

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2015

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

RECIPON Guillaume
Né le 01/02/1986 à Paris 14^{ème}

Présentée et soutenue publiquement le 7 décembre 2015

TITRE

**LA PROCALCITONINE EST-ELLE AUGMENTEE
AU COURS DE L'AMÉBOSE INVASIVE ?**

Jury

Président : Monsieur le Professeur Laurent MEREGHETTI

**Membres : Monsieur le Professeur Patrice LE PAPE
Monsieur le Professeur Jacques CHANDENIER
Monsieur le Professeur Jean-Christophe PAGES
Monsieur le Docteur Éric PIVER
Monsieur le Docteur Guillaume DESOUBEAUX**

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Professeur Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Professeur Henri MARRET

ASSESEURS

Professeur Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Professeur Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Professeur Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*
Professeur Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Professeur François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Professeur Philippe ROINGEARD, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Madame Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Professeur Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972
Professeur André GOUAZÉ - 1972-1994
Professeur Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Professeur Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Professeur Alain AUTRET
Professeur Catherine BARTHELEMY
Professeur Jean-Claude BESNARD
Professeur Patrick CHOUTET
Professeur Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Professeur Guy GINIES
Professeur Olivier LE FLOCH
Professeur Etienne LEMARIE
Professeur Chantal MAURAGE
Professeur Léandre POURCELOT
Professeur Michel ROBERT
Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER
C. BINET – P. BONNET – P. BOUGNOUX – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI
B. CHARBONNIER – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – B. GRENIER – A. GOUAZE – M. JAN
J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – J. LANSAC – J. LAUGIER – Y. LEBRANCHU – P. LECOMTE
G. LELORD – G. LEROY – Y. LHUINTE – G. LORETTE – M. MARCHAND – C. MERCIER – J. MOLINE
C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – P. RAYNAUD – A. ROBIER – P. ROULEAU
A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – J. THOUVENOT – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.	ALISON Daniel.....	Radiologie et imagerie médicale
	ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
	ANGOULVANT Denis.....	Cardiologie
	ARBEILLE Philippe.....	Biophysique et médecine nucléaire
	AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	BABUTY Dominique.....	Cardiologie
	BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
Mme	BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
MM.	BARON Christophe.....	Immunologie
	BERNARD Louis.....	Maladies infectieuses et maladies tropicales
	BEUTTER Patrice.....	Oto-rhino-laryngologie
	BODY Gilles.....	Gynécologie et obstétrique
	BONNARD Christian.....	Chirurgie infantile
Mme	BONNET-BRILHAULT Frédérique.....	Physiologie
MM.	BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
	BRUYERE Franck.....	Urologie
	BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
	CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
	CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
	CHANDENIER Jacques.....	Parasitologie, mycologie
	CHANTEPIE Alain.....	Pédiatrie
	COLOMBAT Philippe.....	Hématologie, transfusion
	CONSTANS Thierry.....	Médecine interne, gériatrie
	CORCIA Philippe.....	Neurologie
	COSNAY Pierre.....	Cardiologie
	COTTIER Jean-Philippe.....	Radiologie et imagerie médicale
	COUET Charles.....	Nutrition
	DE LA LANDE DE CALAN Loïc.....	Chirurgie digestive
	DE TOFFOL Bertrand.....	Neurologie
	DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
	DESTRIEUX Christophe.....	Anatomie
	DIOT Patrice.....	Pneumologie
	DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague.....	Anatomie & cytologie pathologiques
	DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Médecine interne, nutrition
	DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
	EHRMANN Stephan.....	Réanimation d'urgence
	FAUCHIER Laurent.....	Cardiologie
	FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
	FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
	FROMONT-HANKARD Gaëlle.....	Anatomie & cytologie pathologiques
	FUSCIARDI Jacques.....	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	GAILLARD Philippe.....	Psychiatrie d'adultes
	GOGA Dominique.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
	GOUDEAU Alain.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
	GOUPILLE Philippe.....	Rhumatologie
	GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
	GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
	GUILMOT Jean-Louis.....	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
	GUYETANT Serge.....	Anatomie et cytologie pathologiques
	GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
	HAILLOT Olivier.....	Urologie
	HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
	HANKARD Régis.....	Pédiatrie
	HERAULT Olivier.....	Hématologie, transfusion
	HERBRETEAU Denis.....	Radiologie et imagerie médicale
Mme	HOMMET Caroline.....	Médecine interne, gériatrie
MM.	HUTEN Noël.....	Chirurgie générale
	LABARTHE François.....	Pédiatrie
	LAFFON Marc.....	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
	LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
	LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
	LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
	LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie

	LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
	MACHET Laurent.....	Dermato-vénéréologie
	MAILLOT François.....	Médecine interne, gériatrie
	MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
	MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
Mme	MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MM.	MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
	MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
Mme	MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MM.	MULLEMAN Denis.....	Rhumatologie
	ODENT Thierry.....	Chirurgie infantile
	PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
	PAINTAUD Gilles.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
	PATAT Frédéric.....	Biophysique et médecine nucléaire
	PERROTIN Dominique	Réanimation médical, médecine d'urgence
	PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
	PISELLA Pierre-Jean.....	Ophthalmologie
	QUENTIN Roland	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
	REMERAND Francis.....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
	ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
	ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	ROYERE Dominique.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
	RUSCH Emmanuel.....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
	SALAME Ephrem.....	Chirurgie digestive
	SALIBA Elie.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
Mme	SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
MM.	SIRINELLI Dominique.....	Radiologie et imagerie médicale
	THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
Mme	TOUTAIN Annick	Génétique
MM.	VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
	VELUT Stéphane	Anatomie
	VOURC'H Patrick.....	Biochimie et biologie moléculaire
	WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

M.	LEBEAU Jean-Pierre
Mme	LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	MALLET Donatien.....	Soins palliatifs
	POTIER Alain.....	Médecine Générale
	ROBERT Jean	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ANGOULVANT Théodora.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
M.	BAKHOS David.....	Physiologie
Mme	BERNARD-BRUNET Anne.....	Cardiologie
M.	BERTRAND Philippe	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
Mme	BLANCHARD Emmanuelle	Biologie cellulaire
	BLASCO Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
M.	BOISSINOT Éric	Physiologie
Mme	CAILLE Agnès	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
M.	DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
Mmes	DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
	DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
	FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie ..	Anatomie et cytologie pathologiques
M.	GATAULT Philippe.....	Néphrologie
Mmes	GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
	GOUILLEUX Valérie	Immunologie
	GUILLON-GRAMMATICO Leslie.....	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
MM.	HOARAU Cyrille.....	Immunologie
	HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
Mmes	LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière

	LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
	MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MM.	PIVER Eric	Biochimie et biologie moléculaire
	ROUMY Jérôme.....	Biophysique et médecine nucléaire
	PLANTIER Laurent	Physiologie
Mme	SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
MM.	SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
	TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique

MAITRES DE CONFERENCES

Mmes	AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
	ESNARD Annick	Biologie cellulaire
M.	LEMOINE Maël.....	Philosophie
Mme	MONJAUZE Cécile	Sciences du langage - orthophonie
M.	PATIENT Romuald	Biologie cellulaire
Mme	RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Mme	HUAS Caroline.....	Médecine Générale
M.	IVANES Fabrice.....	Cardiologie

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

M.	BOUAKAZ Ayache.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
Mmes	BRUNEAU Nicole	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
	CHALON Sylvie.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM.	CHARBONNEAU Michel.....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	COURTY Yves.....	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
	GAUDRAY Patrick	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	GILOT Philippe	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
	GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes	GOMOT Marie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
	GRANDIN Nathalie	Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
MM.	KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
	LAUMONNIER Frédéric.....	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
	LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
Mme	MARTINEAU Joëlle	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM.	MAZURIER Frédéric.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
	MEUNIER Jean-Christophe.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
	RAOUL William.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
Mme	RIO Pascale.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1069
M.	SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

Mme	DELORE Claire	Orthophoniste
MM.	GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
	MONDON Karl	Praticien Hospitalier
Mme	PERRIER Danièle.....	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

Mme	LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
M.	MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier

RÉSUMÉ:

Le dosage des concentrations sériques de PCT (PCT) est couramment utilisé en routine pour le diagnostic et le suivi des infections bactériennes. En revanche, peu de données sont actuellement disponibles dans les maladies parasitaires, hormis pour le paludisme. Ainsi, le rôle de la PCT dans le cas particulier de l'amœbose n'a pas encore été décrit, à ce jour. L'objectif principal de ce travail était de démontrer l'intérêt potentiel de la PCT dans le diagnostic de l'amœbose digestive et de l'amœbose invasive. Les objectifs secondaires concernaient les autres biomarqueurs d'inflammation, spécifiques ou non du foie, comme la protéine CRP et l'alpha-2-macroglobuline, ainsi que les transaminases, les gamma-glutamyl-transférases et les phosphatases alcalines.

La PCT a été dosée par la méthode d'immuno-analyse utilisant la technologie T.R.A.C.E® (pour « Time-Resolved Amplified Cryptate-Emission) de l'automate B·R·A·H·M·S Kryptor compact® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), à partir de *sera* issus de trois collections biologiques de patients atteints d'amœbose digestive ou invasive, sur une période de quatre ans. Les résultats ont été traités par le logiciel d'analyse statistique The R Project for Statistical Computing version 3.1.2.

Au total, 35 *sera* correspondant à 35 patients adultes ont été inclus. La PCT était significativement plus élevée chez les patients atteints d'amœbose invasive prouvée que chez ceux avec amœbose digestive (valeur moyenne: 4,03 µg / L par rapport 0,07 µg / L, respectivement; $p < 0,001$), mais la dispersion des valeurs était importante, et supérieure à celles observées pour la CRP. Les taux sériques de PCT restaient cependant inférieurs à ceux couramment observés dans des infections bactériennes. En revanche, la PCT n'était pas augmentée dans les *sera* de patients avec amœbose digestive.

Au regard de nos résultats, la PCT apparaît utile comme un outil d'orientation étiologique, afin de différencier les amœboses digestives et invasives. De plus larges études doivent être menées pour confirmer son potentiel diagnostique et pronostique.

Mots-clefs : PCT ; amœbose ; biomarqueur ; CRP ; parasitologie ; *Entamoeba histolytica* ; abcès hépatique

Abstract:

Procalcitonin (PCT) levels are commonly used for diagnostic guidance in routine bacterial infections. By contrast, little data are currently available regarding PCT in parasitic diseases, except for malaria. Its role in cases of invasive amoebiasis has not yet been described. The main objective of this work was to assess the potential value of the PCT in the diagnosis of gastrointestinal amoebiasis and invasive amoebiasis. Secondary objectives were to evaluate the other biomarkers of inflammation specific or not of the liver, such as CRP and alpha-2 macroglobulin, and the transaminases, gamma glutamyl transferase gamma glutamyl transferase and alkaline phosphatase. The PCT was measured by immunoassay using B.R.A.H.M.S Kryptor Compact® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), from three biological collections of patients with digestive or invasive amoebiasis, over a period of four years. The results were processed by the statistical analysis software The R Project for Statistical Computing Version 3.1.2.

For this purpose, 35 adult patients with a proven diagnosis of invasive or digestive amoebiasis were included in a 4-year study period. Serum PCT was retrospectively assessed. PCT was significantly higher in patients with proven invasive amoebiasis than in digestive amoebiasis (mean value: 4.03 µg/L versus 0.07 µg/L, respectively; $p < 0.001$), but the SD was greater than with CRP, and the effect was less than that demonstrated in bacterial infections. By contrast, PCT was not shown to be elevated during digestive amoebiasis. By contrast, the PCT was not increased in the sera of patients with intestinal amoebiasis was not increased in the sera of patients with intestinal. Given our results, the PCT appears useful as an etiological tool to differentiate invasive and digestive amoebiasis. Larger studies are needed to confirm its diagnostic and prognostic potential.

Keywords : PCT ; amoebiasis ; biomarker ; C-Reactive Protein ; parasitology ; *Entamoeba histolytica* ; Liver abscesses

REMERCIEMENTS

A mes maîtres, membres du Jury

A Monsieur le Professeur Laurent MEREGHETTI,

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Service de Bactériologie et de Virologie - CNR VIH, CHRU de Tours,

Chef de pôle du département de Biologie Médicale au CHRU de Tours,

Vous me faites l'honneur de présider ma thèse et je vous en remercie.

Je vous remercie également pour l'accueil et les connaissances que vous m'aviez dispensées dans votre service lors de mon passage.

Je vous remercie pour vos qualités humaines envers vos internes et le reste de l'équipe de votre laboratoire.

Veillez trouver ici, Monsieur le Professeur, le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Patrice LE PAPE

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, UFR Pharmacie, Service de Parasitologie et de Mycologie médicale, CHRU de Nantes,

Je vous remercie pour votre participation à ce travail multicentrique sans laquelle ce travail n'aurait pas été possible. J'ai eu l'occasion de vous connaître lors des cours interrégionaux de parasitologie-mycologie.

Vous me faites l'honneur de faire partie de mon Jury de thèse et d'apporter un regard critique sur ce travail. Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jacques CHANDENIER

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine tropicale, CHRU de Tours,

Je vous remercie pour la qualité de votre enseignement dont j'ai pu bénéficier tout au long de mes études.

Je vous remercie d'avoir rendu ce travail possible en m'ouvrant grand les portes de votre service.

Je vous remercie pour vos qualités humaines, vos conseils et votre soutien.

Vous me faites aujourd'hui l'honneur de faire partie de mon Jury de thèse. Soyez assuré de mon profond respect et de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Jean-Christophe PAGES

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Equipe de recherche INSERM U 966,

Vous avez été présent dès le début de ce travail.

Je vous remercie pour vos conseils et votre soutien.

Vous me faites aujourd'hui l'honneur de faire partie de mon Jury de thèse. Soyez assuré de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Eric PIVER

Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHRU de Tours,

Je te remercie d'avoir accepté de codiriger ce travail.

Je te remercie pour toute l'aide que tu m'as apportée au cours de la réalisation de cette étude.

Je te remercie également pour tout ce que tu m'as appris lors de mon stage au Laboratoire de Biochimie-Biologie moléculaire.

Reçois ici l'expression de toute ma gratitude et de mon plus profond respect.

A Monsieur le Docteur Guillaume DESOUBEAUX

Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine tropicale, CHRU de Tours,

Je te remercie d'avoir accepté de diriger ce travail et d'avoir élaboré ce projet à mes côtés.

Je te remercie pour ta rigueur méthodologique et ton expertise sans lesquels ce projet n'aurait jamais pu aboutir.

Je ne te remercierai jamais assez pour toute l'aide que tu m'as apportée, pour ta disponibilité, ton accompagnement, ton soutien, ton efficacité et ta gentillesse,...

Reçois ici l'expression de mon amicale reconnaissance et de mon plus profond respect.

Je remercie ceux qui m'ont aidé à élaborer ce travail.

A l'ensemble des biologistes qui ont participé activement à la réalisation de cet article, notamment Eric PIVER, Jacques CHANDENIER, Patrice LE PAPE, Jean-Christophe PAGES, Marc PIHET, Anne Sophie POIRIER, Marc DELANDE et leurs équipes respectives.

Grâce à votre implication, il a été possible d'obtenir un effectif suffisant de patients. Soyez assuré de ma gratitude.

A l'ensemble des techniciennes du laboratoire de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale du CHRU de Tours.

Je vous remercie de m'avoir fait partager votre expérience et également de m'avoir aidé à réaliser les examens sérologiques.

A l'ensemble des techniciennes et techniciens du laboratoire de Biochimie-Biologie Moléculaire du CHRU de Tours.

Je vous remercie pour votre disponibilité et pour votre aide à la réalisation des dosages.

A Madame le Docteur Agnès Caille

Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier, UFR Médecine, Centre d'investigation Clinique, CHRU de Tours

Je vous remercie pour vos conseils d'analyse statistique sans lesquels ce projet n'aurait pas été possible.

A Madame Alexandra Farrell

Chargée de Recherche, UFR Médecine, Laboratoire de Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer, CHRU de Tours

Je vous remercie pour votre travail de relecture du manuscrit. Votre connaissance fine de la langue anglaise a permis d'améliorer grandement la fluidité de ce travail.

Dédicaces

Je remercie tous les co-internes et tous les chefs que j'ai cotoyés pendant ces années d'internat.

Je remercie mes deux co-internes parasitologues, Charlotte et David, pour leur soutien et leur compréhension pendant la réalisation de l'étude.

Merci à Candice, co-interne de la première heure, d'avoir bien voulu relire ma thèse.

Je remercie les biologistes et les équipes des laboratoires qui m'ont accompagnés et formés tout au long de mon internat en biologie médicale.

Je transmets également toute ma reconnaissance aux équipes des laboratoires de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale de Tours, de Biochimie - Biologie Moléculaire de Tours, d'Hématologie de Tours, d'Hématologie d'Orléans, de Bactériologie de Tours, d'Immunologie de Tours, et de Blois.

Merci à mes parents Patrick et Cécile pour leur soutien indéfectible depuis toutes ces années. Merci de m'avoir appris à respecter la vie humaine. Merci d'avoir su me faire apprécier notre beau métier. Merci pour votre générosité et pour votre amour.

Merci à ma tante pour avoir participé à l'impression de cette thèse.

Merci à mon oncle pour m'avoir hébergé lors de mes passages à Tours.

Merci à toute ma famille pour leur soutien.

Merci à tous mes amis de médecine et d'ailleurs.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale	19
<hr/>	
PARTIE I : Bibliographie sur l'amœbose et la PCT	21
<hr/>	
1. Amœbose	22
1.1.Introduction	22
1.2.Histoire	22
1.3.Epidémiologie	25
1.3.1. Répartition géographique	25
1.3.2. Populations à risque	26
1.4.Morphologie parasitaire	27
1.4.1. Différents stades parasitaires	28
1.4.2. Distinction avec les autres espèces	31
1.5.Cycle	32
1.5.1. Cycle commensal	32
1.5.2. Cycle pathogène	34
1.6.Circonstances de développement de la forme virulente	37
1.7.Mécanisme biochimique de l'invasion	38
1.8.Clinique	40
1.8.1. Amœbose intestinale	40
1.8.1.1. Amœbose intestinale aiguë	40
1.8.1.2. Autres formes d'amœboses intestinales	41
1.8.2. Amœbose extra-intestinale	42
1.8.2.1. Amœbose hépatique	42
1.8.2.2. Amœbose pleuropulmonaire	43
1.8.2.3. Autres localisations	44
1.9.Diagnostic	44
1.9.1. Biologie d'orientation	44
1.9.2. Techniques de diagnostic directes	45
1.9.2.1. Examen parasitologique des selles	45
1.9.2.2. Autres techniques de diagnostic directes	47

1.9.2.2.1.	Culture	48
1.9.2.2.2.	Copro-antigènes	48
1.9.2.2.3.	Biologie moléculaire	49
1.9.2.2.4.	Examen anatomopathologique	49
1.9.3.	Techniques de diagnostic indirectes	50
1.9.3.1.	Généralités sur la sérologie	50
1.9.3.2.	Utilité et limites de la sérologie	51
1.9.4.	Examens diagnostiques complémentaires non biologiques	52
1.9.4.1.	Amœbose intestinale aiguë	52
1.9.4.2.	Amœbose tissulaire	53
1.10.	Traitement	55
1.10.1.	Traitement prophylactique et mesures associées	55
1.10.2.	Traitement curatif	55
1.10.2.1.	Amœbocides tissulaires (ou diffusibles)	55
1.10.2.2.	Amœbocides de contact	56
1.10.3.	Indications du traitement	56
1.10.3.1.	Amœbose asymptomatique (porteur sain)	56
1.10.3.2.	Amœbose symptomatique	57
1.10.3.2.1.	Amœbose intestinale aiguë	57
1.10.3.2.2.	Amœbose hépatique	57
1.10.3.2.3.	Autres formes d'amœboses intestinales	58
2.	La procalcitonine	60
2.1.	Introduction	60
2.2.	Histoire	60
2.3.	Biochimie de la PCT	61
2.3.1.	Structure	61
2.3.2.	Synthèse	63
2.3.3.	Régulation physiologique	64
2.4.	Concentrations physiologiques et variations pathologiques	64
2.5.	Usage clinique	65
2.5.1.	Intérêt du dosage	65
2.5.2.	Orientation étiologique	66

2.5.3. Valeur pronostique	66
2.5.4. Suivi et cinétique	66
2.6. Implémentation pratique en routine	67
2.6.1. Méthodes de dosage	67
2.6.2. Performances analytiques et limites de la technique	72
2.6.2.1. Conditions de réalisation du dosage	72
2.6.2.2. Seuil de détection	72
2.6.2.3. Sensibilité	72
2.6.2.4. Spécificité	72
2.6.2.5. Exactitude et linéarité	73
2.6.2.6. Précision	73
2.6.2.7. Interférences	73
2.7. Algorithmes décisionnels	74
3. Autres dosages	76
3.1. Au sujet de la CRP	76
3.2. Au sujet des marqueurs hépatiques	77
<hr/>	
PARTIE II : Partie expérimentale	79
<hr/>	
1. Introduction	80
2. Article	81
<i>Abstract</i>	83
<i>Introduction</i>	84
<i>Material and methods</i>	85
<i>Results</i>	87
<i>Discussion</i>	89
<i>References</i>	97
3. Discussion générale	86

ANNEXES	90
<hr/>	
ANNEXE I : Déclaration à la Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL)	91
ANNEXE II : Graphic of correlation between PCT and CRP in invasive amoebiasis group after excluding two extreme values of PCT	93
ANNEXE III : Fiche de transmission pour l'envoi des échantillons de <i>sera</i>	94
ANNEXE IV : PCT histogram of the value found in the serum of patient suffering from invasive amoebiasis excluding two extreme values of PCT	95
ANNEXE V : Graphics of ROC curves for the prediction of invasive amoebiasis of PCT, CRP, GGT, ALP, alpha-2-macroglobulin, aspartate amino-transferase	96
ANNEXE VI : Tableau récapitulatif des résultats de l'étude des dosages	97
ANNEXE VII : Tableau récapitulatif des résultats pour le suivi d'un patient atteint d'amébose invasive	99
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	100
<hr/>	

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Epidémiologie de l'amébose dans le monde	26
Figure 2 : Examens microscopiques d' <i>Entamoeba histolytica</i> après coloration ou à l'état frais	30
Figure 3 : Dessins des principaux amibes intestinaux aux différents stades	32
Figure 4 : Cycle de la vie d' <i>Entamoeba histolytica</i>	36
Figure 5 : Micro-invasion débutante par un trophozoïte d' <i>Entamoeba histolytica</i> avec ulcération superficielle de la paroi intestinale, visualisée par microscope électronique à balayage	39
Figure 6 : Examens macroscopique et microscopique d'une biopsie colique	50
Figure 7 : Echographie d'un abcès amibien du foie	54
Figure 8 : Aspect tomодensitométrique d'un abcès amibien du foie	54
Figure 9 : Structure schématique de la calcitonine et de ses précurseurs	62
Figure 10 : Le cryptate d'euporium	69
Figure 11 : Principe du dosage de la PCT par la technologie TRACE (<i>Time-Resolved Amplified Cryptate-Emission</i>)	71

TABLE DES FIGURES DE L'ARTICLE

Figure 1 : Study flowchart	83
Figure 2 : Results of PCT measurements. A. Histogram showing the distribution of the serum PCT values in patients with proven invasive amoebiasis B. Boxplot of PCT values in the invasive amoebiasis group and the digestive amoebiasis group	84

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Traitement de l'amœbose	59
Tableau II : Interprétation des valeurs de PCT au cours du sepsis et/ou de l'infection localisée	74
Tableau III : Interprétation des valeurs de PCT chez le BPCO	75

LISTE DES TABLEAUX DE L'ARTICLE

Table 1: Epidemiological characteristics and biological results of the enrolled patients	83
Table 2: Example of evolution of PCT levels in 1 patient under antiamoebic therapy	84

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

Pour le texte en français :

ADN : Acide désoxyribonucléique

ANOFEL : Association Française des Enseignants et Praticiens Hospitaliers titulaires de Parasitologie et Mycologie Médicale

ARN : Acide ribonucléique

CEPR : Centre d'Etude des Pathologies respiratoires

CHRU : Centre Hospitalier Régional Universitaire

CNIL : Commission Nationale Informatique et Liberté

CNR : Centre national de référence

CRP : protéine C-Réactive

ELISA : de l'anglais *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, littéralement «dosage d'immunoabsorption par enzyme liée»

HES : coloration Hématéine-Eosine-Safran

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

J-C : Jésus-Christ

MGG : coloration de May-Grünwald Giemsa

MIF : coloration de Merthiolate-Iode-Formol

MCU-PH : Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier

NABM : Nomenclature des Actes de Biologie Médicale

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : *polymérase chain reaction*

PCT : procalcitonine

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

TRACE : de l'anglais *Time-Resolved Amplified Cryptate-Emission*, littéralement «émission amplifiée par un cryptate de terre rare en temps résolu»

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UI : Unité Internationale

VIH : Virus de l'Immunodéficience Acquise

Pour l'article en anglais :

ALP : *alkaline phosphatase*

ALT : *alanine aminotransferase*

AST : *aspartate aminotransferase*

CDC : *Center for Disease Control and Prevention*

CRP : *C-Reactive protein*

GGT : *γ-glutamyltransferase*

HAI : *indirect haemagglutination*

IFA : *indirect immunofluorescence assay*

PCT : *procalcitonin*

ROC : *Receiver Operating Curves*

U/L : International Unit per litter

WHO : *World Health Organisation*

Introduction générale

Les parasitoses digestives ont une prévalence inégalée dans le domaine des infections humaines. Si ce constat est particulièrement vrai dans la zone intertropicale de notre planète, certaines sont également retrouvées dans les pays dits occidentaux (ANOFEL 2013).

Parmi ces parasitoses, l'amébose est le résultat d'une infection par un protozoaire, *Entamoeba histolytica*. Elle est transmise *via* le péril féco-oral et de distribution plutôt cosmopolite, bien que l'amélioration des conditions sanitaires ait fait considérablement diminuer sa prévalence dans les pays dits développés. Néanmoins, les déplacements de personnes par flux migratoire ou touristique, sont à même de confronter le biologiste des pays occidentaux à cette parasitose dans le contexte d'un retour de zone d'endémie (Petri and Singh 1999).

Le diagnostic de l'amébose est avant tout microbiologique, par observation directe des formes parasitaires dans les échantillons fécaux. Cependant, certaines atteintes invasives peuvent confronter les praticiens à des problèmes diagnostiques, puisqu'ils doivent alors avoir recours à des techniques sérologiques, difficiles à implémenter en urgence. D'autres approches diagnostiques, au moins pour permettre une orientation rapide de la démarche médicale, sont donc souhaitées.

Il se trouve qu'un cas inhabituel d'amébose hépatique survenu chez un militaire de retour de Guyane française s'est présenté au service de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropicale du CHRU de Tours. Le tableau clinico-radiologique était particulièrement troublant puisque pas moins de 19 abcès avaient été décomptés au niveau du foie. Un criblage assez complet des différents marqueurs biochimiques, dont la procalcitonine (PCT), avait alors été réalisé pour documenter au mieux ce cas clinique complexe (Desoubieux et al. 2014). Il avait montré une augmentation très importante du taux sérique de PCT, un marqueur habituel des sepsis bactérien, alors qu'aucune infection bactérienne n'avait pourtant été mise en évidence. Hormis un cas au Japon de colite amibienne compliquée d'abcès hépatique (Oku et al. 2012), aucun article de la littérature scientifique n'avait rapporté jusqu'ici une telle élévation. Cette lacune nous a paru constituer une opportunité d'explorer les variations de ce marqueur au cours de l'amébose, et de statuer ainsi sur son intérêt potentiel dans la prise en charge diagnostique et pronostique des patients atteints par cette parasitose. Pour cela, nous avons

procédé au dosage systématique de la PCT dans le sérum de malades infectés par *Entamoeba histolytica* issus de plusieurs centres hospitalo-universitaires. La présente thèse décrit d'abord les aspects épidémiocliniques, biologiques et thérapeutiques de l'amébose, puis se concentre ensuite sur les rôles connus de la PCT. La seconde partie est consacrée à l'étude expérimentale que nous avons menée pour répondre à la question posée et qui a été publiée dans *Diagn Microbiol Infect Dis* (Recipon et al. 2015).

**PARTIE I : BIBLIOGRAPHIE SUR L'AMOEBOSE ET
LA PCT**

Ce chapitre n'a pas pour vocation la présentation exhaustive de l'amœbose et des différents marqueurs biochimiques dosés dans cette étude. Dans cette partie, nous nous attacherons surtout à rappeler les connaissances actuelles sur l'amœbose, ainsi que l'intérêt clinique et diagnostique de la PCT.

1. Amœbose :

1.1. Introduction :

L'amœbose, antérieurement connue sous le nom d'amibiase, est une maladie infectieuse causée par un parasite eucaryote anaérobie du groupe paraphylétique des protozoaires, nommé *Entamoeba histolytica*. Cette espèce est la seule amibe du genre *Entamoeba* qui ait été formellement identifiée comme pathogène pour l'Homme (Garland Science 2008).

Transmis par le péril féco-oral, le parasite se comporte chez l'Homme soit comme un commensal de l'intestin, soit comme un authentique pathogène. En effet, seule une minorité des patients infectés par *Entamoeba histolytica* développe des symptômes. Principale forme clinique, l'amœbose invasive se manifeste tout d'abord par des diarrhées glairo-sanglantes et/ou muqueuses, correspondant à l'invasion des tissus intestinaux, puis par l'envahissement de tissus extra-intestinaux comme le foie, tout en sachant que les deux stades d'invasion ne sont pas systématiquement retrouvés. Les mécanismes physiopathologiques responsables de l'amœbose invasive ne sont que partiellement connus (Fernandes et al. 2014).

L'amœbose invasive est une pathologie rare en France métropolitaine. Elle est quasi exclusivement diagnostiquée chez des personnes de retour des zones d'endémie, essentiellement des pays aux conditions sanitaires précaires que l'on retrouve en zone tropicale et subtropicale.

1.2. Histoire :

Bien que le micro-organisme responsable de l'amœbose fût très longtemps ignoré, des descriptions cliniques fortement évocatrices ont été rapportées dans différents écrits très anciens. Tout en gardant à l'esprit que la dysenterie sanglante amibienne ressemble à d'autres maladies et que les descriptions sont par conséquent ouvertes à d'autres interprétations, l'amœbose sévissait probablement déjà dans les premières civilisations humaines.

La plus ancienne description d'une probable amœbose a été rapportée dans un document appelé *Brigu-samhita* écrit en Sanskrit autour du X^{ème} siècle avant J-C. Dans ce document, il est fait référence à des symptômes tels que des diarrhées muco-sanglantes (Cox 2002). D'autres références ont également été retrouvées dans des textes asyro-babyloniens de la bibliothèque du roi Ashurbanipal. Dans ce berceau de la civilisation qu'était le croissant fertile, l'amœbose semblait déjà sévir au VI^{ème} siècle avant J-C (Cox 2002).

Au II^{ème} siècle après J-C, le grec Galien décrit des abcès qui semblent d'origine amibienne. En outre, les abcès hépatiques et périanaux décrits dans *Les Epidémies et Les Aphorismes*, un des livres du *corpus Hippocratique*, font très probablement référence à l'amœbose invasive.

Au Moyen-Âge, l'amœbose est endémique en Europe. Après la découverte des Amériques, les européens introduiront involontairement la maladie dans le Nouveau Monde.

La première véritable description clinique incontestable de l'amœbose sera faite au XIX^{ème} siècle en Inde par James Annersley (Annesley 1841).

En raison de sa petite taille, l'étude morphologique de l'agent infectieux responsable de l'amœbose ne fut possible qu'après l'invention du microscope au XVII^{ème} siècle par Antonie van Leeuwenhoek. L'étude de ces parasites unicellulaires ne débuta véritablement que durant la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle. L'observation microscopique était en pleine effervescence à cette époque, notamment sous l'impulsion de chercheurs comme Louis Pasteur. La description précise de l'agent responsable de l'amœbose à Petrograd en 1873 par Friedrich Lösch chez un jeune fermier qui souffrait de dysenterie chronique constitua une avancée considérable dans la compréhension de la maladie (Lesh 1975). Friedrich Lösch retrouva de nombreuses amibes d'*Entamoeba histolytica* dans les selles de ce jeune homme. Il établit également la relation entre le parasite et le déclenchement de la maladie, en infectant expérimentalement des chiens.

Toutes les découvertes qui suivirent concernant ce parasite furent prodigieusement résumées en 1891 dans un traité de pathologie coécrit par William Thomas Councilman et Henri Lafleur (Harvey 1980). Les deux auteurs soulignèrent le fait que toutes les amibes ne sont pas capables de déclencher des symptômes chez l'hôte.

Le travail expérimental de Heinrich Iranus Quincke et Ernst Roos en 1894 consistant à infecter des chats avec des amibes contenant ou non des hématies renforça l'hypothèse de plusieurs espèces d'amibes proches morphologiquement, mais phylogénétiquement distinctes (Roos 1894). Fritz Schaudinn en 1903 établit la distinction entre *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba coli*. Schaudinn décida d'appeler l'espèce invasive *Entamoeba histolytica* en raison de sa capacité à provoquer la lyse des tissus (Diamond and Clark 1993). Le français Emile Brumpt en 1925 sur le fondement d'études expérimentales animales, souligna l'existence d'*Entamoeba histolytica* comme un complexe d'espèces, comprenant deux espèces morphologiquement indistinguables, *Entamoeba histolytica* qui est la cause d'infections symptomatiques, et *Entamoeba dispar* retrouvée uniquement chez des porteurs asymptomatiques (Brumpt 1925). Louis Diamond développa dans les années 1960 un milieu de culture axénique pour *Entamoeba histolytica* qui permit d'étudier le cycle parasitaire *in vitro* (Diamond 1968). Vers la fin des années 1970 grâce à l'utilisation de techniques de typage isoenzymatique (Sargeant et al. 1978), Sargeant et Williams distinguèrent pour la première fois *Entamoeba histolytica* d'*Entamoeba dispar*, confirmant ainsi les hypothèses faites par Emile Brumpt. Louis Diamond et Graham Clark en 1993 reprirent cette hypothèse à leur compte, concluant qu'il existaient suffisamment de preuves pour soutenir l'existence de deux espèces morphologiquement indiscernables, une pathogène et une non pathogène, l'une correspondant à *Entamoeba histolytica* et l'autre à *Entamoeba dispar* (Diamond and Clark 1993). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) valida cette hypothèse en 1997 (OMS 1997). Ces hypothèses furent définitivement entérinées grâce aux progrès de la biologie moléculaire (Gutiérrez-Cisneros et al. 2010).

Le premier traitement efficace de l'amébose hépatique fut découvert par Leonard Rogers en 1912. Il s'agissait de l'émétine, un alcaloïde tiré de l'épïcéa (Rogers 1912). L'efficacité du métronidazole sur l'amébose fut démontré en en 1966, sept ans après sa découverte par les laboratoires Rhône-Poulenc® (Samuelson 1999).

Pour l'anecdote, l'une des épidémies les plus célèbres d'amébose eut lieu à Chicago en 1933 à la suite d'une mauvaise distribution des eaux souillées, qui entrèrent accidentellement en contact avec l'eau de boisson d'un hôtel. Environ 800 personnes contractèrent alors l'amébose (Bundesen et al. 1934).

1.3. Epidémiologie:

1.3.1. Répartition géographique

L'amébose est une parasitose cosmopolite dont la transmission est liée au péril féco-oral. Elle représente un risque sanitaire important dans tous les pays où les protections contre la contamination de l'eau ou des aliments par les fécès humains sont inadéquates. Par conséquent, la prévalence de la maladie est beaucoup plus élevée dans les pays en voie de développement dont les conditions d'hygiène ne sont pas appropriées à cause de la pauvreté et d'infrastructures insuffisantes (accès à l'eau potable notamment). Il s'agit essentiellement de régions intertropicales comme celles du continent africain, l'Inde, l'Amérique du sud, et l'Asie du Sud Est (Figure 1) (World Health Organisation (WHO) 1995).

Au total, l'amébose est la troisième cause de mortalité par maladie parasitaire dans le monde après le paludisme et la bilharziose (Haque 2007). Les estimations de l'OMS font état d'une prévalence d'*Entamoeba histolytica/dispar* proche de 480 millions de porteurs à travers le Monde pour une incidence de 36 millions d'amébooses symptomatiques par an, occasionnant une mortalité annuelle de 40 000 à 100 000 morts (Walsh 1986; OMS 1997). En outre, l'OMS a reconnu en 1997 l'existence d'*Entamoeba dispar* ce qui a contribué à remettre en cause les données épidémiologiques datant des années antérieures (OMS 1997). En effet, les chiffres épidémiologiques de cette époque doivent être lus avec un esprit critique, au vu des évolutions taxinomiques mentionnées précédemment. En réalité, il est probable que la prévalence d'*Entamoeba histolytica* ait été surestimée (Ximénez et al. 2009), parce que les données statistiques ont été obtenues avant la séparation phylogénétique entre *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* (Diamond and Clark 1993). Plus récemment, une étude financée par la fondation Bill et Melinda Gates estime, de façon plus raisonnable, la mortalité imputable à l'amébose autours de 55 000 morts par an en 2010 contre 68 000 morts par an en 1990 (Lozano et al. 2013).

Dans l'ensemble, les pays européens restent relativement préservés. Par exemple, la région parisienne, qui est la zone la plus touchée en France, compterait 0,7% de porteurs (ANOFEL 2013). De même, une étude allemande estime que 4% des voyageurs occidentaux s'étant rendus dans une région tropicale ont été infectés au moins une fois au cours de leur vie et que le risque de contracter la parasitose au cours d'un voyage est de 0,3% (Weinke et al. 1990).

La prévalence de l'amœbose a été estimée à 4% aux Etats-Unis bien que ces chiffres soient relativement anciens (Tanyuksel and Petri 2003).

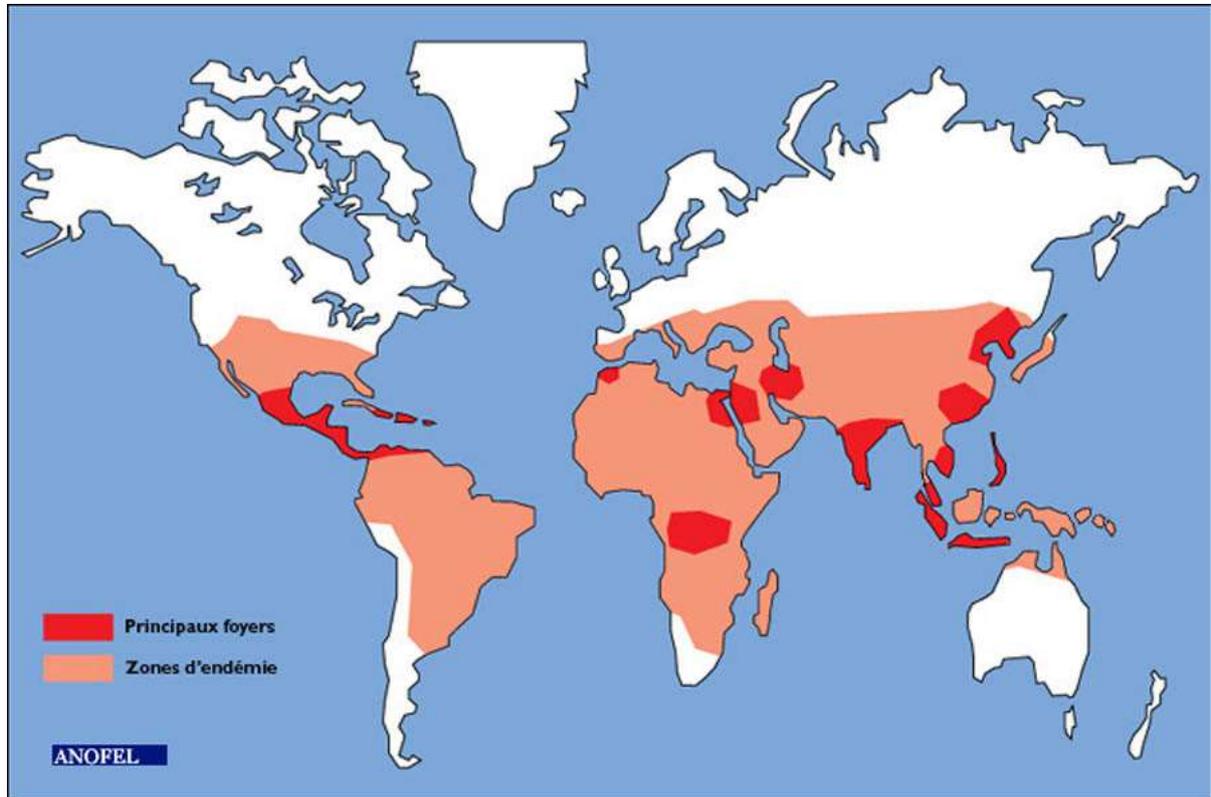


Figure 1: Epidémiologie de l'amœbose dans le monde (ANOFEL 2013)

1.3.2. Populations à risque :

Dans les pays développés, l'amœbose est essentiellement retrouvée chez certains groupes à risque comme les migrants, les homosexuels (Hung et al. 2012), les personnes institutionnalisées (Sexton et al. 1974) ou les touristes se rendant en zone d'endémie. Ainsi, l'amœbose est la deuxième cause de diarrhée d'origine parasitaire au retour de voyage, juste après la giardiose (Freedman et al. 2006).

Dans les pays en voie de développement, les enfants de moins de 15 ans sont une des populations où la prévalence de l'amœbose est la plus forte (Ximénez et al. 2009). La prévalence de la maladie dans ces pays est paradoxalement plus élevée dans les villes que dans les campagnes à cause du surpeuplement et des conditions sanitaires inadéquates (Haque

et al. 1999). Par exemple, la prévalence de la maladie atteint près de 40% dans les bidonvilles brésiliens (Braga et al. 1996). La lutte contre l'extrême pauvreté, l'accès à l'eau potable ou à des sanitaires diminuent considérablement la prévalence de la maladie.

Par ailleurs, les formes invasives hépatiques que nous décrivons plus bas, sont plus fréquentes chez l'adulte jeune de sexe masculin (18-50 ans), avec des ratios homme/femme compris entre 3 et 10 selon les études (Alam et al. 2014; Hoque et al. 2014). Pour l'anecdote, les Zoulous d'Afrique du Sud appellent l'amébose hépatique, «*Isigwebedhla*», ce qui signifie la maladie de l'homme jeune et fort (Stanley 2003). Enfin, une plus forte consommation d'alcool par rapport à la population générale a été rapportée comme facteur de risque indépendant de développer une forme hépatique de l'amébose.

1.4. Morphologie parasitaire

1.4.1. Différents stades parasitaires

Entamoeba histolytica est un micro-organisme unicellulaire eucaryote. La taxonomie le classe dans le règne des protistes, l'embranchement des protozoaires, le sous-embranchement des *plasmiodroma*, la classe des rhizopodes, l'ordre des *lobosa*, la famille des *nuda*, le genre *Entamoeba* et l'espèce *histolytica*.

L'observation morphologique permet le diagnostic spécifique et la comparaison avec les autres espèces. Par exemple, au sein du genre *Entamoeba*, il est possible de distinguer *Entamoeba coli* grâce à son kyste de taille, certes variable, mais relativement plus grande que les autres amibes et à ses huit noyaux, contre quatre au maximum pour *Entamoeba histolytica* (Wery 1995). Il en est de même pour la forme végétative d'*Entamoeba coli* de taille également relativement plus grande présentant un mouvement plus lent et désordonné que le trophozoïte d'*Entamoeba histolytica* à cause de ses multiples pseudopodes (Wery 1995). En revanche, les caractères morphologiques observés au microscope ne permettent pas de distinguer *Entamoeba histolytica* d'*Entamoeba dispar*, ainsi que les deux autres espèces découvertes récemment grâce à la biologie moléculaire que sont *Entamoeba moshkovski* (Ali et al. 2003) et *Entamoeba Bangladeshi* (Royer et al. 2012). Seule la présence d'érythrocytes phagocytés peut éventuellement permettre le diagnostic morphologique plus précis, bien qu'une étude fait état de la possibilité d'érythrophagocytose ponctuelle chez *Entamoeba*

dispar (Haque et al. 1995). D'autres examens sont nécessaires pour différencier ces espèces, comme des techniques de biologie moléculaire ou de détection d'antigènes.

1.4.1.1. Trophozoïtes

Les trophozoïtes sont le stade de croissance et d'alimentation d'*Entamoeba histolytica*. Examinés à frais, ils se déplacent rapidement et linéairement dans une direction fixe, grâce aux mouvements améboïdes des pseudopodes hyalins (Winn and Koneman 2006). Les pseudopodes servent également à ingérer des particules alimentaires, des bactéries ou des hématies, afin de couvrir les besoins énergétiques de l'amibe. Le cytoplasme est hétérogène avec une zone externe claire et réfringente, appelée ectoplasme, et une zone interne granuleuse contenant des bactéries lysées, appelée endoplasme. Parfois, une grande vacuole contenant du glycogène est observée dans le cytoplasme. Le noyau unique mesure 3,5 à 6 µm de diamètre et présente une chromatine périphérique à fins granules réguliers entourant un caryosome central (Klassen-Fischer et al. 2011). Les trophozoïtes peuvent prendre des formes et des tailles variables, allant de 20 à 40 µm de diamètre (Klassen-Fischer et al. 2011; ANOFEL 2013). Microscopiquement, le trophozoïte invasif, appelé *Entamoeba histolytica histolytica*, peut parfois contenir des hématies phagocytées dans son cytoplasme et possède une taille généralement plus grande que la forme saprophyte, appelée *Entamoeba histolytica minuta*.

D'un point de vue ultra-structurale, les trophozoïtes sont des anaérobies obligatoires qui ne possèdent ni mitochondrie complète, ni appareil de Golgi mais uniquement un reste mitochondrial appelé mitosome. En l'absence d'enzymes du cycle de Krebs, leur métabolisme consiste en la transformation du pyruvate et du glucose en éthanol (Reeves 1985).

1.4.1.2. Kystes

Le kyste, forme de résistance et de dissémination de la maladie, est arrondi, immobile et sphérique. Sa paroi, à double membrane, est fortement réfringente. Il renferme une vacuole contenant du glycogène et, un ou plusieurs grands corps sidérophiles. Ces corps sidérophiles, appelés aussi *chromidia* ou cristalloïdes, se présentent comme des petits batonnets fortement réfringents, correspondent à un agrégat de ribosomes, et sont mieux visibles après coloration à l'hématoxyline ferrique ou au Lugol (Garland Science 2008). Le kyste est plus petit que le

trophozoïte avec un diamètre allant de 9 à 20 μm et possèdent jusqu'à 4 noyaux pour les kystes mûrs (Klassen-Fischer et al. 2011). Le noyau, vésiculaire et sphérique, possède une membrane bordée de grains de chromatine ainsi qu'un petit caryosome central (Figure 2).

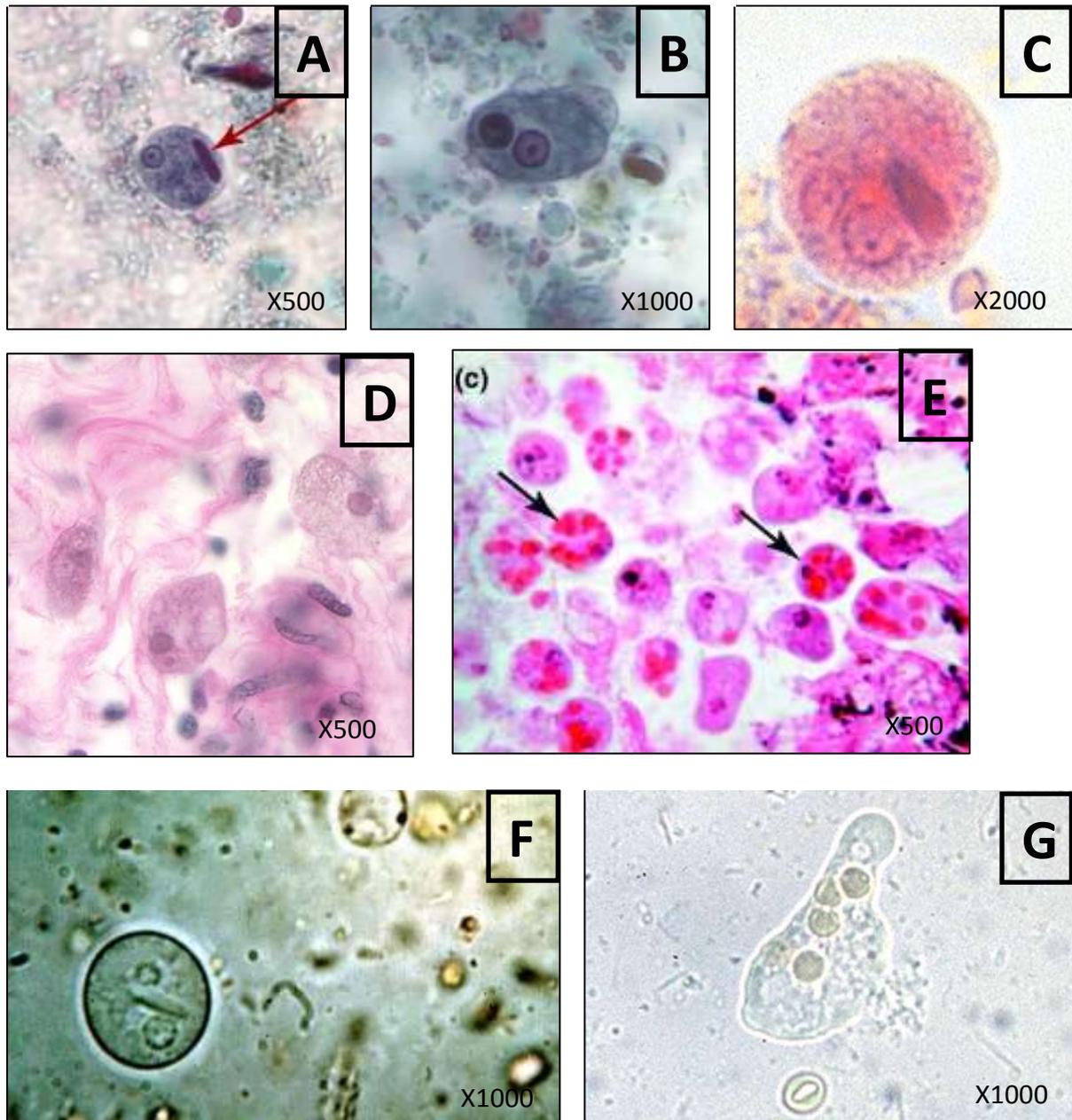


Figure 2: Examens microscopiques d'*Entamoeba histolytica* après coloration ou à l'état frais

A : Kystes d'*Entamoeba histolytica*/*E. dispar* colorés au Trichrome. La flèche rouge pointe sur le chromidium coloré en bleu (www.cdc.gov)

B : Trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica histolytica* ayant ingéré des érythrocytes colorés au Trichrome. Les hématies apparaissent comme les inclusions noires. Les structures nucléaires sont parfaitement visibles (www.cdc.gov)

C : Kyste d'*Entamoeba histolytica/dispar* en coloration de Merthiolate-Iode-Formol (MIF). Trois noyaux visibles et un corps sidérophile à bouts arrondis (ANOFEL 2013)

D : Trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica* sur une biopsie colique en coloration Hématéine-Eosine-Safran (HES) (www.cdc.gov)

E : Trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica* (flèche noire) intriqué dans un ulcère et contenant des érythrocytes phagocytés (Ralston and Petri Jr 2011)

F : Kyste d'*Entamoeba histolytica/dispar* à l'état frais (ANOFEL 2013)

G : Trophozoïte d'*Entamoeba histolytica/dispar* à l'état frais (ANOFEL 2013)

1.4.2. Distinction avec les autres espèces

Près d'une dizaine d'espèces d'amibes intestinales peuvent infecter l'Homme, mais seule *Entamoeba histolytica* est apte à occasionner une amébose invasive. Une symptomatologie de diarrhée non invasive advient parfois lors d'infestation à *Entamoeba moshkovskii* (Shimokawa et al. 2012). Les autres amibes intestinales sont à ce jour reconnues comme non pathogènes pour l'Homme. Les plus fréquemment rencontrées à l'examen parasitologique des selles sont *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nanus* ou *Iodamoeba buetschlii* (Figure 3).

Entamoeba moshkovskii, *Entamoeba dispar*, et de découverte plus récente *Entamoeba bangladeshi* (Royer et al. 2012) sont trois espèces génétiquement distinctes, mais morphologiquement indiscernables d'*Entamoeba histolytica*.

Au sein même de l'espèce *Entamoeba histolytica*, la migration électrophorétique des iso-enzymes du parasite (zymodèmes), ainsi que l'étude génomique du polymorphisme des gènes et des régions répétées permettent d'individualiser des génotypes. Cette diversité génétique pourrait expliquer la variabilité des symptômes rencontrés au cours de l'amébose (Ali et al. 2008a).

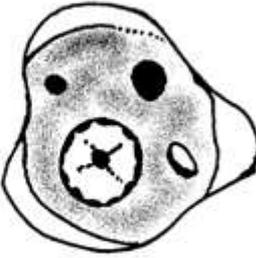
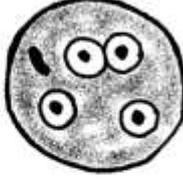
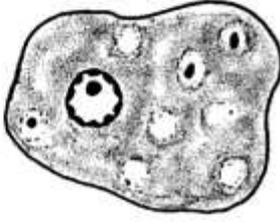
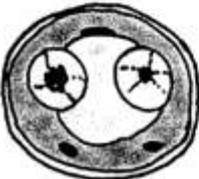
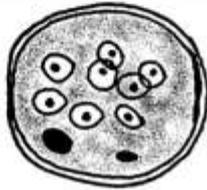
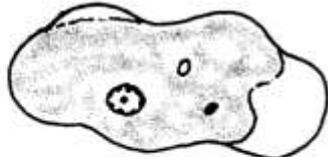
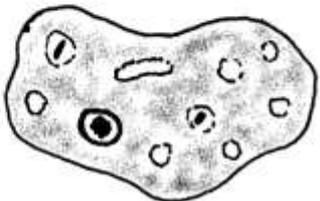
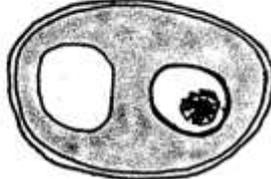
Organism	Trophozoite	Precyst	Cyst
<i>E. histolytica</i> <i>E. dispar</i> <i>E. moshkovskii</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>E. hartmanni</i>			
<i>I. bütschlii</i>			

Figure 3: Dessins des principaux amibes intestinaux aux différents stades (Tanyuksel and Petri 2003)

1.5. Cycle

1.5.1. Cycle commensal

L'Homme et probablement certains primates non humains (Márquez-Monter et al. 1990) sont les seuls hôtes naturels d'*Entamoeba histolytica*. Le cycle parasitaire est relativement simple puisque le parasite prend successivement deux formes, à savoir la forme infectante, appelée kyste, et la forme végétative, appelée trophozoïte (Figure 4).

La contamination survient par l'ingestion de kystes *via* la consommation d'eau ou d'aliments souillés par les fécès humains, ou *via* les mains sales (World Health Organisation (WHO) 2015). La transmission sexuelle est également possible et dépend des pratiques ano-orales (Hung et al. 2012). Les kystes sont les formes de résistance dans le milieu extérieur avec une durée d'infectiosité variable dépendante du taux d'humidité et de la température. Ils peuvent résister trois jours au contact de l'air et de la lumière, quinze jours dans une eau à température comprise entre 15 et 25°C et jusqu'à trois mois dans une eau à 4°C (Gentilini 2012). En outre, les kystes d'*Entamoeba histolytica* présentent une résistance non négligeable aux désinfectants, mais sont néanmoins détruits par l'ozone, le dioxyde de chlore, et les solutions iodées à des concentrations suffisantes (minimum 8 ppm). Une brève ébullition, la cuisson à une température supérieure à 56°C pendant quelques minutes ou la congélation permettent d'inactiver les kystes et d'éliminer le risque de transmission (Gouvernement du Canada 2001).

Une fois ingérés, les kystes amibiens transitent dans l'estomac grâce à leur paroi qui les protège des sucs gastriques. Ils vont par la suite perdre cette paroi dans l'intestin grêle par lyse enzymatique. Une division nucléaire supplémentaire de chacun des quatre noyaux du kyste, ainsi qu'une succession de trois divisions cellulaires (cytokinésis), au cours de son cheminement dans l'intestin, permettent d'obtenir huit amœbules.

Les amœbules se transforment dans le côlon en trophozoïtes matures. Ces formes végétatives non virulentes, appelées parfois *minuta*, restent commensales pour l'Homme. Elles vivent «en bonne intelligence», se nourrissant de débris alimentaires et de bactéries du tractus digestif. On retrouve ce type de portage asymptomatique chez le porteur sain et le patient en voie de guérison d'une dysenterie. Les trophozoïtes se multiplient dans la lumière intestinale du colon et du sigmoïde par simple division binaire asexuée. Mobiles grâce à des expansions cytoplasmiques appelées pseudopodes, ils vont progressivement s'enkyster au fil de leur progression dans le colon. Ainsi, l'Homme peut éliminer dans ses fécès jusqu'à plusieurs millions de kystes par jour, pour une dose infectieuse d'environ 1000 kystes pour contaminer un seul individu (Gouvernement du Canada 2001).

Les trophozoïtes, trop fragiles pour résister aux sucs gastriques de l'estomac, ne peuvent pas contaminer l'être humain, sauf dans le cas peu fréquent de la contamination ano-génitale. Ainsi, les personnes souffrant de dysenterie profuse sont paradoxalement peu contagieuses. En effet, ces patients émettent des parasites sous forme trophozoïtes qui n'ont pas disposé d'un temps suffisant dans la lumière colique pour effectuer une maturation complète en kystes, qui est en outre la seule véritable forme de résistance dans le milieu extérieur. Par contre, les porteurs sains ou les personnes en voie de guérison d'une dysenterie sont bien plus contagieux. Ainsi, toute personne mal traitée devient un porteur d'amibes hautement contagieux pour son entourage (Craig 1934).

1.5.2. Cycle pathogène

Comme nous venons de l'énoncer précédemment, les patients sont asymptomatiques ou pauci-symptomatiques dans la très grande majorité des cas d'infestation par *Entamoeba histolytica*. Des données épidémiologiques récentes font état du fait qu'*Entamoeba histolytica* reste sous une forme non virulente, dans environ 3 cas sur 4, et que seulement 1 à 10 % des infestations par *Entamoeba histolytica* donnent des formes invasives de la maladie (Haque et al. 2006; Ali et al. 2008b; Ximénez et al. 2009). Le déclenchement de la crise de dysenterie amibienne correspond à la transformation d'une forme végétative non virulente, *Entamoeba histolytica minuta* en une forme végétative virulente, appelée *Entamoeba histolytica histolytica*. Pour des raisons encore imparfaitement connues (réponse immunitaire de l'hôte, facteurs environnementaux, génotypes), l'amibe *Entamoeba histolytica histolytica* devient capable de phagocyter des hématies et exprime également tout un arsenal de facteurs d'adhésion à sa surface (Gal-lectine), d'enzymes protéolytiques (cystéine protéases) et de facteurs de lyse cellulaires (amœbopores). Les trophozoïtes *Entamoeba histolytica histolytica* envahissent alors la muqueuse et la sous-muqueuse intestinale, créant des ulcérations accompagnées de micro-abcès sous-muqueux, entourés d'œdèmes, et parfois de zones de nécrose. Occasionnellement, les amibes hématophages peuvent traverser les vaisseaux et être emportées par le flux de la circulation portale, qui va assurer leur transport passif jusqu'au foie. Piégé dans le tissu hépatique, le trophozoïte exerce alors un pouvoir nécrosant sur les hépatocytes, probablement médié et/ou aggravé par la réaction inflammatoire des macrophages et des polynucléaires neutrophiles qui libèrent le contenu cytotoxique de leurs granules afin de lyser le parasite (Salles et al. 2003). Le processus de destruction du tissu

hépatique progresse autour du parasite, conduisant à la formation d'un abcès contenant du pus, dit «couleur chocolat», entouré d'une coque fibro-inflammatoire. Les trophozoïtes, peu nombreux en regard du volume de l'abcès, baignent dans un mélange de leucocytes altérés et d'hépatocytes lysés.

La colite amibienne non compliquée reste de loin la manifestation clinique la plus commune de l'amébose invasive (Haque et al. 2003a). L'amébose hépatique, bien que relativement rare, est la localisation extra-intestinale la plus fréquente. Des disséminations au cerveau (Becker Jr et al. 1980) et au poumon (Cameron 1978) ont été rapportées. L'ensemble de ces entités cliniques seront décrites plus bas.

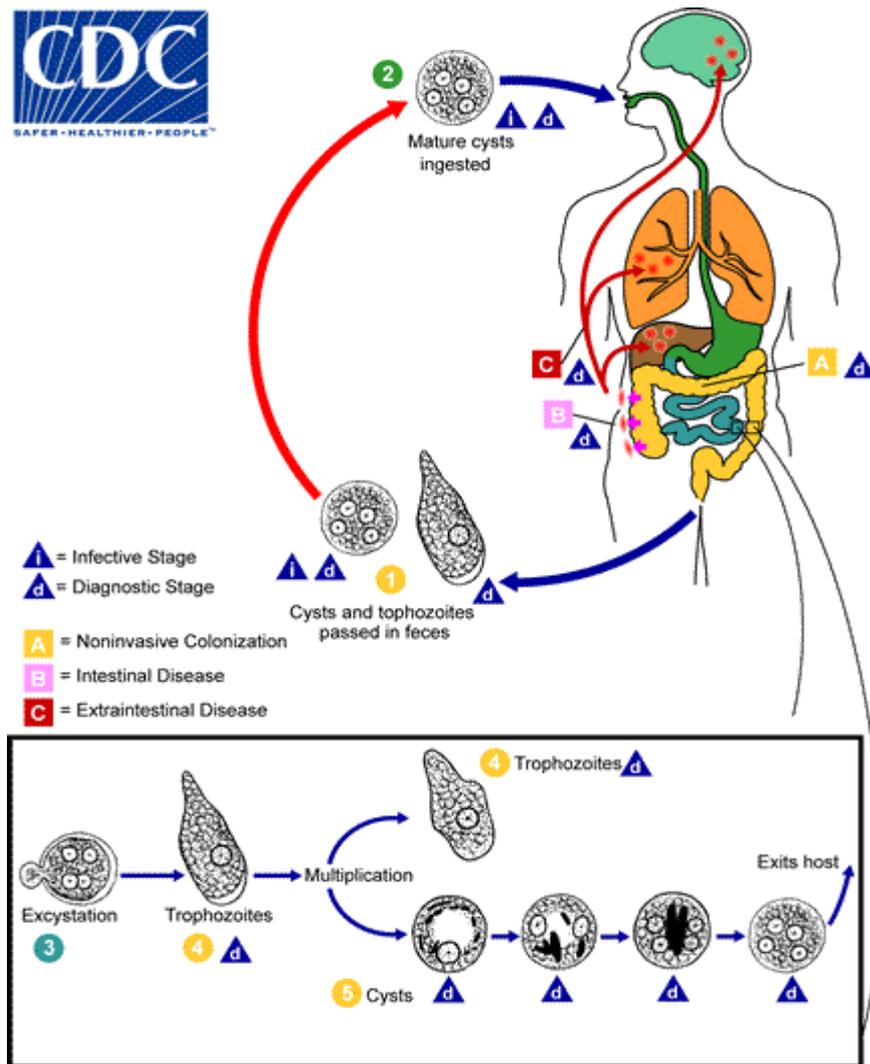


Figure 4: Cycle de la vie d'*Entamoeba histolytica* (Center for Disease Control and Prevention (CDC) 2015)

Kystes et trophozoïtes passent dans les fèces (1). Les kystes se trouvent généralement dans les selles formées, alors que trophozoïtes se trouvent généralement dans les selles diarrhéiques. L'infection par *Entamoeba histolytica* se produit par ingestion de kystes matures (2) via la nourriture, l'eau ou les mains sales contaminées par les matières fécales. La perte de la paroi riche en chitine du kyste (3) se produit dans l'intestin grêle où les trophozoïtes (4) sont libérés. Ils migrent vers le côlon et le sigmoïde. Les trophozoïtes se multiplient par scissiparité et produisent des kystes (5), et les deux formes sont expulsées dans les fèces (1). En raison de la protection conférée par leur paroi, les kystes peuvent survivre quelques jours ou semaines dans l'environnement externe et sont responsables de la transmission. Les trophozoïtes expulsés dans les selles sont rapidement détruits une fois à l'extérieur du corps. S'ils sont ingérés, ils ne survivent pas à l'exposition aux sucs gastriques. Dans de nombreux cas, les trophozoïtes restent confinés à la lumière intestinale (A: infection non invasive) des individus qui sont des porteurs asymptomatiques, mais hautement contagieux parce qu'ils libèrent des kystes dans leurs selles. Chez certains patients, les trophozoïtes envahissent la muqueuse intestinale (B: amœbose intestinale invasive), ou, par la circulation sanguine, les sites extra-intestinaux tels que le foie, le cerveau et les poumons (C: amœbose tissulaire), avec les manifestations pathologiques qui en résultent. La transmission peut également se produire par l'exposition à des matières fécales lors de contacts sexuels (dans ce cas, non seulement les kystes, mais aussi les trophozoïtes pourraient se révéler infectieux).

1.6. Circonstances de développement de la forme virulente

Les raisons de la survenue de l'amœbose tissulaire sont probablement multifactorielles (Ralston and Petri Jr 2011). Comme nous l'avons abordé dans la partie concernant le cycle pathogène, l'acquisition d'un phénotype invasif par *Entamoeba histolytica* est le résultat de la combinaison de facteurs environnementaux, de facteurs de l'hôte et du génotype de la souche amibienne.

Parmi les facteurs environnementaux, le biotope bactérien de la flore digestive de l'hôte pourrait réguler l'expression des gènes d'invasivité, comme le montre des expériences de culture *in vitro* en présence de bactéries (Bhattacharya et al. 1998).

L'interaction hôte-parasite possède une place encore mal définie dans le déclenchement des crises de dysenterie amibienne. Par exemple, la malnutrition et/ou la dénutrition sévère seraient des facteurs favorisant (Verkerke et al. 2012). Une étude sur le polymorphisme des récepteurs de la leptine, une hormone produite par les adipocytes qui régule les réserves de graisses dans l'organisme et contrôle la sensation de satiété, montre que certains allèles prédisposeraient à la survenue d'une amœbose invasive (Duggal et al. 2011). Les patients dénutris sont carencés en leptine, ce qui pourrait expliquer la plus grande fréquence de l'amœbose invasive chez ces derniers.

L'état immunitaire de l'hôte a souvent été évoqué. Étonnamment, les patients atteints par le Virus de l'Immunodéficience Acquise (VIH) au stade du Syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ne souffrent pas plus souvent de forme invasive de l'amœbose que le reste de la population générale (Jessurun et al. 1992; Amano and Takeuchi 2001). Dans le cas de réinfections multiples, une production acquise d'IgA anti-Gal/Gal Nac-lectine est protectrice pour l'organisme (Abou-El-Magd et al. 1996).

Parmi les facteurs liés au parasite, des différences biochimiques et moléculaires entre les souches virulentes et non virulentes ont été décrites (Davis et al. 2007). Des recombinaisons de l'acide désoxyribonucléique (ADN) d'*Entamoeba histolytica* sont actuellement suspectées pour expliquer le changement d'une forme *minuta* vers une forme *histolytica* invasive (Ali et al. 2008b; Fernandes et al. 2014). Une modulation de l'expression des gènes dédiés à l'adhésion comme les lectines (Aguirre García et al. 2015), à la lyse tissulaire comme les

cystéines protéases (He et al. 2010) et les amœbopores (Nickel et al. 1999), ou à la phagocytose *via* la phospholipase A pourrait favoriser l'invasion selon certaines publications, expliquant que certaines souches d'*Entamoeba histolytica* soient génétiquement plus virulentes que d'autres (Haque et al. 2003a). Par ailleurs, la virulence varie également selon l'origine géographique des souches, les formes graves semblant être plus fréquentes en Asie du Sud-Est et au Mexique qu'en Afrique tropicale (Zermeño et al. 2013).

1.7. Mécanisme biochimique de l'invasion

Le parasite colonise la paroi muqueuse grâce à des protéines d'adhérence, les Gal/Gal Nac-lectines. Ces adhésines se lient avec les résidus galactose et N-acétyl-D-galactosamine du mucus intestinal (Ravdin and Guerrant 1981). Les Gal/Gal Nac lectines sont des molécules de 260 kDa composées d'une grande, ainsi que d'une petite sous-unité. Elles sont codées par cinq gènes, désignés par les sigles *hgl1* jusqu'à *hgl5*. Le domaine de liaison de la protéine avec les résidus carbohydrates du mucus est situé sur la grande sous-unité dans une séquence riche en acides aminés cystéines (Petri Jr et al. 1987; Davis et al. 2007; Aguirre García et al. 2015). En outre, les lectines protègent le parasite des éventuelles réactions de défense immunitaire de l'hôte, en neutralisant la liaison C5b-C9 du système du complément.

Une fois fixée à la paroi colique, *Entamoeba histolytica* peut détruire la couche protectrice de mucus grâce à des enzymes, les cystéine protéases (Moncada et al. 2003). La destruction du mucus par l'amibe facilite l'accès aux cellules épithéliales de l'intestin (Figure 5). A noter que les autres espèces du genre *Entamoeba* comme *Entamoeba dispar* sécrètent ces enzymes en quantité 10 à 1000 fois moins importante qu'*Entamoeba histolytica* (Hellberg et al. 2001). Elles participent également à la digestion enzymatique des érythrocytes. Certaines cystéines protéases participent à la lyses érythrocytaire ou inactivent les protéines du système du complément comme la sous-unité C3 (Reed et al. 1989).



Figure 5: Micro-invasion débutante par un trophozoïte d'*Entamoeba histolytica* avec ulcération superficielle de la paroi intestinale, visualisée par microscope électronique à balayage (Espinosa-Cantellano and Martínez-Palomo 2000)

Une fois privées de la couche de mucus protectrice, les cellules épithéliales sont lysées par un mécanisme s'apparentant à de la phagocytose partielle par le trophozoïte, appelée trogocytose (Ralston et al. 2014). Lors du contact avec le parasite, les cils vibratiles des cellules deviennent rapidement immobiles et la concentration de calcium intracellulaire augmente, semblablement à ce qui peut se voir au cours des étapes précoces d'apoptose (Ravdin et al. 1988). Puis les cellules vont être lysées en perdant granules cytoplasmiques et structure. La formation d'amœbopores (peptides sécrétés par l'amibe capable de percer un pore à travers les couches lipidiques des cellules) accélère la lyse cellulaire (Ravdin et al. 1980).

Par ailleurs, *Entamoeba histolytica* relâche les liaisons inter-épithéliales en interférant avec les protéines de jonction de la matrice extracellulaire grâce à des enzymes protéolytiques (Salles et al. 2003). Par ce mécanisme, le parasite favorise également l'effraction de la paroi digestive (Li et al. 1994; Leroy et al. 2000).

Tous ces mécanismes d'invasion sont amplifiés par la réaction inflammatoire au site d'invasion, notamment grâce à la sécrétion par les cellules épithéliales de chémokines et cytokines comme l'interleukine 1 et l'interleukine 8 (Seydel et al. 1997). L'inflammation recrute également des macrophages et des neutrophiles riches en granules cytotoxiques au contact du parasite (Salles et al. 2003).

Une fois que le parasite a détruit la muqueuse et la sous-muqueuse intestinale, il peut passer dans la circulation sanguine. Pour résister aux défenses immunitaires de l'hôte, les

trophozoïtes d'*Entamoeba histolytica* sont recouverts de lipophosphoglycane fortement phosphorylés et glycosylés, ainsi que de protéinophosphoglycane attachés à la paroi par des protéines de glycosylphosphatidylinositol (Stanley et al. 1992; Moody-Haupt et al. 2000).

Après transport *via* la circulation portale, le parasite forme un abcès hépatique, le plus souvent unique, contenant un pus constitué par les hépatocytes morts, les débris cellulaires et les quelques rares trophozoïtes. A cause du faible nombre de parasites retrouvés par rapport à la taille de l'abcès, l'hypothèse la plus vraisemblable est qu'*Entamoeba histolytica* détruit probablement les hépatocytes indirectement (Burchard et al. 1993) grâce à une importante réaction inflammatoire, qui va entraîner l'apoptose des cellules hépatiques *via* le recrutement des polynucléaires neutrophiles et des macrophages. Par ailleurs, il semblerait qu'une quantité sub-critique d'amœbopores entraîne le déclenchement d'une apoptose (Seydel and Stanley 1998; Huston et al. 2000). Des phénomènes de nécroses cellulaires entreraient également en jeu.

1.8. Clinique

1.8.1. Amœbose intestinale

L'agression de la muqueuse intestinale, décrit ci-dessus, par la forme virulente d'*Entamoeba histolytica* est responsable des symptômes de la maladie.

1.8.1.1. Amœbose intestinale aiguë

D'apparition généralement brutale (ANOFEL 2013) ou parfois annoncée par une diarrhée d'apparence banale et d'aggravation graduelle (Stanley 2003), elle est caractérisée par un syndrome dysentérique associant l'émission de 5 à 15 selles glairo-sanglantes par jour, une perte d'appétit, une langue saburrale, des douleurs abdominales, des épreintes (violentes douleurs abdominales de type colique) et des ténesmes (tensions douloureuses de l'anus ou de la vessie avec sensation de brûlure et besoins impérieux d'aller à la selle) (ANOFEL 2013). L'absence de fièvre et d'altération de l'état général est la norme (ANOFEL 2013). Le toucher rectal, souvent douloureux, explore une ampoule contenant des glaires et du sang en l'absence de matière fécale. Le clinicien peut palper un abdomen sensible, particulièrement en région inguinale droite (cæcum) ou en fosse iliaque gauche (sigmoïde).

Certaines amœboses intestinales se présentent également comme des diarrhées aqueuses profuses striées de sang avec des douleurs abdominales qui restent modérées (Stanley 2003).

Non traitée ou mal traitée, la maladie évolue par la suite plus fréquemment sous une forme insidieuse d'aggravation progressive. L'évolution est presque toujours défavorable avec des rechutes périodiques, entrecoupées de périodes de rémission. Des complications peuvent alors survenir (surinfection bactérienne, amœbome, colite chronique post-amibienne) (Stanley 2003). Cependant, traitée de manière appropriée, l'amœbose intestinale aiguë simple guérit très facilement, bien souvent sans séquelle, les signes cliniques s'amendant en quelques jours (Krogstad et al. 1978).

Occasionnellement, la maladie se manifeste sous une forme fulminante qui peut entraîner le décès rapide du patient (Gouvernement du Canada 2001; Stanley 2003). Cette forme catastrophique se traduit par une diarrhée sanglante profuse souvent associée à une fièvre, une leucocytose prononcée, des douleurs abdominales avec signes péritonéaux et atteinte colique étendue (Haque et al. 2003b). Elles s'observent essentiellement en zone tropicale. Les femmes enceintes ou parturientes (Abioye 1973) et les patients traités par corticoïdes sont particulièrement susceptibles de développer une forme grave (Eisert et al. 1959; Abioye 1973). Dans certaines présentations, la colite amibienne fulminante peut se compliquer d'atteintes sévères d'ordre septique et/ou nécrotique, pouvant mettre en jeu le pronostic vital du patient. Les perforations intestinales sont fatales dans plus de 40 % des cas, malgré un traitement chirurgical approprié qui consiste bien souvent en une colectomie étendue (Ellyson et al. 1986; Aristizábal et al. 1991; Stanley 2003; ANOFEL 2013).

1.8.1.2. Autres formes d'amœboses intestinales

L'amœbome est une tumeur inflammatoire bénigne du côlon ou du sigmoïde, constituée de tissus granulomateux infiltrés de lymphocytes, de polynucléaires neutrophiles et d'amibes hématophages. L'ensemble est limité par une fibrose conjonctive extensive (Benmansour et al. 2013). L'amœbome peut apparaître immédiatement ou survenir à distance d'une amœbose intestinale aiguë secondairement à une ulcération chronique.

Les manifestations cliniques sont des troubles du transit, des rectorragies, des douleurs importantes, et parfois une altération de l'état général (ANOFEL 2013). La palpation retrouve

inconstamment la présence d'une masse douloureuse (Benmansour et al. 2013). Les complications peuvent être un syndrome obstructif ou la surinfection. Les principaux diagnostics différentiels sont le carcinome colique et la maladie de Crohn (Allah-Kouadio et al. 2011). Les techniques d'imagerie comme l'échographie ou la tomodensitométrie après lavement baryté vont retrouver un épaissement plus ou moins circonferentiel de la paroi colique. La fonte tumorale sous amœbicides tissulaires est fortement évocatrice du diagnostic. Le diagnostic de certitude n'est apporté que par les biopsies (Benmansour et al. 2013).

La colopathie chronique post-amibienne est une autre complication rare de l'amœbose intestinale. Ce terme couvre l'ensemble des lésions cicatricielles qui apparaissent suite à la répétition des épisodes d'amœbose intestinale aiguë (ANOFEL 2013). Par conséquent, ces complications surviennent essentiellement en zone de forte endémie. L'accumulation des lésions cicatricielles de la muqueuse colique donne lieu à des troubles du transit intestinal et des douleurs intermittentes abdominales. La maladie évolue par poussée (Tucker et al. 1975).

Enfin, l'appendicite, la colite nécrotique, le mégacôlon toxique, les hémorragies digestives et les abcès coliques sont des manifestations rarement décrites de l'amœbose intestinale (Ellyson et al. 1986; Ciftci et al. 1999; Gotohda et al. 2000).

1.8.2. Amœbose extra-intestinale

Ces manifestations rares font suite à une atteinte colique par effraction de la barrière intestinale, symptomatique ou non, et essaimage dans la circulation sanguine du parasite sous sa forme histolytique. Elles peuvent apparaître à distance dans l'évolution de la maladie, parfois plusieurs mois ou années après l'infestation (Stanley 2003). Elles peuvent par conséquent être diagnostiquées hors des zones d'endémie, alors que le séjour est ancien, notamment chez le voyageur occidental longtemps après son retour.

Ces localisations extra-intestinales restent rares puisqu'on estime qu'elles surviennent dans moins de 1% des infestations par *Entamoeba histolytica* (Haque et al. 2003a).

1.8.2.1. Amœbose hépatique

Bien qu'*Entamoeba histolytica* puisse infecter presque tous les tissus, la forme la plus fréquente de l'amœbose extra-intestinale est l'abcès amibien hépatique. Cette entité clinique,

qui résulte de la migration des trophozoïtes du côlon au foie par la circulation portale, est dix fois plus fréquente chez l'adulte que chez l'enfant et trois fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme (Espinosa-Cantellano and Martínez-Palomo 2000).

Le début est brutal dans un contexte d'altération de l'état général. La forme clinique typique réalise la triade de Fontan avec une fièvre constante en plateau comprise entre 38 et 40°C, des douleurs de l'hypochondre droit irradiant vers l'épaule et la scapula, une hépatomégalie douloureuse à l'ébranlement mais lisse à la palpation avec un bord inférieur mou (Police et al. 2015).

Un abcès du lobe hépatique droit déclenche parfois une toux chronique par irritation de la plèvre et peut, lorsqu'il rompt, se déverser par contiguïté dans le poumon pour former un abcès secondaire. Un abcès du lobe hépatique gauche est moins fréquent qu'à droite (Shandera et al. 1998) et peut se manifester par des douleurs épigastriques. Dans près de 8% des cas, l'abcès hépatique comprime les voies biliaires (Martinez-Palomo and Espinosa-Cantellano 1998). Le tableau clinique est généralement préoccupant. L'évolution, constamment défavorable, impose une prise en charge immédiate.

Les formes atypiques sont rares. Il s'agit par exemple des abcès multiples (Desoubeaux et al. 2014), ou avec un abcès comprimant les voies portales et entraînant une hypertension portale, ou des formes chroniques imitant un carcinome hépatocellulaire, ou encore des formes suraiguës essentiellement chez les patients dénutris ou en retard thérapeutique. Les complications de l'abcès du foie sont la perforation et le déversement dans l'espace péricardique, pleural, ou péritonéal.

1.8.2.2. Amœbose pleuropulmonaire

Beaucoup plus rare que l'atteinte hépatique, l'amœbose pleuropulmonaire est deuxième dans l'ordre des localisations viscérales. Le poumon droit est plus souvent atteint parce qu'il s'agit très souvent d'une localisation secondaire par rupture ou fissuration d'un abcès hépatique. Les symptômes sont bruyants avec toux, expectoration, douleur importante, et altération de l'état général (Webster 1956; Cameron 1978; Lyche et al. 1990). La fistulisation de l'abcès aux bronches peut donner lieu au déversement d'une vomique couleur « chocolat ».

1.8.2.3. Autres localisations

Les autres localisations sont très inhabituelles, souvent décrites sous forme de cas cliniques dans la littérature.

L'abcès amibien du cerveau est le troisième site en fréquence de localisation d'un abcès amibien (Becker Jr et al. 1980).

L'amœbose cutanée est très rare, parfois nosocomiale, compliquant le drainage d'un abcès chez un patient infesté par *Entamoeba histolytica* (Bor et al. 1969). Des formes cutanées progressant à partir de la région ano-génitale à la suite d'une dysenterie amibienne aiguë sont possibles et, ont notamment été décrites chez l'enfant (Kenner and Rosen 2006).

L'amœbose génitale est décrite notamment chez les hommes qui ont des relations homosexuelles. A ce titre, l'amœbose peut être considérée comme une infection sexuellement transmissible (Ylvisaker and McDonald 1980).

Enfin, d'exceptionnelles péricardites à *Entamoeba histolytica* sont décrites (Takaro and Bond 1958).

1.9. Diagnostic

1.9.1. Biologie d'orientation

L'infection au cours de l'amœbose intestinale non invasive reste localisée n'entraînant aucune anomalie biochimique décrite dans la littérature.

Chez le patient souffrant d'amœbose extra-intestinale, les leucocytes sont augmentés, principalement les polynucléaires neutrophiles. Bien qu'il s'agisse d'une parasitose, les polynucléaires éosinophiles restent à des valeurs normales (Reed 1992; ANOFEL 2013). Les enzymes hépatiques telles que les alanine-aminotransférases et les aspartate-aminotransférases sont légèrement augmentées chez deux tiers des patients (Wuerz et al. 2012). Les phosphatases alcalines présentent plus souvent des taux élevés. Une anémie, dans environ la moitié des cas, accompagnée d'une hypoalbuminémie, dans deux tiers des cas, et d'une hyperbilirubinémie dans un tiers des cas, sont couramment observées (Lodhi et al. 2004).

L'augmentation de la vitesse de sédimentation et de la protéine C-réactive (CRP) est classique au cours de l'amébose invasive (ANOFEL 2013).

1.9.2. Techniques de diagnostic direct

1.9.2.1. Examen parasitologique des selles

Le diagnostic de l'amébose intestinale requière la démonstration de la présence de kystes ou de trophozoïtes grâce à l'examen parasitologique des selles.

La Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM) 286 recommande que l'examen microscopique comporte « deux méthodes de concentration complémentaires, adaptées au contexte géographique, pathologique ou biologique du malade ». En l'absence d'orientation clinique ou pour un contrôle (NABM 287), « une seule technique de concentration » pourra être utilisée (Sécurité Sociale Française 2014).

A cause de la fragilité des amibes, la nomenclature a rajouté une cotation spécifique (NABM 259) qui correspond à une recherche extemporanée de formes végétatives de protozoaires sur selles fraîchement émises « par coloration élective : Merthiolate Iode Formol (M.I.F) et/ou noir chlorazol, et/ou hématoxyline » (Sécurité Sociale Française 2014).

La phase pré-analytique est essentielle au bon rendement diagnostique. Elle nécessite une obtention de la totalité de l'émission fécale en quantité suffisante (l'équivalent de 250 à 300 millilitres) dans un récipient en plastique transparent hermétiquement fermé à large embouchure et non contaminé par l'urine. En dehors de l'observation globale de l'aspect macroscopique du prélèvement, cela offre une quantité suffisante de fécès pour réaliser les techniques de concentration. Le prélèvement est maintenu à température ambiante. Le délai entre l'exonération et l'examen microscopique doit être le plus court possible (idéalement dans les 30 à 60 minutes suivant l'émission de la selle). Pour illustration, à température ambiante, les amibes s'immobilisent en moins de trente minutes, puis se lysent en approximativement une heure. S'il est possible, l'examen spécifique des glaires ou du mucus améliorent considérablement la sensibilité de l'examen (Merens et al. 2005).

A cause de la fragilité du parasite et de l'émission discontinue des kystes et des trophozoïtes, et surtout afin d'améliorer encore plus la sensibilité de la recherche, il est conseillé de répéter trois fois l'examen à des jours différents. La littérature fait état d'une sensibilité pour

Entamoeba spp proche de 60 % par prélèvement unique (Haque et al. 1995). En outre, divers autres facteurs que le retard d'acheminement au laboratoire, peuvent affecter négativement les résultats de la microscopie tels que des conditions inadéquates de collecte, le risque de confusion des trophozoïtes avec des leucocytes ou d'autres cellules, des substances perturbatrices telles que les antibiotiques, les laxatifs, ou les préparations antidiarrhéiques, la présence d'autres amibes non pathogènes de morphologie proche (Walsh 1986; Tanyuksel and Petri 2003). Les amibes non pathogènes ne sont généralement pas responsables des troubles observés, mais témoignent d'une mauvaise hygiène générale (ANOFEL 2013).

Malgré toutes ces contraintes, un observateur expérimenté disposant d'un temps de lecture approprié peut pratiquer cet examen dans de bonnes conditions. Dans la pratique, l'opérateur réalise un examen macroscopique, décrivant l'aspect des selles, la présence éventuelle de mucus, de sang ou de parasites visibles, ainsi qu'un examen microscopique comprenant un examen direct à l'état frais et des examens microscopiques après concentration et/ou coloration (Tanyuksel and Petri 2003; Merens et al. 2005).

Examen microscopique direct à l'état frais

L'examen microscopique direct nécessite la dilution dans une goutte de sérum physiologique de la selle fraîchement émise qui sera montée entre lame et lamelle. Lorsque la préparation est placée sur une platine chauffante à 37°C, les formes végétatives augmentent leur mobilité caractéristique (Bailenger 1965). Il est ainsi possible de rechercher des trophozoïtes mobiles décrivant un déplacement linéaire ou des kystes immobiles et réfringents. Bien qu'inconstamment retrouvée, la présence d'hématies phagocytées par le parasite permet la distinction entre *Entamoeba dispar* et *Entamoeba histolytica* (OMS, 1997). L'examen direct à l'état frais peut également être amélioré par l'ajout d'une goutte de colorant iodé permettant de mieux visualiser les organites internes du parasite, notamment le ou les cristalloïde(s) et noyau(x) du kyste.

Examen(s) microscopique(s) après concentration et/ou coloration

Les techniques de concentration ont l'avantage de sélectionner les éléments parasitaires en éliminant de nombreux débris alimentaires. Ces techniques augmentent significativement la sensibilité de l'examen microscopique. Les techniques de concentration utilisées au

laboratoire se basent sur les différences de densité relative entre les éléments parasitaires et les liquides de dilution, ainsi que leur affinité plus ou moins hydrophile ou lipophile. Parmi ces techniques, la méthode diphasique, combinant les deux principes physico-chimiques cités plus haut, est particulièrement adaptée à la recherche des protozoaires. Facile à mettre en œuvre, elle repose sur la mise en présence de deux phases liquides non miscibles, l'une aqueuse et l'autre organique puisqu'il s'agit d'éther. Après ajout d'un fragment de la selle, la suspension aqueuse est laissée à décanter quelques minutes afin d'éliminer les particules les plus volumineuses. Cette suspension est mélangée avec la phase d'éther, qui a pour propriété de dissoudre les lipides, puis est centrifugée. Le culot d'enrichissement est examiné au microscope entre lame et lamelle. Les techniques de concentration les mieux éprouvées pour la recherche de protozoaires sont les techniques de MIF concentration, de Bailenger, de Junod ou de Thébaut (Cassaing et al. 1997). La centrifugation, nécessaire à la concentration, a le désavantage de détruire les formes trophozoïtes, ne laissant que les kystes (Merens et al. 2005). Une coloration éventuelle permet de visualiser la structure interne de l'amibe afin d'améliorer la spécificité de l'examen microscopique.

1.9.2.2. Autres techniques de diagnostic direct :

Comme nous venons de le voir, l'examen parasitologique des selles n'est que partiellement satisfaisant. Des techniques complémentaires comme la culture d'amibes associée à des techniques de migration électrophorétique (McMillan and McNeillage 1984), la détection immunoenzymatique ou immunochromatographique de copro-antigènes (Haque et al. 1995; Garcia et al. 2000) ou plus récemment la recherche du génome du parasite par biologie moléculaire (Gutiérrez-Cisneros et al. 2010) sont utiles non seulement afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité des résultats, mais également pour différencier *Entamoeba histolytica* d'*Entamoeba dispar*.

1.9.2.2.1. Culture

Boeck et Drbohlav furent les premiers à cultiver les amibes dans un milieu à base d'œufs. Le milieu de Robinson (Robinson 1968) et le milieu TYSGM-9 de Diamond (Diamond 1982) sont les plus utilisés de nos jours pour la culture axénique d'*Entamoeba histolytica* (Diamond and Jensen 1983; Clark and Diamond 2002). Considérée comme la technique de référence, la culture n'est pratiquée que dans de rares laboratoires spécialisés. Sa sensibilité serait supérieure à l'examen direct (McMillan and McNeillage 1984). Grâce à des techniques de migration électrophorétique des iso-enzymes, il est possible de déterminer ultérieurement le nom d'espèce (Sánchez-Guillén et al. 1989).

1.9.2.2.2. Copro-antigène

Amplement utilisée en biologie médicale, la détection d'antigènes amibiens est mise à profit dans de multiples tests commerciaux. La recherche de copro-antigènes spécifiques d'*Entamoeba spp* repose sur des techniques immuno-enzymatiques ou l'immunochromatographique. Ces tests ont plusieurs avantages comme la possibilité pour certains kits de différencier *Entamoeba histolytica* d'*Entamoeba dispar* (Verkerke et al. 2015), avec une utilisation facile, rapide et standardisée par le personnel de laboratoire. Ces tests ciblent l'antigène parasitaire Gal/GalNAc lectine, détecté spécifiquement sur *Entamoeba histolytica*, grâce à des anticorps monoclonaux anti-adhésines (Jelinek et al. 1996; Pillai and Kain 1999; Garcia et al. 2000). Cependant, ces tests ont pour désavantage de méconnaître le stade du parasite (kyste ou trophozoïte) et souffrent du fait que les antigènes détectés sont dénaturés par les solutions de fixation, ce qui limite leur utilisation à des selles fraîches ou congelées (Mirelman et al. 1997). Ces tests s'inscrivent donc en complément de l'examen microscopique. Leurs performances analytiques sont néanmoins très honorables à même de motiver leur utilisation en routine (Jelinek et al. 1996).

Aujourd'hui réservée aux échantillons de selles, la détection des antigènes a un temps été envisagée dans le sérum (Pillai and Mohimen 1982; Vinayak et al. 1990; Parija and Karki 1999) et la salive (Abd-Alla et al. 2000) pour le diagnostic de l'amébose invasive. Ces essais restent actuellement du domaine de la recherche bien que la sensibilité de la recherche d'antigènes circulants pour le diagnostic de l'abcès amibien soit au moins équivalente à la sérologie en l'absence de traitement par métronidazole (Haque et al. 2000).

1.9.2.2.3. Biologie moléculaire

L'amplification de l'ADN par *polymérase chain reaction* (PCR) permet de mettre en évidence et de distinguer les différentes espèces du genre *Entamoeba spp.* Elle a l'avantage d'une sensibilité et d'une spécificité supérieures à la détection de l'antigène dans les selles (Visser et al. 2006). Les inconvénients sont un coût plus important, les contaminations croisées et les résultats faussement négatifs à cause de la présence d'inhibiteurs de l'ADN polymérase (Haque et al. 1998). En raison des compétences et des équipements spécialisés qu'elle requiert, cette technique n'est pas bien adaptée pour une utilisation dans les pays en développement, bien que l'amébose soit endémique dans ces régions. La PCR est réalisable sur des échantillons congelés ou réfrigérés depuis quelques jours. La fixation des selles peut gêner l'extraction de l'ADN. L'une des cibles classiquement utilisées pour la PCR est l'ADN de la petite sous-unité ribosomale du parasite (Stark et al. 2008).

1.9.2.2.4. Examen anatomopathologique :

L'examen extemporané des lésions prélevées par biopsie sous coloscopie constitue une technique peu fiable et invasive (Figure 6). L'examen anatomopathologique peut retrouver des lésions ulcérées, avec présence de polynucléaires neutrophiles. Les colorations, comme par exemple la coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG) ou la coloration HES (Gentilini 2012), permettent de visualiser les éventuelles parasites (Ralston and Petri Jr 2011).

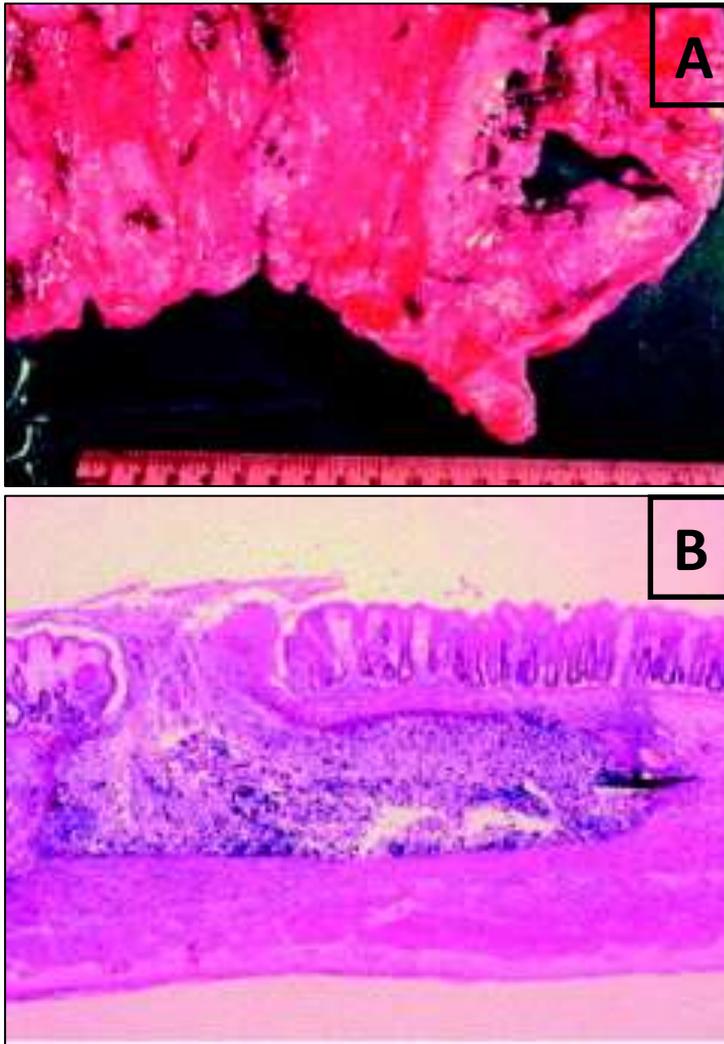


Figure 6: Examens macroscopique et microscopique d'une biopsie colique

A : Aspect macroscopique d'une pièce anatomopathologique avec des ulcères multiples au cours d'une colite amibienne (Stanley 2003)

B : Coupe microscopique d'un ulcère de la paroi colique causé par *Entamoeba histolytica histolytica* (Stanley 2003)

1.9.2.3. Techniques de diagnostic indirectes

1.9.2.3.1. Généralités sur la sérologie

Dans les cas d'amœbose invasive, la réponse immunitaire de l'hôte produit un haut titre d'anticorps sériques dirigés contre les protéines du parasite. Ces anticorps sont non protecteurs, c'est-à-dire qu'ils n'empêchent pas la progression de la maladie ni la recontamination. Ils apparaissent dans un délai de une à deux semaines après le début des

symptômes (Collège des universitaires de Maladie Infectieuses et Tropicales 2012). Différentes techniques sérologiques permettent la mise en évidence des immunoglobulines d'isotype G et M spécifiques d'*Entamoeba histolytica*. Les anticorps dosés sont dirigés contre la lectine du parasite (Haque et al. 2000).

La NABM recommande d'utiliser au moins deux techniques différentes de dosage des anticorps sériques (Sécurité Sociale Française 2014). Pour les résultats positifs, il est recommandé de pratiquer un test de confirmation par co-électrosynérèse ou immunoélectrophorèse. Du fait, de l'absence de trousse commercialisées et de leur longueur, ces deux techniques ne sont plus pratiquées que dans des laboratoires spécialisés (Merens et al. 2005).

Les techniques de première intention sont l'ELISA, le test d'agglutination au latex, l'immunofluorescence indirecte et l'hémagglutination indirecte. Kraoul et ses coauteurs ont trouvé pour cette dernière approche (Fumouze Diagnostics®, Levallois-Perret, France), des sensibilités et spécificités de 97,6 % et 97 % respectivement (Kraoul et al. 1997). L'intérêt du test d'agglutination au latex doit également être souligné, puisqu'il s'agit d'un test de dépistage simple et très rapide, pouvant être disponible dans tous les laboratoires (Merens et al. 2005). Enfin, l'ELISA est un test diagnostique dont l'utilisation est facile à mettre en œuvre. En screening, l'ELISA est également la technique de prédilection des études épidémiologiques pour rechercher les porteurs asymptomatiques (Gonzalez et al. 1995). L'ELISA a une sensibilité et une spécificité supérieures à 95% (Hira et al. 2001).

L'immuno-électrophorèse et la contre-immuno-électrophorèse sont des techniques anciennes, qui sont peu usitées de nos jours. La contre-immuno-électrophorèse s'est révélée être moins performante que l'ELISA à la fois pour les colites amibiennes et les amœboses hépatiques (Restrepo et al. 1996).

1.9.2.3.2. Utilité et limites de la sérologie

La sérologie est utile pour le diagnostic des infections amibiennes extra-intestinales et, éventuellement, des infections amibiennes intestinales invasives avec des lésions tissulaires importantes. Un titre élevé est fortement évocateur d'une amébose invasive. Un test négatif doit éventuellement être répété en cas de forte présomption clinique, à cause du risque de faux

négatif si le dosage est réalisé trop tôt dans l'évolution de la maladie (Stanley 2003). Certaines techniques donnent également de faux positifs (Del Carmen et al. 1999), ce qui doit faire répéter le test si le résultat est douteux.

La décroissance du titre d'anticorps après l'épisode invasif est très lente. En zones d'endémie où les populations sont régulièrement exposées à *Entamoeba histolytica*, la persistance des anticorps jusqu'à plusieurs années après l'infection, rend l'interprétation du bilan sérologique plus délicate (Knobloch and Mannweiler 1983). Le dosage des immunoglobulines d'isotype M peut aider à faire la part des choses entre une infection récente et une infection plus ancienne. Au contraire, en dehors des régions d'endémie, la sérologie positive est un très bon indicateur d'une infection invasive par *Entamoeba histolytica* (Pillai et al. 1999). Pour les mêmes raisons, la sérologie est de valeur limitée pour l'évaluation du succès thérapeutique, qui doit se faire en premier lieu sur des critères cliniques et radiologiques. Le titre d'anticorps ne commence à se négativer qu'au bout de six à douze mois alors que le patient est déjà guéri et, il n'est pas rare qu'une cicatrice sérologique persiste longtemps (Merens et al. 2005).

1.9.3. Examens diagnostiques complémentaires non biologiques

1.9.3.1. Amœbose intestinale aiguë

Pénible pour le patient, la rectoscopie ou la colonoscopie peuvent présenter un intérêt en deuxième intention lorsque l'examen parasitologique des selles revient négatif. Au cours de l'amœbose intestinale aiguë, le gastro-entérologue visualise une muqueuse inflammatoire, oedématiée, avec un fin piqueté hémorragique, et des ulcérations classiquement décrites comme en «coup d'ongles» avec présence de glaires. Dans les formes plus sévères, ces images s'associent à des lésions «en cratère» ou plus étendues «en carte de géographie», ainsi qu'à des plages de nécrose (Lee et al. 2015). Une biopsie des zones lésées retrouve parfois des amibes enchâssées dans la paroi colique (Gentilini 2012).

1.9.3.1.1. Amœbose tissulaire

L'échographie abdominale est un examen d'orientation rapide et accessible pour la recherche d'un abcès hépatique. Elle permet de préciser le nombre, la taille et la localisation des lésions. Habituellement, elles sont nettement limitées, ovalaires, hypoéchogènes avec un renforcement postérieur du fait de leur écho-structure liquidienne (Figure 7). L'échographie a aussi l'avantage d'être utile pour éventuellement guider un drainage percutané de l'abcès.

La mise en évidence d'abcès du foie, des poumons et d'autres organes est également possible par tomodensitométrie (Figure 8). La tomodensitométrie est un examen plus sensible que l'échographie grâce à sa meilleure résolution, particulièrement lorsque les abcès sont de petite taille. La ou les lésions apparaissent nettement limitées, hypodenses et homogènes avec parfois des *septa* fibreux cloisonnant l'abcès en plusieurs sous-cavités, et contenant une substance d'aspect liquidien (Salles et al. 2003). L'injection de produit de contraste va améliorer la sensibilité de l'examen en diffusant dans les tissus parenchymateux hépatiques sains et en évitant les zones pathologiques de l'abcès. Comme pour l'échographie, un guidage du drainage percutané est envisageable.

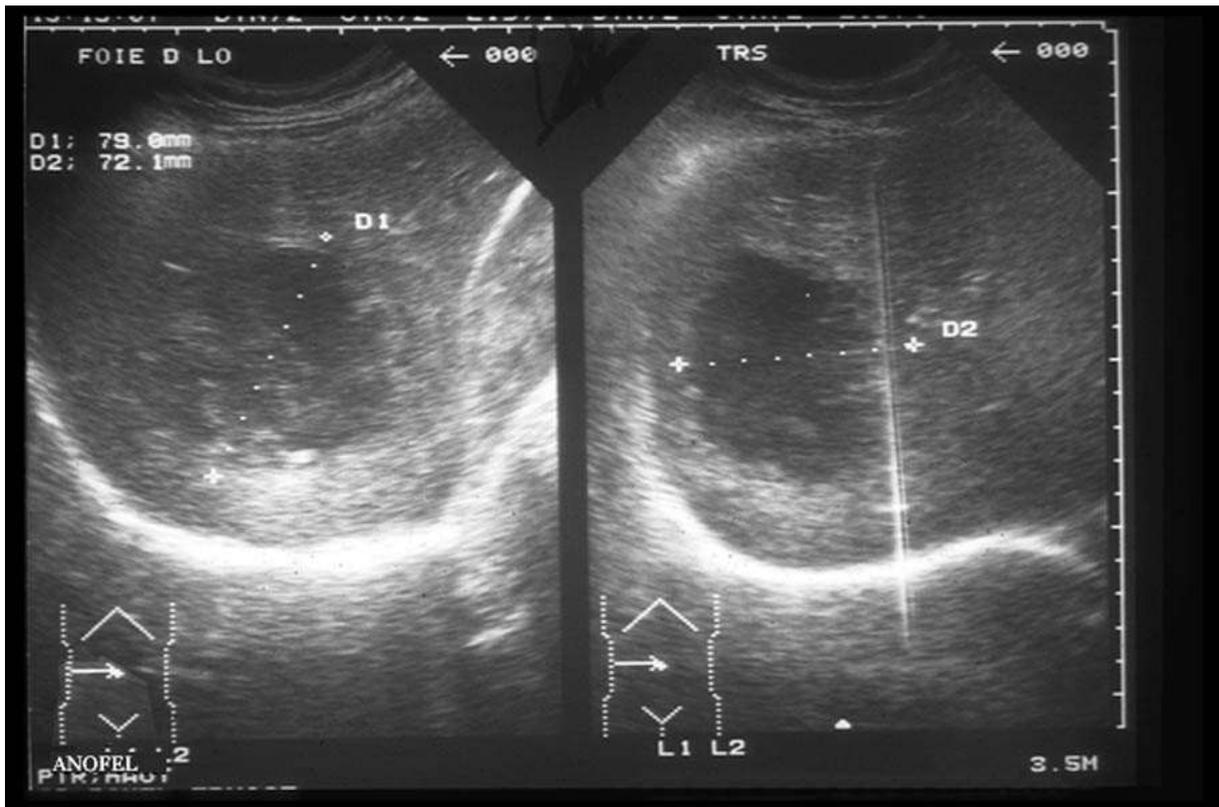


Figure 7: Echographie d'un abcès amibien du foie (ANOPEL 2013)



Figure 8: Aspect tomodensitométrique d'un abcès amibien du foie (flèche noire) (Fang and Shu 2010)

1.10. Traitement

1.10.1. Traitement prophylactique et mesures associées

L'amébose est transmise par le péril féco-oral. Le meilleur moyen de lutte contre la maladie est la prévention. La prophylaxie générale comporte plusieurs mesures dont le dépistage et le traitement des porteurs sains, particulièrement dans les institutions et collectivités, l'aménagement de sanitaires, l'accès à l'eau potable, le traitement des eaux usées, l'interdiction de l'utilisation agricole d'engrais d'origine humaine, l'éducation de la population locale, et la filtration ou la chloration suffisante des eaux de boisson. Alors qu'il n'existe pas de chimioprophylaxie ou de vaccin (Gouvernement du Canada 2001), toutes ces recommandations de santé publique restent théoriques pour le voyageur en zone d'endémie. Une prophylaxie individuelle est recommandée associant propreté des mains, ébullition de l'eau de boisson, l'évitement de l'eau du robinet pour le lavage des dents, l'évitement de la glace et des glaçons, l'évitement des jus de fruits, la consommation d'eau en bouteilles, la bonne cuisson des aliments, l'évitement des fruits et crudités, le pelage des fruits et crudités ou leur nettoyage soigneux (Gentilini 2012).

1.10.2. Traitement curatif

Le traitement est toujours indispensable, y compris chez le patient porteur asymptomatique. Il est le plus souvent médical. Pour les formes invasives, il s'effectue fréquemment en deux phases avec l'utilisation d'un antiamibien diffusible pour traiter l'épisode, puis d'un antiamibien « de contact » pour traiter la colonisation intestinale (ANOFEL 2013). Il existe de nombreux médicaments antiparasitaires. En France, seul un petit nombre est commercialisé.

Le traitement chirurgical (par colectomie sub-totale dans le cadre d'une amébose colique maligne ou par drainage percutané d'un abcès hépatique) est réservé aux formes compliquées.

1.10.2.1. Amœbocides tissulaires (ou diffusibles)

L'amœbocide diffusible de choix est le métronidazole (Flagyl®) à une dose de 1,5 g à 2 g par jour chez l'adulte, en 3 prises pendant 10 jours (ANOFEL 2013). Le métronidazole est un antibiotique de la famille des 5-nitro-imidazolés, possédant une activité anti-parasitaire et anti-bactérienne. Il est réduit en produits cytotoxique inhibant la synthèse d'acide nucléique

intracellulaire, ce qui explique son spectre d'activité original (germes anaérobies et protozoaires qui, seuls, possèdent cette capacité de réduction) (Dorosz et al. 2012). Sa demi-vie est de 8 à 12 heures. Son absorption digestive est rapide et importante après administration par voie orale, avec une excellente diffusion tissulaire. La voie parentérale peut être indiquée en cas d'intolérance digestive. Il déclenche des effets secondaires mineurs inconstants, comme des nausées, une anorexie, des céphalées, un prurit, une glossite, une pancréatite, une neuropathie sensitive périphérique, une leucopénie et une perturbation du bilan hépatique. Le métronidazole peut également être responsable d'interaction médicamenteuse indésirable. La métabolisation est essentiellement hépatique et l'élimination est principalement urinaire et discrètement biliaire. La faible élimination digestive du métronidazole explique la nécessité de toujours l'associer à un amœbocide de contact. Dans les formes graves, ce médicament est administré par voie injectable. Pour les formes modérées ne nécessitant pas une administration intraveineuse, d'autres 5-nitro-imidazolés peuvent être proposés en alternative (ANOFEL 2013) comme le tinidazole (fasigyne®) ou le secnidazole®(secnol®) (tableau I) (ANOFEL 2013). Le traitement historique, la déhydro-émétine (Déhydro-émétine ROCHE®), a été retiré du marché dans les années 1990 à cause, entre autre, de sa toxicité cardiaque et neurologique (Serge 2010; Gentilini 2012).

1.10.2.2. Amœbocides de contact

Les porteurs asymptomatiques peuvent être traités par un amœbicide de contact d'administration orale comme le tiliquinol-tilbroquinol (Intetrix®) (ANOFEL 2013). Les alternatives thérapeutiques sont la paromomycine, disponible uniquement en autorisation temporaire d'utilisation en France (Vidal 2015), et utilisée à l'étranger, le furoate de diloxanide ou la diiodohydroxyquinoléine (Gouvernement du Canada 2001).

1.10.3. Indications du traitement

1.10.3.1. Amœbose asymptomatique (porteur sain)

Les patients asymptomatiques avec une infection à *Entamoeba histolytica* prouvée doivent être traités avec un amœbicide de contact. Cette recommandation est fondée à la fois sur le risque de développer une amœbose maladie et que les patients porteurs de kystes présentent un fort risque de contamination pour l'entourage (Stanley 2003). Les recommandations de l'OMS déconseillent de traiter les patients contaminés par *Entamoeba dispar*, non pathogène,

mais indistinguable microscopiquement d'*Entamoeba histolytica*. Dans la pratique, en France, le clinicien a tendance à traiter le porteur sain sans s'attarder sur ces considérations microbiologiques.

1.10.3.2. Amœbose symptomatique

1.10.3.2.1. Amœbose intestinale aiguë

Comme nous l'avons signalé plus haut, le traitement de l'amœbose intestinale aiguë sans gravité s'effectue en deux phases avec l'utilisation d'un amœbocide tissulaire suivi par une stérilisation de la lumière intestinale par un amœbocide de contact (ANOFEL 2013).

En effet, bien que 90% des patients répondent aux nitro-imidazolés, il semblerait que le parasite persiste dans 40 à 60% si la molécule est utilisée seule (Klassen-Fischer et al. 2011).

Un examen parasitologique des selles, répété trois fois, est réalisé à une à quatre semaines de la fin du traitement pour vérifier l'absence de kystes d'amibes (ANOFEL 2013).

Le traitement antiparasitaire des formes fulminantes de l'amœbose intestinale est identique à celui de l'amœbose intestinale aiguë, mise à part la voie d'administration intra-veineuse et l'ajout d'un traitement antibiotique à large spectre pour lutter contre les surinfections par la flore digestive (Stanley 2003). La gravité de la maladie nécessite une hospitalisation en réanimation. Une intervention chirurgicale comme une colectomie partielle, est pratiquée en cas d'hémorragie, de nécrose étendue ou de mégacôlon toxique (Klassen-Fischer et al. 2011).

1.10.3.2.2. Amœbose hépatique

Le traitement antiparasitaire, débuté immédiatement, est identique à celui de l'amœbose intestinale aiguë (ANOFEL 2013). Il fonctionne efficacement dans la très grande majorité des cas (Cohen and Reynolds 1975).

Une ponction percutanée écho-guidée permet de drainer l'abcès en cas d'absence de réponse au traitement ou si l'abcès, trop volumineux, risque de rompre avec diffusion à d'autres organes comme le poumon ou le péricarde (abcès de diamètre supérieur à 5 cm) (Klassen-Fischer et al. 2011). Le drainage percutané peut parfois soulager le patient et permet

également d'éliminer une autre étiologie grâce à l'examen bactériologique, parasitologique et anatomopathologique.

1.10.3.2.3. Autres formes d'amœboses intestinales

Bien conduit, le traitement médical de l'amœbome par amœbocide tissulaire suivi d'un contrôle par biopsie endoscopique après traitement, permet d'éviter une chirurgie précipitée (Joshi and Aga 2010; Zapata et al. 2011). La chirurgie peut être envisagée en cas de doute avec un carcinome colique ou, en seconde intention, après échec du traitement médical.

Le traitement de la colite chronique post-amibienne n'apporte que peu d'amélioration. Il est uniquement symptomatique (Delmont 2002).

Tableau I : Traitement de l'amébose (Dorosz et al. 2012)

	Dénomination commune internationale	Nom commercial	Posologie	Durée traitement
Amébobocides diffusibles	Métronidazole	Flagyl®	A : 1,5 g/jour E : 40 mg/kg/jour en 3 prises Ou perfusions intraveineuse lentes de 30-60 minutes A : 500 mg *2-3/jour E : 20 à 30 mg/kg/jour	10 jours
	Secnidazole	Secnol®	Amébose hépatique : A : 1,5 g/jour en 1 à 2 prises pendant 5 jours Amébose intestinale : A : 2g en 1 prise pendant 3 jours	Cf. posologie
	Tinidazole	Fasigyne®	Amébose hépatique : A : 1,5 g/jour en 1 à 2 prises Amébose intestinale : A : 2g en 1 prise	1 à 5 jours(ANOFEL 2013)
	Tilbroquinol (100 mg) + Tiliquinol(200 mg)	Intetrix®	A : 4 gélules/jour en 2 prises	10 jours au maximum
Amébobocides de contact	Paromomycine	Humatin®	Prescrit par un médecin spécialiste (autorisation temporaire d'utilisation)	
	Nifuroxazide	Ercefuryl®	A : 4 gélules/jour	10 jours au maximum
	Furoate de diloxanide	Furamide®	A : 1,5g /jour E : 60 mg/kg/jour	10 jours
	Diiodohydroxyquinoléine	Direxiode®	A : 2g/jour E : 10 mg/kg	20 jours

2. La procalcitonine

2.1. Introduction

La PCT est un polypeptide de 116 acides aminés. Elle est le précurseur d'une hormone thyroïdienne jouant un rôle dans la régulation de la calcémie sanguine, appelée calcitonine. Bien que dépourvue d'activité hormonale et que son rôle physiopathologique ne soit pas clairement établi, la PCT présente un grand intérêt clinique comme biomarqueur sensible et spécifique des infections bactériennes (Simon et al. 2004), et à un moindre degré des atteintes parasitaires et fongiques (Hollenstein et al. 1998; Leli et al. 2015).

2.2. Histoire

Connue depuis 1975 pour des travaux portant sur la biosynthèse de la calcitonine chez les gallinacées, la PCT n'est considérée alors que comme un simple précurseur de cette hormone thyroïdienne, sans importance particulière, à tel point qu'elle n'est pas spécifiquement nommée à l'époque dans la publication (Moya and Nieto 1975). Peu de travaux s'intéressent à cette prohormone dans les décennies qui suivent sa découverte. Les recherches se concentrent alors plus sur la fonction de la calcitonine, notamment comme potentiel marqueur du cancer de la thyroïde et du poumon (Becker et al. 1978; Ghillani et al. 1989; Vlcek et al. 1994).

En 1984, la structure protéique de la PCT est finalement explorée grâce à l'extraction d'acide ribonucléique (ARN) provenant de cellules de cancer thyroïdien (Le Moullec et al. 1984). Quelques années plus tard, en 1989, le gène codant la PCT est entièrement séquencé sur le bras court du chromosome 11 (Broad et al. 1989). La même année Ghillani et ses co-auteurs publient un article proposant une technique de dosage immunoradiométrique des précurseurs de la calcitonine grâce des anticorps monoclonaux marqués à l'iode 125 (Ghillani et al. 1989). Les travaux de Claude Bohuon de l'Institut Gustave Roussy sur les anticorps monoclonaux dirigés contre la calcitonine et la PCT contribuent également à fournir des moyens robustes de dosages dès le début des années 1990 (Bohuon 2000).

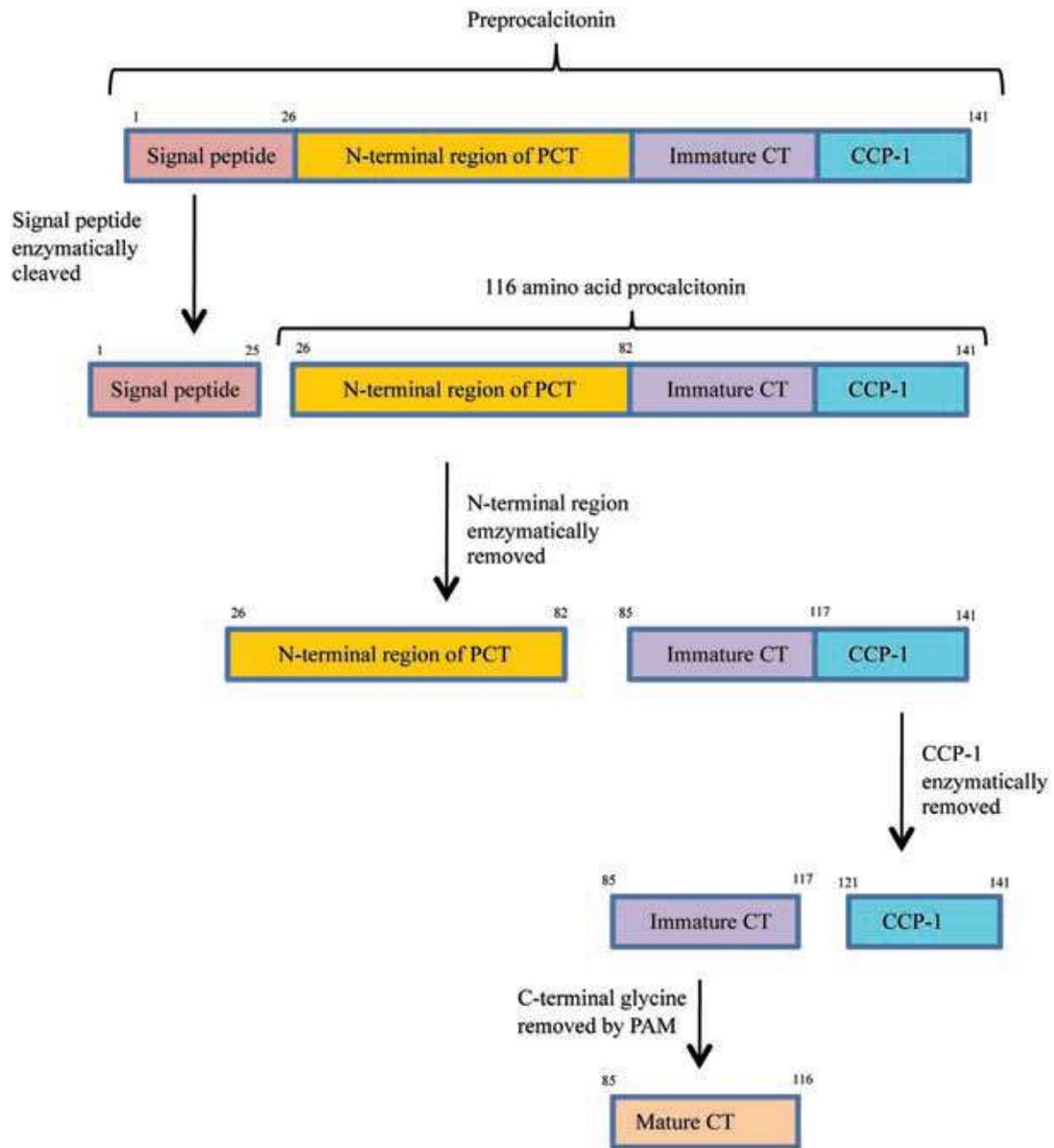
En 1993, un article fait état de concentrations sériques de PCT bien plus élevées chez les patients septiques que chez ceux développant une infection d'origine virale (Assicot et al. 1993). Cet article ravive l'intérêt de la communauté scientifique pour ce précurseur longtemps délaissé jusque-là. L'existence d'un marqueur fiable et spécifique de l'infection

bactérienne représente alors une avancée considérable pour la prise en charge du patient. Afin de conforter le potentiel de cette nouvelle molécule, de nombreuses études cliniques sont réalisées par la suite, qui font état d'une bonne sensibilité et spécificité de la PCT pour le diagnostic des infections bactériennes (Uzzan et al. 2006) et du sepsis sévère (Giamarellos-Bourboulis et al. 2002). Les remarquables propriétés de la PCT font rapidement adopter son utilisation en routine, notamment grâce à la mise sur le marché d'automates dédiés (B.R.A.H.M.S 2005).

2.3. Biochimie de la PCT

2.3.1. Structure

Comme énoncé en introduction, la PCT est un peptide de 116 acides aminés. La masse moléculaire de la molécule est de 12,6 kDa. La PCT est composée de trois parties : une partie N-terminale comptant 57 acides aminés (aminoprocaltitonine), une partie carboxy-terminale comptant 31 acides aminés (katalcalcine) et la calcitonine immature comptant 21 acides aminés (Figure 9) (Le Moullec et al. 1984).



Abbreviations used:
 PCT, procalcitonin; CT, calcitonin; CCP-1, calcitonin carboxypeptide-1;
 PAM, peptidylglycine α -amidating monooxygenase.

Figure 9 : Structure schématique de la calcitonine et de ses précurseurs (Jin and Khan 2010)

2.3.2. Synthèse

La PCT appartient à un groupe de protéines apparentées dont font partie la calcitonine, l'amyline (hormone sécrétée par les cellules β du pancréas et responsable du sentiment de satiété) ou l'adrénomodulline (hormone vasodilatatrice) (Wimalawansa 1997). Ces protéines sont codées par un ensemble de quatre gènes, désignés par les acronymes CALC-I à CALC-IV qui sont tous situés sur le bras court du chromosome 11 sauf, CALC-IV qui appartient au chromosome 12 (Hoovers et al. 1993). L'hypothèse la plus vraisemblable est que ces quatre gènes dérivent d'un même gène ancestral, au cours d'un lent processus évolutif *via* des phénomènes de duplication.

Le gène CALC-I contient la séquence codante de la préprocalcitonine, connues pour être le précurseur de la PCT. Ce gène comprend 6 exons, le 4^{ème} exon codant spécifiquement la séquence de la calcitonine (Adema and Baas 1992). En fonction des exons exprimés, les cellules produisent au moins deux sous-types discrètement distincts de préprocalcitonines (Ferrière 2000). La préprocalcitonine compte 141 acides aminés pour un poids moléculaire d'environ 16kDa. Les 25 premiers acides aminés de la région N-terminale hydrophobe forment un peptide signal qui permet la liaison au réticulum endoplasmique. Ce peptide signal est clivé par une endopeptidase pour donner la PCT (Ferrière 2000). A l'état physiologique, le clivage protéolytique de la PCT au sein de l'appareil de Golgi des cellules parafolliculaires C de la thyroïde permet la production de calcitonine (Figure 9). La calcitonine est ensuite stockée dans ces mêmes cellules à l'intérieur de granules afin d'être libérée en fonction des besoins.

Cependant, une synthèse exclusive de la PCT par la thyroïde est exclue puisqu'elle est détectée chez les patients thyroïdectomisés (Nishikura 1999). De plus, le fait qu'aucune augmentation simultanée de la calcitonine ne soit observée au cours des infections bactériennes, suggère que les cellules produisant la PCT dans ces conditions ne sont pas les mêmes qu'à l'état physiologique et qu'elles ne sont pas dotées des enzymes permettant de la métaboliser en calcitonine (Becker et al. 2004). En outre, de très faibles concentrations d'ARN messager codant la PCT ont été détectées dans les cellules d'une grande variété de tissus de l'organisme tels que le foie, les testicules, le poumon, le pancréas, le placenta, et les leucocytes (Gillquist et al. 1976; Becker et al. 1981; Oberhoffer et al. 1999; Muller et al. 2001). Enfin, au cours de l'infection, la concentration sérique de PCT s'élève à des

concentrations jusqu'à mille fois supérieures par rapport à ce qui est observé physiologiquement (Benoist et al. 1998). Toutes ces constatations suggèrent deux voies distinctes de productions et de métabolisation de la PCT par l'organisme humain. La première produit une faible quantité basale de PCT au sein des cellules C de la thyroïde qui va être immédiatement métabolisée en calcitonine. La seconde, vraisemblablement assumée par des tissus très divers et mise en route essentiellement au cours de l'infection bactérienne, conduit à la production rapide et en excès de PCT évacuée dans le torrent circulatoire (Ferrière 2000).

2.3.3. Régulation physiologique

La production de la PCT est régulée positivement par certaines cytokines humaines telles que l'interleukin1 β (Linscheid et al. 2003), le facteur de nécrose tumorale α , l'interleukine 6 (Petitjean et al. 1994) et l'interleukine 8 (Nijsten et al. 2000; Kurt et al. 2008). De même, l'injection d'endotoxines d'*Escherichia coli* ou de du facteur de nécrose tumoral α induisent un pic sérique de PCT (Dandona et al. 1994; Becker et al. 2004). Ces résultats suggèrent que la PCT se comporte comme une cytokine intervenant en aval de la cascade de l'inflammation, afin d'amplifier la réponse de l'organisme au sepsis (Whang et al. 2000).

Au contraire, l'interféron γ , une cytokine libérée en réponse à des infections virales (Melendi et al. 2007), bloque la production de PCT (Gilbert 2011), ce qui pourrait expliquer la grande spécificité de la molécule pour distinguer les infections bactériennes des infections virales en comparaison à d'autres marqueurs de l'inflammation comme la CRP (Linscheid et al. 2004).

2.4. Concentrations physiologiques et variations pathologiques

Les concentrations physiologiques de PCT sont inférieures à 0,06 $\mu\text{g/L}$ (Dandona et al. 1994; Thermofischer Scientific 2013). Ces valeurs physiologiques sont valables quel que soit l'âge, excepté à la naissance. La majorité des nouveau-nés présente un pic de concentrations sériques supérieures à 2 $\mu\text{g/L}$ au cours des quarante-huit premières heures de vie (Sachse et al. 1998).

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la concentration de PCT sérique augmente au cours des infections d'origine bactérienne (Assicot et al. 1993).

En ce qui concerne la parasitologie et la mycologie, quelques publications mentionnent une concentration sérique accrue de PCT au cours des accès palustres ou des fongémies (Hollenstein et al. 1998; Brodská et al. 2013; Leli et al. 2015).

Le polytraumatisé peut présenter des concentrations discrètement augmentées de PCT circulante en l'absence de sepsis (Benoist et al. 1998).

Enfin, des variations pathologiques des concentrations sériques de PCT ont également été observées au cours du cancer médullaire de la thyroïde, du carcinome bronchique à petites cellules, du choc cardiogénique avec hypoperfusion d'organes, du syndrome d'activation macrophagique, de la réaction du greffon contre l'hôte, de l'insuffisance rénale terminale, du traitement par cytokines, ou de la transplantation d'organe (Becker et al. 1978; Christ-Crain and Muller 2005; Leroy et al. 2013). Fort heureusement, ces pathologies restent relativement rares.

2.5. Usage clinique

2.5.1. Intérêt du dosage

La première indication du dosage de la PCT est de différencier rapidement un processus infectieux d'origine bactérienne d'une infection virale ou d'un syndrome inflammatoire sans cause infectieuse (Assicot et al. 1993).

Une méta-analyse de la littérature retrouve pour le diagnostic d'une origine bactérienne de l'infection une sensibilité de 88% et une spécificité de 81% (Simon et al. 2004). En outre, la méthode traditionnelle de diagnostic du sepsis nécessite la mise en culture des prélèvements infectieux et prend habituellement de vingt-quatre à quarante-huit heures. La cinétique d'apparition rapide de la PCT au cours du sepsis combinée à la possibilité de rendre un résultat en moins d'une heure, permet de raccourcir considérablement le délai de diagnostic (Brunkhorst et al. 1998). De plus, le dosage n'est pas perturbé par la prise d'antibiotiques contrairement aux techniques de mise en culture qui peuvent être faussement négatives sous antibiothérapie (Schuetz et al. 2012). Tous ces avantages ont contribué à propager son utilisation en routine.

2.5.2. Orientation étiologique

Ainsi, la PCT démontre son utilité pour le diagnostic de l'infection d'origine bactérienne dans divers spécialités comme en néonatalogie (Joram et al. 2011; Mohsen and Kamel 2015), en pédiatrie (England et al. 2014), en soins intensifs (Prkno et al. 2013), ou encore en oncohématologie chez le patient neutropénique (Schuttrumpf et al. 2006; Lin et al. 2012).

De nombreuses pathologies infectieuses entraînent par ailleurs une augmentation de la PCT sérique comme la méningite (Henry et al. 2015), la péritonite (Yang et al. 2014), la pneumopathie (Schuetz et al. 2012; Pfister et al. 2014), la bactériémie (Marín Reina et al. 2010; Müller 2010), l'infections ostéoarticulaire (Maharajan et al. 2013; Wang et al. 2014), l'endocardites infectieuses (Mueller et al. 2004), et parfois l'infection urinaire (Shaikh et al. 2011; Leroy et al. 2013).

2.5.3. Valeur pronostique

De nombreuses études font état d'une corrélation entre la concentration de PCT circulante et la gravité du sepsis. Ainsi, des taux supérieurs à 10 µg/L sont en faveur d'un sepsis sévère ou d'un choc septique (tableau II). En outre, d'après certains auteurs, la PCT est un facteur prédictif indépendant de la mortalité (Huang et al. 2014; Hu et al. 2015; Liu et al. 2015).

En post-opératoire d'une chirurgie lourde, des augmentations modérées de PCT sont possibles avec un retour à la normale rapide (Meisner et al. 1998). Cependant, des concentrations élevées suite à l'opération sont un facteur de mauvais pronostic et synonyme de complications infectieuses (Uzzan et al. 2006).

De même, chez le polytraumatisé au premier jour de l'admission en soins intensifs, la PCT est un indicateur de la sévérité du traumatisme et des dysfonctionnements d'organes (Wanner et al. 2000).

2.5.4. Suivi et cinétique

Des concentrations détectables de PCT apparaissent en moins de trois à six heures après le début de l'infection bactérienne. La demi-vie de la PCT *in vivo* est de 25 à 30 heures (Maruna et al. 2000). Cette demi-vie signifie que la décroissance est également rapide, proche de 50%

par jour, en cas de réponse au traitement antibiotique et/ou de contrôle de l'infection (Brunkhorst et al. 1998).

Ainsi, la PCT a l'avantage par rapport à la CRP d'augmenter plus rapidement, ainsi que de décroître également plus rapidement (Castelli et al. 2004). Elle est par conséquent un meilleur témoin temporel de l'évolution du sepsis. L'apparition de la PCT est discrètement retardée par rapport à la sécrétion de cytokines telles que l'interleukine 6 ou le TNF-alpha (Brunkhorst et al. 1998).

Certains auteurs ont proposés de moduler l'utilisation des antibiotiques dans les infections bactériennes grâce au suivi de l'évolution des concentrations sériques de PCT. Cette approche permet de diminuer la consommation d'antibiotiques sans incidence sur la mortalité (Agarwal and Schwartz 2011; Schuetz et al. 2012; Prkno et al. 2013). Cette baisse de la consommation d'antibiotiques, en plus d'être un enjeu de santé publique, a une retombée directe sur l'écologie bactérienne des services. Elle présente également un avantage économique (Schuetz et al. 2015).

Selon une autre étude, l'absence de décroissance précoce de la PCT après mise en route du traitement antibiotique, témoignerait d'une potentielle résistance de la bactérie (Dolatabadi et al. 2015).

2.6. Implémentation pratique en routine

2.6.1. Méthodes de dosage

Suite aux nombreuses publications montrant l'intérêt de la PCT dans les infections bactériennes, les fournisseurs de laboratoire ont proposé plusieurs modalités de mesure de ce biomarqueur. D'après les compte-rendus publiés par Probioqual® concernant son programme de contrôle de qualité externe en France, les principaux fabricants et techniques utilisés pour doser la PCT sont les automates VIDAS® de bioMérieux® (technique immuno-enzymatique), PCT ILMA® et PCT ultrasensitive ILMA® (technique immunoluminométrique), ROCHE Elecsys® (technique d'électrochimiluminescence), Siemens Advia Centaur (technique de chimiluminescence), et Kryptor compact® de Thermofisher scientific® anciennement B.R.A.H.M.S® (technique d'immunoanalyse en

phase homogène), ainsi que le test de dosage rapide PCT Q Immuno Chromatographie® (technique immunochromatographique) (ProBioQual 2011).

Le dosage immunoluminométrique proposé anciennement par la société B.R.A.H.M.S® (Henningsdorf, Allemagne), par la suite rachetée par Thermofisher scientific® (Waltham, Massachusetts, Etats-Unis), fut l'un des premiers à être commercialisé. Il utilise deux anticorps monoclonaux dirigés respectivement contre les résidus de la PCT 96 à 106 de la région de la katacalcine et 70 à 76 de la région de la calcitonine (Polzin et al. 2003). Cette technique est l'une des plus performantes du marché grâce à un dosage ultrasensible, offrant une bonne précision analytique (B.R.A.H.M.S 2008).

Introduction à l'automate Kryptor compact®

Le Kryptor compact® est un automate d'immuno-analyse multiparamétrique de paillasse utilisant la technologie TRACE (pour «*Time-Resolved Amplified Cryptate-Emission*» en anglais). Il s'agit d'un système fermé, entièrement automatisé, utilisant uniquement des réactifs et consommables fournis par le fabricant et permettant de travailler par patient ou par série (Morin 2007).

Le Kryptor compact® est utilisé actuellement pour le dosage de nombreux paramètres comme des marqueurs tumoraux, des marqueurs thyroïdiens, le dépistage anténatal de la trisomie 21, le dépistage des causes d'infertilité, la CRP ultrasensible, l'ostéocalcine, la ferritine et la PCT (B.R.A.H.M.S 2015).

L'automate est composé de deux modules : un module de pipetage et un module de lecture. Le module de pipetage comprend le carrousel, le bras robotisé de pipetage et le système fluide. Le carrousel peut accueillir jusqu'à trente-deux échantillons, quatre cartouches de kit réactifs réfrigérés, quatre flacons de lavage et de reconstitution, et une plaque de dilution. Le Kryptor compact® est doté d'un bras robotisé de prélèvement muni d'une aiguille capable de détecter le niveau de l'échantillon et des réactifs. Le module de lecture comporte une zone d'incubation, une tête optique et un laser au nitrogène de 337 nm de longueur d'onde. La réaction est réalisée dans une microplaque à 37°C. L'appareil est également doté d'une interface logicielle (Morin 2007).

Les calibrations sont réalisées à chaque nouveau lot. Des contrôles de qualité internes et externes sont proposés par le fabricant et des fournisseurs extérieurs (ProBioQual 2011).

Principe

Le dosage de la PCT est fondé sur les principes théoriques du chimiste Jean-Marie Lehn, prix Nobel en 1987.

La technologie du Kryptor compact® permet le dosage en phase homogène de tous types de molécules grâce à un transfert d'énergie non radiative d'une molécule donneuse, le cryptate d'euporium, vers un fluorophore accepteur, le XL665, lorsque ces derniers sont engagés dans un complexe immunologique (B.R.A.H.M.S 2005)

La molécule donneuse est un cryptate de terre rare. Elle est formée par l'inclusion d'un ion lanthanide luminescent, l'euporium, dans la cavité d'un ligand macropolycyclique, appelé cryptand (Figure 10). Cette structure, en forme de cage comprenant en son centre l'ion euporium, permet une grande longévité de la fluorescence émise, associée à une stabilité cinétique et thermodynamique très élevée, même en milieu biologique. En outre, le cryptate peut être conjugué à des anticorps sans altération de son immunoréactivité (Mathis 1993). Pour le dosage de la PCT, le cryptate est conjugué à un anticorps spécifique de la calcitonine (B.R.A.H.M.S 2008).

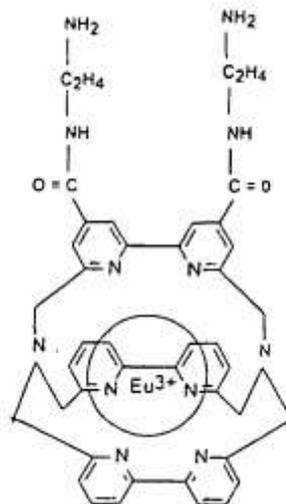


Figure 10 : Le cryptate d'euporium (Aunis et al. 2004)

Le fluorophore accepteur, une protéine extraite d'une algue rouge désigné par le sigle XL 665, est également fixée à un anticorps spécifique de la région katalcalcine de la PCT. Ainsi, l'excitation du cryptate d'euporium par un laser de 337 nm de longueur d'onde, émet en retour une fluorescence caractéristique à 620 nm correspondant au spectre d'excitation du XL 665. Le XL665 excité par la fluorescence du cryptate d'euporium émet à son tour un signal de longueur d'onde 665 nm, présentant habituellement une courte demi-vie, mais possédant la propriété intéressante de s'allonger lorsqu'il est excité par un transfert d'énergie en provenance du cryptate (Morin 2007; B.R.A.H.M.S 2008).

Le recouvrement correct du spectre d'émission du donneur (cryptate d'euporium) avec le spectre d'absorption du receveur (XL665), grâce la proximité des deux molécules dans le complexe immunologique, intensifie la fluorescence émise par le receveur et permet également l'allongement de la durée de vie du signal. La mesure de la fluorescence retardée du XL665, quantitativement proportionnelle à la concentration de PCT, est obtenue par une double sélection spectrale : à la fois en fonction de la longueur d'onde et, également par la mesure du délai d'apparition (Figure 11). La mesure du ratio des signaux des deux longueurs d'onde, 665 nm/620 nm, permet une correction mathématique des variations de la transmission optique du milieu (B.R.A.H.M.S 2008).

Par ailleurs, la mesure du délai d'apparition permet de détecter rapidement des valeurs très supérieures aux limites de linéarité. L'appareil lance alors immédiatement la dilution appropriée, puis dose à nouveau l'échantillon (Morin 2007).

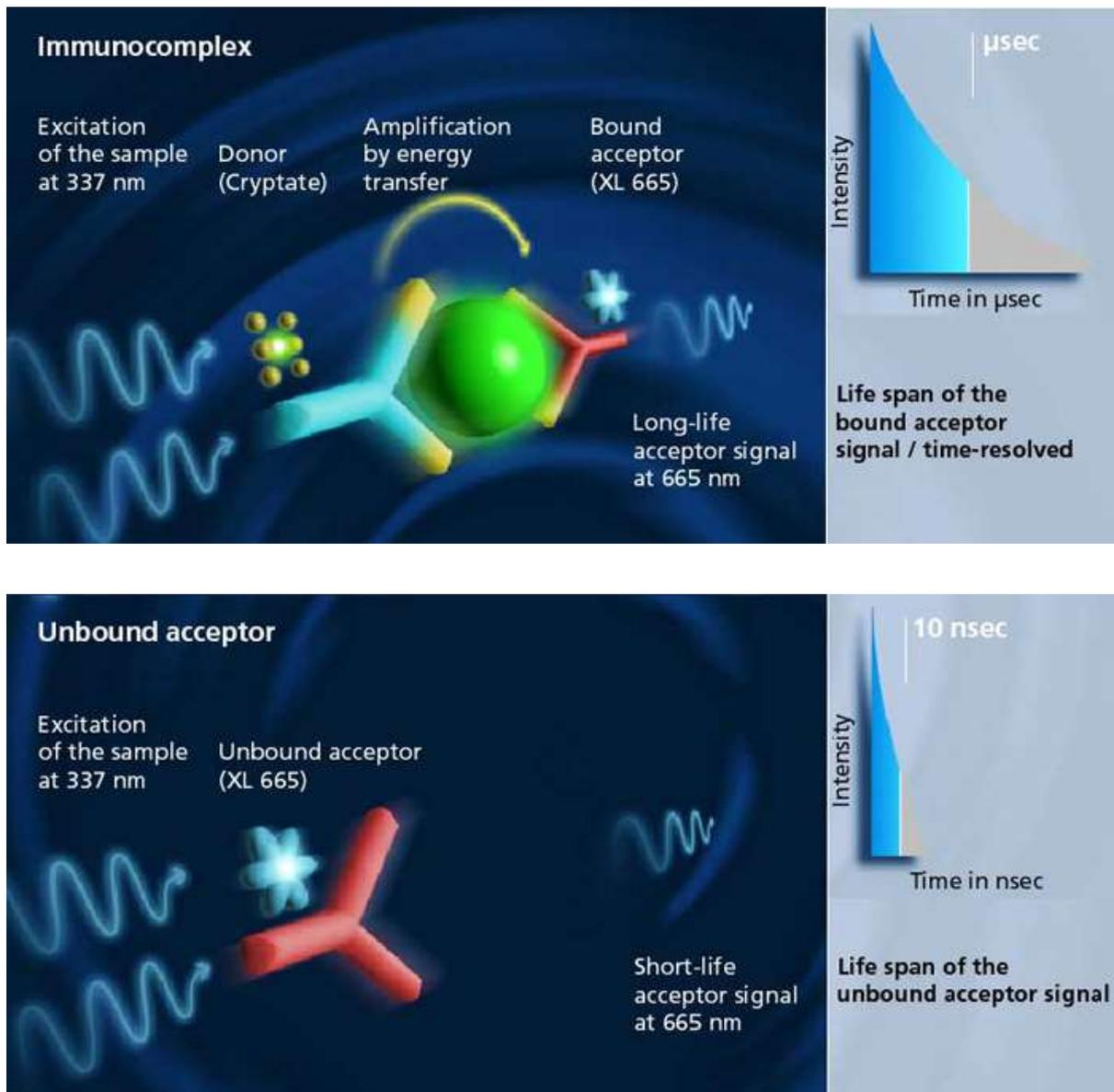


Figure 11 : Principe du dosage de la PCT par la technologie TRACE d'après (B.R.A.H.M.S 2005)

Légende : Après excitation de l'échantillon biologique (sérum ou plasma) par le laser à azote à 337 nm (B.R.A.H.M.S 2008) de longueur d'onde, le complexe immunologique émet à son tour un signal à 665 nm de durée de vie plus longue que le XL665 non complexé et d'intensité proportionnelle à la concentration en PCT présente dans l'échantillon à mesurer.

2.6.2. Performances analytiques et limites de la technique

2.6.2.1. Conditions de réalisation du dosage

Le dosage est fait à partir de sérum ou de plasma hépariné. Il est conseillé d'utiliser la même matrice pour le suivi d'un patient (B.R.A.H.M.S 2008).

La quantité nécessaire pour le dosage est de 50 µL, cependant une prise d'essai suffisante nécessite un volume mort de 150 µL pour ne pas endommager l'aiguille de l'automate lors du pipetage, soit un minimum de 200 µL (B.R.A.H.M.S 2008).

La littérature ne préconise aucune restriction particulière sur l'horaire de prélèvement ou la nécessité d'être à jeun.

La PCT est une protéine remarquablement stable *ex vivo*, même à température ambiante. Cependant, il est préférable de la congeler à -20°C (ou mieux -80°C) en cas de dosage différé. Pour information, sa concentration reste identique, même après plusieurs cycles de congélations-décongélations du prélèvement (environ 2% de diminution de la concentration de l'analyte après trois cycles) (Meisner et al. 1997). En outre, la concentration de PCT baisse en 24 heures de 12,3 % à température ambiante et de 6,3% à +4°C (Meisner et al. 1997).

2.6.2.2. Seuil de détection

Le seuil de détection, calculé à l'aide du profil d'imprécision, est estimé à 0,02 µg/L avec une probabilité de 95 % (B.R.A.H.M.S 2008).

2.6.2.3. Sensibilité

La sensibilité fonctionnelle du dosage, détectée par la précision interdosage d'un CV de 20 %, a été évaluée à 0.06 µg/L (B.R.A.H.M.S 2008).

2.6.2.4. Spécificité

Le fabricant précise que les anticorps utilisés dans ce dosage ne présentent pas de réactions croisées avec la calcitonine humaine, la katacalcine humaine ou les peptides reliés au gène de la calcitonine (*calcitonin gene-related peptide*, abrégé CGRP en anglais) (B.R.A.H.M.S 2008).

2.6.2.5. Exactitude et Linéarité

La dilution des échantillons fortement concentrés donne des taux de récupération compris entre 80 % et 120 %. De plus aucun effet crochet n'est observé jusqu'à 5 000 µg/L (B.R.A.H.M.S 2008).

2.6.2.6. Précision

La précision est évaluée par le coefficient de variation intra-essai et inter-essai est de 15% pour les concentrations inférieures à 0,1 µg/L, de 10 % pour des concentrations proches de 0,2 µg/L et inférieure à 6% pour les concentrations supérieures à 0,3 µg/L (B.R.A.H.M.S 2008).

2.6.2.7. Interférences

Les interférences décrites sont un échantillon ictérique, hémolysé, hyperlipidémique, trouble ou contenant de la fibrine. L'automate détecte automatiquement les interférences, qu'il signale à l'opérateur (Morin 2007).

2.6.2.8. Faux négatifs

Les faux négatifs restent possibles en cas d'infection localisée (Söderquist et al. 1997), d'infection par une bactérie intracellulaire (Ugajin et al. 2011), d'endocardite infectieuse à bas bruit (Van Dissel 2003) ou de prélèvement très précoce (Becker et al. 2008). Il peut être utile de renouveler le dosage devant un tableau clinique d'infection présumée, particulièrement en cas de concentrations douteuses mais supérieures aux normes physiologiques.

2.7. Algorithmes décisionnels

Pour améliorer l'interprétation des résultats, certains auteurs ont proposés des algorithmes décisionnels afin d'aider le clinicien.

La plupart des auteurs considèrent qu'une concentration supérieure à 0,5 µg/L de PCT est en faveur d'une infection bactérienne (Tableau II et III). Un seuil de 2 µg/L évoque un sepsis et des concentrations supérieures 10 µg/L se voient quasi-exclusivement dans les sepsis sévères (Tableau II). Quelques auteurs évoquent le seuil de 0,25 µg/L pour une infection bactérienne possible tout en retenant le seuil de 0,5 µg/L (Tableau III).

Tableau II : Interprétation des valeurs de PCT au cours du sepsis et/ou de l'infection localisée (O'Grady et al. 2008; Siemens 2008; Jin and Khan 2010)

PCT en µg/L	Interprétations
<0,06	Valeurs physiologiques.
	L'infection locale est très improbable.
	L'infection systémique (sepsis) est hautement improbable.
<0,5	L'infection locale est possible.
	L'infection systémique (sepsis) est hautement improbable.
	Dans le cas d'un dosage à l'admission en soin continue, il existe un faible risque d'évolution vers un sepsis sévère et/ou de choc septique.
≥0,5 et <2,0	Les manifestations inflammatoires systémiques actuelles peuvent être dues à une infection, un traumatisme grave, une intervention chirurgicale majeure ou un choc cardiogénique.
	En cas de documentation microbiologique, le sepsis est envisageable.
	Les patients suspects de sepsis, et pour lesquels les concentrations de PCT sont modérément élevées (entre 0,5 et 2 µg/L), doivent être monitorés et le dosage doit être réitéré jusqu'à ce que l'infection soit prouvée ou exclue.
≥2,0 et <10	Sepsis probable (réponse inflammatoire systémique sévère due à une infection).
	Dans le cas du premier jour de l'admission en soin continue, il existe un risque élevé de progression vers un sepsis sévère et / ou un choc septique.
≥10	Sepsis sévère ou choc septique.
	Dysfonctionnement d'organes, gravité du pronostic.
	Haut risque de décès.

Tableau III : Interprétation des valeurs de PCT chez le BPCO (Christ-Crain et al. 2004; B.R.A.H.M.S 2008)

PCT en $\mu\text{g/L}$	Interprétations
< 0,1	Exclusion d'une infection bactérienne
	Utilisation d'antibiotiques déconseillée
0,1 à < 0,25	Infection bactérienne peu probable
	Utilisation d'antibiotiques déconseillée
0,25 à < 0,5	Infection bactérienne possible
	Traitement antibiotique recommandé
> 0,5	Infection bactérienne très probable
	Traitement antibiotique recommandé

3. Autres dosages

3.1. Au sujet de la CRP

La CRP est le marqueur de l'inflammation le plus connu (Black et al. 2004). Elle s'élève fortement en cas d'infection bactérienne, de maladie inflammatoire auto-immune, de traumatisme important et d'atteinte cardiovasculaire aiguë (Rosalki 2001) et modérément en cas d'infection virale (Gendrel et al. 1999). Certaines infections parasitaires (ANOFEL 2013) peuvent donner des augmentations importantes de la CRP. Ainsi, l'amœbose invasive est connue pour entraîner une franche augmentation de la CRP (ANOFEL 2013).

Pour mémoire, la CRP est synthétisée par le foie et les tissus adipeux via la stimulation de l'interleukine 1 et 6 (Du Clos and Mold 2004). Sa structure biochimique comporte cinq sous-unités de deux cent six acides aminés chacune (Szalai et al. 1997). Ses rôles physiopathologiques connus sont d'activer le système du complément (Mold et al. 1999), de participer à l'opsonisation des micro-organismes exogènes afin de faciliter leur phagocytose et, d'activer la réaction inflammatoire (Du Clos 2000). Les valeurs normales sont inférieures à 6 mg/L chez l'adulte (Beckman Coulter 2009d). Elle est détectable dès les six premières heures de l'inflammation avec un pic à quarante-huit heures et une demi-vie de dix-neuf heures (Pepys and Hirschfield 2003). La cinétique d'apparition et de régression est discrètement moins réactive que la PCT (Castelli et al. 2004).

La CRP est un test biologique très couramment utilisé en clinique pour dépister un syndrome inflammatoire, cependant elle reste un marqueur très imparfait parce qu'elle ne présume pas de l'étiologie de l'inflammation.

Parmi les avantages de la CRP, on peut citer son accessibilité pour le clinicien, son coût minime, ou son élévation rapide dans un grand nombre de pathologies (infections, lésions des tissus, troubles inflammatoires et maladies associées). L'automate AU2700® (Olympus Beckman-Coulter®, Villepinte, France) permet un dosage quantitatif immunoturbidimétrique de la CRP. Le principe repose sur des anticorps spécifiques de la CRP marqués avec des particules de latex. La formation du complexe antigène-anticorps va former des agglomérats insolubles qui vont disperser la lumière. L'absorbance de ces agglomérats est proportionnelle à la concentration en CRP (Beckman Coulter 2009d).

3.2. Au sujet des marqueurs hépatiques

Présentes dans le cytoplasme des hépatocytes, l'aspartate aminotransférase et l'alanine aminotransférase sont libérées au cours de la cytolyse hépatique, qui correspond à une nécrose des cellules du foie. Elles sont les marqueurs d'une souffrance hépatique, et sont augmentées en cas de consommation excessive d'alcool, d'hépatite virale ou de l'hémochromatose (Clark et al. 2003).

La γ -glutamyl transférase a pour fonction de transférer le groupe γ -glutamyl provenant du glutathion sur des acides aminés afin de faciliter l'épuration des toxiques par le foie. Une augmentation des concentrations circulantes peut traduire une consommation excessive d'alcool, une cirrhose, une hépatite, ou une cholestase (Whitfield 2001).

La phosphatase alcaline est une hydrolase à élimination biliaire. A cause d'un obstacle à l'écoulement de la bile, elle augmente au cours du syndrome de cholestase. Sa production est essentiellement intestinale et osseuse.

Les valeurs considérées comme normales pour ces enzymes sont respectivement de 0 à 40 UI/L pour l'aspartate aminotransférase, de 0 à 30 UI/L pour l'alanine transaminase, et de 50 à 160 UI/L pour la phosphatase alcaline (Siest et al. 2013; Food and Drug Administration (FDA) 2015). Les valeurs normales pour la γ -glutamyl transférase sont de 8 à 61 UI/L pour l'homme et de 5 à 36 UI/L pour la femme (Council for Continuing Pharmaceutical Education (CCPE) 2013).

Le principe des dosages sur l'automate AU2700® de l'aspartate aminotransférase, de l'alanine transaminase, de la γ -glutamyl transférase et de la phosphatase alcaline est une méthode enzymatique par évaluation de la consommation d'un substrat (NADH, glycylglycine ou p-nitro-phenylphosphate) grâce à des mesures d'absorbance (Beckman Coulter 2009a, 2009b, 2009c, 2009e).

L' α -2-macroglobuline est une glycoprotéine de grande taille (725 kDa), inhibiteur de protéase, synthétisée par le foie et éliminée par le rein (Sottrup-Jensen 1989; Borth 1992). Une concentration basse peut s'observer dans la septicémie, l'insuffisance hépatique, la pancréatite, et après une intervention chirurgicale. Sa concentration est augmentée lors d'un syndrome néphrotique, une cirrhose du foie et un diabète (Scheinman and Stiehm 1971;

James et al. 1980; Pilette et al. 1998). Produite en excès lors de l'inflammation du foie, elle est utilisée dans des algorithmes brevetés pour évaluer la fibrose hépatique (Rossi et al. 2003). Les normes pour l' α -2-macroglobuline sont de 1,50 à 3,50 g / L pour les hommes et de 1,75 à 4,20 g / L pour les femmes (James et al. 1966; Housley 1968; Diagam 2007; Siest et al. 2013). L' α -2-macroglobuline peut être dosée par immunonéphélogométrie, une méthode utilisée sur l'automate BN ProSpec Analyser® (Siemens Diagnostics, Saint-Denis, France).

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

1. Introduction

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'amébose est une maladie qui a un impact important sur les populations des pays en voie de développement, tant en terme de morbidité que de mortalité. L'acquisition d'un phénotype invasif déclenche l'apparition des symptômes, qui peuvent aller jusqu'au franchissement de la barrière intestinale et à l'infestation tissulaire *via* la circulation sanguine. Cette amébose tissulaire est très majoritairement hépatique.

La PCT est un nouveau biomarqueur sérique dont l'utilité première est de diagnostiquer l'étiologie bactérienne d'une maladie. Elle connaît un fort développement de son utilisation actuellement.

Des indices nous laissaient à penser, notamment deux articles publiés dans la littérature (Oku et al. 2012; Desoubieux et al. 2014), que la PCT pouvait être augmentée au cours de cette parasitose. Comme dans toute agression du corps humain, il était probable également qu'un syndrome inflammatoire apparaisse.

Dans ce contexte, notre étude avait pour objectif d'évaluer s'il existait une augmentation de la PCT, ainsi que des marqueurs inflammatoires et hépatiques au cours de l'invasion tissulaire hépatique.

2. Article

Nous présenterons notre étude expérimentale sous forme d'un article en langue anglaise tel qu'il a été publié en août 2015 dans le journal *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* (Recipon et al. 2015).



Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio

Is procalcitonin increased in cases of invasive amoebiasis? A retrospective, observational study

Guillaume Recipon^a, Éric Piver^{b,c}, Agnès Caille^{d,e}, Patrice Le Pape^{f,g}, Marc Pihet^{h,i}, Jean-Christophe Pagès^{b,c}, Jacques Chandener^{a,j}, Guillaume Desoubeaux^{a,j,*}

^a CHU de Tours, Service de Parasitologie–Mycologie–Médecine Tropicale, Tours, France

^b CHU de Tours, Laboratoire de Biochimie, Tours, France

^c Université François-Rabelais, Faculté de Médecine, Morphogénèse et Antigénicité du VIH et des Virus des Hépatites–Inserm U 966, Tours, France

^d CHU de Tours, Service de Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication, Tours, France

^e Université François-Rabelais, PRES Centre-Val de Loire, Inserm–CIC 1415, Tours, France

^f CHU de Nantes, Institut de Biologie, Laboratoire de Parasitologie–Mycologie, Nantes, France

^g Université de Nantes Atlantique, Faculté de Pharmacie, Département de Parasitologie et Mycologie Médicale Cibles et Médicaments des Infections et du Cancer–EA 1155–IICiMed, Nantes, France

^h CHU d'Angers, Laboratoire de Parasitologie–Mycologie, Nantes, France

ⁱ Université d'Angers, Institut de Biologie en Santé PBH-IRIS, Groupe d'Étude des Interactions Hôte-Pathogène–EA 3142, Angers, France

^j Université François-Rabelais, Faculté de Médecine, Centre d'Étude des Pathologies Respiratoires, Unité Inserm U1100–Equipe 3, Tours, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 May 2015

Received in revised form 19 August 2015

Accepted 20 August 2015

Available online xxxx

Keywords:

Amoebiasis

Procalcitonin

C-reactive protein

Entamoeba histolytica

Liver abscesses

ABSTRACT

Procalcitonin (PCT) levels are commonly used for diagnostic guidance in routine bacterial infections. By contrast, little data are currently available regarding PCT in parasitic diseases, and its role in cases of invasive amoebiasis has not yet been described. For this purpose, 35 adult patients with a proven diagnosis of invasive or digestive amoebiasis were included in a 4-year study period. Serum PCT was retrospectively assessed. Results were analysed with regard to the usual inflammatory biomarkers, like C-reactive protein (CRP). PCT was significantly higher in patients with proven invasive amoebiasis than in digestive amoebiasis (mean value: 4.03 µg/L versus 0.07 µg/L, respectively; $P < 0.001$), but the SD was greater than with CRP, and the effect was less than that demonstrated in bacterial infections. By contrast, PCT was not shown to be elevated during digestive amoebiasis.

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Procalcitonin (PCT) is the precursor peptide of calcitonin, a hormone involved in calcium homeostasis. Several cell types can produce PCT in response to proinflammatory stimuli. A high PCT level is usually compatible with serious bacterial infections and sepsis (Van den Bruel et al., 2011; de Azevedo et al., 2012; Domínguez-Comesaña and Ballinas-Miranda, 2014) and plays a prognostic role in evaluating their clinical outcome (Van den Bruel et al., 2011; de Azevedo et al., 2012; Ugajin et al., 2014; de Azevedo et al., 2015). Thus, PCT measurement has been implemented into routine clinical practice for diagnostic guidance in bacterial infections (Long et al., 2011; Prkno et al., 2013; Wacker et al., 2013). In addition, substantial elevations in PCT levels have been reported as being correlated with high levels of parasitaemia during malaria attacks (Chiwakata et al., 2001; Diez-Padriza et al., 2011). The role of PCT has also been widely discussed in invasive fungal infections (Dou et al., 2013; Marková et al., 2013; Cortegiani et al., 2014). Overall, it is considered that low levels (<0.50 µg/L) (Al-Dorzi

et al., 2014) usually rule out all of the above-mentioned infections and point towards virus (Piacentini et al., 2011) or nonspecific inflammatory diseases (Tsalik et al., 2012; Anand et al., 2015).

Amoebiasis is a parasitic infection caused by the digestive protozoan *Entamoeba histolytica*, which has recently been differentiated from its morphologically similar species *Entamoeba dispar* (Stanley, 2003). The intestinal clinical forms range from asymptomatic colonisation to amoebic dysentery. *E. histolytica* can, however, disseminate from gut mucosae to other organs such as the liver. Here it generates abscesses (Stanley, 2003; Oku et al., 2012; Petri and Haque, 2013), which define invasive amoebiasis. This condition is a medical emergency and may lead to death (up to 70,000 deaths per year worldwide (Stanley, 2003)), in the absence of a rapid and reliable diagnosis. Nowadays, amoebic serology represents the gold standard for this purpose, but this requires time and a seasoned laboratory. Very few alternative biomarkers are currently available for predicting the invasiveness of amoebiasis, and those that are in use are not specific. For instance, hyperneutrophilia is inconsistent; there is no hypereosinophilia in invasive amoebiasis (Stanley, 2003; Wuerz et al., 2012); and liver enzymes show variable blood levels, with no major increase (Wuerz et al., 2012). These limitations may delay the initiation of effective treatment; hence, additional biomarkers that indicate invasive amoebiasis are needed.

* Corresponding author. Tel.: +33-2-34-37-89-26; fax: +33-2-47-47-80-82.

E-mail addresses: guillaume.desoubeaux@univ-tours.fr, guitoon007@hotmail.com (G. Desoubeaux).

Since no study concerning the association of PCT with *E. histolytica* infection has been reported thus far, the main purpose of this retrospective, observational study was to investigate whether there is an increase in PCT in cases of invasive amoebiasis.

2. Materials and methods

2.1. Inclusion criteria

The study was carried out retrospectively using automated, computerised extraction of clinical data from our laboratory software. The search engine was programmed to find all the recorded cases of invasive amoebiasis (January 2010–September 2014), which had been confirmed by at least 1 positive specific anti-*E. histolytica* serological test, either indirect immunofluorescence assay (IFA by Amoeba Spot-IF®; BioMérieux, Marcy-L'Étoile, France) or indirect haemagglutination (IHA by Amibiase HAI FUMOUCHE®; Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret, France) in 1 of the 3 teaching hospitals involved in the study (Tours, Nantes, and Angers, France). Titres above 1:100 for IFA and/or above 1:160 for IHA were defined as positive (Hartmann et al., 1980).

A second automated search was carried out to extract all the patients who had been detected with *Entamoeba* spp. in stool samples. Detection methods followed standard practice in the microbiological labs: direct examination of freshly emitted faeces, followed by Bailenger's technique of concentration and merthiolate–iodine–formaldehyde concentration (Lawson et al., 2004). Microscopic identification of *E. histolytica* was achieved by skilled microbiologist and/or by specific amplification of the 16S-like SSU rDNA by PCR. Briefly, the DNA was extracted using QIAmp DNA mini kit® spin columns (Qiagen SA, Courtaboeuf, France). The amplification reactions were performed using 5 µL of a DNA sample in a volume of 20 µL of a mixture that contained a TaqMan Fast Universal PCR Master Mix 2x® (Applied Biosystems™, Saint Aubin, France), internal positive control (Applied Biosystems™), and the oligonucleotide primers for *E. histolytica*: Eh-196F (5'-AAA TGG CCA ATT CAT TCA ATG A-3') and Eh-294R (5'-CAT TGG TTA CTT GTT AAA CAC TGT GTG-3') and the probe Eh-245 (6FAM)-AGG ATG CCA CGA CAA-(NFQ). The thermal cycling conditions consisted of 20 seconds at 95 °C, followed by 50 cycles of 3 seconds at 95 °C, and 30 seconds at 60 °C, using a TaqMan 7500® Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems™). The detection and the data analysis were performed with TaqMan Fast 7500® software version 1.4.0 (Applied Biosystems™) (Ben Ayed et al., 2008). If not done previously, an anti-*E. histolytica* serological test was performed retrospectively on these patients, according to the above-mentioned references (IFA and IHA tests), in order to rule out any subclinical invasive infection.

For both of these automated searches, the noninclusion criteria were age <18 years old, to avoid the expected physiological variations in biomarker levels during childhood, and lack of biological specimens in the serum collection (frozen at –80 °C). For each selected patient, demographic, biological, clinical, and radiological data were collected on the basis of a standardised survey. Evidence of one or more liver abscess(es), detected by abdominal ultrasound and/or computed tomodensitometry scan, was recorded. Potential undercurrent bacterial infections, malaria, and chronic or acute viral/nonviral hepatic diseases were also noted.

2.2. Biological assay

Serum PCT was measured by immunoassay using the B·R·A·H·M·S Kryptor compact® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), according to the manufacturer's instructions. The assay was retrospective and monocentric and was performed once. A normal PCT value was expected to be below 0.06 µg/L (Syvanen et al., 2014), whilst the cutoff for sepsis was established at 0.50 µg/mL (Al-Dorzi et al., 2014), according to the manufacturer's recommendations (<http://www.procalcitonin.com/>).

C-reactive protein (CRP) was measured using rabbit anti-CRP antibodies coated on latex particles (CRP Latex reagent® on the AU2700®;

Beckman Coulter, Pasadena, CA, USA). Normal CRP values were taken to be those under 6 mg/L. Aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT), γ -glutamyltransferase (GGT), and alkaline phosphatase (ALP) were assessed using the AU2700® (Beckman Coulter), according to the methodology recommended by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (Schumann et al., 2002). Normal values of AST, ALT, and ALP were considered to be 0–40 U/L, 0–30 U/L, and 50–160 U/L, respectively (Siest et al., 2013). Normal values for GGT ranged from 8 to 61 U/L for males and from 5 to 36 U/L for females. α -2-macroglobulin was measured by immunonephelometric methods using a BN ProSpec Analyser® (Siemens Diagnostics, Saint-Denis, France). Normal α -2-macroglobulin values were taken to be 1.50–3.50 g/L for males and 1.75–4.20 g/L for females (Siest et al., 2013).

2.3. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using “The R Project for Statistical Computing version 3.1.2.” software (<http://www.r-project.org/>). The Fisher test was used for the comparison of qualitative variables; and the Mann–Whitney test, for quantitative variables. The Student *t* test was used for comparison with theoretical values. The Spearman's rank correlation coefficient was used to assess the correlation of biomarkers. The alpha-risk was adjusted to 0.05.

2.4. Ethics

All personal data were anonymous. Approval was given by the ethics committee at our teaching hospital (Espace de Réflexion Ethique, Région Centre, France). The study registration number 2015_003 was issued by the Technology and Freedom Committee (Commission de l'Informatique et des Libertés) on January 10, 2015.

3. Results

3.1. Inclusion

Overall, 18 patients were identified as invasive amoebiasis cases. Two individuals had previously been excluded, the first because he was under 18 years old at the time of diagnosis and a second individual due to an unclear diagnosis. The latter patient had neither a history of foreign travel nor typical symptoms and showed discordant serology (IFA = 1:400; IHA = 0).

By means of the second automated extraction, 17 patients were included in the digestive amoebiasis group on the basis of at least 1 positive stool examination. Seven patients had previously been excluded because their respective ages were below 18 years old. None of the selected individuals had a positive anti-*E. histolytica* serological test, which ruled out any possibility of invasive amoebiasis (Fig. 1).

3.2. Demographics of the 2 populations

Mean age was 47.00 for the patients included in the invasive amoebiasis group and 48.29 for those in the digestive amoebiasis group ($P = 0.88$) (Table 1). The sex ratio displayed a majority of male subjects, 72.23% for the invasive amoebiasis group and 70.59% for the digestive amoebiasis group; however, there was no significant difference between these 2 groups ($P = 0.93$) (Table 1). In the former group, abscesses were mostly located in the liver (94.44%). African ethnics were significantly more prevalent in the digestive amoebiasis group than in the invasive group (41.18% versus 11.12%; $P = 0.03$). By contrast, Caucasian patients were more highly represented in the latter group (52.94% versus 88.88%; $P = 0.03$) (Table 1).

None of the included patients were reported to have acute malaria, and no individual experienced invasive bacterial infection at the time of the study. One patient in the invasive amoebiasis group had an uncomplicated lower urinary tract infection due to *Escherichia coli*,

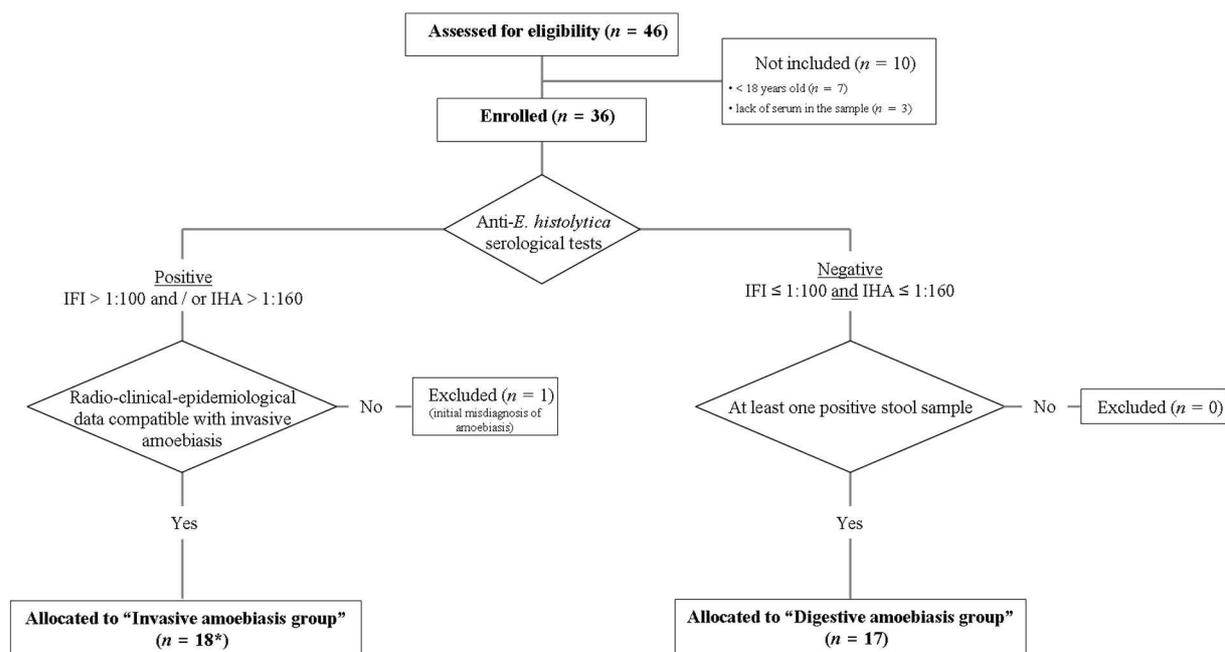


Fig. 1. Study flowchart. Abbreviations: IFI = indirect immunofluorescence; IHA = indirect haemagglutination; * including 17 with liver abscess(es) and 1 with severe colitis.

whereas another individual in the digestive amoebiasis group had an ear infection caused by *Serratia marcescens*. Liver diseases, including viral hepatitis, were insignificantly more frequent in the digestive amoebiasis group (29.41% versus 5.55%, respectively; $P = 0.09$) (Table 1).

3.3. Assay results

PCT values ranged from 0.02 $\mu\text{g/L}$ to 45.66 $\mu\text{g/L}$ in the sera of patients with proven invasive amoebiasis (Fig. 2A). PCT mean levels were significantly higher in this group than in the group with digestive amoebiasis: 4.03 $\mu\text{g/L}$ versus 0.07 $\mu\text{g/L}$, respectively; $P = 3.32 \times 10^{-5}$ (Fig. 2B). In the latter group, the PCT mean value did not differ from the theoretical

physiological value ($t = 0.27$). CRP was significantly higher in the invasive amoebiasis group (209.79 mg/L versus 9.56 mg/L; $P = 8.14 \times 10^{-6}$). The coefficient of variation for CRP (SD = 97.92 mg/L) was much lower than for PCT (SD = 10.60 $\mu\text{g/L}$): 46.68% versus 263.28%, respectively. In invasive amoebiasis, PCT and CRP values did not appear to be correlated, according to Spearman's rank correlation coefficient (0.44; $P = 0.08$). Noteworthy in 1 patient, PCT levels have been sequentially assessed over a 6-month period: they showed a rapid decrease right from the initiation of the anti-amoebic therapy (Table 2).

There was no significant difference in mean AST and ALT levels between the 2 groups (25.06 UI/L versus 19.71 UI/L, $P = 0.20$, and 21.88 UI/L versus 14.24 UI/L; $P = 0.14$). By contrast, GGT and ALP appeared significantly

Table 1
Epidemiological characteristics and biological results of the enrolled patients.

Variable (units)	Invasive amoebiasis group ^a (n = 18) (quantitative values: mean (SD); qualitative value: %)	Digestive amoebiasis group ^b (n = 17) (quantitative values: mean (SD); qualitative value: %)	P (significant when <0.05)
Age (y)	47.00 (7.35)	48.29 (7.92)	0.88 ^c
Female/male (%)	27.77/72.23	29.41/70.59	0.93 ^d
Ethnic group: African/Caucasian/Asian (%)	11.12/88.88/0	41.18/52.94/5.88	0.03 ^d
Amoebic liver abscess (%)	94.44	0	NC
Amoebic severe colitis (%)	5.56	0	NC
Acute malaria (%)	0	0	NC
Bacterial infection (%)	5.55 ^e	5.88 ^e	0.94 ^d
All liver diseases ^f (%)	5.55	29.41	0.09 ^d
Including viral hepatitis (%)	0	17.64	0.10 ^d
Foreign travel to: Europe/Africa/Asia/America (%)	0/72.22/44.44/27.78	5.88/41.18/5.88/0	0.10 ^d
PCT ($\mu\text{g/L}$)	4.03 (10.6)	0.07 (0.15)	3.32×10^{-5c}
CRP (mg/L)	209.79 (97.9)	9.56 (13.9)	8.14×10^{-6c}
AST (UI/L)	25.06 (12.9)	19.71 (11.5)	0.20 ^c
ALT (UI/L)	21.88 (18.6)	14.24 (10.3)	0.14 ^c
GGT (UI/L)	146.47 (84.0)	47.24 (55.1)	1.41×10^{-4c}
ALP (UI/L)	139.35 (58.0)	71.94 (31.6)	5.36×10^{-4c}
α -2-macroglobulin (g/L)	1.78 (0.49)	2.48 (1.04)	0.03 ^c

Abbreviations: ALP = alkaline phosphatase; AST = aspartate aminotransferase; ALT = alanine transaminase; CRP = C-reactive protein; GGT = γ -glutamyl transferase; NC = not calculable; PCT = procalcitonin.

^a Proven by anti-*E. histolytica* serological tests.

^b Proven by at least 1 positive stool examination.

^c Mann-Whitney test.

^d Fisher exact test.

^e Only superficial infections (e.g., low urinary tract infection or ear infection).

^f For example, viral hepatitis, autoimmune hepatitis, alcoholic hepatitis, cirrhosis, hepatitis due to therapeutic side effects.

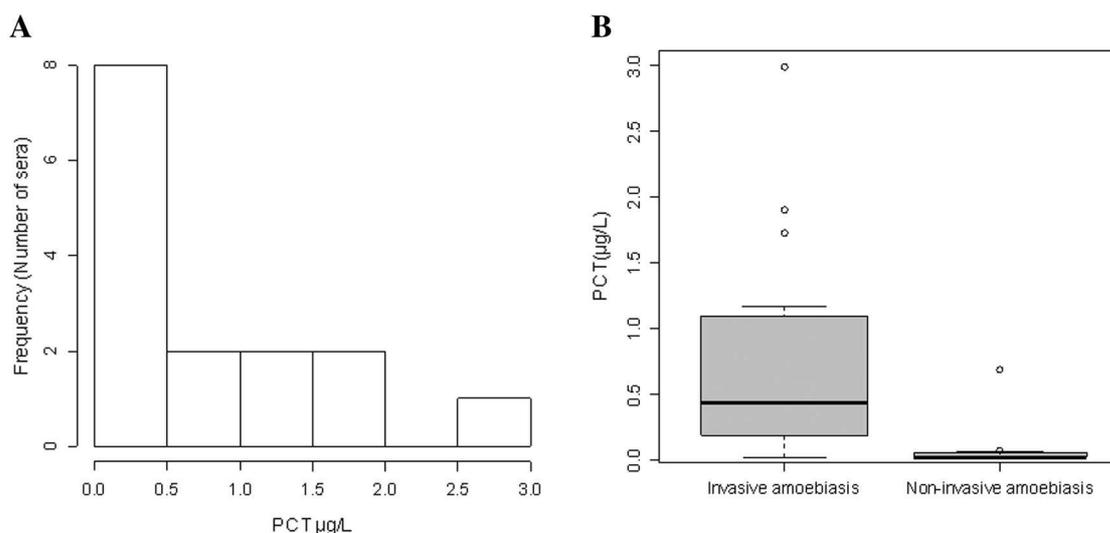


Fig. 2. Results of PCT measurements. A. Histogram showing the distribution of the serum PCT values in patients with proven invasive amoebiasis (for improved readability, the 2 highest values, 45.6 µg/L and 14.65 µg/L, were excluded from the histogram). B. Boxplot of PCT values in the invasive amoebiasis group and the digestive amoebiasis group (the 2 highest values of PCT in the invasive amoebiasis group were outside the upper limit of the graphic: 45.6 µg/L and 14.65 µg/L). Abbreviations: PCT = procalcitonin.

higher during invasive amoebiasis (146.47 UI/L versus 47.24 UI/L, $P = 1.41 \times 10^{-4}$, and 139.35 UI/L versus 71.94 UI/L, $P = 5.36 \times 10^{-4}$). The α -2-macroglobulin blood concentration was lower in cases of invasive amoebic infection (1.78 g/L versus 2.48 g/L; $P = 0.03$).

4. Discussion

Invasive amoebiasis is a parasitic disease of low incidence in Western countries but with potentially severe consequences. Significant immigration flows and frequent foreign travel mean that the biological diagnosis of this condition has become an important concern in healthcare centres. Biochemical and cytological biomarkers have been uninformative thus far (Stanley, 2003; Wuerz et al., 2012), and serological tests are not compatible with an emergency context. Practitioners need tests that are quick and easy to perform, in order to guide the aetiological diagnosis in cases of strong presumption. PCT may be theoretically helpful in such a context. In this study, we attempted to establish its role during amoebiasis, by recruiting patients with a well-documented diagnosis. The number of proven cases was limited because of its low incidence, but their demographics were comparable with the epidemiological data previously reported (Acuna-Soto et al., 2000; Cordel et al., 2013). For example, invasive amoebiasis is known to be observed most commonly in men over 50 years (Acuna-Soto et al., 2000), which was consistent with our population. Additionally, our control group of patients with digestive amoebiasis was shown to be very relevant, since the overall demographic characteristics were very similar to those of the invasive amoebiasis group.

Overall, PCT was significantly higher in patients with proven invasive amoebiasis. To our knowledge, our study is the first to display this finding in such a context. Only 1 case of PCT elevation has previously been reported, in a Japanese patient (Oku et al., 2012). However, it

was not easy to distinguish the role of this patient's amoebic liver abscess from his underlying disease. As it has been reported in cases of bacterial sepsis (de Azevedo et al., 2012; Prkno et al., 2013; Wacker et al., 2013), the mean PCT level in our study (4.03 µg/L) was well above the threshold of 0.50 µg/L that is sometimes used in practice (Al-Dorzi HM et al., 2014; Syvanen J et al., 2014) for distinguishing between bacterial infection and viral disease (Piacentini et al., 2011) or other causes of unspecific inflammation (Anand et al., 2015; Tsalik et al., 2012). However, it is worth noting that individual values appeared heterogeneous and were globally lower than the rates observed during bacterial sepsis (de Azevedo et al., 2012; Prkno et al., 2013; Wacker et al., 2013). This finding is not likely to be related to degradation during frozen storage previous the assay, since PCT is known to be a stable protein (almost 100% conservation when kept below -20°C). Degradation has previously been reported to reach only 2% after 3 cycles of cooling-heating (Meisner et al., 1997); therefore, it should be noted that we only took the serum samples out of storage on a single occasion. To investigate further the large distribution of PCT values, we looked at the potential prognostic value of PCT in relation to the clinical presentation. Analysis of the personal data of a patient with a particularly high PCT level (45.66 µg/L) showed that he had a very rare and severe radiological presentation, with 19 large liver abscesses (Desoubreaux et al., 2014). Noteworthy, PCT level rapidly decreased for him after initiation of antiamoebic therapy. Likewise, another patient with a low initial PCT level (0.02 µg/mL) was actually already under therapy at the time of dosage. These findings lead us to speculate that the PCT level could also be related to parasite burden.

The liver is the most commonly involved organ in invasive amoebiasis. It was therefore surprising to note that liver enzyme assays did not show any major variation in the study group and were globally in accordance with a cholestasis syndrome. These markers have scarcely been reported in previous amoebic disease studies (Wuerz et al., 2012). The results concerning α -2-macroglobulin were more questionable, since this biomarker is usually implicated in the regulation of liver fibrosis mechanisms. The study control group, consisting of digestive amoebiasis cases, was shown to include more patients with chronic liver disease and viral hepatitis. According to our results, PCT testing appeared to be less accurate than CRP measurement in determining cases of invasive amoebiasis. In addition to greater latitude in the results, this analysis is also more expensive than CRP measurement. The mean cost of the 2 tests is estimated at 29.70€ versus 6.75€, respectively, in our laboratory.

Table 2
Example of evolution of PCT levels in 1 patient under antiamoebic therapy.

Date ^a	PCT (µg/L)
d0	45.66
d + 4	4.85
d + 20	0.15
d + 67	0.07
d + 168	0.04

^a d0 being the date of diagnosis and the initiation date of the antiamoebic therapy for a 2 weeks duration.

5. Conclusions

PCT measurement seemed less efficient than CRP for predicting the invasiveness of amoebiasis. Besides, it was not elevated in cases of digestive forms. Nonetheless, PCT may be a useful aid for distinguishing between invasive amoebiasis and bacterial infections, since the observed values were globally much lower in the former. These preliminary results need to be confirmed by further studies.

Funding

The authors did not receive any specific research funding for this study. The data were obtained as part of routine work at the University Hospital in Tours, France. The authors declare financial support for their research from the laboratory Thermo Scientific® (provision of PCT measurement kits).

Acknowledgments

We thank the technicians at the biochemistry laboratory in Trousseau Hospital, Tours: Nadine Puche, Richard Noyant, Geneviève Wattet, Nathalie Cohuau, Marie-Laure Gaudron, Bérénice Prieur, Audrey Gillette, Marie-Claude Cottu, and Bruno Sevin.

Alexandra Farrell provided the editing services and translation of this manuscript from French into English.

G. Recipon, E. Piver, A. Caille, P. Le Pape, M. Pihet, J-C. Pagès, J. Chandenier, and G. Desoubeaux declare no conflict of interest in relation to this study.

References

- Acuna-Soto R, Maguire JH, Wirth DF. Gender distribution in asymptomatic and invasive amoebiasis. *Am J Gastroenterol* 2000;95(5):1277–83.
- Al-Dorzi HM, Rishu AH, Tamim HM, Aljumah A, Al-Tamimi W, Baharoon S, et al. Serum procalcitonin in cirrhotic patients with septic shock: relationship with adrenal insufficiency and clinical outcomes. *Clin Lab* 2014;60(7):1105–14.
- Anand D, Das S, Bhargava S, Srivastava LM, Garg A, Tyagi N, et al. Procalcitonin as a rapid diagnostic biomarker to differentiate between culture-negative bacterial sepsis and systemic inflammatory response syndrome: a prospective, observational, cohort study. *J Crit Care* 2015;30(1):218.e7–218.e12.
- Ben Ayed S, Ben AR, Mousli M, Aoun K, Thellier M, Bouratbine A. Molecular differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from Tunisian food handlers with amoeba infection initially diagnosed by microscopy. *Parasite* 2008;15(1):65–8.
- Chiwakata CB, Manegold C, Bönicke L, Waase I, Jülch C, Dietrich M. Procalcitonin as a parameter of disease severity and risk of mortality in patients with *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 2001;183(7):1161–4.
- Cordel H, Prendki V, Madec Y, Houze S, Paris L, Bourée P, et al. Imported amoebic liver abscess in France. *PLoS Negl Trop Dis* 2013;7(8):1–8. e2333.
- Cortegiani A, Russotto V, Montalto F, Foresta G, Accurso G, Palmeri C, et al. Procalcitonin as a marker of *Candida* species detection by blood culture and polymerase chain reaction in septic patients. *BMC Anesthesiol* 2014;14(1):9–17.
- de Azevedo JRA, Torres OJM, Czczko NG, Tuon FF, Nassif PAN, de Souza GD. Procalcitonin as a prognostic biomarker of severe sepsis and septic shock. *Rev Col Bras Cir* 2012;39(6):456–61.
- De Azevedo JRA, Torres OJM, Beraldi RA, Ribas CAPM, Malafaia O. Prognostic evaluation of severe sepsis and septic shock: procalcitonin clearance vs Δ Sequential Organ Failure Assessment. *J Crit Care* 2015;30(1):219.e9–219.e12.
- Desoubeaux G, Chaussade H, Thellier M, Poussing S, Bastides F, Bailly E, et al. Unusual multiple large abscesses of the liver: interest of the radiological features and the real-time PCR to distinguish between bacterial and amebic etiologies. *Pathog Glob Health* 2014;108(1):53–7.
- Diez-Padriza N, Bassat Q, Roca A. Serum biomarkers for the diagnosis of malaria, bacterial and viral infections in children living in malaria-endemic areas. *Drugs Today* 2011;47(1):63–75.
- Domínguez-Comesaña E, Ballinas-Miranda JR. Procalcitonin as a marker of intra-abdominal infection. *Cir Cir* 2014;82(2):231–9.
- Dou Y-H, Du J-K, Liu H-L, Shong X-D. The role of procalcitonin in the identification of invasive fungal infection—a systematic review and meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;76(4):464–9.
- Hartmann DP, Ghadirian E, Meerovitch E. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IHA) test in the serodiagnosis of experimental hepatic amoebiasis. *J Parasitol* 1980;66(2):344–5.
- Lawson LLO, Bailey JW, Beeching NJ, Gurgel RG, Cuevas LE. The stool examination reports amoeba cysts: should you treat in the face of over diagnosis and lack of specificity of light microscopy? *Trop Doct* 2004;34(1):28–30.
- Long W, Deng X, Zhang Y, Lu G, Xie J, Tang J. Procalcitonin guidance for reduction of antibiotic use in low-risk outpatients with community-acquired pneumonia: PCT guidance of antibiotics for CAP. *Respirology* 2011;16(5):819–24.
- Marková M, Brodská H, Malíčková K, Válková V, Cetkovský P, Kolář M, et al. Substantially elevated C-reactive protein (CRP), together with low levels of procalcitonin (PCT), contributes to diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients. *Support Care Cancer* 2013;21(10):2733–42.
- Meisner M, Tschalkowsky K, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schüttler J. Procalcitonin—influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35(8):597–601.
- Oku E, Nomura K, Nakamura T, Morishige S, Seki R, Imamura R, et al. Amebic colitis and liver abscess complicated by high serum procalcitonin in acute myeloid leukemia. *Kansenshogaku Zasshi* 2012;86(6):773–7.
- Petri WA, Haque R. *Entamoeba histolytica* brain abscess. *Handb Clin Neurol* 2013;114:147–52.
- Piacentini E, Sánchez B, Arauzo V, Calbo E, Cuchi E, Nava JM. Procalcitonin levels are lower in intensive care unit patients with H1N1 influenza A virus pneumonia than in those with community-acquired bacterial pneumonia. A pilot study. *J Crit Care* 2011;26(2):201–5.
- Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock—a systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2013;17(6):R291–301.
- Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, Ferrero CA, Franck PFH, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002;40(7):718–24.
- Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queralto JM, et al. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(1):47–64.
- Stanley SL. Amoebiasis. *Lancet* 2003;361(9362):1025–34.
- Syvanen J, Peltola V, Pajulo O, Ruuskanen O, Mertsola J, Helenius I. Normal behavior of plasma procalcitonin in adolescents undergoing surgery for scoliosis. *Scand J Surg* 2014;103(1):60–5.
- Tsalik EL, Jagers LB, Glickman SW, Langley RJ, van Velkinburgh JC, Park LP, et al. Discriminative value of inflammatory biomarkers for suspected sepsis. *J Emerg Med* 2012;43(1):97–106.
- Ugajin M, Yamaki K, Hirasawa N, Yagi T. Predictive values of semi-quantitative procalcitonin test and common biomarkers for the clinical outcomes of community-acquired pneumonia. *Respir Care* 2014;59(4):564–73.
- Van den Bruel A, Thompson MJ, Haj-Hassan T, Stevens R, Moll H, Lakhanpaul M, et al. Diagnostic value of laboratory tests in identifying serious infections in febrile children: systematic review. *BMJ* 2011;342(2):3082–92.
- Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013;13(5):426–35.
- Wuerz T, Kane JB, Boggild AK, Krajden S, Keystone JS, Fuksa M, et al. A review of amoebic liver abscess for clinicians in a nonendemic setting. *Can J Gastroenterol* 2012;26(10):729–33.

3. Discussion générale

Le développement prodigieux et l'intérêt médical porté au dosage de la PCT ces vingt dernières années est en passe de faire évoluer, du moins en partie, la façon d'appréhender le diagnostic d'orientation en microbiologie, et plus particulièrement en cas de sepsis bactérien. En effet, grâce à l'automatisation des laboratoires, la PCT est devenu un biomarqueur facilement dosable sous nos latitudes, et suffisamment spécifique pour offrir au clinicien une orientation rapide vers une étiologie bactérienne. En revanche, bien qu'il fût démontré très tôt une augmentation franche de la PCT dans le cadre des accès palustres, ou plus nuancée dans les infections invasives à champignons, son utilité reste globalement discutable en parasitologie-mycologie, et cela probablement à cause du léger désintérêt lié à la faible fréquence de telles affections sous nos latitudes (Hollenstein et al. 1998; Brodská et al. 2013). Ainsi, dans l'exemple du paludisme, malgré une sensibilité très satisfaisante pour l'orientation diagnostique, le facteur de confusion que constituent les infections bactériennes intercurrentes, l'urgence diagnostique et la faible incidence de la maladie dans les pays développés ayant accès aux automates de dosage, ont eu raison d'une éventuelle utilisation de la PCT en routine. Néanmoins, ces études ont le mérite de rappeler au clinicien qu'il existe possiblement des causes alternatives d'augmentation de la concentration de PCT, dont la seule élévation ne doit pas faire poser trop hâtivement le diagnostic d'infection bactérienne.

Pour compléter les données parcellaires relatives à l'intérêt de la PCT en parasitologie, et faisant suite à la prise en charge diagnostique d'un cas complexe survenu dans notre institut, l'objectif de notre étude a été d'évaluer les variations de ce biomarqueur, mais aussi d'autres protéines de l'inflammation, au cours d'une parasitose possiblement grave et qui pose parfois des problèmes diagnostiques, l'amœbose hépatique à *Entamoeba histolytica*. A notre connaissance, aucune étude n'avait été menée jusqu'à maintenant sur ce marqueur, dans un tel contexte.

A cause de la rareté de l'amœbose en France, nous avons dû nous contenter d'un petit effectif juste suffisant pour espérer montrer des différences significatives vis-à-vis d'une population contrôlée asymptomatique. Afin de compléter notre collection de *sera*, nous avons fait appel à deux autres centres, les CHRU d'Angers et de Nantes, qui ont pu nous transmettre leurs échantillons séropositifs, accompagnés d'une fiche de renseignement clinique exhaustive et standardisée (annexe III). Une étude multicentrique, telle que réalisée ici, a permis d'être plus

représentative de la population globale et de diminuer certains biais de recrutement. Par ailleurs, la centralisation des dosages sur le site du CHRU de Tours a évité les biais de mesure, mais avait néanmoins le discret inconvénient de nécessiter un transport dans des conditions appropriées de conservation. Au total, même si nos résultats vis-à-vis d'*Entamoeba histolytica* doivent être relativisés en raison du faible nombre d'échantillons disponibles, le dosage de la PCT n'en restait pas moins supérieur au seuil de 0,5 µg/L dans plus de la moitié des cas, et en dehors des normales physiologiques (0,06 µg/L pour le 95^{ème} percentile) dans neuf cas sur dix (annexe IV) (O'Grady et al. 2008). Les valeurs restaient néanmoins très dispersées avec deux extrêmes similaires à celles qui peuvent être observées au cours de sepsis sévères ou chocs septiques (>10 µg/L) (annexe IV et VI). A noter que la concentration la plus élevée correspondait à un cas très rare de patient avec une forme grave due à 19 abcès. Dans ce contexte, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'augmentation de la PCT pourrait être corrélée au degré d'importance de l'invasion du foie et constituer ainsi un facteur pronostique. D'ailleurs, le dosage de la PCT chez ce même patient montrait, après traitement, une décroissance rapide coïncidant avec une régression des signes clinico-radiologiques. A l'inverse, l'un des deux patients avec des valeurs très basses de PCT avait débuté un traitement amœbocide lors du prélèvement. Ces deux constatations suggèrent la possibilité d'un éventuel suivi de l'efficacité thérapeutique *via* la PCT, en complément des signes clinico-radiologiques, à l'instar de ce qui peut se faire pour le monitoring du sepsis en unité de soin continu. La cinétique précoce de la PCT semble en tous les cas particulièrement adaptée pour répondre à cet objectif (Brunkhorst et al. 1998). D'un point de vue physiopathologique, d'aucuns pourraient expliquer l'augmentation de la PCT constatée ici chez nos patients infectés par *Entamoeba histolytica* par des surinfections bactériennes. Cependant, même si des traitements antibiotiques étaient parfois mis en route au préalable, les ponctions hépatiques ont ramené le plus souvent un liquide, dont la culture était très majoritairement contrôlée comme stérile, ce qui a été le cas chez tous les patients de notre étude lorsque cette dernière a été réalisée. L'hypothèse de surinfection comme facteur confondant semble donc peu solide, au regard de la rigueur analytique de notre travail. La seconde hypothèse physiopathologique pouvant expliquer l'augmentation de la PCT, davantage fondamentale et plus probable, serait que le parasite joue un rôle indirect, médié par la réaction inflammatoire, dans le relargage de PCT dans le sang. En effet, comme nous l'avons préalablement souligné, la PCT se comporte également comme une cytokine pro-inflammatoire (Whang et al. 2000). La PCT pourrait ainsi être libérée par les hépatocytes

suite à la stimulation importante de l'immunité innée, médiée par un nuage de cytokines attirant, au site parasité, polynucléaires et macrophages (Muller et al. 2001). Ainsi, la PCT participerait alors directement à cette réaction de défense contre le parasite. En outre, le faible nombre de parasites habituellement retrouvés au site de l'abcès amibien, en comparaison du volume total de celui-ci, est en faveur d'une très forte immunogénicité d'*Entamoeba histolytica*. Le rôle prépondérant de l'immunité innée dans la défense contre le parasite est à opposer ici à une immunité acquise très peu protectrice dans l'amœbose invasive.

En termes de robustesse, nos résultats secondaires concernant le dosage de la CRP vont au-delà de ce qui a pu être constaté avec la PCT puisque la quasi-totalité de nos patients, excepté un, présentait un dosage augmenté (supérieur à 6 mg/L) et très souvent au dessus de 100 mg/L. La CRP présentait ainsi une meilleure sensibilité pour l'amœbose hépatique. Gardons toutefois en tête son absence de spécificité en cas de maladie inflammatoire sous-jacente (annexe V). En outre, la CRP ne nous est pas apparue corrélée de manière significative à la PCT (annexe II). Sur la base de ce constat, la nouveauté de la PCT ne doit pas faire négliger la CRP, biomarqueur plus ancien et bien connu, mais qui demeure rapide à doser et d'un coût modique. Concernant les autres marqueurs hépatiques, nos résultats sont globalement conformes à ce qui était décrit dans la littérature avec des phosphatases alcalines en moyenne supérieures aux normes. Les γ -glutamyl transférases étaient également augmentées, possiblement du fait que la prise d'alcool, facteur confondant, favorise la survenue d'abcès hépatique, bien que nous n'ayons pas évalué cette consommation. Étonnamment, les transaminases restaient dans les normes, discrètement plus augmentées mais non significativement par rapport au groupe contrôle. Ces dernières discordances par rapport aux études antérieures pourraient être dues aux conditions de conservation, associant à la fois une durée longue au congélateur et au moins un cycle de congélation-décongélation (Cray et al. 2009). Pourtant, les données de la littérature sont plutôt en faveur d'une relativement bonne stabilité des analytes biochimiques dans le *serum* (Dimagno et al. 1989). Néanmoins, celle-ci n'a jamais été correctement évaluée au-delà d'un an (Brinc et al. 2012). Ainsi, il existe probablement un biais de conservation des *sera*, bien que tout ait été mis en œuvre pour le limiter dans notre étude. D'après les données connues, les conséquences semblent moindres pour la PCT qui apparaît comme un analyte très robuste (Meisner et al. 1997).

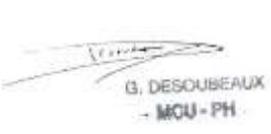
Les dosages biochimiques de routine orientent efficacement le clinicien. La PCT, un biomarqueur d'utilisation récente en routine, n'avait jamais été évaluée dans le cadre de l'amœbose avant cette étude. Nos résultats préliminaires, bien que significatifs pour ce biomarqueur, nécessitent une confirmation sur un effectif plus large de patients. La grande dispersion des valeurs de la PCT rend difficile la détermination d'une valeur prédictive négative pour le diagnostic de l'amœbose invasive. Néanmoins, en se fondant sur la courbe ROC fournie en annexe V, le meilleur *cut off* se situerait entre 0,02 et 0,17 pour une spécificité entre 85% et 95% et une sensibilité entre 82% et 94%. Bien que de tels résultats soient extrapolés sur un faible effectif, il semblerait que ce *cut off* soit plus faible que celui observé pour les infections bactériennes (0,5 µg/L). L'un des résultats les plus intéressants de l'étude, bien que partiel puisqu'il n'a pu être mesuré que chez un seul patient, est la décroissance rapide de la PCT. Cette décroissance était concomitante d'une bonne efficacité thérapeutique. Ce résultat mériterait d'être exploré sur d'autres patients. En effet, le clinicien ne dispose actuellement d'aucun marqueur biologique précoce de la bonne évolution du traitement. Par exemple, le titre sérologique ne commence à décroître que particulièrement tardivement (6-12 mois) et bien après la disparition des signes cliniques et radiologiques. Au contraire, le syndrome inflammatoire biologique mesuré *via* la PCT ou la CRP semble se normaliser notablement plus rapidement (annexe VII).

ANNEXES

ANNEXE I : Déclaration à la CNIL

Traitements mis en œuvre au sein du C.H.R.U. de Tours

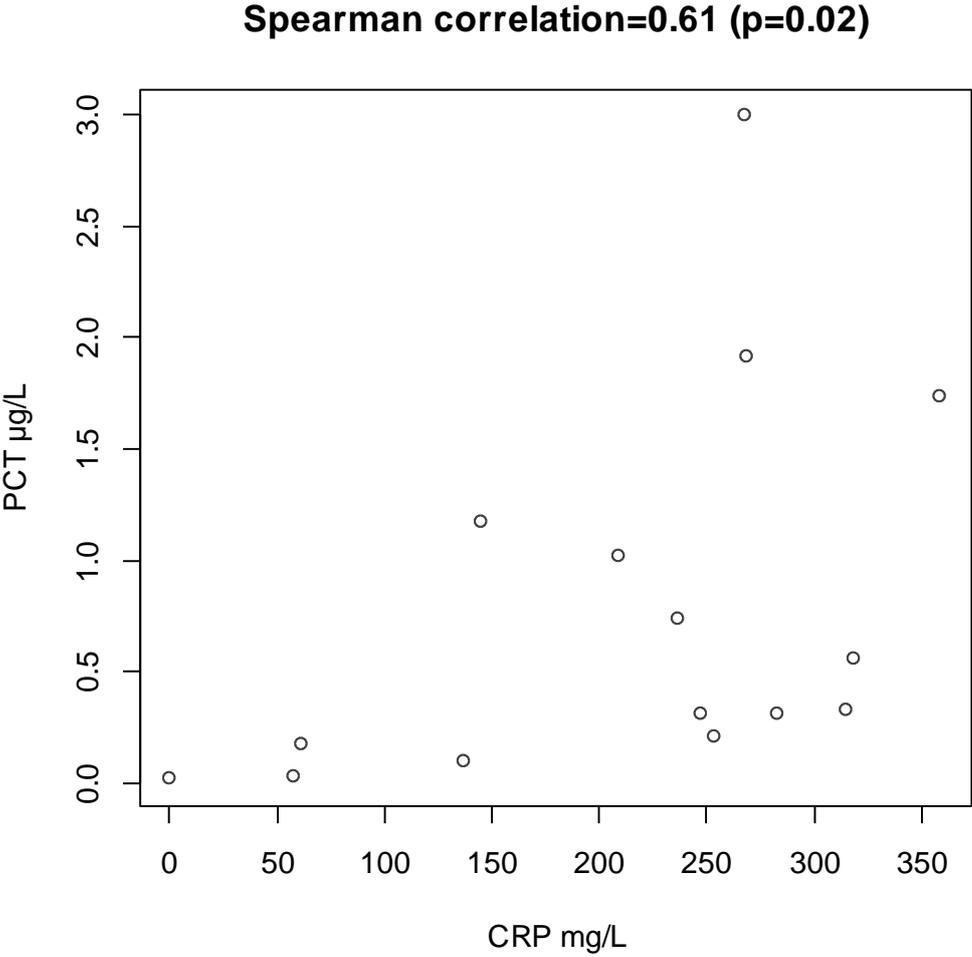
Date de déclaration :	10/02/2014
Nom de l'étude :	Amœbose-PCT
Document de référence CNIL :	MR 01
Date de mise en œuvre:	
Finalité principale:	Etude rétrospective ayant pour objectif principal de décrire le comportement d'un marqueur de l'inflammation, la PCT (PCT), au cours de l'amœbose viscérale.
Pôle :	Biologie médicale
Service chargé de la mise en œuvre :	Service de Parasitologie-Mycologie-Médecine Tropical du Pr. J.Chandenier (UF2680)
Personne chargée de la mise en œuvre :	G.Desoubieux, MCU-PH, Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale du Pr. J. Chandener CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé - 37044 TOURS CEPR INSERM U1100 / EA 6305 G.Récipon, Interne en Biologie médicale, Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale du Pr. J. Chandener CHU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé - 37044 TOURS
Personne référente de ce dossier au service informatique :	G.Desoubieux, MCU-PH, Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale du Pr. J. Chandener CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé - 37044 TOURS CEPR INSERM U1100 / EA 6305/ G.Récipon, Interne en Biologie médicale, Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale du Pr. J. Chandener CHRU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé - 37044 TOURS
Contact CNIL :	Eric TRIPAULT Pôle Finances, Facturation, Système d'Information 2 Boulevard Tonnellé 37044 TOURS CEDEX 9 Tel : 02 47 47 84 46 Email : cil@chu-tours.fr ou e.tripault@chu-tours.fr
Catégories de personnes concernées par l'étude :	Patients

Catégories de données traitées :	Données de la catégorie A : Identité, Données de la catégorie M : Confirmation du diagnostic d'amœbose viscérale ou digestive (clinico-radio-biologique), et maladie pouvant interférer avec le dosage : accès palustre concomitant au moment du prélèvement, infection bactérienne au moment du prélèvement atteinte hépatique, Données de la catégorie K : origine ethnique (continent : Africaine, Asiatique, Européenne), Données de la catégorie N : habitudes de vie et comportement (pays visités)	
Catégories de destinataires:	Destinataires	Données concernées
	Biologiste, internes en biologie médicale.	L'ensemble des données anonymisées
Durée de conservation:	Données	Durée de conservation
	L'ensemble des données	Jusqu'à parution d'un possible article et/ou de la thèse (1-2 ans)
Mise à jour (date et objet):		
Nom / Prénom du déclarant :	G.Desoubieux, MCU-PH, Service de Parasitologie - Mycologie - Médecine tropicale du Pr. J. Chandénier CHU Bretonneau, 2 Boulevard Tonnellé - 37044 TOURS CEPR INSERM U1100 / EA 6305	
Signature du déclarant (en cas de déclaration papier) :	 G. DESOUBIEUX - MCU - PH	

N° d'enregistrement C.H.R.U. (à remplir par le contact CNIL) :	2015_003.
---	------------------

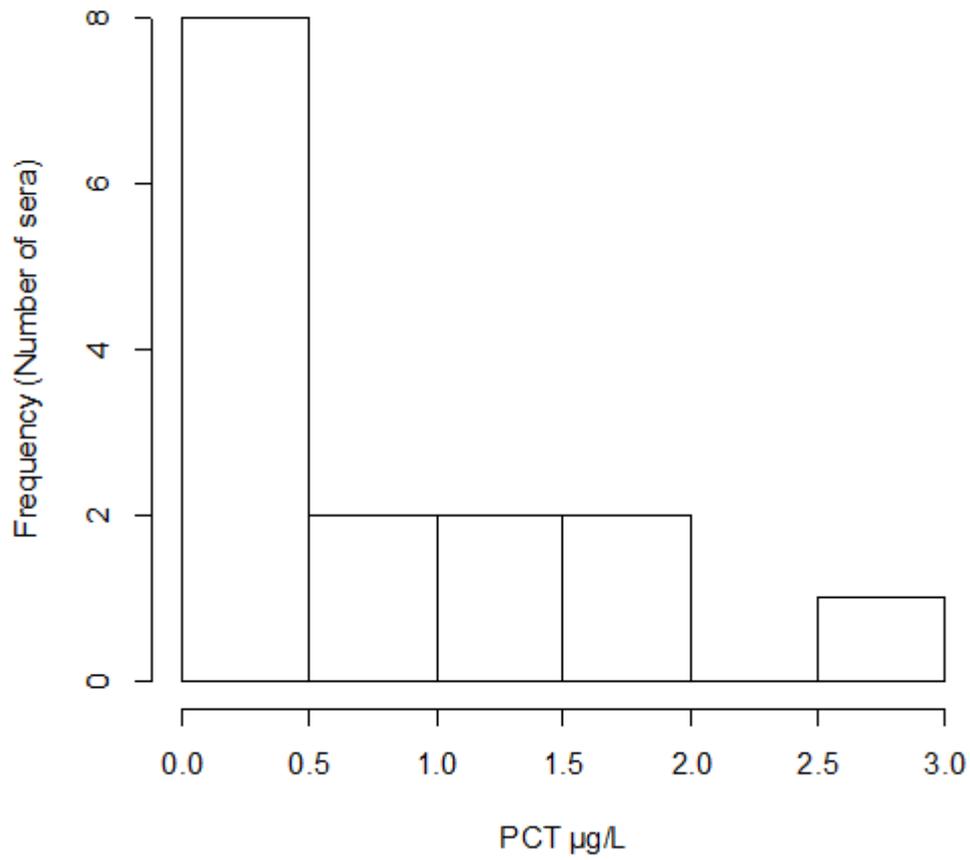
ANNEXE II : Graphic of correlation between PCT and CRP in invasive amoebiasis group after excluding two extreme values of PCT (45,6 µg/L and 14,65 µg/L). Spearman's rank correlation coefficient with or without extreme values of PCT (45,6 µg/L and 14,65 µg/L) are respectively 0,44 (p=0,08) and 0,61(p=0,02).

Remarque : Figures additionnelle non incluses dans l'article originale.



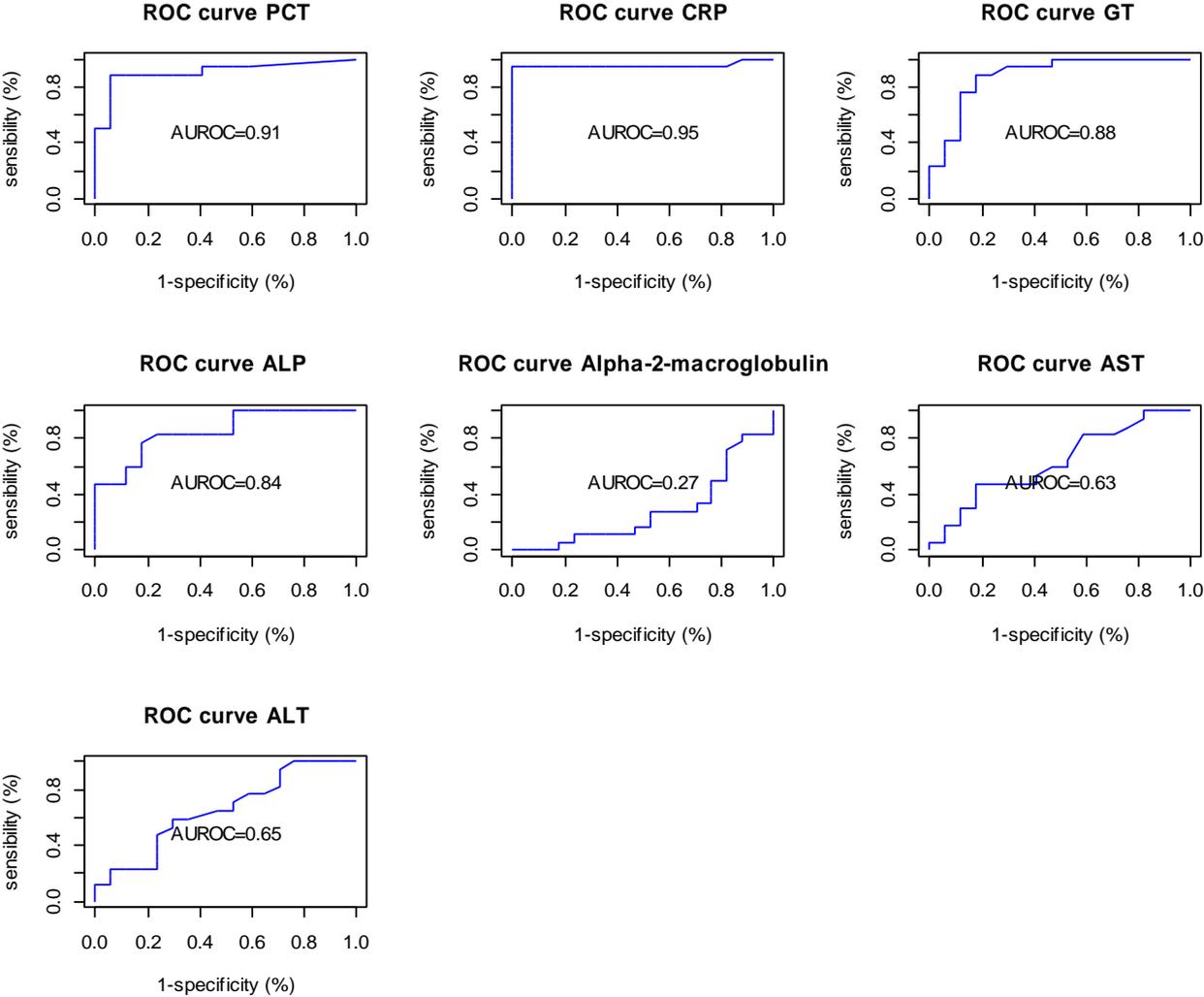
ANNEXE IV : PCT histogram of the value found in the serum of patient suffering from invasive amoebiasis excluding two extreme values of PCT (45,6 $\mu\text{g/L}$ and 14,65 $\mu\text{g/L}$).

Remarque : Figures additionnelle non incluses dans l'article originale.



ANNEXE V : Graphics of the ROC for the prediction of invasive amoebiasis PCT, CRP, GGT, ALP, alpha-2-macroglobulin, AST, alanine amine-transferase ALT

Remarque : Figures additionnelle non incluses dans l'article originale.



ANNEXE VI : Tableau récapitulatif des résultats de l'étude des dosages

n°	Marqueurs de l'inflammation		Marqueurs hépatiques					Sérologies amibiennes		Critère principal	Maladies sous-jacentes			
	PCT (µg/L)	CRP (mg/L)	Aspartate aminotransférase (UI/L)	Alanine aminotransférase (UI/L)	Alpha2-macroglobuline (mg/L)	γ-glutamyl-transférase (UI/L)	Phosphatase alcaline (UI/L)	Hémagglutination indirecte (titre)	Immunofluorescence indirecte (titre)	Amébose tissulaire (0=non, 1=oui)	Paludisme (0=non, 1=oui)	Infections bactériennes (0=non, 1=oui)	Atteinte hépatique chronique (0=non, 1=oui)	Hépatites virales (0=non, 1=oui)
1	0,02	2,6	7	12	2,53	39	93	0	0	0	0	0	1	0
2	0,0524	5,9	23	16	2,05	20	127	0	0	0	0	0	1	1
3	0,02	0,4	13	8	2,02	16	36	80	0	0	0	0	0	0
4	0,0298	13,9	18	9	2,4	19	108	160	0	0	0	0	0	0
5	0,0739	4,6	11	4	1,37	20	57	0	0	0	0	0	0	0
6	0,02	0,9	12	6	3,34	13	64	80	25	0	0	0	0	0
7	0,0607	1,1	38	13	4,58	30	76	0	25	0	0	0	1	1
8	0,0224	2,5	23	31	2,55	46	80	0	25	0	0	0	0	1
9	0,0562	4	46	14	5,32	55	123	0	0	0	0	0	1	0
10	0,0234	6,1	17	13	2,35	21	84	0	0	0	0	0	1	0
11	0,0274	3,5	13	5	2,12	9	62	0	0	0	0	1	0	0
12	0,02	0,4	8	4	1,4	9	29	320	25	0	0	0	0	0
13	0,0357	20,1	6	3	2,21	51	66	80	0	0	0	0	0	0
14	0,02	6,3	23	27	2,79	63	78	0	0	0	0	0	0	0
15	0,02	54,8	21	29	1,64	126	92	0	0	0	0	0	0	0
16	0,6863	32,8	41	38	1,95	238	5	0	0	0	0	0	0	0
17	0,02	2,6	15	10	1,46	28	43	0	0	0	0	0	0	0

n°	PCT (µg/L)	CRP (mg/L)	Aspartate aminotransférase (U/L)	Alanine aminotransférase (U/L)	Alpha2- macroglobuline (mg/L)	γ-glutamyl- transférase (U/L)	Phosphatase alcaline (U/L)	Hémagglutination indirecte (titre)	Immunofluorescence indirecte (titre)	Amébose tissulaire (0=non, 1=oui)	Paludisme (0=non, 1=oui)	Infections bactériennes (0=non, 1=oui)	Atteinte hépatique chronique (0=non, 1=oui)	Hépatites virales (0=non, 1=oui)
18	45,66	241,3	50	10	1,11	61	100	1280	400	1	0	0	0	0
19	0,3053	248,1	15	16	2,13	120	111	200	640	1	0	0	0	0
20	0,7366	237,1	12	17	1,58	254	145	320	200	1	0	0	0	0
21	0,0287	58,3	16	19	1,71	103	101	640	400	1	0	0	0	0
22	1,906	269,1	19	13	1,34	51	74	1500	2560	1	0	0	0	0
23	1,014	209,2	39	78	1,59	182	174	640	200	1	0	0	0	0
24	0,2006	253,6	15	18	2,01	233	69	320	400	1	0	0	0	0
25	0,55	318,6	42	35	2,63	95	234	20480	320	1	0	0	0	0
26	0,32	315,2	11	7	2,19	62	110	1280	640	1	0	0	0	0
27	0,17	62,3	9	7	3,01	84	93	10240	320	1	0	0	0	0
28	0,78	n.a.	n.a.	n.a.	1,68	n.a.	n.a.	160	800	1	0	0	0	0
29	0,31	283,7	28	34	1,58	221	191	160	200	1	0	0	0	0
30	1,17	145,7	15	8	1,46	246	267	1280	3200	1	0	1	0	0
31	1,73	359	27	15	1,45	304	210	640	200	1	0	0	0	0
32	0,02	0,9	39	54	2,22	241	105	20480	100	1	0	0	1	0
33	0,09	137,3	18	6	1,77	103	153	40960	3200	1	0	0	0	0
34	2,99	268,1	45	11	1,54	29	68	0	200	1	0	0	0	0
35	14,65	159	26	24	1,01	101	164	0	320	1	0	0	0	0

ANNEXE VII : Tableau récapitulatif des résultats pour le suivi d'un patient atteint d'amœbose invasive

Date*	PCT (µg/L)	CRP (mg/L)	Asparatate aminotransférase (UI/L)	Alanine aminotransférase (UI/L)	γ-glutamyl-transférase (UI/L)	Phosphatase alcaline (UI/L)
J+0	45,66	241,3	50	10	61	100
J+4	4,845	55,1	20	21	371	216
J+20	0,1492	15	61	50	593	333
J+67	0,0703	16,2	15	29	80	69
J+168	0,0444	3,3	13	19	55	56

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abd-Alla MD, Jackson TF, Reddy S, Ravdin JI. Diagnosis of invasive amebiasis by enzyme-linked immunosorbent assay of saliva to detect amebic lectin antigen and anti-lectin immunoglobulin G antibodies. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2344–7.
- Abioye AA. Fatal amoebic colitis in pregnancy and puerperium: a new clinico-pathological entity. *J Trop Med Hyg.* 1973;76(4):97–100.
- Abou-El-Magd I, Soong C-JG, El-Hawey AM, Ravdin JI. Humoral and mucosal IgA antibody response to a recombinant 52-kDa cysteine-rich portion of the *Entamoeba histolytica* galactose-inhibitable lectin correlates with detection of native 170-kDa lectin antigen in serum of patients with amebic colitis. *J Infect Dis.* 1996;174(1):157–62.
- Adema GJ, Baas PD. A novel calcitonin-encoding mRNA is produced by alternative processing of calcitonin/calcitonin gene-related peptide-I pre-mRNA. *J Biol Chem.* 1992;267(11):7943–8.
- Agarwal R, Schwartz DN. Procalcitonin to guide duration of antimicrobial therapy in intensive care units: a systematic review. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2011 Aug;53(4):379–87.
- Aguirre García M, Gutiérrez-Kobeh L, López Vancell R. *Entamoeba Histolytica*: Adhesins and Lectins in the Trophozoite Surface. *Molecules.* 2015;20(2):2802–15.
- Alam F, Salam MA, Hassan P, Mahmood I, Kabir M, Haque R. Amebic liver abscess in northern region of Bangladesh: sociodemographic determinants and clinical outcomes. *BMC Res Notes.* 2014;7(1):625.
- Ali IKM, Clark CG, Petri WA. Molecular epidemiology of amebiasis. *Infect Genet Evol.* 2008a;8(5):698–707.
- Ali IKM, Hossain MB, Roy S, Ayeh-Kumi PF, Petri Jr WA, Haque R, et al. *Entamoeba moshkovskii* infections in children in Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(5):580.
- Ali IKM, Solaymani-Mohammadi S, Akhter J, Roy S, Gorrini C, Calderaro A, et al. Tissue invasion by *Entamoeba histolytica*: evidence of genetic selection and/or DNA reorganization events in organ tropism. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008b;2(4):e219.
- Allah-Kouadio E, Assi C, Doukouré B, Ouattara A, Soro D, Lohoues-Kouacou MJ, et al. Amoebome-cancer du côlon. Les pièges diagnostiques à éviter. *J Afr Hépato-Gastroentérologie.* 2011;5(3):224–7.
- Amano K, Takeuchi T. Amebiasis in acquired immunodeficiency syndrome. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2001;40(7):563–4.
- Annesley J. *Researches Into the Causes, Nature, and Treatment of the More Prevalent Diseases of India: And of Warm Climates Generally.* Longman, Brown, Green, and Longmans; 1841.
- ANOFEL. *Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales.* 3ème édition. Elsevier-Masson; 2013.
- Aristizábal H, Acevedo J, Botero M. Fulminant amebic colitis. *World J Surg.* 1991;15(2):216–21.

- Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1993 Feb 27;341(8844):515–8.
- Aunis D, Bellanger L, Degorce F. Dosage immunologique de la chromogranine A humaine (CgA), anticorps, réactifs et trousse utilisables pour ce dosage. Cis Bio international, France, Brevet EP1078266B1; 2004. p. 0127.
- Bailenger J. Coprologie parasitaire et fonctionnelle. Drouillard; 1965.
- Becker Jr GL, Knep S, Lance KP, Kaufman L. Amebic abscess of the brain. *Neurosurgery*. 1980;6(2):192–4.
- Becker KL, Nash D, Silva OL, Snider RH, Moore CF. Increased serum and urinary calcitonin levels in patients with pulmonary disease. *CHEST J*. 1981;79(2):211–6.
- Becker KL, Nylén ES, White JC, Müller B, Snider Jr RH. Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(4):1512–25.
- Becker KL, Snider RH, Silva OL, Moore CF. Calcitonin heterogeneity in lung cancer and medullary thyroid cancer. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1978;89(1):89–99.
- Becker KL, Snider R, Nylén ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med*. 2008;36(3):941–52.
- Beckman Coulter. Alanine aminotransferase (ALT), Notice n°6607. 2009a.
- Beckman Coulter. Alkaline phosphatase (ALP), Notice n°OSR6004. 2009b.
- Beckman Coulter. Aspartate aminotransferase (AST), Notice n°OSR6109. 2009c.
- Beckman Coulter. C-Reactive protein (CRP), Notice n°OSR6147. Beckman Coulter; 2009d.
- Beckman Coulter. Gamma-glutamyl transferase (GGT), Notice n°OSR6119. 2009e.
- Benmansour A, Traore A, Bensaleh R, Amraoui M, Chkoff R. L'Amoebome colique: faut-il y penser plus souvent? *Pan Afr Med J*. 2013;14.
- Benoist J-F, Mimoz O, Assicot M, Edouard A. Serum procalcitonin, but not C-reactive protein, identifies sepsis in trauma patients. *Clin Chem*. 1998;44(8):1778–9.
- Bhattacharya A, Anand MT, Paul J, Yadav N, Bhattacharya S. Molecular Changes in *Entamoeba histolytica* in Response to Bacteria1. *J Eukaryot Microbiol*. 1998;45(2):28S – 33S.
- Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive protein. *J Biol Chem*. 2004;279(47):48487–90.
- Bohuon C. A brief history of procalcitonin. *Intensive Care Med*. 2000;26(2):S146–7.

- Bor S, Thompson AE, Guthrie J. Amoebiasis cutis following surgical drainage of a large hepatic, subphrenic and perinephric abscess. *Br J Dermatol.* 1969;81(10):769–73.
- Borth W. Alpha 2-macroglobulin, a multifunctional binding protein with targeting characteristics. *FASEB J.* 1992;6(15):3345–53.
- Braga LL, Lima AA, Sears CL, Newman RD, Wuhib T, Paiva CA, et al. Seroepidemiology of *Entamoeba histolytica* in a slum in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1996 Dec;55(6):693–7.
- B.R.A.H.M.S. B·R·A·H·M·S Kryptor Systems - TRACE Technology [Internet]. 2005 [Consulté le 2015 Oct 28]. Disponible à l'adresse: <http://www.kryptor.net/>
- B.R.A.H.M.S. PCT sensitive B.R.A.H.M.S. kryptor: Instruction for Use - procalcitonin [Internet]. 2008 [Consulté le 2015 Oct 28]. Disponible à l'adresse: <http://www.procalcitonin.com/>
- B.R.A.H.M.S. B·R·A·H·M·S Kryptor Systems - Paramètres [Internet]. 2015 [Consulté le 2015 Oct 9]. Disponible à l'adresse: <http://www.kryptor.net/>
- Brinc D, Chan MK, Venner AA, Pasic MD, Colantonio D, Kyriakopolou L, et al. Long-term stability of biochemical markers in pediatric serum specimens stored at– 80 C: a CALIPER Substudy. *Clin Biochem.* 2012;45(10):816–26.
- Broad PM, Symes AJ, Thakker RV, Craig RK. Structure and methylation of the human calcitonin/ α -CGRP gene. *Nucleic Acids Res.* 1989;17(17):6999–7011.
- Brodská H, Malíčková K, Adámková V, Benáková H, Šťastná MM, Zima T. Significantly higher procalcitonin levels could differentiate Gram-negative sepsis from Gram-positive and fungal sepsis. *Clin Exp Med.* 2013;13(3):165–70.
- Brumpt E. Étude sommaire de l'Entamoeba dispar n. sp. Amibe à kystes quadrinucléés, parasite de l'homme. *Bull Acad Med Paris.* 1925;94:943–52.
- Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med.* 1998;24(8):888–9.
- Bundesen HN, Tonney FO, Rawlings ID. The outbreak of amebiasis in Chicago during 1933: sequence of events. *J Am Med Assoc.* 1934;102(5):367–9.
- Burchard GD, Prange G, Mirelman D. Interaction between trophozoites of *Entamoeba histolytica* and the human intestinal cell line HT-29 in the presence or absence of leukocytes. *Parasitol Res.* 1993;79(2):140–5.
- Cameron EW. The treatment of pleuropulmonary amebiasis with metronidazole. *CHEST J.* 1978;73(5):647–50.
- Cassaing S, Linas M-D, Bessières M-H. Diagnostic parasitologique de l'amibiase a entamoeba histolytica. *Rev Francaise Lab.* 1997;1997(291):149–52.

- Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuani A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care*. 2004;8(4):R234.
- Center for Disease Control and Prevention (CDC). Pathogen & Environment | Amebiasis | Parasites | CDC [Internet]. 2015 [Consulté le 2015 Oct 28]. Disponible à l'adresse: <http://www.cdc.gov>
- Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet*. 2004;363(9409):600–7.
- Christ-Crain M, Muller B. Procalcitonin in bacterial infections-hype, hope, more or less? *Swiss Med Wkly*. 2005;135(31/32):451.
- Ciftci AO, Karnak I, Şenocak ME, Kale G, Büyükpamukçu N. Spectrum of complicated intestinal amebiasis through resected specimens: incidence and outcome. *J Pediatr Surg*. 1999;34(9):1369–73.
- Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(3):329–41.
- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(5):960–7.
- Cohen HG, Reynolds TB. Comparison of metronidazole and chloroquine for the treatment of amoebic liver abscess. A controlled trial. *Gastroenterology*. 1975;69(1):35–41.
- Collège des universitaires de Maladie Infectieuses et Tropicales. ePillyTROP Maladie infectieuses tropicales [Internet]. 2012 [Consulté le 2015 Oct 18]. Disponible à l'adresse: <http://www.infectiologie.com>
- Council for Continuing Pharmaceutical Education (CCPE). Constantes biologiques-2013 [Internet]. 2013 [Consulté le 2015 Oct 10]. Disponible à l'adresse: <http://www.ccpe-cfpc.com>
- Cox FEG. History of Human Parasitology. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Oct 1;15(4):595–612.
- Craig CF. Amebiasis and amebic dysentery. *Am J Dig Dis*. 1934;1(1):4–8.
- Cray C, Rodriguez M, Zaias J, Altman NH. Effects of storage temperature and time on clinical biochemical parameters from rat serum. *J Am Assoc Lab Anim Sci JAALAS*. 2009;48(2):202.
- Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(6):1605–8.
- Davis PH, Schulze J, Stanley SL. Transcriptomic comparison of two *Entamoeba histolytica* strains with defined virulence phenotypes identifies new virulence factor candidates and key differences in the expression patterns of cysteine proteases, lectin light chains, and calmodulin. *Mol Biochem Parasitol*. 2007;151(1):118–28.

- Del Carmen S-GM, Velazquez-Rojas M, Salgado-Rosas H, Torres-Rasgado E, Perez-Fuentes R, Martinez-Munguia J, et al. Seroprevalence of anti-entamoeba histolytica antibodies by IHA and ELISA assays in blood donors from Puebla, Mexico. *Arch Med Res.* 1999;31(4 Suppl):S53–4.
- Delmont J. Amebiasis. *EMC-Tratado Med.* 2002;6(1):1–4.
- Desoubeaux G, Chaussade H, Thellier M, Poussing S, Bastides F, Bailly E, et al. Unusual multiple large abscesses of the liver: interest of the radiological features and the real-time PCR to distinguish between bacterial and amebic etiologies. *Pathog Glob Health.* 2014 Jan;108(1):53–7.
- Diagam. Alpha-2 macroglobuline, Notice réactifs, Références: MGTUR-H00 et MGTUR-B00. 2007.
- Diamond LS. Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amebae. *J Parasitol.* 1968;1047–56.
- Diamond LS. A new liquid medium for xenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other lumen-dwelling protozoa. *J Parasitol.* 1982;68(5):958–9.
- Diamond LS, Clark CG. A Redescription of *Entamoeba Histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) Separating It From *Entamoeba Dispar* Brumpt, 19251. *J Eukaryot Microbiol.* 1993;40(3):340–4.
- Diamond LS, Jensen JB. Lumen dwelling protozoa: *Entamoeba*, trichomonads and *Giardia*. *Vitro Cultiv Protozoan Parasites.* 1983;65–109.
- Dimagno EP, Corle D, O'BRIEN JF, Masnyk IJ, Go VL, Aamodt R. Effect of long-term freezer storage, thawing, and refreezing on selected constituents of serum. *Mayo Clin Proc. Elsevier;* 1989. p. 1226–34.
- Dolatabadi AA, Memary E, Amini A, Shojaee M, Abdalvand A, Hatamabadi HR. Efficacy of measuring procalcitonin levels in determination of prognosis and early diagnosis of bacterial resistance in sepsis. *Niger Med J J Niger Med Assoc.* 2015 Feb;56(1):17–22.
- Dorosz P, Durand DV, Jeunne CL. *Guide pratique des médicaments 2013.* Maloine; 2012.
- Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med.* 2000;32(4):274–8.
- Du Clos TW, Mold C. C-reactive protein. *Immunol Res.* 2004;30(3):261–77.
- Duggal P, Guo X, Haque R, Peterson KM, Ricklefs S, Mondal D, et al. A mutation in the leptin receptor is associated with *Entamoeba histolytica* infection in children. *J Clin Invest.* 2011;121(3):1191.
- Eisert J, Hannibal Jr JE, Sanders SL. Fatal amebiasis complicating corticosteroid management of pemphigus vulgaris. *N Engl J Med.* 1959;261(17):843–5.
- Ellyson JH, Bezmallnovic Z, Parks SN, Lewis FR. Necrotizing amebic colitis: a frequently fatal complication. *Am J Surg.* 1986;152(1):21–6.

- England JT, Del Vecchio MT, Aronoff SC. Use of serum procalcitonin in evaluation of febrile infants: a meta-analysis of 2317 patients. *J Emerg Med*. 2014 Dec;47(6):682–8.
- Espinosa-Cantellano M, Martínez-Palomo A. Pathogenesis of intestinal amebiasis: from molecules to disease. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(2):318–31.
- Fang D, Shu D. Entamoeba histolytica liver abscess. *Can Med Assoc J*. 2010;182(16):1758–1758.
- Fernandes HC, Costa AF, Freitas MAR, Martins AS, Pesquero JL, Rabelo ÉM, et al. Entamoeba histolytica: gene expression analysis of cells invading tissues. *Sci World J*. 2014;2014:1–5.
- Ferrière F. Intérêt de la procalcitonine, nouveau marqueur de l'infection bactérienne. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2000. p. 49–59.
- Food and Drug Administration (FDA). Blood Serum Chemistry-Normal [Internet]. 2015 [Consulté le 2015 Oct 10]. Disponible à l'adresse: <http://www.fda.gov/>
- Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE, Fisk T, Robins R, von Sonnenburg F, et al. Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *N Engl J Med*. 2006;354(2):119–30.
- Garcia LS, Shimizu RY, Bernard CN. Detection of Giardia lamblia, Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar, and Cryptosporidium parvum Antigens in Human Fecal Specimens Using the Triage Parasite Panel Enzyme Immunoassay. *J Clin Microbiol*. 2000;38(9):3337–40.
- Garland Science. Entamoeba and Amebiasis [Internet]. 2008 [Consulté le 2015 Oct 20]. Disponible à l'adresse: <http://www.garlandscience.com>
- Gendrel D, Raymond J, Coste J, Moulin F, Lorrot M, Guerin S, et al. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18(10):875–81.
- Gentilini. Médecine tropicale - 6e édition. Lavoisier; 2012.
- Ghillani PP, Motté P, Troalen F, Jullienne A, Gardet P, Le Chevalier T, et al. Identification and measurement of calcitonin precursors in serum of patients with malignant diseases. *Cancer Res*. 1989;49(23):6845–51.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Mega A, Grecka P, Scarpa N, Koratzanis G, Thomopoulos G, et al. Procalcitonin: a marker to clearly differentiate systemic inflammatory response syndrome and sepsis in the critically ill patient? *Intensive Care Med*. 2002;28(9):1351–6.
- Gilbert DN. Procalcitonin as a biomarker in respiratory tract infection. *Clin Infect Dis*. 2011;52(suppl 4):S346–50.
- Gillquist J, Larsson J, Sjö Dahl R. Serum calcitonin in acute pancreatitis in man. *Scand J Gastroenterol*. 1976;12(1):21–5.

- Gonzalez CR, Isibasi A, Ortiz-Navarrete V, Paniagua J, Garcia JA, Ramirez A, et al. Prevalence of antibodies against *Entamoeba histolytica* in Mexico measured by ELISA. *Epidemiol Infect.* 1995;115(03):535–43.
- Gotohda N, Itano S, Okada Y, Horiki S, Endo A, Terada N, et al. Acute appendicitis caused by amebiasis. *J Gastroenterol.* 2000;35(11):861–3.
- Gouvernement du Canada A de la santé publique du C. *Entamoeba histolytica* - Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes - Agence de la santé publique du Canada [Internet]. 2001 [Consulté le 2015 Oct 18]. Disponible à l'adresse: <http://www.phac-aspc.gc.ca>
- Gutiérrez-Cisneros MJ, Cogollos R, López-Vélez R, Martín-Rabadán P, Martínez-Ruiz R, Subirats M, et al. Application of real-time PCR for the differentiation of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* in cyst-positive faecal samples from 130 immigrants living in Spain. *Ann Trop Med Parasitol.* 2010 Mar;104(2):145–9.
- Haque R. Human intestinal parasites. *J Health Popul Nutr.* 2007;25(4):387.
- Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri WA. Comparison of PCR, isoenzyme analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol.* 1998;36(2):449–52.
- Haque R, Ali IM, Petri WA. Prevalence and immune response to *Entamoeba histolytica* infection in preschool children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(6):1031–4.
- Haque R, Huston CD, Hughes M, Houpt E, Petri Jr WA. Amebiasis. *N Engl J Med.* 2003a;348(16):1565–73.
- Haque R, Mollah NU, Ali IKM, Alam K, Eubanks A, Lyerly D, et al. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol.* 2000;38(9):3235–9.
- Haque R, Mondal D, Duggal P, Kabir M, Roy S, Farr BM, et al. *Entamoeba histolytica* infection in children and protection from subsequent amebiasis. *Infect Immun.* 2006;74(2):904–9.
- Haque R, Mondal D, Kirkpatrick BD, Akther S, Farr BM, Sack RB, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of acute diarrhea with emphasis on *Entamoeba histolytica* infections in preschool children in an urban slum of Dhaka, Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2003b;69(4):398–405.
- Haque R, Neville LM, Hahn P, Petri WA. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol.* 1995;33(10):2558–61.
- Harvey AM. Amebic dysentery gets its name: the story of William Thomas Councilman. *Johns Hopkins Med J.* 1980 May;146(5):185–92, 199–201.
- He C, Nora GP, Schneider EL, Kerr ID, Hansell E, Hirata K, et al. A novel *Entamoeba histolytica* cysteine proteinase, EhCP4, is key for invasive amebiasis and a therapeutic target. *J Biol Chem.* 2010;285(24):18516–27.

- Hellberg A, Nickel R, Lotter H, Tannich E, Bruchhaus I. Overexpression of cysteine proteinase 2 in *Entamoeba histolytica* or *Entamoeba dispar* increases amoeba-induced monolayer destruction in vitro but does not augment amoebic liver abscess formation in gerbils. *Cell Microbiol.* 2001;3(1):13–20.
- Henry BM, Roy J, Ramakrishnan PK, Vikse J, Tomaszewski KA, Walocha JA. Procalcitonin as a Serum Biomarker for Differentiation of Bacterial Meningitis From Viral Meningitis in Children: Evidence From a Meta-Analysis. *Clin Pediatr (Phila).* 2015 Sep 15;p. 0009922815606414.
- Hira PR, Iqbal J, Al-Ali F, Philip R, Grover S, D’Almeida E, et al. Invasive amebiasis: challenges in diagnosis in a non-endemic country (Kuwait). *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65(4):341–5.
- Hollenstein U, Looareesuwan S, Aichelburg A, Thalhammer F, Stoiser B, Amradee S, et al. Serum procalcitonin levels in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Dec;59(6):860–3.
- Hoovers JMN, Redeker E, Speleman F, Höppener JWM, Bholá S, Bliék J, et al. High-resolution chromosomal localization of the human calcitonin/CGRP/IAPP gene family members. *Genomics.* 1993;15(3):525–9.
- Hoque MI, Uddin MS, Sarker AR, Uddin MK. Common presentation of amebic liver abscess—a study in a tertiary care hospital in bangladesh. *Mymensingh Med J MMJ.* 2014;23(4):724–9.
- Housley J. Alpha2-macroglobulin levels in disease in man. *J Clin Pathol.* 1968;21(1):27.
- Huang C-T, Lee L-N, Ho C-C, Shu C-C, Ruan S-Y, Tsai Y-J, et al. High serum levels of procalcitonin and soluble TREM-1 correlated with poor prognosis in pulmonary tuberculosis. *J Infect.* 2014;68(5):440–7.
- Hung C-C, Chang S-Y, Ji D-D. *Entamoeba histolytica* infection in men who have sex with men. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(9):729–36.
- Hu R, Gong Y, Wang Y. Relationship of Serum Procalcitonin Levels to Severity and Prognosis in Pediatric Bacterial Meningitis. *Clin Pediatr (Phila).* 2015;0009922815569203.
- Huston CD, Houpt ER, Mann BJ, Hahn CS, Petri WA. Caspase 3-dependent killing of host cells by the parasite *Entamoeba histolytica*. *Cell Microbiol.* 2000;2(6):617–25.
- James K, Johnson G, Fudenberg HH. The quantitative estimation of α 2-macroglobulin in normal, pathological and cord sera. *Clin Chim Acta.* 1966;14(2):207–14.
- James K, Merriman J, Gray RS, Duncan LJ, Herd R. Serum alpha 2-macroglobulin levels in diabetes. *J Clin Pathol.* 1980;33(2):163–6.
- Jelinek T, Peyerl G, Löscher T, Nothdurft H-D. Evaluation of an antigen capture enzyme immunoassay for detection of *Entamoeba histolytica* in stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15(9):752–5.
- Jessurun J, Barrón-Rodríguez LP, Fernández-Tinoco G, Hernández-Avila M. The prevalence of invasive amebiasis is not increased in patients with AIDS. *Aids.* 1992;6(3):307–10.

- Jin M, Khan AI. Procalcitonin: uses in the clinical laboratory for the diagnosis of sepsis. *Lab Med*. 2010;41(3):173–7.
- Joram N, Muller J-B, Denizot S, Orsonneau J-L, Caillon J, Rozé J-C, et al. Umbilical cord blood procalcitonin level in early neonatal infections: a 4-year university hospital cohort study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Aug;30(8):1005–13.
- Joshi D, Aga R. Cecal ameboma. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010;8(1):p 28.
- Kenner BM, Rosen T. Cutaneous amebiasis in a child and review of the literature. *Pediatr Dermatol*. 2006;23(3):231–4.
- Klassen-Fischer MK, Wear DJ, Neafie RC. Amebiasis, 1-15. Defense Tech Inf Center; 2011.
- Knobloch J, Mannweiler E. Development and persistence of antibodies to *Entamoeba histolytica* in patients with amebic liver abscess. Analysis of 216 cases. *Am J Trop Med Hyg*. 1983;32(4):727–32.
- Kraoul L, Adjmi H, Lavarde V, Pays JF, Tourte-Schaefer C, Hennequin C. Evaluation of a rapid enzyme immunoassay for diagnosis of hepatic amoebiasis. *J Clin Microbiol*. 1997;35(6):1530–2.
- Krogstad DJ, Spencer HC, Healy GR, Gleason NN, Sexton DJ, Herron CA. Amebiasis: epidemiologic studies in the United States, 1971-1974. *Ann Intern Med*. 1978;88(1):89–97.
- Kurt A, Aygun AD, Godekmerdan A, Kurt A, Dogan Y, Yilmaz E. Serum IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α Levels in Early Diagnosis and Management of Neonatal Sepsis. *Mediators Inflamm*. 2008;vol.2007:1–5.
- Lee K-C, Lu C-C, Hu W-H, Lin S-E, Chen H-H. Colonoscopic diagnosis of amebiasis: a case series and systematic review. *Int J Colorectal Dis*. 2015;30(1):31–41.
- Leli C, Ferranti M, Moretti A, Al Dhahab ZS, Cenci E, Mencacci A. Procalcitonin Levels in Gram-Positive, Gram-Negative, and Fungal Bloodstream Infections. *Dis Markers*. 2015;2015:1–8.
- Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, Lasmoles F, Guliana JM, Milhaud G, et al. The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS Lett*. 1984;167(1):93–7.
- Leroy A, Lauwaet T, De Bruyne G, Cornelissen M, Mareel M. *Entamoeba histolytica* disturbs the tight junction complex in human enteric T84 cell layers. *FASEB J*. 2000;14(9):1139–46.
- Leroy S, Fernandez-Lopez A, Nikfar R, Romanello C, Bouissou F, Gervais A, et al. Association of procalcitonin with acute pyelonephritis and renal scars in pediatric UTI. *Pediatrics*. 2013 May;131(5):870–9.
- Lesh FA. Massive development of amebas in the large intestine. Fedor Aleksandrovich Lesh (Löscher). *Am J Trop Med Hyg*. 1975 May;24(3):383–92.
- Li E, Stenson WF, Kunz-Jenkins C, Swanson PE, Duncan R, Stanley SL. *Entamoeba histolytica* interactions with polarized human intestinal Caco-2 epithelial cells. *Infect Immun*. 1994;62(11):5112–9.

- Linscheid P, Seboek D, Nysten ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology*. 2003;144(12):5578–84.
- Linscheid P, Seboek D, Schaer DJ, Zulewski H, Keller U, Müller B. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes*. *Crit Care Med*. 2004;32(8):1715–21.
- Lin S-G, Hou T-Y, Huang D-H, He S-YR, Lin YD, Zhang L, et al. Role of Procalcitonin in the Diagnosis of Severe Infection in Pediatric Patients with Fever and Neutropenia – A Systemic Review and Meta-Analysis: *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Jul;p 1.
- Liu D, Su L, Han G, Yan P, Xie L. Prognostic Value of Procalcitonin in Adult Patients with Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One*. 2015;10(6):p. e0129450.
- Lodhi S, Sarwari AR, Muzammil M, Salam A, Smego RA. Features distinguishing amoebic from pyogenic liver abscess: a review of 577 adult cases. *Trop Med Int Health*. 2004;9(6):718–23.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2013;380(9859):2095–128.
- Lyche KD, Jensen WA, Kirsch CM, Yenokida GG, Maltz GS, Knauer CM. Pleuropulmonary manifestations of hepatic amebiasis. *West J Med*. 1990;153(3):275.
- Maharajan K, Patro DK, Menon J, Hariharan AP, Parija SC, Poduval M, et al. Serum Procalcitonin is a sensitive and specific marker in the diagnosis of septic arthritis and acute osteomyelitis. *J Orthop Surg*. 2013;8:19.
- Marín Reina P, Ruiz Alcántara I, Vidal Micó S, López-Prats Lucea JL, Modesto I Alapont V. [Accuracy of the procalcitonin test in the diagnosis of occult bacteremia in paediatrics: a systematic review and meta-analysis]. *An Pediatría Barc Spain* 2003. 2010 Jun;72(6):403–12.
- Márquez-Monter H, Fuentes-Orozco R, Correa-Lemus I, Becker I. Invasive amebiasis in a spider monkey (*Ateles geoffroyi*). Case report and a short review of the literature of amebiasis in non-human primates. *Arch Invest Med (Mex)*. 1990;22(1):75–8.
- Martinez-Palomo A, Espinosa-Cantellano M. Amoebiasis: new understanding and new goals. *Parasitol Today*. 1998;14(1):1–3.
- Maruna P, Nedelnikova K, Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res*. 2000;49:S57–62.
- Mathis G. Rare earth cryptates and homogeneous fluoroimmunoassays with human sera. *Clin Chem*. 1993;39(9):1953–9.
- McMillan A, McNeillage GJ. Comparison of the sensitivity of microscopy and culture in the laboratory diagnosis of intestinal protozoal infection. *J Clin Pathol*. 1984;37(7):809–11.

- Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schüttler J, Schick C. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med.* 1998;24(7):680–4.
- Meisner M, Tschaikowsky K, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schüttler J. Procalcitonin-influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *Clin Chem Lab Med.* 1997;35(8):597–602.
- Melendi GA, Laham FR, Monsalvo AC, Casellas JM, Israele V, Polack NR, et al. Cytokine profiles in the respiratory tract during primary infection with human metapneumovirus, respiratory syncytial virus, or influenza virus in infants. *Pediatrics.* 2007;120(2):e410–5.
- Merens A, Rapp C, Fabre R, Cavallo JD. Intérêt et limites du diagnostic au laboratoire de l'amibiase en 2004. *Med Trop.* 2005;65:167–75.
- Mirelman D, Nuchamowitz Y, Stolarsky T. Comparison of use of enzyme-linked immunosorbent assay-based kits and PCR amplification of rRNA genes for simultaneous detection of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar*. *J Clin Microbiol.* 1997;35(9):2405–7.
- Mohsen AHA, Kamel BA. Predictive values for procalcitonin in the diagnosis of neonatal sepsis. *Electron Physician.* 2015 Aug;7(4):1190–5.
- Mold C, Gewurz H, Du Clos TW. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology.* 1999;42(1):23–30.
- Moncada D, Keller K, Chadee K. *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases disrupt the polymeric structure of colonic mucin and alter its protective function. *Infect Immun.* 2003;71(2):838–44.
- Moody-Haupt S, Patterson JH, Mirelman D, McConville MJ. The major surface antigens of *Entamoeba histolytica* trophozoites are GPI-anchored proteophosphoglycans. *J Mol Biol.* 2000;297(2):409–20.
- Morin D. Evaluation multicentrique d'un nouvel automate d'immuno-analyse, le Kryptor compact, *Spectra Biologie* n°162, 52-56. 2007.
- Moya F, Nieto A. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *Eur J Biochem.* 1975;55(2):407–13.
- Mueller C, Huber P, Laifer G, Mueller B, Perruchoud AP. Procalcitonin and the early diagnosis of infective endocarditis. *Circulation.* 2004 Apr 13;109(14):1707–10.
- Muller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous Expression of the Calcitonin-I Gene in Multiple Tissues in Response to Sepsis 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(1):396–404.
- Müller F. Procalcitonin Levels Predict Bacteremia in Patients With Community-Acquired Pneumonia: A Prospective Cohort Trial. *CHEST J.* 2010 Jul 1;138(1):121.
- Nickel R, Ott C, Dandekar T, Leippe M. Pore-forming peptides of *Entamoeba dispar*. *Eur J Biochem.* 1999;265(3):1002–7.

- Nijsten MW, Olinga P, de Vries EG, Koops HS, Groothuis GM, Limburg PC, et al. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med*. 2000;28(2):458–61.
- Nishikura T. Procalcitonin (PCT) production in a thyroidectomized patient. *Intensive Care Med*. 1999;25(9):1031–1031.
- Oberhoffer M, Vogelsang H, Jäger L, Reinhart K. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. *J Crit Care*. 1999;14(1):29–33.
- O’Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, Bleck T, Carroll K, Kalil AC, et al. Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients: 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America. *Crit Care Med*. 2008;36(4):1330–49.
- Oku E, Nomura K, Nakamura T, Morishige S, Seki R, Imamura R, et al. [Amebic colitis and liver abscess complicated by high serum procalcitonin in acute myeloid leukemia]. *Kansenshōgaku Zasshi J Jpn Assoc Infect Dis*. 2012 Nov;86(6):773–7.
- OMS. Amoebiasis. *Relevé Épidémiologique Hebd Sect Hygiène Secrétariat Société Nations Wkly Epidemiol Rec Health Sect Secr Leag Nations*. 1997 Apr 4;72(14):97–9.
- Parija SC, Karki BMS. Detection of circulating antigen in amoebic liver abscess by counter-current immunoelectrophoresis. *J Med Microbiol*. 1999;48(1):99–101.
- Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805.
- Petitjean S, Assicot M, Bohuon C. Étude de l’immunoréactivité calcitonin-like au cours des processus infectieux. *Immuno-Anal Biol Spéc*. 1994;9(5):302–7.
- Petri Jr WA, Smith RD, Schlesinger PH, Murphy CF, Ravdin JI. Isolation of the galactose-binding lectin that mediates the in vitro adherence of *Entamoeba histolytica*. *J Clin Invest*. 1987;80(5):1238.
- Petri WA, Singh U. Diagnosis and management of amebiasis. *Clin Infect Dis*. 1999;29(5):1117–25.
- Pfister R, Kochanek M, Leygeber T, Brun-Buisson C, Cuquemelle E, Machado MB, et al. Procalcitonin for diagnosis of bacterial pneumonia in critically ill patients during 2009 H1N1 influenza pandemic: a prospective cohort study, systematic review and individual patient data meta-analysis. *Crit Care Lond Engl*. 2014;18(2):R44.
- Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Chappard D, Oberti F, Rifflet H, et al. Histopathological evaluation of liver fibrosis: quantitative image analysis vs semi-quantitative scores: comparison with serum markers. *J Hepatol*. 1998;28(3):439–46.
- Pillai DR, Kain KC. Immunochromatographic Strip-Based Detection of *Entamoeba histolytica*-E. dispar and *Giardia lamblia* Coproantigen. *J Clin Microbiol*. 1999;37(9):3017–9.
- Pillai DR, Keystone JS, Sheppard DC, MacLean JD, MacPherson DW, Kain KC. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*: epidemiology and comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis*. 1999;29(5):1315–8.

- Pillai S, Mohimen A. A solid-phase sandwich radioimmunoassay for *Entamoeba histolytica* proteins and the detection of circulating antigens in amoebiasis. *Gastroenterology*. 1982;83(6):1210–6.
- Police SC, Mobima T, Tekpa G, Akelelo NB, Koffi B. Les abcès amibiens du foie dans le service de gastroentérologie à l'hôpital de l'Amitié de Bangui: aspects épidémiologiques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutifs. *J Afr Imag Médicale*. 2015;6(4).
- Polzin A, Pletz M, Erbes R, Raffenberg M, Mauch H, Wagner S, et al. Procalcitonin as a diagnostic tool in lower respiratory tract infections and tuberculosis. *Eur Respir J*. 2003;21(6):939–43.
- Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock – a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2013;17(6):R291.
- ProBioQual. Notes techniques PCT [Internet]. 2011 [Consulté le 2015 Oct 27]. Disponible à l'adresse: <http://www.probioqual.com/>
- Ralston KS, Petri Jr WA. Tissue destruction and invasion by *Entamoeba histolytica*. *Trends Parasitol*. 2011;27(6):254.
- Ralston KS, Solga MD, Mackey-Lawrence NM, Bhattacharya A, Petri Jr WA. Trophocytosis by *Entamoeba histolytica* contributes to cell killing and tissue invasion. *Nature*. 2014;508(7497):526–30.
- Ravdin JI, Croft BY, Guerrant RL. Cytopathogenic mechanisms of *Entamoeba histolytica*. *J Exp Med*. 1980;152(2):377–90.
- Ravdin JI, Guerrant RL. Role of adherence in cytopathogenic mechanisms of *Entamoeba histolytica*: study with mammalian tissue culture cells and human erythrocytes. *J Clin Invest*. 1981;68(5):1305.
- Ravdin JI, Moreau F, Sullivan JA, Petri WA, Mandell GL. Relationship of free intracellular calcium to the cytolytic activity of *Entamoeba histolytica*. *Infect Immun*. 1988;56(6):1505–12.
- Recipon G, Piver É, Caille A, Le Pape P, Pihet M, Pagès J-C, et al. Is procalcitonin increased in cases of invasive amoebiasis? A retrospective, observational study. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015 Aug 28;395–9.
- Reed SL. Amebiasis: an update. *Clin Infect Dis*. 1992;14(2):385–93.
- Reed SL, Keene WE, McKerrow JH, Gigli I. Cleavage of C3 by a neutral cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica*. *J Immunol*. 1989;143(1):189–95.
- Reeves RE. Metabolism of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903. *Adv Parasitol*. 1985;23:105–42.
- Restrepo MI, Restrepo Z, Villareal CLE, Aguirre A, Restrepo M. Diagnostic tests for amoebic liver abscess: comparaison of enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and counterimmunoelectrophoresis (CIE). *Rev Soc Bras Med Trop*. 1996;29:27–32.

- Robinson GL. The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1968;62(2):285–94.
- Rogers L. The rapid cure of amoebic dysentery and hepatitis by hypodermic injections of soluble salts of emetine. *Br Med J.* 1912 Jun 22;1(2686):1424–5.
- Roos E. Zur Kenntniss der Amöbenenteritis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1894;33(6):389–406.
- Rosalki SB. C-reactive protein. *Int J Clin Pract.* 2001;55(4):269–70.
- Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, de Boer B, Garas G, et al. Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem.* 2003;49(3):450–4.
- Royer TL, Gilchrist C, Kabir M, Arju T, Ralston KS, Haque R, et al. *Entamoeba bangladeshi* nov. sp., Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(9):1543.
- Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clin Chem.* 1998;44(6):1343–4.
- Salles JM, Moraes LA, Salles MC. Hepatic amebiasis. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis.* 2003 Apr;7(2):96–110.
- Samuelson J. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 Jul;43(7):1533–41.
- Sánchez-Guillén MC, Argüello-García R, Garduño G, Valadez-Salazar A, Martínez-García MC, Muñoz O, et al. Study of human *Entamoeba histolytica* infection by zymodeme, indirect hemagglutination and electroimmunotransfer blot assays. *Arch Invest Med (Mex).* 1989;21:209–15.
- Sargeant PG, Williams JE, Grene JD. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1978;72(5):519–21.
- Scheinman JI, Stiehm ER. Fibrinolytic studies in the nephrotic syndrome. *Pediatr Res.* 1971;5(5):206–12.
- Schuetz P, Balk R, Briel M, Kutz A, Christ-Crain M, Stolz D, et al. Economic evaluation of procalcitonin-guided antibiotic therapy in acute respiratory infections: a US health system perspective. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC.* 2015 Mar;53(4):583–92.
- Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, Stolz D, Bouadma L, Wolff M, et al. Procalcitonin to guide initiation and duration of antibiotic treatment in acute respiratory infections: an individual patient data meta-analysis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2012 Sep;55(5):651–62.
- Schuttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trumper L, Binder C. Utility of procalcitonin concentration in the evaluation of patients with malignant diseases and elevated C-reactive protein plasma concentrations. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2006 Aug 15;43(4):468–73.

- Sécurité Sociale Française. Nomenclature des Actes de Biologie Médicale. 2014.
- Serge K. Guide de chimie médicinale et médicaments. Lavoisier; 2010.
- Sexton DJ, Krogstad D, Spencer H, HEALY GR, Sinclair S, Sledge C, et al. Amebiasis in a mental institution: serologic and epidemiologic studies. *Am J Epidemiol.* 1974;100(5):414–23.
- Seydel KB, Li E, Swanson PE, Stanley SL. Human intestinal epithelial cells produce proinflammatory cytokines in response to infection in a SCID mouse-human intestinal xenograft model of amebiasis. *Infect Immun.* 1997;65(5):1631–9.
- Seydel KB, Stanley SL. Entamoeba histolytica induces host cell death in amebic liver abscess by a non-Fas-dependent, non-tumor necrosis factor alpha-dependent pathway of apoptosis. *Infect Immun.* 1998;66(6):2980–3.
- Shaikh N, Evron J, Leeflang MMG. Procalcitonin, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the diagnosis of acute pyelonephritis in children. In: The Cochrane Collaboration, editor. *Cochrane Database Syst Rev.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2011.
- Shandera WX, Bollam P, Hashmey RH, Athey PA, Greenberg SB, White Jr AC. Hepatic amebiasis among patients in a public teaching hospital. *South Med J.* 1998;91(9):829–37.
- Shimokawa C, Kabir M, Taniuchi M, Mondal D, Kobayashi S, Ali IKM, et al. Entamoeba moshkovskii is associated with diarrhea in infants and causes diarrhea and colitis in mice. *J Infect Dis.* 2012;jis414.
- Siemens. What is Procalcitonin (PCT)? 2008;www.healthcare.siemens.co.uk/clinical.../what – is – pct.
- Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queralto JM, et al. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(1):47–64.
- Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2004;39(2):206–17.
- Söderquist B, Jones I, Fredlund H, Vikerfors T. Bacterial or crystal-associated arthritis? Discriminating ability of serum inflammatory markers. *Scand J Infect Dis.* 1997;30(6):591–6.
- Sottrup-Jensen L. Alpha-macroglobulins: structure, shape, and mechanism of proteinase complex formation. *J Biol Chem.* 1989;264(20):11539–42.
- Stanley SL. Amoebiasis. *Lancet.* 2003 Mar 22;361(9362):1025–34.
- Stanley SL, Huizenga H, Li E. Isolation and partial characterization of a surface glycoconjugate of Entamoeba histolytica. *Mol Biochem Parasitol.* 1992;50(1):127–38.
- Stark D, Van Hal S, Fotedar R, Butcher A, Marriott D, Ellis J, et al. Comparison of stool antigen detection kits to PCR for diagnosis of amebiasis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(5):1678–81.

- Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, Volanakis JE. C-reactive protein. *Immunol Res.* 1997;16(2):127–36.
- Takaro T, Bond WM. Pleuropulmonary, pericardial, and cerebral complications of amebiasis; a twenty year survey. *Surg Gynecol Obstet.* 1958;107(3):209–29.
- Tanyuksel M, Petri WA. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Oct;16(4):713–29.
- Thermofischer Scientific. Reference Values [Internet]. 2013 [Consulté le 2015 Jan 25]. Disponible à l'adresse: <http://www.procalcitonin.com/>
- Tucker PC, Webster PD, Kilpatrick ZM. Amebic colitis mistaken for inflammatory bowel disease. *Arch Intern Med.* 1975;135(5):681–5.
- Ugajin M, Miwa S, Shirai M, Ohba H, Eifuku T, Nakamura H, et al. Usefulness of serum procalcitonin levels in pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J.* 2011;37(2):371–5.
- Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, Cucherat M, Perret G-Y. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2006;34(7):1996–2003.
- Van Dissel JT. Procalcitonin: what should be its role in the clinical management of febrile patients admitted to the hospital? *Clin Infect Dis.* 2003;36(6):824–5.
- Verkerke HP, Hanbury B, Siddique A, Samie A, Haque R, Herbein J, et al. Multisite clinical evaluation of a rapid test for *Entamoeba histolytica* in stool. *J Clin Microbiol.* 2015;53(2):493–7.
- Verkerke HP, Petri Jr WA, Marie CS. The dynamic interdependence of amebiasis, innate immunity, and undernutrition. *Semin Immunopathol.* Springer; 2012. p. 771–85.
- Vidal. Vidal.fr - La base de données en ligne des prescripteurs libéraux [Internet]. 2015 [Consulté le 2015 Oct 19]. Disponible à l'adresse: <https://www.vidal.fr/>
- Vinayak VK, Shandil RK, Bansal V, Singh K, Bhasin DK, Kaur U. Uses and limitations in the demonstration of specific circulating immune complexes in patients with amoebiasis. *J Med Microbiol.* 1990;32(2):87–91.
- Visser LG, Verweij JJ, Van Esbroeck M, Edeling WM, Clerinx J, Polderman AM. Diagnostic methods for differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in carriers: performance and clinical implications in a non-endemic setting. *Int J Med Microbiol.* 2006;296(6):397–403.
- Vlcek P, Neradilová M, Němec J. Use of immunoreactive calcitonin and sonography in the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Vnitr Lek.* 1994;40(10):632–5.
- Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev Infect Dis.* 1986;8(2):228–38.

- Wang C, Zhong DA, Liao Q, Kong L, Liu A, Xiao H. Procalcitonin levels in fresh serum and fresh synovial fluid for the differential diagnosis of knee septic arthritis from rheumatoid arthritis, osteoarthritis and gouty arthritis. *Exp Ther Med*. 2014 Oct;8(4):1075–80.
- Wanner GA, Keel M, Steckholzer U, Beier W, Stocker R, Ertel W. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. *Crit Care Med*. 2000;28(4):950–7.
- Webster BH. Pulmonary Complications of Amebiasis: a report of six cases. *CHEST J*. 1956;30(3):315–25.
- Weinke T, Friedrich-Jänicke B, Hopp P, Janitschke K. Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica* in two high-risk groups: travelers returning from the tropics and male homosexuals. *J Infect Dis*. 1990 May;161(5):1029–31.
- Wery M. Protozoologie médicale. De Boeck Supérieur; 1995.
- Whang KT, Vath SD, Becker KL, Snider RH, Nylen ES, Muller B, et al. Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. *Shock*. 2000;14(1):73–8.
- Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2001;38(4):263–355.
- Wimalawansa SJ. Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin, and adrenomedullin: a peptide superfamily. *Crit Rev Neurobiol*. 1997;11(2-3).
- Winn WC, Koneman EW. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
- World Health Organisation (WHO). WHO Model Prescribing Information: Drugs Used in Parasitic Diseases - Second Edition: Protozoa: Amoebiasis and giardiasis. 1995.
- World Health Organisation (WHO). WHO | Amoebiasis [Internet]. 2015 [Consulté le 2015 Oct 18]. Disponible à l'adresse: <http://www.who.int>
- Wuerz T, Kane JB, Boggild AK, Kraiden S, Keystone JS, Fuksa M, et al. A review of amoebic liver abscess for clinicians in a nonendemic setting. *Can J Gastroenterol J Can Gastroenterol*. 2012 Oct;26(10):729–33.
- Ximénez C, Morán P, Rojas L, Valadez A, Gómez A. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: State of the art. *Infect Genet Evol*. 2009 Dec;9(6):1023–32.
- Yang S, Xiao L, Zhang H, Xu X, Song P, Liu F, et al. Significance of serum procalcitonin as biomarker for detection of bacterial peritonitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2014;14:452.
- Ylvisaker JT, McDonald GB. Sexually acquired amoebic colitis and liver abscess. *West J Med*. 1980;132(2):153.
- Zapata L, Flores R, Jurado JJ, Hernández N, Altamirano J. Success of medical therapy in a rare case of cecal ameboma. *Rev Gastroenterol México*. 2011;76(1):55–9.

Zermeño V, Ximénez C, Morán P, Valadez A, Valenzuela O, Rascón E, et al. Worldwide genealogy of *Entamoeba histolytica*: an overview to understand haplotype distribution and infection outcome. *Infect Genet Evol.* 2013;17:243–52.

Avis du Directeur de Thèse

Signature


G. DESCHAMPS
- MCF - PH

Avis du Directeur de l'U.F.R.
à Tours, le



Le Doyen,

Patrice DIOT

Le Directeur de Thèse

**Vu le Doyen
de la Faculté de Médecine de Tours**

Académie d'Orléans – Tours

Université François-Rabelais

Faculté de Médecine de TOURS

NOM - Prénom : RECIPON Guillaume

Titre de la thèse : La PCT est-elle augmentée au cours de l'amœbose invasive ?

Nombre de pages – tableaux – Figures – graphiques – illustrations...

RÉSUMÉ:

Le dosage des concentrations sériques de PCT (PCT) est couramment utilisé en routine pour le diagnostic et le suivi des infections bactériennes. En revanche, peu de données sont actuellement disponibles dans les maladies parasitaires, hormis pour le paludisme. Ainsi, le rôle de la PCT dans le cas particulier de l'amœbose n'a pas encore été décrit, à ce jour. L'objectif principal de ce travail était de démontrer l'intérêt potentiel de la PCT dans le diagnostic de l'amœbose digestive et de l'amœbose invasive. Les objectifs secondaires concernaient les autres biomarqueurs d'inflammation, spécifiques ou non du foie, comme la protéine CRP et l'alpha-2-macroglobuline, ainsi que les transaminases, les gamma-glutamyl-transférases et les phosphatases alcalines.

La PCT a été dosée par la méthode d'immuno-analyse utilisant la technologie T.R.A.C.E® (pour « Time-Resolved Amplified Cryptate-Emission) de l'automate B·R·A·H·M·S Kryptor compact® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), à partir de *sera* issus de trois collections biologiques de patients atteints d'amœbose digestive ou invasive, sur une période de quatre ans. Les résultats ont été traités par le logiciel d'analyse statistique The R Project for Statistical Computing version 3.1.2. Au total, 35 *sera* correspondant à 35 patients adultes ont été inclus. La PCT était significativement plus élevée chez les patients atteints d'amœbose invasive prouvée que chez ceux avec amœbose digestive (valeur moyenne: 4,03 µg / L par rapport 0,07 µg / L, respectivement; $p < 0,001$), mais la dispersion des valeurs était importante, et supérieure à celles observées pour la CRP. Les taux sériques de PCT restaient cependant inférieurs à ceux couramment observés dans des infections bactériennes. En revanche, la PCT n'était pas augmentée dans les *sera* de patients avec amœbose digestive.

Au regard de nos résultats, la PCT apparaît utile comme un outil d'orientation étiologique, afin de différencier les amœboses digestives et invasives. De plus larges études doivent être menées pour confirmer son potentiel diagnostique et pronostique.

Mots-clés : PCT ; amœbose ; biomarqueur ; CRP ; parasitologie

JURY :

Président du jury: Monsieur le Professeur Laurent MEREGHETTI

Membres du jury: Monsieur le Professeur Jacques CHANDENIER
Monsieur le Professeur Jean-Christophe PAGES
Monsieur le Professeur Patrice LE PAPE
Monsieur le Docteur Guillaume DESOUBEAUX
Monsieur le Docteur Éric PIVER

Date de la soutenance : 07/12/2015