

BMDT	COPROPARA / BAILENGER-CI FC Réactif pour la coloration et la concentration des parasites dans les selles selon la technique de Bailenger avec contrôle interne par filtration et centrifugation
Notice d'utilisation	

COPROPARA/BAILENGER-CI FC

Recherche d'éléments parasitaires dans les selles : examen direct et après concentration avec la méthode diphasique de Bailenger associé à un contrôle interne

Introduction

La détection des parasites ou des éléments de parasites dans les selles concerne :

1. les protozoaires localisés dans le tube digestif avec la recherche des formes végétatives ou kystiques. Les formes végétatives sont fragiles et leur mise en évidence par l'examen direct d'un état frais doit être extemporanée. Un séjour de plus de 2h à la température ambiante, une conservation à +4°C ou à +37°C ou à -20°C peut détruire ou détériorer ces formes et conduire à un résultat faussement négatif avec des conséquences pouvant être grave pour le patient dans le cas d'une amébose. Dans le cas d'un examen différé il est indispensable de fixer les selles.
2. les helminthes avec la recherche des œufs ou des larves. Ces parasites sont localisés dans l'intestin, ou dans d'autres organes mais ont comme voie de sortie l'intestin permettant la mise en évidence des œufs dans les selles. C'est le cas pour les douves hépato-biliaires (exemple *Fasciola hepatica*) avec une ponte par les adultes des œufs dans les canaux biliaires qui seront ensuite véhiculés par la bile dans l'intestin et éliminés avec les selles. C'est aussi le cas pour les schistosomes responsables de la schistosomose intestinale. En effet, les adultes vivent dans les vaisseaux sanguins mais la femelle gravide migre dans les capillaires qui irriguent l'intestin et pond ses œufs. Ces derniers vont traverser la paroi des capillaires puis celle de l'intestin et vont se retrouver dans la lumière intestinale et seront éliminés dans le milieu extérieur par les selles.

La recherche de parasites dans les selles comprend :

- un examen macroscopique
- un examen microscopique direct (état frais ou après fixation et/ou coloration)
- un examen microscopique après concentration.

Il est recommandé de réaliser 3 examens parasitologiques des selles à 2-3 jours d'intervalle à cause de l'émission intermittente de certains parasites.

Pour chaque selle à analyser, il est important de contrôler toutes les étapes de la technique de concentration utilisée. Le coefficient de concentration dépend de la maîtrise de la technique mais aussi de la nature et de la composition de la selles.

Objectif et principe du COPROPARA/BAILENGER-CI FC

Le COPROPARA/BAILENGER-CI FC est un réactif pour la recherche des parasites dans les selles permettant d'effectuer :

1. un examen microscopique direct,
2. un examen microscopique après concentration des éléments parasitaires selon Bailenger qui est une technique diphasique,
3. un contrôle des différentes étapes de la technique de concentration en incorporant dans les selles à analyser, un contrôle interne (CI) constitué de particules bleues dont la taille (25 à 100 µm) et la nature (hydrophile) miment celles de certains éléments

parasitaires, tels que les œufs. Comme ces derniers, lorsque ces particules sont mélangées à une suspension de selles, elles sont retrouvées dans le culot après concentration.

- La présence des particules ne perturbe pas la concentration des parasites et leur coloration en bleu n'entraîne pas de confusion avec les éléments parasitaires.
- Le calcul du coefficient de concentration du CI (CCCI) permet la validation, pour chaque prélèvement de selles, des différentes étapes de concentration : homogénéisation des selles, réalisation de l'émulsion avec le solvant organique (acétate d'éthyle ou éther), centrifugation (cassage de l'émulsion).

Le dispositif permettant la concentration des parasites comprend 2 parties :

- Un flacon pré-rempli avec une solution de tampon acéto-acétique contenant un contrôle interne (CI) (TAA CI) constitué de particules colorées
- Un tube conique sur le quel est vissé un système de filtration permettant de retenir les gros débris fécaux lors de la réalisation de la technique de concentration en utilisant la méthode diphasique de Bailenger.

Composition des coffrets COPROPARA/BAILENGER-CI FC

Le coffret COPROPARA / BAILENGER-CI FC 50 tests contient :

- 50 flacons pré-remplis avec $6\pm 0,5$ mL d'une solution de tampon acéto-acétique pH 5 (TAA) contenant un contrôle interne (CI) (TAA CI) constitué de particules colorées (1000 ± 200 /mL).
- 50 systèmes de filtration vissés sur des tubes coniques à centrifuger.
- 50 spatules.
- 1 flacon d'acétate d'éthyle 170 ± 4 mL
- 1 flacon de COPROPARACOLOR
- 1 notice d'utilisation.

Le coffret COPROPARA / BAILENGER-CI FC 25 tests contient :

- 25 Flacons pré-remplis avec $6\pm 0,5$ mL d'une solution de tampon acéto-acétique pH 5 (TAA) contenant un contrôle interne (CI) (TAA CI) constitué de particules colorées (1000 ± 200 /mL).
- 25 systèmes de filtration vissés sur des tubes coniques à centrifuger.
- 25 spatules.
- 1 flacon d'acétate d'éthyle 85 ± 5 mL.
- 1 flacon de COPROPARACOLOR
- 1 notice d'utilisation.

Matériel nécessaire non fourni

- Micropipette pour 10 à 50 μ L.
- Micropipette pour 100 à 1000 μ L.
- Pipettes Pasteur ou ensemeur (Oese ou anse à usage unique).
- Tubes à hémolyse avec bouchon.
- Lames et lamelles.
- Pipettes stériles ou à usage unique (1 à 20 mL).
- Agitateur type Vortex.
- Centrifugeuse avec nacelle pour tube à centrifuger
- Eau physiologique.
- Ether en remplacement de l'acétate d'éthyle.
- Lames et lamelles pour microscope.

- Microscope.
- Container pour déchets biologiques.
- Container pour déchets chimiques.

Stockage des réactifs

- Les réactifs doivent être stockés à l'obscurité entre +15° et +30°C. Les produits sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les flacons et le coffret avant et après ouverture.
- Ne pas laisser les réactifs sous une lumière intense.

Conservation des prélèvements de selles

Il est recommandé de traiter les selles le plus rapidement possible après leur recueil car certains stades parasitaires tels que les formes végétatives de protozoaires sont fragiles et peuvent se lyser en absence de fixateur.

Précaution d'utilisation

- Pour usage in vitro.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Respecter les instructions de la notice d'utilisation.
- Utiliser du matériel propre tel que les pointes pour micropipette, les tubes et autre matériel de laboratoire.
- Ne pas utiliser de réactifs périmés.
- En cas de versement accidentel du réactif, nettoyer le plan de travail à l'aide de papier absorbant et rincer avec de l'eau. En cas de contamination de l'environnement par les échantillons, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.
- Eviter tout contact du réactif avec la peau, les yeux et les muqueuses. Ne pas ingérer.
- Les échantillons, les composants du coffret ainsi que le matériel et les produits contaminés, doivent être éliminés dans un conteneur pour déchets contaminés, selon les recommandations et la réglementation en vigueur.
- Porter des gants appropriés, des lunettes de protection et une blouse de protection.
- Tous les produits biologiques doivent être considérés et traités comme potentiellement infectieux.

Consignes d'hygiène et de sécurité

- Observer les techniques et précautions en vigueur en matière de protection contre les dangers microbiologiques.
- Acétate d'éthyle : Xi : Irritant / F : Inflammable.
 - R 11 : Facilement inflammable.
 - R 36 : Irritant pour les yeux.
 - R 66 : L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau.
 - R 67 : L'inhalation de la vapeur peut provoquer somnolence et vertiges.
 - S 16 : Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles - Ne pas fumer.

- S 26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- S 33 : Eviter l'accumulation de charges électrostatiques.

Pour connaître les recommandations liées aux risques et les précautions relatives à certains produits chimiques contenus dans le coffret, consulter les pictogrammes figurant sur les étiquettes.

La fiche technique de sécurité est disponible sur demande.

Mode opératoire pour l'examen direct après coloration avec le COPROPARACOLOR

1. Homogénéiser les selles avec une spatule en bois.
2. Prélever une quantité de selles équivalente à la moitié d'un petit pois (500±100 mg) et déposer le prélèvement dans un tube à hémolyse contenant 2 mL d'eau physiologique ou eau distillée.
3. Triturer pour dissocier le prélèvement et agiter pour obtenir une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
4. Déposer sur une lame avec une micropipette 2 fois 20 µL (ou 2 fois une goutte, à l'aide d'une pipette Pasteur), de la suspension de selles à examiner.
5. Ajouter à un des dépôts, avec une micropipette, 10 µL de COPROPARACOLOR.
6. Mélanger soigneusement le colorant avec la suspension de selles.
7. Recouvrir chaque dépôt avec une lamelle (22x22 ou 22x32) et observer au microscope avec une lumière blanche (filtre bleu).
8. Les parasites(œufs, larves, trophozoïtes et kystes) apparaissent colorés en jaune ou en orange ou en jaune-brun sur un fond bleu ou bleu-violet plus ou moins foncé, mais les éléments parasitaires naturellement colorés (exemple œufs d'ascaris ou de trichocéphale) gardent leur coloration ou apparaissent plus sombres.

Mode opératoire pour la concentration des parasites

1. Pour chaque selle, identifier de façon identique les 2 parties du dispositif (tube pré-rempli et tube conique avec filtre).
2. Dans le flacon pré-rempli avec la solution TAA CI déposer 3 mL d'acétate d'éthyle
3. Bien homogénéiser les selles avec une spatule en bois.
4. Dans le cas de selles molles ou pâteuses :
 - 4.1. Prélever environ 1 g de selles (quantité équivalente au volume d'un petit pois) avec la spatule incorporée au filtre du tube conique,
 - 4.2. Déposer le prélèvement de selles dans le flacon pré-rempli avec la solution TAA CI/acétate d'éthyle,
 - 4.3. Visser le tube conique avec le filtre sur le flacon,
 - 4.4. Agiter vigoureusement (30 à 45 secondes) en secouant manuellement l'ensemble flacon/tube conique ou agiter avec un agitateur type «vortex» en maintenant le tube conique en haut.
5. Dans le cas de selles liquides ou diarrhéiques :
 - 5.1. Prélever environ 1 mL de selles,
 - 5.2. Déposer directement le prélèvement de selles dans le flacon pré-rempli avec la solution TAA CI/acétate d'éthyle,
 - 5.3. Visser le tube conique avec le filtre sur le flacon,
 - 5.4. Agiter vigoureusement (30 à 45 secondes) en secouant manuellement l'ensemble flacon/tube conique ou agiter avec un agitateur type «vortex» en maintenant le tube conique en haut.

6. Dans le cas de selles fermes ou dures :
 - 6.1. Prélever environ 1 g de selles (quantité équivalente au volume d'un petit pois) avec la spatule en bois,
 - 6.2. Déposer le prélèvement de selles dans le flacon pré-rempli avec la solution TAA CI/acétate d'éthyle,
 - 6.3. Dissocier le prélèvement de selles avec la spatule en l'écrasant contre la paroi du flacon,
 - 6.4. Visser le tube conique avec le filtre sur le flacon,
 - 6.5. Agiter vigoureusement (30 à 40 secondes) en secouant manuellement l'ensemble flacon/tube conique ou agiter avec un agitateur type «vortex» en maintenant le tube conique en haut.
7. Placer l'ensemble flacon-système de filtration avec tube conique dans une nacelle pour centrifugation (attention au sens : tube conique au fond de la nacelle) et Centrifuger 3 minutes à 1100 ± 100 g pour casser l'émulsion.
8. Dissocier en dévissant lentement la partie flacon et système de filtration.
9. Décanter le surnageant par retournement du tube conique. En cas de gélification de la phase supérieure, décoller le pourtour du gel de la paroi du tube avec une pipette pasteur ou d'un ensemeur.
10. Remettre le culot en suspension avec 100 ± 50 μ L d'eau physiologique (NaCl 0,15 M) (si le culot est très important le remettre en suspension avec 200 ± 50 μ L).
11. Refermer le tube en cas de lecture différée du culot remis en suspension.
12. Effectuer l'examen microscopique après concentration.
 - 12.1. Faire sur une lame, deux dépôts d'une quantité connue (20 à 30 μ L) de la suspension après concentration.
 - 12.2. Ajouter sur un des dépôts 10 μ L de COPROPARACOLOR et bien mélanger.
 - 12.3. Recouvrir chaque préparation avec une lamelle adaptée (20x20 ou 24x24 ou 24x36) à la quantité de la suspension déposée.
 - 12.4. Observer les préparations au microscope.
 - 12.4.1. avec l'objectif 10 (grossissement de 100) pour la recherche des œufs ou des larves. **Lors de cette observation dénombrer les particules bleues sur la préparation sans colorant.**
 - 12.4.2. avec l'objectif 40 ou 50 (grossissement de 400 ou 500) pour la recherche des kystes
13. Valider la technique en calculant le coefficient de concentration :
14. **Si après concentration, le nombre de particules bleues est supérieur (ou égal) au nombre de μ L déposés entre lame et lamelle, le CC est supérieur ou égal à 10** [exemple : pour un dépôt de 25 μ L si le nombre de particules bleues est supérieur à 25 (donc supérieur à 1000/mL), le CC est supérieur à 10 ($CC > 1000/100$)].

Interprétation des résultats après concentration

1. Le coefficient de concentration (CC)

L'objectif des particules bleues comme contrôle interne est de valider la maîtrise des principales étapes de la technique de COPROPARA/BAILENGER-CI FC :

- L'homogénéisation des selles dans le tube pré-rempli de tampon
- La réalisation de l'émulsion
- La centrifugation et la décantation

- 1.1. Un CC supérieur ou égal à 10 est considéré comme conforme et permet de valider la technique. Il faut noter que ce coefficient de concentration varie selon la composition des selles, la technique et la nature du solvant organique pour les techniques diphasiques.
- 1.2. Quand le CC est inférieur à 10 mais supérieur ou égale à 5 il est possible :
 - d'observer 2 préparations pour compenser ce faible CC ou
 - de recommencer la technique en évitant de prélever les gros débris présents dans les selles ou
 - de redemander un nouveau recueil de selles pour un nouvel examen parasitologique après un régime à faibles résidus cellulosiques.
- 1.3. Quand le CC est inférieur à 5 et si le résultat est négatif en parasites, un nouvel examen serait souhaitable après un régime à faibles résidus cellulosiques (Exemple : consommer préférentiellement biscottes, riz, pâtes, œufs, laitage).

2. Les parasites

Sur les préparations colorées avec le COPROPARACOLOR, les parasites (œufs, larves, trophozoïtes et kystes) apparaissent colorés en jaune ou en orange ou en jaune-brun sur un fond bleu ou bleu-violet plus ou moins foncé, mais les éléments parasitaires naturellement colorés (exemple œufs d'ascaris ou de trichocéphale) gardent leur coloration ou apparaissent plus sombres.

Avec cette technique de concentration, le culot remis en suspension contient essentiellement des œufs ou des larves ou des kystes ou des oocystes. Cette suspension peut être conservée entre +2°C et +8°C pendant au moins 7 jours pour une lecture différée ou pour un contrôle.

Pour le compte rendu des résultats, l'interprétation est effectuée par le biologiste. Elle dépend :

1. de certains éléments concernant le patient tels que : le statut immunitaire, les signes cliniques (diarrhée, prurit, douleurs abdominales, fièvre ...).
2. de l'identification du (des) parasite(s) observé(s) et de leur pathogénicité.
3. de l'intensité d'une infestation.

Performances

Contrôle interne et coefficient de concentration

- Les études réalisées ont montré de bons résultats pour la répétabilité et la reproductibilité inter-lots.
- Le point critique d'une technique de concentration diphasique étant la qualité de l'émulsion, des études portant sur la durée de l'agitation du mélange (suspension de selles et solvant organique) ont été réalisées. Les résultats obtenus en utilisant (i) des selles contenant une quantité connue de parasites (kystes d'*Entamoeba coli* ou des kystes de *Giardia duodenalis* ou des oeufs d'*Ascaris lumbricoides*) et de particules colorées (ii) la technique COPROPARA/BAILENGER-CI FC (iii) des temps d'agitation de 0 à 60 secondes, ont montré que :
 - Les coefficients de concentration variaient en fonction du temps d'agitation pour obtenir l'émulsion. Des coefficients de concentration plus élevés ont été observés après une agitation de 25 à 45 secondes, temps nécessaire pour obtenir une bonne émulsion,
 - Les coefficients de concentration des particules colorées et ceux des parasites (kystes d'*Entamoeba coli*, kystes de *Giardia duodenalis* et oeufs

d'*Ascaris lumbricoides*) étaient proches et évoluaient parallèlement et dans le même sens. Une émulsion incomplète (temps d'agitation court) se traduisait par de faibles coefficients de concentration alors que des coefficients de concentration élevés étaient obtenus lorsqu'une bonne émulsion (temps d'agitation long) était réalisée.

Ces résultats confirment que la qualité de l'agitation, donc de l'émulsion est un facteur important pour la réalisation des techniques de concentration diphasiques. Ils démontrent que les particules colorées constituent un bon contrôle interne pour vérifier et valider la maîtrise de la technique COPROPARA/BAILENGER-CI FC pour la concentration des parasites dans les selles.

Recherche des parasites

Des études comparatives ont été réalisées entre le COPROPARA/BAILENGER-CI FC et un réactif commercialisé (utilisant la technique de Bailenger) marqué CE aux performances reconnues.

Elles ont été effectuées avec 160 selles adressées à des LBM qui ont recherché des parasites en réalisant (i) un examen direct (état frais ou après coloration avec le MIF ou le lugol) (ii) la technique de Kato (iii) des techniques de concentration diphasique (Bailenger et/ou MIF concentration) ou une technique de flottation (Technique de Willis – solution saturée de chlorure de sodium). Les résultats obtenus par les LBM avec l'ensemble des techniques avaient été considérés comme le « gold standard ». Les résultats obtenus, résumés dans le tableau 1, montrent une bonne corrélation entre le réactif COPROPARA/BAILENGER-CI FC et le réactif marqué CE. L'analyse des coefficients de concentration pour les parasites et pour le CI (tableau 2) obtenus avec le réactif COPROPARA/BAILENGER-CI FC et le réactif marqué CE ne montre pas de différence significative

	Nombre	Résultats obtenus par les LBM ou avec le réactif de COPROPARA/BAILENGER-CI FC ou avec le réactif marqué CE			
		Examens directs		Examens après concentration	
Prélèvements	166	Négatifs	Positifs	Négatifs	Positifs
Selles négatives	50	50	0	50	0
Selles positives (Toutes techniques confondues)	116	64	52	0	116
Kystes d' <i>Entamoeba coli</i>	24	7	17	0	24
Kystes d' <i>E. histolytica/dispar/moshkovskii</i>	7	6	1	0	7
Kystes d' <i>Endolimax nanus</i>	4	3	1	0	4
Kyste de <i>Pseudolimax butschlii</i>	3	2	1	0	3
Kystes de <i>Giardia duodenalis</i>	26	10	16	0	26
Kystes/Formes végétatives <i>Giardia duodenalis</i>	3	0	3	0	3
Kystes de <i>Chilomastix mesnili</i>	4	4	0	0	4
Oocystes de cryptosporidies	11	6	5	0	11
Oocystes de <i>Cyclospora</i>	1	0	1	0	1
Œufs d' <i>Ascaris lumbricoides</i>	5	4	1	0	5
Œufs d'ankylostomidés	8	5	3	0	8
Embryophores de <i>Taenia</i> sp	7	5	2	0	7
Œufs d' <i>Hymenolepis nana</i>	6	5	1	0	6
Œufs de <i>Schistosoma mansoni</i>	6	6	0	0	6

Œufs de <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	1	1	0	0	1
---	---	---	---	---	---

Tableau 1 : étude comparative entre le réactif COPROPARA/BAILENGER-CI FC BMDT et un réactif marqué CE

Selles	Coefficient de concentration			
	Parasites Parasites Selles positives N = 116		Particules (contrôle interne) Selles testées N = 166	
Techniques	Réactif marqué CE	COPROPARA/ BAILENGER-CI FC	Réactif marqué CE	COPROPARA/ BAILENGER-CI FC
Moyenne	23	23.1	55.7	56.1
Ecart type	17.6	17	24	33
CDV	76.5	73.5	43	58.8
p-value		0.76		0.8
Conclusion	Au seuil de 5 % on ne peut pas rejeter l'hypothèse que les moyennes soient égales			

Tableau 2 : Analyse statistique des résultats de l'étude comparative de l'examen après concentration entre le réactif COPROPARA/BAILENGER-CI FC BMDT et un réactif marqué CE pour 166 selles dont 116 prélèvements positifs

Limites du COPROPARA/BAILENGER-CI FC

La concentration des parasites dans les selles dépend (i) de la composition (riche ou pauvre en débris fécaux notamment les débris végétaux ou en lipides) et de la nature des selles (fermes, moulées, pâteuses diarrhéiques ou liquides) (ii) des parasites à rechercher (kystes, œufs ou larves). Pour les techniques diphasiques cette concentration est fonction de la phase aqueuse notamment de son pH et du type de solvant organique utilisé (éther ou acétate d'éthyle par exemple).

Le COPROPARA/BAILENGER-CI FC permet la recherche des parasites dans les selles par examen direct ou après concentration en utilisant une technique diphasique (éther ou acétate d'éthyle). Cependant pour la mise en évidence de certains œufs tels que ceux des schistosomes, la technique du MIF est plus adaptée.

Bibliographie

1. Anofel. Parasitologie et mycologie médicales : guide des analyses et pratiques diagnostiques. Elsevier Masson. 2018.
2. Alum A, Rubino JR, Ijaz MK. The global war against intestinal parasites—should we use a holistic approach? Int J Infect Dis. 2010; 14:732–738
3. Amin OM. Evaluation of a new system for the fixation, concentration, and staining of intestinal parasites in fecal specimens, with critical observations on the trichrome stain. J Microbiol Methods. 2000; 39:127-32.
4. Bailenger J. Coprologie parasitaire et fonctionnelle. Drouillard, Editeurs, Bordeaux, 1973.
5. Benouis A, Bekkouche Z, Benmansour Z. Etude épidémiologique des parasitoses intestinales humaines au niveau du C.H.U. d'Oran (Algérie). International Journal of Innovation and Applied Studies. 2013; 4 :613-620

6. Bourée P. Fréquence de l'ascaridiose chez les enfants. *Med Sante Trop.* 2017;27:145.
7. Bourée P, Lançon A, Resendec P. Parasitoses intestinales émergentes. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2008; 399 ; 23-28
8. Cofrac. Guide technique d'accréditation : contrôle en biologie médicale. SH GTA 06, Révision 00.
9. Cofrac. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. Document LAB GTA 06, Révision 00 – Juillet 2005.
10. Gotfred-Rasmussen H, Lund M, Enemark HL, Erlandsen M, Petersen E. Comparison of sensitivity and specificity of 4 methods for detection of *Giardia duodenalis* in feces: immunofluorescence and PCR are superior to microscopy of concentrated iodine-stained samples. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;84:187-90.
11. Khanna V, Sagar S, Khanna R, Chawla K. A comparative study of formalin-ethyl acetate sedimentation technique and Mini Parasep(®) solvent-free method in the rapid diagnosis of intestinal parasites. *Trop Parasitol.* 2018; 8:29-32.
12. Koltas IS, Akyar I, Elgun G, Kocagoz T. Feconomics®; a new and more convenient method, the routine diagnosis of intestinal parasitic infections. *Parasitol Res.* 2014; 113:2503-2508.
13. Laoprom N, Laithavewat L, Kopolrat K, Kiatsopit N, Kaewkes S, Chantalux S, Mongkolsin C, Chanmaha B, Andrews RH, Petney TN, Sithithaworn P. Evaluation of a commercial stool concentrator kit compared to direct smear and formalin-ethyl acetate concentration methods for diagnosis of parasitic infection with special reference to *Opisthorchis viverrini* sensu lato in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2016; 47:890-900.
14. Leger N, Nottenghem MJ, Pesson B. Guide de parasitologie pratique. SEDES ed. Paris 1981
15. Manet L, Savel J. Parasitologie (Techniques usuelles de biologie clinique). Flammarion éd. Paris 1971.
16. Manser M, Granlund M, Edwards H, Saez A, Petersen E, Evengard B, Chiodini P; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Study Group on Clinical Parasitology. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in clinical laboratories in Europe--a comparative study. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:O65-71.
17. Manser MM, Saez AC, Chiodini PL. Faecal Parasitology: Concentration Methodology Needs to be Better Standardised. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10:e0004579.
18. Methanitkorn R, Sukontason K, Sukontason KL, Piangjai S. Evaluation of the formalin-tween concentration technique for parasitic detection. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2003;45:289-291.
19. Neimeister R, Logan AL, Gerber B, Egleton JH, Kleger B. Hemo-De as substitute for ethyl acetate in formalin-ethyl acetate concentration technique. *J Clin Microbiol.* 1987; 25:425-6.
20. Ng-Nguyen D, Stevenson MA, Traub RJ. A systematic review of taeniasis, cysticercosis and trichinellosis in Vietnam. *Parasit Vectors.* 2017;10:150.
21. Perry JL, Matthews JS, Miller GR. Parasite detection efficiencies of five stool concentration systems. *J Clin Microbiol.* 1990;28:1094-1097.
22. Petithory JC, Ardoin-Guidon F. Vrais et faux parasites en coprologie microscopique, Bioforma, Paris 1995.
23. Petithory JC, Ardoin-Guidon F, Chaumeil C. Amibes et flagellés intestinaux, amibes oculaires leur diagnostic microscopique. Bioforma, Paris 1998.
24. Ribeiro SR, Furst C. Parasitological stool sample exam by spontaneous sedimentation method using conical tubes: effectiveness, practice, and biosafety. *Rev Soc Bras Med*

- Trop. 2012;45:399-401.
25. Rousset JJ. Copro-parasitologie pratique : intérêt et méthodologie : notion sur les parasites du tube digestif, Estem, Paris 1993.
 26. Robert R. Les étapes importantes pour la réalisation d'une coprologie parasitaire, Spectra Biologie.2003; 133: 49-53.
 27. Saez AC, Manser MM and Chiodini PL. Comparison between the Midi Parasep and Midi Parasep Solvent Free (SF) faecal parasite concentrators. J Clin Pathol. 2011; 64:901-904.
 28. Sapero JJ, Lawless DK. The MIF stain-preservation technic for the identification of intestinal protozoa. Am J Trop Med Hyg. 1953; 2: 613-619.
 29. Shetty N, Prabhu T. Evaluation of faecal preservation and staining methods in the diagnosis of acute amoebiasis and giardiasis. J Clin Pathol. 1988;41:694-699.
 30. Sow D, Dieng Y, Haouchine D, Niang K, Niang T, Sylla K, Tine RC, Ndiaye M, Ndiaye JL, Faye B, Faye O, Gaye O, Dieng T, Izri A. Comparison of Para-Selles Bailenger/Kop-Color Fumouze, Para-Selles-Iodésine/Kop-Color II Fumouze diagnostic kits with conventional microscopic methods in identifying intestinal parasitic diseases in Senegal. J Parasit Dis. 2017;41:814-822.
 31. Uga S, Tanaka K, Iwamoto N. Evaluation and modification of the formalin-ether sedimentation technique. Trop Biomed. 2010;27:177-184.
 32. Wang LC. Improvement in the identification of intestinal parasites by a concentrated merthiolate-iodine-formaldehyde technique. J Parasitol. 1998; 84:457-8.
 33. Won EJ, Kim J, Ryang DW. Evaluation of Modified Formalin-Ether Concentration Method Using Para Tube in Clinical Settings. Ann Lab Med. 2015;35:445-448.
 34. Young KH, Bullock SI, Melvin DM and Spruill CI. Ethyl Acetate as a Substitute for Diethyl Ether in the Formalin-Ether Sedimentation Technique. J Clin Micro. 1979; 10: 852-853.

Sites consultés le 11/12/2017

- 1) www.who.int/mediacentre/factsheets/fs366/en/ (Soil-transmitted helminth infections)
- 2) www.end.org/whatwedo/ntdoverview/intestinalworms (Intestinals Worms)
- 3) <https://fr.scribd.com/doc/40477266/COPROLOGIE-PARASITAIRE>

Notice version 1 (2020)