

RECHERCHE DE PROTOZOAIRES INTESTINAUX PAR PCR MULTIPLEX EN TEMPS RÉEL (RÉFÉRENCE – 2014.03.12)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Centre universitaire de santé McGill
- 1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS :** 29 septembre 2014
- 1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS :** 3 novembre 2014
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre :** 27 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r David S. Rosenblatt du CUSM se retire au moment de formuler l'avis de recommandation.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

Recherche des protozoaires intestinaux pathogènes *Cryptosporidium* sp⁷⁶, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia* dans les selles par qPCR (réaction en chaîne par polymérase en temps réel) multiplex.

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

L'extraction d'ADN est réalisée avec la trousse Nuclisense easyMAG™, étape qui consiste à agiter les spécimens pendant cinq minutes avec des billes de verres. Le demandeur utilise la trousse RIDA®GENE pour l'amplification et la détection des cibles. L'analyse par qPCR

⁷⁶ sp : espèce non précisée.

permet la détection qualitative et la différenciation des protozoaires entériques *Cryptosporidium* sp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia*. La réaction PCR amplifie un fragment du gène 18S-ITS spécifique aux quatre protozoaires. Le fragment amplifié est détecté par des sondes d'hydrolyse (TaqMan) (RIDA®GENE Parasitic Stool Panel I de R-Biopharm). L'analyse est réalisée sur un appareil LightCycler 480 Real-Time PCR (Roche Diagnostics). Le mélange réactionnel contient également un contrôle interne permettant d'évaluer l'efficacité de l'amplification et de la détection [R-Biopharm AG, 2013]. Des contrôles positifs sont également fournis à des concentrations respectives de 1×10^3 (*Cryptosporidium* sp., *D. fragilis* et *G. lamblia*) et de 1×10^4 copies/ μ l (*E. histolytica*).

L'appareil détecte les différentes séquences amplifiées selon la fluorescence émise et selon le point de fusion de l'ADN double-brin qui en résulte [R-Biopharm AG, 2013].

2.3 Société ou développeur

- Manufacturier de la trousse Nuclisense easyMAG™ : Biomérieux (Canada).
- Manufacturier de la trousse RIDA®GENE : R-Biopharm AG (Allemagne).

2.4 Licence : Ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : Ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

RIDAGENE Parasitic Stool Panel : numéro d'homologation de Santé Canada 91377, obtenue le 23 mai 2013.

2.7 Valeur pondérée : 34,7.

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEUX DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Les patients chez qui on soupçonne une diarrhée d'origine parasitaire.

3.2 Description de la maladie visée

L'infection par ces parasites intestinaux se produit suivant l'ingestion de kystes se trouvant dans l'eau ou la nourriture contaminées; elle peut être transmise de personne à personne ou sous forme de zoonose.

Bien que *Cryptosporidium parvum* et *C. hominis* soient les agents causant le plus souvent la cryptosporidiose, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. anderson* et *C. muris* peuvent également engendrer des symptômes cliniques [Fayer, 2010]. Chez les gens immunocompétents, l'infection se manifeste par de la diarrhée, des malaises, des douleurs abdominales et des vomissements. D'autres symptômes également présents sont la fièvre, des nausées, une perte d'appétit et de poids [Ravel *et al.*, 2013]. Les individus immunocompromis développent souvent une maladie plus grave, chronique et parfois fatale [Leitch et He, 2012; Blanshard *et al.*, 1992].

Dientamoeba fragilis est un protozoaire entérique dont le caractère pathogène et son implication dans les maladies gastro-intestinales a été démontrée récemment. Sa présence

dans la flore intestinale peut être asymptomatique ou se manifester par la diarrhée et des douleurs abdominales [Barratt *et al.*, 2011; Stark *et al.*, 2006].

Entamoeba histolytica, le seul organisme pathogène du genre *Entamoeba*, cause l'amibiase. La majorité des personnes infectées est asymptomatique. Dans 10 % des cas, l'infection se manifeste par de la diarrhée, des douleurs abdominales ainsi que des ballonnements. Plus rarement, l'amibiase extra-intestinale affecte le foie (abcès hépatique) [Ravel *et al.*, 2013]. L'ingestion de moins de 10 kystes suffit à infecter l'hôte [Idowu et Rowland, 2006].

Giardia lamblia, un protozoaire flagellé qui parasite l'intestin [Huang et White, 2006], cause la giardiose. Celle-ci se manifeste par des douleurs abdominales, des ballonnements, de la diarrhée, de la fatigue et une perte de poids [Ravel *et al.*, 2013]. L'ingestion de 10 à 25 kystes suffit à infecter une personne. L'infection se déclenche à l'intérieur de 7 à 10 jours et les symptômes persistent pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines [Vesny et Peterson, - 1999].

Épidémiologie

Une étude, réalisée au Centre des maladies tropicales de l'Université McGill avec l'objectif d'évaluer la reproductibilité de la microscopie, a montré qu'*Entamoeba histolytica*/*E. dispar* était présent dans 4,7 % des 9376 échantillons analysés entre avril 2002 et mars 2004, *Giardia lamblia* dans 4,2 %, *Dientamoeba fragilis* dans 2,9 %, *Cryptosporidium* sp. dans 0,2 % des spécimens [Libman *et al.*, 2008]. Dans une étude publiée sous forme de résumé, Lungrin a analysé rétrospectivement la prévalence des différents parasites intestinaux pathogènes et les tendances observables entre 2008 et 2012, à partir de 239 475 spécimens de selles prélevées de résidents de l'Ontario. Il a déterminé que la prévalence de parasites intestinaux pathogènes était de 5,0 %. Des protozoaires représentaient 85,1 % de ceux-ci. Les protozoaires pathogènes les plus fréquents étaient *D. fragilis* (59,6 %), *G. lamblia* (24,7 %), *E. histolytica/dispar* (11,4 %) et *Cryptosporidium* sp. (2,3 %) [Lungrin *et al.*, 2014].

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur fait actuellement la recherche de parasites dans les selles pour environ 210 spécimens par semaine, soit pour environ 105 patients par semaine. Le demandeur prévoit que ce nombre doublera (discussion avec le demandeur), quoiqu'un seul spécimen sera nécessaire pour le qPCR.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Parasitologie, gastroentérologie, infectiologie.

3.5 Modalités d'administration du test

Cette analyse s'effectue sur des spécimens de selles fraîches ou congelées, non préservées. Les patients prélèvent eux-mêmes une selle dans un pot sans agent de préservation. Lors de sa réception au laboratoire du CUSM, le spécimen est acheminé vers le secteur de biologie moléculaire où l'analyse est effectuée quotidiennement. Une série d'amplifications permet d'analyser jusqu'à 94 spécimens par jour. L'analyse est effectuée chaque jour ouvrable.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

La détection des protozoaires intestinaux pathogènes par qPCR multiplex est une méthode complémentaire à la microscopie pour la recherche de parasites intestinaux. La microscopie devient ainsi une analyse de deuxième ligne, pertinente lorsqu'il y a une suspicion clinique de pathogène entérique non compris dans le panel utilisé.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

La microscopie est actuellement utilisée en première ligne pour la détection des parasites intestinaux, protozoaires et helminthes. Comme la microscopie ne permet pas de distinguer *E. histolytica* (pathogène) d'*E. dispar*, lorsque le résultat indique la présence de ce parasite, un spécimen de plus doit être prélevé et acheminé au LSPQ pour la différenciation entre les deux amibes par TAAN (code 80570, *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*).

Une recherche de *Cryptosporidium* sp. et de *Giardia lamblia* par immunofluorescence est également disponible au Québec (code 41151). Celle-ci est plus appropriée que la microscopie (codes 41152 et 41153) lorsque l'un des deux organismes est spécifiquement recherché, p. ex. lors d'une éclosion.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La raison principale du changement de technique est le très grand volume de spécimens reçus par le centre demandeur. La demande en parasitologie clinique a augmenté en raison d'un intérêt croissant envers les parasites en tant que cause de diarrhées chroniques et d'autres symptômes, ainsi que de morbidité chez des individus immunocompromis [Bruijnesteijn van Coppenraet *et al.*, 2009]. De plus, la microscopie demande beaucoup de temps et de travail technique [Ten Hove *et al.*, 2009].

Au Centre universitaire de santé McGill, le délai actuel entre la réception du spécimen et la diffusion du résultat porte déjà atteinte à la pertinence clinique de la recherche de parasites dans les selles par microscopie. Le temps de réponse médian était de 12 jours au cours de la dernière année. Bien que 10 % des analyses aient été réalisées à l'intérieur de 7 jours, une proportion de 10 % a pris plus de 18 jours avant l'émission d'un résultat. L'analyse par qPCR permettra de réduire le temps de réponse.

4.4 Coût de la technologie et des options : Il n'a pas été évalué.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

La recherche de protozoaires entériques par qPCR multiplex remplace la recherche de *Giardia* sp. et de *Cryptosporidium* sp. par immunofluorescence.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Un diagnostic précis et rapide des protozoaires intestinaux est important dans la prise de décision du plan de traitement, minimisant le risque de développer une maladie grave. Il est également important pour la santé publique, en permettant la détection rapide d'éclosion,

et pour la surveillance épidémiologique afin de comprendre la distribution et la voie de transmission des pathogènes [Van Lieshout et Verweij, 2010].

5.1.3 Valeur thérapeutique : Ne s'applique pas.

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	X		
Spécificité	X		
Valeur prédictive positive (VPP)	X		
Valeur prédictive négative (VPN)	X		
Rapport de vraisemblance (LR)			X
Courbe ROC			X
Exactitude			X

Données locales

Le CUSM a comparé localement la microscopie et la trousse RIDA®GENE. Au total, 56 564 spécimens provenant de 15 338 patients ont été analysés par les deux méthodes sur une période de 45 mois (de janvier 2011 à septembre 2014). La méthode RIDA®GENE a permis de détecter 90,4 % des protozoaires pathogènes détectés par la microscopie (voir le tableau 2). La microscopie permet également la détection des helminthes, qui ne font pas partie des pathogènes recherchés par la trousse RIDA®GENE. Cette dernière détecte alors 85,6 % des pathogènes (protozoaires et helminthes confondus) trouvés en microscopie. Cliniquement, la méthode RIDA®GENE a permis la détection de protozoaires intestinaux chez 1500 des 1558 patients trouvés positifs par microscopie. La méthode RIDA®GENE a ainsi présenté une sensibilité de 96,3 % pour la détection des patients porteurs de protozoaires intestinaux pathogènes. La microscopie détectant également les helminthes, la sensibilité globale de la méthode RIDA®GENE est alors de 91,0 % pour la détection des patients porteurs de parasites intestinaux pathogènes.

Tableau 2 Validité clinique de la détection des parasites intestinaux des méthodes PCR en temps réel (qPCR)

ÉTUDES	NOMBRE DE PATIENTS OU SPÉCIMENS	COMPARATEUR	PARASITES (POSITIFS)	SENSIBILITÉ %	SPÉCIFICITÉ %	VPP %	VPN %
Validation locale	15 338 patients	Microscopie	Protozoaires et helminthes	91,0	100	100	98,9
			Protozoaires pathogènes	96,3	100	100	99,5
	56564 spécimens	Microscopie	Protozoaires et helminthes	85,6	100	100	99,0
			Protozoaires pathogènes	90,4	100	100	99,4
Lloyd <i>et al.</i> ,	101	Microscopie	C.	100	-	n.d.	n.d.

ÉTUDES	NOMBRE DE PATIENTS OU SPÉCIMENS	COMPARATEUR	PARASITES (POSITIFS)	SENSIBILITÉ %	SPÉCIFICITÉ %	VPP %	VPN %
2014	spécimens		<i>parvum/hominis</i> (20)				
			<i>G. lamblia</i> (24)	100	-	n.d.	n.d.
			<i>D. fragilis</i>	85,7	-	n.d.	n.d.
			<i>E. histolytica/dispar</i> (7)*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	24		<i>B. hominis</i> (24 ctrl-)	0	-	n.d.	n.d.
Simons <i>et al.</i> , 2013	218	PCR maison	<i>Cryptosporidium</i> sp. (28)	96,4	99,5	96,4	99,5
			<i>D. fragilis</i> (37)	97,4	100	100	98,3
			<i>E. histolytica</i> (29)	100	100	100	100
			<i>G. lamblia</i> (38)	95,0	100	100	98,9
Stark <i>et al.</i> , 2011	472 spécimens	qPCR maison	<i>Cryptosporidium</i> sp. (9)	100	100	n.d.	n.d.
			<i>D. fragilis</i> (26)	100	100	n.d.	n.d.
			<i>E. histolytica</i> (11)	100	100	n.d.	n.d.
			<i>G. lamblia</i> (28)	100	100	n.d.	n.d.
Bruijnesteijn van Coppenraet <i>et al.</i> , 2009	397 TFT	Microscopie	<i>C. parvum/hominis</i> (2)	100	99,7	67,0	100
			<i>G. lamblia</i> (29)	96,5	95,6	63,6	99,7
			<i>D. fragilis</i> (69)	92,7	82,3	52,5	98,2
			<i>E. histolytica</i> (1)	100	100	100	100

Abréviations : ctrl- : contrôle négatif; n.d. : non disponible; PCR : réaction en chaîne de polymérase; TFT : analyses de 3 spécimens (three feces tests); VPN : valeur prédictive négative; VPP : valeur prédictive positive.

* La microscopie ne distingue pas *E. histolytica* de *E. dispar*.

Sensibilité et spécificité

Une étude visant à évaluer la sensibilité et la spécificité de deux méthodes multiplex commercialisées a été réalisée par Lloyd et ses collaborateurs au Calgary Laboratory Services. Une collecte de 101 spécimens de selles contenant les parasites *C. parvum/hominis*, *G. lamblia*, *D. fragilis* et *E. histolytica/dispar* a été testée de manière rétrospective. Puis, 24 spécimens contenant le protozoaire *Blastocystis hominis* ont été testés et se sont révélés négatifs (voir le tableau 2) [Lloyd *et al.*, 2014]. La trousse RIDA®GENE a présenté une sensibilité de 100 % pour *Cryptosporidium* sp. et *Giardia lamblia* et de 85,7 % pour *D. fragilis*. Les résultats présentés pour *E. histolytica/dispar* ne sont pas suffisants pour déterminer la sensibilité des trousse. Pour ce faire, les sept spécimens

utilisés devraient être testés par une méthode permettant de distinguer entre *E. histolytica* et *E. dispar*.

Dans une étude rétrospective, Bruijnesteijn et ses collaborateurs ont évalué l'utilisation d'une méthode qPCR jumelée à un algorithme pour l'utilisation de la microscopie pour la détection des quatre protozoaires intestinaux. Ils ont établi que parmi les spécimens de 2 887 patients, il n'y avait que neuf résultats positifs de parasites intestinaux non protozoaires et que ceux-ci étaient pris en compte par l'algorithme.

Les spécimens de selles de 397 patients recueillis entre janvier et avril 2007 ont été testés en raison de douleurs gastro-intestinales ou d'une diarrhée persistant plus de sept jours ou encore dans des cas d'adoption. Deux méthodes PCR en temps réel ont été comparées à la microscopie pour la détection des quatre protozoaires : *Cryptosporidium* sp., *E. histolytica*, *G. lamblia* et *D. fragilis*. L'amplification des trois premiers a été effectuée par une PCR multiplex alors que celle du dernier a été effectuée par une PCR simple. Dans les deux cas, les réactions contenaient un contrôle interne d'amplification PhHV (phocid herpes virus). Les analyses par PCR ont été effectuées en parallèle et comparées à la microscopie (voir le tableau 2). La qPCR multiplex a présenté une sensibilité $\geq 92,7\%$ et une spécificité $\geq 82,3\%$ pour chacun des parasites [Bruijnesteijn van Coppenraet *et al.*, 2009].

Une étude de validation de la trousse RIDA®GENE Parasitic Stool Panel a été réalisée par R-Biopharm AG au Bernhard-Nocht-Institute (BNI) for Tropical Medicine à Hambourg en Allemagne. L'évaluation a été effectuée sur 218 spécimens de patients symptomatiques qui ont préalablement été testés par la microscopie et par des méthodes PCR maison utilisées sur place. La méthode RIDA®GENE montre une sensibilité supérieure à la microscopie pour les 4 pathogènes, et une spécificité plus grande pour *E. histolytica* puisqu'il discrimine *E. dispar*. La corrélation avec les PCR déjà en utilisation à l'Institut et le Parasitic Stool Panel est de 213/218 spécimens. Pour les 4 pathogènes, la sensibilité est $\geq 95\%$, la spécificité est $\geq 99,5\%$, la valeur prédictive positive (VPP) est $\geq 96,4\%$ et la valeur prédictive négative est $\geq 98,3\%$ (voir le tableau 2) [Simons *et al.*, 2013].

Stark et ses collaborateurs [2011] ont fait une étude de validation d'une méthode MT-PCR (multiplex tandem PCR – méthode hybride de PCR nichée et de qPCR) sur des spécimens soumis pour trouver la cause de la diarrhée chez 472 patients. Ils ont comparé les résultats obtenus par microscopie et par 4 méthodes qPCR spécifiques à chacun des parasites. Ils ont obtenu une concordance de 100 % entre les qPCR et la MT-PCR. Les deux méthodes présentent des sensibilités et spécificités de 100 %. Relativement à ces deux techniques, la microscopie a présenté une sensibilité variant entre 38 % et 56 % pour les différents parasites (voir le tableau 2) [Stark *et al.*, 2011].

5.3 Validité analytique (ou technique)

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	X		
Reproductibilité	X		
Sensibilité analytique	X		
Spécificité analytique	X		
Effet de matrice		X	
Concordance			
Corrélation entre test et comparateur	X		

Données locales

Le CUSM a validé localement la trousse RIDA®GENE Parasitic Stool Panel. Une cueillette prospective de spécimens de selles fraîches ou congelées a été réalisée sur une période de 6 mois. Des spécimens positifs pour *Cryptosporidium* sp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia* ont pu être conservés pour la validation de la méthode PCR. La méthode a été validée selon les recommandations du CLSI, MM3-A2 (Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; 2006) soit avec au moins 20 spécimens positifs et 50 négatifs pour chaque parasite ciblé. Onze spécimens positifs ont pu être analysés pour *E. histolytica*, un pathogène qui n'est pas fréquent. Des spécimens positifs pour un pathogène ont également été utilisés comme contrôles négatifs pour les autres pathogènes. Quarante-trois spécimens ont ainsi été analysés. La sensibilité pour les 4 parasites est $\geq 94\%$ et la spécificité est $\geq 97\%$ (information fournie par le demandeur).

Tableau 2 Tableau de la validité analytique de la trousse RIDA®GENE Parastic Stool Panel par rapport à la microscopie

PROTOZOAIRE (N = 93)	SENSIBILITÉ (%) [IC]	SPÉCIFICITÉ (%) [IC]	M+/P+	M+/P-	M-/P+	M-/P-
<i>Cryptosporidium</i> sp.	100,0 [83,2-100,0]	100 [95,1-100,0]	20	0	0	73
<i>D. fragilis</i>	94,4 [81,3-99,3]	98,3 [90,6-100,0]	34	2	1	56
<i>E. histolytica</i>	100,0 [71,5-100,0]	97,6 [91,5-99,7]	11	0	2	80
<i>G. lamblia</i>	96,2 [80,4-99,9]	98,5 [91,7-100,0]	25	1	1	66

Abréviations : IC : Intervalle de confiance; M : microscopie; P : panel (échantillon); VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

Répétabilité et reproductibilité

Un groupe de huit spécimens a été analysé après des dilutions en série de 1:5, jusqu'à une dilution de 1:625 (40 tubes). Les spécimens ont été analysés à nouveau la semaine suivante par une deuxième technologiste. La répétabilité a été de 39/40 et l'unique résultat

discordant a été obtenu avec un tube à dilution 1:625 (information fournie par le demandeur).

Seuil de détection

Des dilutions en série de spécimens contenant *Cryptosporidium* sp. ont été effectuées et testées en parallèle avec un standard d'ADN fourni par le Centre national de référence en parasitologie du Québec. La méthode RIDA® GENE a permis de détecter la présence de *Cryptosporidium* sp. à des concentrations de 80 oocystes par gramme de selles dans plusieurs spécimens différents (information fournie par le demandeur).

La trousse RIDA® GENE Parasitic Stool Panel présente un seuil de détection ≤ 50 copies d'ADN par réaction (10 copies d'ADN/µl) pour les 4 protozoaires.

Spécificité analytique

La trousse RIDA® GENE Parasitic Stool Panel ne présente aucune réactivité croisée avec les pathogènes suivants : *Adenovirus* (types 40, 41), *Aeromonas hydrophila*, *Arcobacter butzleri*, *Bacillus cereus*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *C. jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *C. sordelii*, *Escherichia coli* entéropathogène, *E. coli* entérotoxigénique, *E. coli* entérohémorragique, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella oxytoca*, *Norovirus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (livret de la trousse – PG1705RIDAGENE_PSP_ENG_13_04_02.pdf).

5.4 Recommandations d'autres organismes

Il n'a aucune recommandation quant au délai à l'intérieur duquel un résultat de recherche de parasites devrait être émis, ni quant à la méthode qui devrait être utilisée pour la recherche clinique des parasites intestinaux.

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Réduction du temps technique nécessaire à la réalisation des recherches de parasites dans les selles.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de la santé et des services sociaux québécois

Elles n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

Ils n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Il est démontré que cette technique de détection des parasites intestinaux est plus rapide et demande moins de temps technique que la microscopie. Toutefois, il n'y a aucune norme quant au délai dans lequel une telle analyse devrait être offerte et aucune étude ne montre l'impact clinique du délai d'émission du résultat.

7.2 Validité clinique

Pour les parasites pris séparément, la qPCR présente :

- une sensibilité de 85,7 % à 100 %;
- une spécificité de 82,3 % à 100 %;
- une valeur prédictive positive de 52,5 % à 100 %;
- une valeur prédictive négative de 98,2 % à 100 %.

Pour la détection de l'ensemble des parasites chez 15338 patients, la qPCR présente :

- une sensibilité de 91,0 %;
- une spécificité de 100 %;
- une valeur prédictive positive de 100 %;
- une spécificité de 98,9 %.

7.3 Validité analytique

La qPCR multiplex présente :

- une répétabilité de 39/40 sur des spécimens dilués;
- un seuil de détection à 80 oocystes par gramme de selles;
- une sensibilité pour les 4 parasites ≥ 94 %;
- une spécificité ≥ 97 %;
- aucune réactivité croisée avec 29 germes dans des spécimens similaires.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Il n'y a aucune recommandation à l'effet d'utiliser ou non des méthodes PCR pour la détection des parasites intestinaux.

Il n'y a pas de recommandation quant au délai à l'intérieur duquel l'analyse devrait être offerte.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Recherche de protozoaires intestinaux par PCR multiplex en temps réel

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

RÉFÉRENCES

- Barratt JL, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: Several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes* 2011;2(1):3-12.
- Blanshard C, Jackson AM, Shanson DC, Francis N, Gazzard BG. Cryptosporidiosis in HIV-seropositive patients. *Q J Med* 1992;85(307-308):813-23.
- Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Wallinga JA, Ruijs GJ, Bruins MJ, Verweij JJ. Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clin Microbiol Infect* 2009;15(9):869-74.
- Fayer R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol* 2010;124(1):90-7.
- Huang DB et White AC. An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Gastroenterol Clin North Am* 2006;35(2):291-314, viii.
- Idowu OA et Rowland SA. Oral fecal parasites and personal hygiene of food handlers in Abeokuta, Nigeria. *Afr Health Sci* 2006;6(3):160-4.
- Leitch GJ et He Q. Cryptosporidiosis-an overview. *J Biomed Res* 2012;25(1):1-16.
- Libman MD, Gyorkos TW, Kokoskin E, Maclean JD. Detection of pathogenic protozoa in the diagnostic laboratory: Result reproducibility, specimen pooling, and competency assessment. *J Clin Microbiol* 2008;46(7):2200-5.
- Lloyd T, Carson J, Chan W, Pillai D. Rida® Gene Parasitic Stool Panel and xTAG® Gastrointestinal Pathogen Panel for the detection of common intestinal parasites. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2014;25(2):e23-e4 [abstract C01].
- Lungrin D, James D, Leto D, Almohri H. The prevalence of common intestinal parasitic pathogens from community patients in Ontario 2008-2012. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2014;25(2):e24 [abstract C02].
- Ravel A, Nesbitt A, Pintar K, Macarthur A, Wang HL, Marshall B, Pollari F. Epidemiological and clinical description of the top three reportable parasitic diseases in a Canadian community. *Epidemiol Infect* 2013;141(2):431-42.
- R-Biopharm AG. RIDA® GENE Parasitic Stool Panel. Darmstadt, Allemagne : R-Biopharm AG; 2013. 2013-04-02. Disponible à : http://bioconsult.cz/index.php?controller=attachment&id_attachment=215.

- Simons A, von Thien H, Tannich E. Evaluation of a novel RIDA®GENE Parasitic Stool Panel assay for the detection of *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* and *Dientamoeba fragilis* in stool specimen [abstract T71]. 29th Clinical Virology Symposium; Daytona Beach, FL; 26 avril-1er mai 2013. Pan American Society for Clinical Virology (PASCV); 2013. Disponible à : http://pascv.ivdnews.net/public/show_abstract/1373.html.
- Stark D, Al-Qassab SE, Barratt JL, Stanley K, Roberts T, Marriott D, et al. Evaluation of multiplex tandem real-time PCR for detection of *Cryptosporidium* spp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia intestinalis* in clinical stool samples. *J Clin Microbiol* 2011;49(1):257-62.
- Stark DJ, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. *Dientamoebiasis*: Clinical importance and recent advances. *Trends Parasitol* 2006;22(2):92-6.
- Ten Hove RJ, van Esbroeck M, Vervoort T, van den Ende J, van Lieshout L, Verweij JJ. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009;28(9):1045-53.
- Van Lieshout L et Verweij JJ. Newer diagnostic approaches to intestinal protozoa. *Curr Opin Infect Dis* 2010;23(5):488-93.
- Vesey CJ et Peterson WL. Review article: The management of Giardiasis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13(7):843-50.