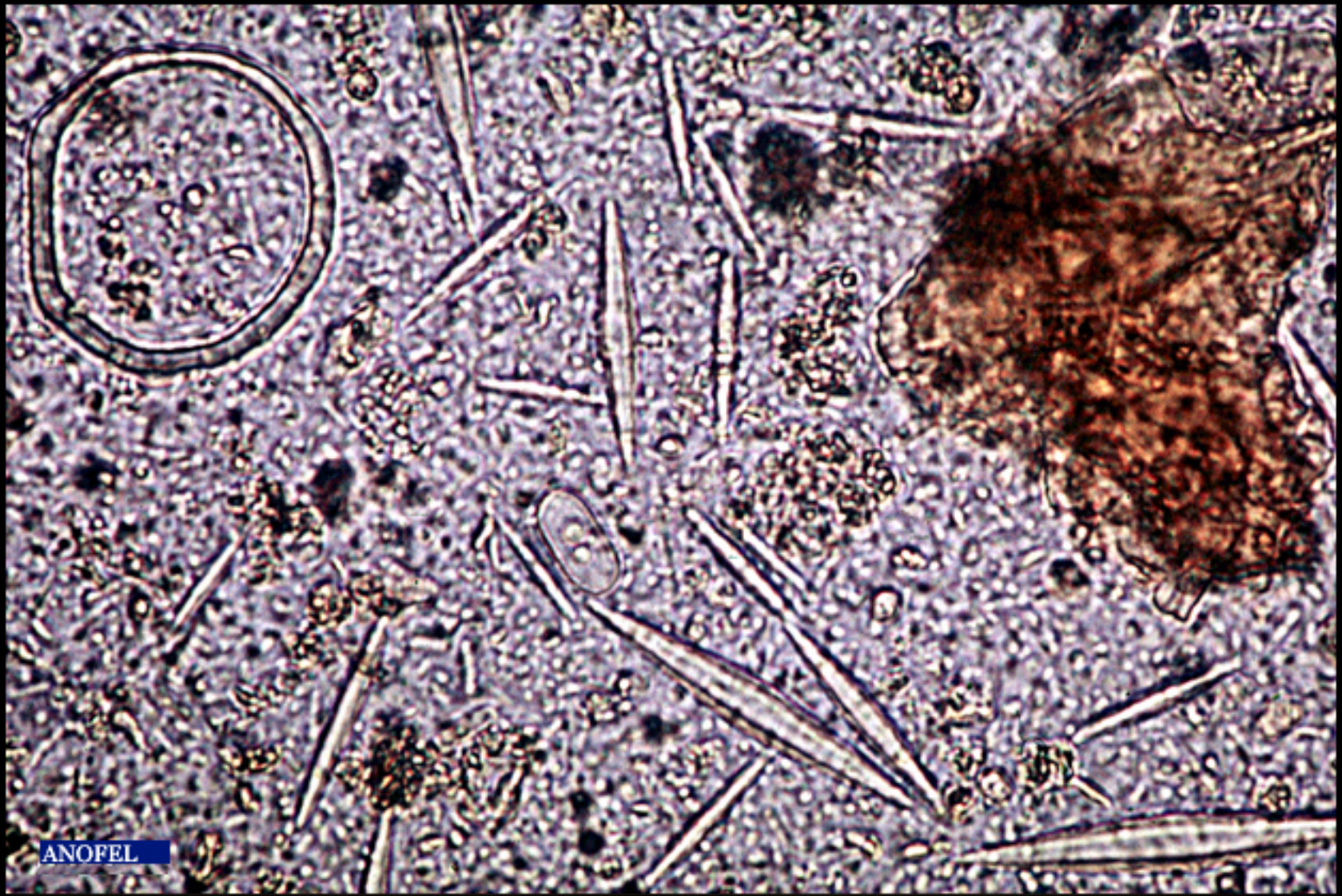

ANOFEL


ANOFEL


ANOFEL




ANOFEL


ANOFEL

