Journée Scientifique

Les trématodoses des ruminants dans la région de Sejnane

Vendredi 28 aout 2020, Cap Serrat, Bizerte

Techniques de laboratoire de diagnostic et de dépistage des trématodoses des ruminants

Dr. Moez Mhadhbi
Dr. Yosra Said

Objectifs

- **Identification** précise des espèces parasitaires lors d'un dépistage ou d'une suspicion de parasitose,
- Pour **contrôler le statut parasitaire** d'un nouvel arrivant,
- Pour procéder au **bilan parasitaire** d'un effectif,
- Pour **choisir** un programme de vermifugation
- Pour **contrôler l'efficacité** d'un programme de vermifugation,
- Pour **rechercher d'éventuelles résistances** au sein d'un effectif.

Des bons prélèvements = des « bons » résultats

Les règles a suivre :

✓ Prélever directement de l'ampoule rectale..

✓ Quantité suffisante (représentative de la qt totale émise, selon la technique..)

✓ Respecter les règles d'hygiène

✓ Étiquetage de chaque échantillon (clair, indélébile…)

✓ Associer une feuille d'information (âge, troubles observés, hypothèses diagnostiques avancées, éventuel traitement..)

Pot hermétique, sac en plastique, gant ou boite de Pétrie

Cas particulier de la fasciolose des ruminants :

Excrétion irrégulière des œufs (stockés dans la vésicule biliaire)..

↓

Utiliser les fèces de 24 heures

Utiliser différents échantillons

Conservation des échantillons

Objectifs :

✓Fixer les EP dans le stade de leurs émission

✓Ne pas modifier leurs morphologie

✓Éviter toute contamination extérieure

L'idéal : coproscopie sur prélèvement frais

Conservation des échantillons

	Durée de conservation	Avantages	Inconvénients
Réfrigération (+ 4°C)	Conservation courte (2 à 3 jours)	- Possibilité de coproculture ultérieure. - Pas d'altération des formes parasitaires.	- Faible durée de conservation.
Congélation (- 15°C)	Conservation longue (au delà d'une année)	- Permet de conserver les fèces en vue d'un examen différé ex : expertise.	- Risque de provoquer l'éclatement de certains éléments. - Nécessite une congélation précoce. - Pas de coproculture possible ultérieurement.
Formol à 10% *(= Formol 100 mL, NaCl 8 g, eau qsp 1000 mL)*	Conservation longue	- Permet de conserver les fèces en vue d'un examen différé ex : expertise. - Transposable en dehors du cabinet.	- Pas de coproculture possible ultérieurement. - Pas d'analyse quantitative possible ultérieurement (dilution).

Examen microscopique

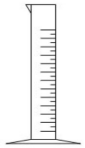
Avec enrichissement

- Flottation
- Sédimentation

1 Collecter l'échantillon

2 - Homogénéiser le prélèvement avec un mortier et un pilon
- Humidifier si le prélèvement est sec

3 Peser 5 gr de l'échantillon



4 Ajouter 20 ml d'une solution dense

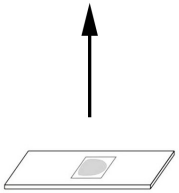
5 Délayer le mélange jusqu'à obtenir une solution homogène

6 Filtrer le mélange sur une passoire à thé sous un récipient

7 Remplir un tube à essai avec le liquide jusqu'à formation d'un ménisque convexe

8 Recouvrir d'une lamelle (ne pas emprisonner de l'air)

9 Laisser agir pdt. 15 à 20 min.
ou
centrifuger à 3000 rpm pdt. 4 min



10 - Retirer la lamelle
- Poser sa face inférieure sur une lame porte objet

11 Examener au microscope à l'objectif x10 puis x40

Technique de flottation

Gharbi M

Solutions de flottation utilisées en coprologie (d'après site de l'ENV de Lyon)

Solution	Avantages	Inconvénients	Préparation
Solution de Seather (sucrée saturée) **d = 1,12 ou 1, 27**	- Très peu coûteux - Facile à préparer - Pas de déformation des oeufs de Nématodes - Indiquée pour la recherche de *Cryptosporidium*	- Solution trop visqueuse, collante - Contamination possible par des moisissures	d = 1,12 : - 680 g de sucre en poudre - eau qsp 1000 mL d= 1,27 : - 454 g de sucre en poudre - 355 g d'eau
Nitrate de sodium **d = 1, 22**	- Cette solution donne de très bons résultats pour les Nématodes	- Tendance à former des cristaux - Déforme les éléments parasitaires en quelques minutes	- 400 g de NaNO3 - eau qsp 1000 mL
Sulfate de zinc à 33% **d = 1,18**	- Concentre très bien les kystes de *Giardia*	- Remontée importante de débris - Stimulation importante des larves (perturbe beaucoup la lecture)	- 371 g de ZnSO4 - eau qsp 1000 mL
Sulfate de zinc modifiée **d = 1, 44**	- Efficacité comparable à l'iodo-mercurate - Pas polluant	- Remontée importante de débris - Stimulation importante des larves (perturbe beaucoup la lecture)	- 330 g de ZnSO4 - 150 g d'acétate de zinc - eau qsp 1000 mL
Chlorure de sodium **d = 1,18 à 1,2**	- Très peu coûteux - Facile à préparer	- Corrosif - Remonte presque uniquement les kystes de coccidies - Tendance à former des cristaux - Déformation importante des oeufs	- 400 g de sel de cuisine - eau qsp 1000 mL
Sulfate de magnésium à 35% **d = 1,28**	- Peu coûteux - Indiqué pour la recherche de *Trichuris* - Remonte peu de débris	- Tendance à former des cristaux	- 350 g de MgSO4 - eau qsp 1000 mL
Iodo-mercurate de potassium **d = 1, 44**	- Remonte tous les oeufs y compris ceux des Trématodes	- Déforme les oeufs - Polluant - Corrosif	?

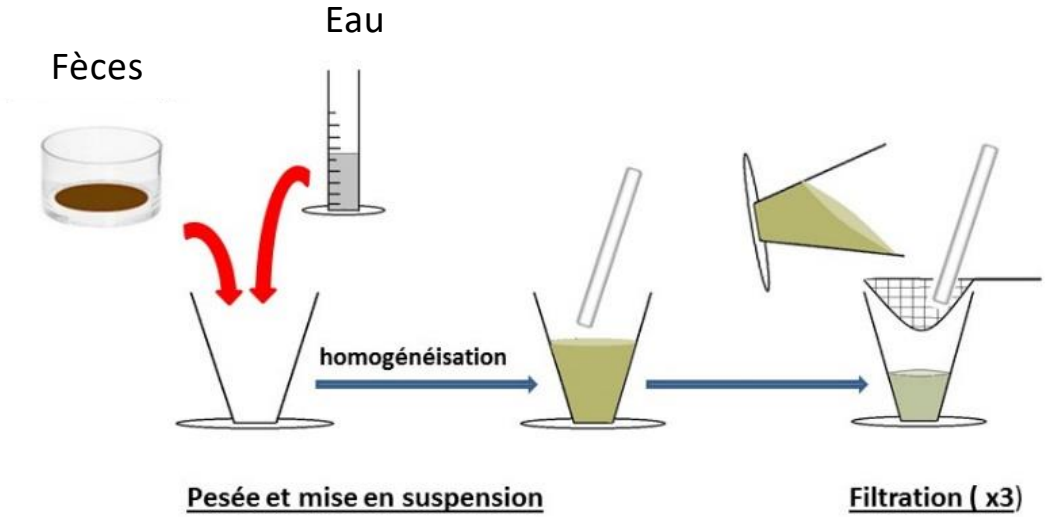
Examen microscopique

Test de Sédimentation

Déliter 1 volume de fèces dans 10 Volumes d'eau dans un ver à pied

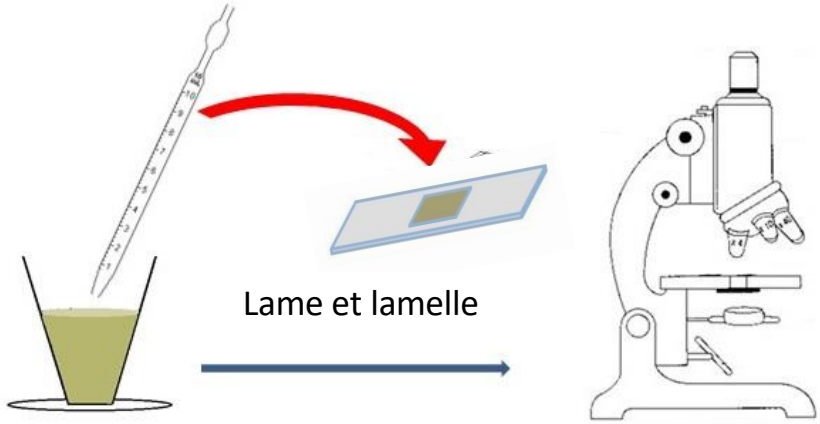
Tamiser le mélange dans une passoire À thé

Laisser sédimenter pdt 6 heurs
Ou centrifuger pdt 5min à 2000 t/min



Examen microscopique

Test de Sédimentation

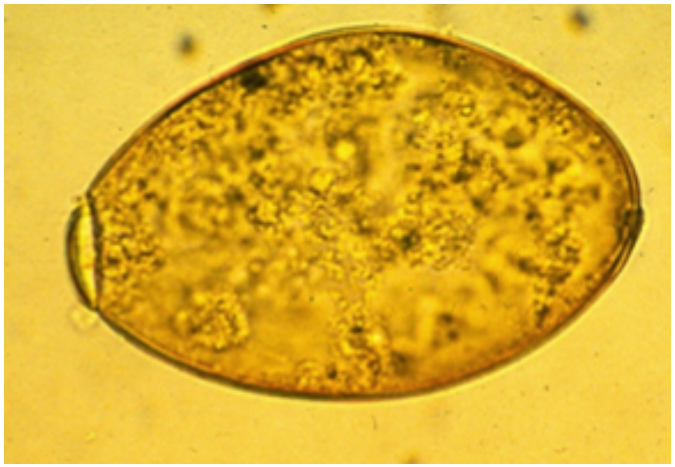


Prélèvement et observation au microscope

Adulte de *Fasciola hepatica*

Fasciola hepatica

adulte (3.5 x 1.5 cm)



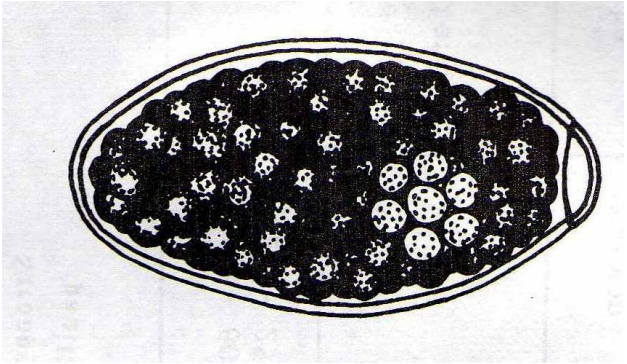
œuf (150 microns)

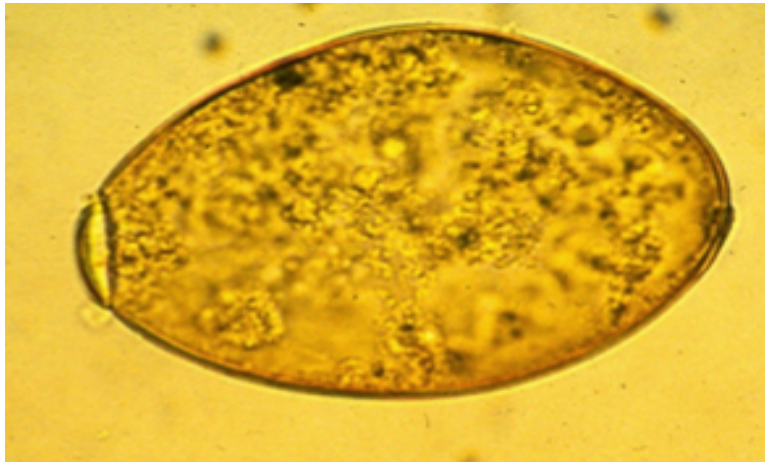
Fasciola hepatica

Oeuf de grande taille: 130-145µm/70-90

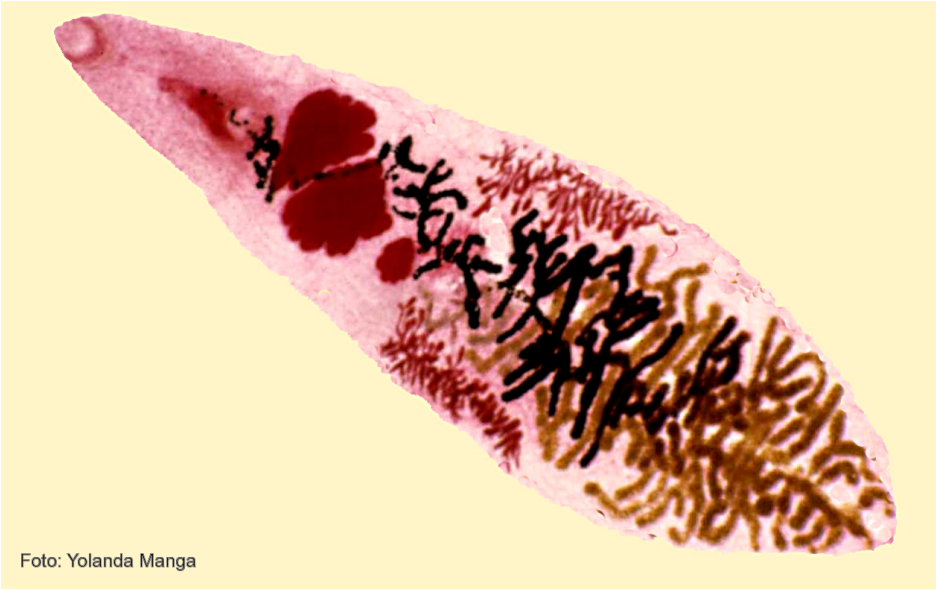
À paroi mince, operculé avec un contenu jaunâtre.

Contenant une masse cellulaire assez peu distincte, emplissant totalement l'oeuf





Dicrocoelium lanceolatum



Adulte

Œuf
(40 x 20 µm)

Dicrocoelium sp

Taille : 38 – 45µm/22 – 30µm

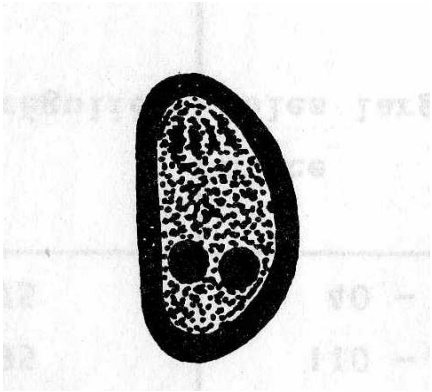
Ovoïde, brunâtre,

Operculé à un pôle

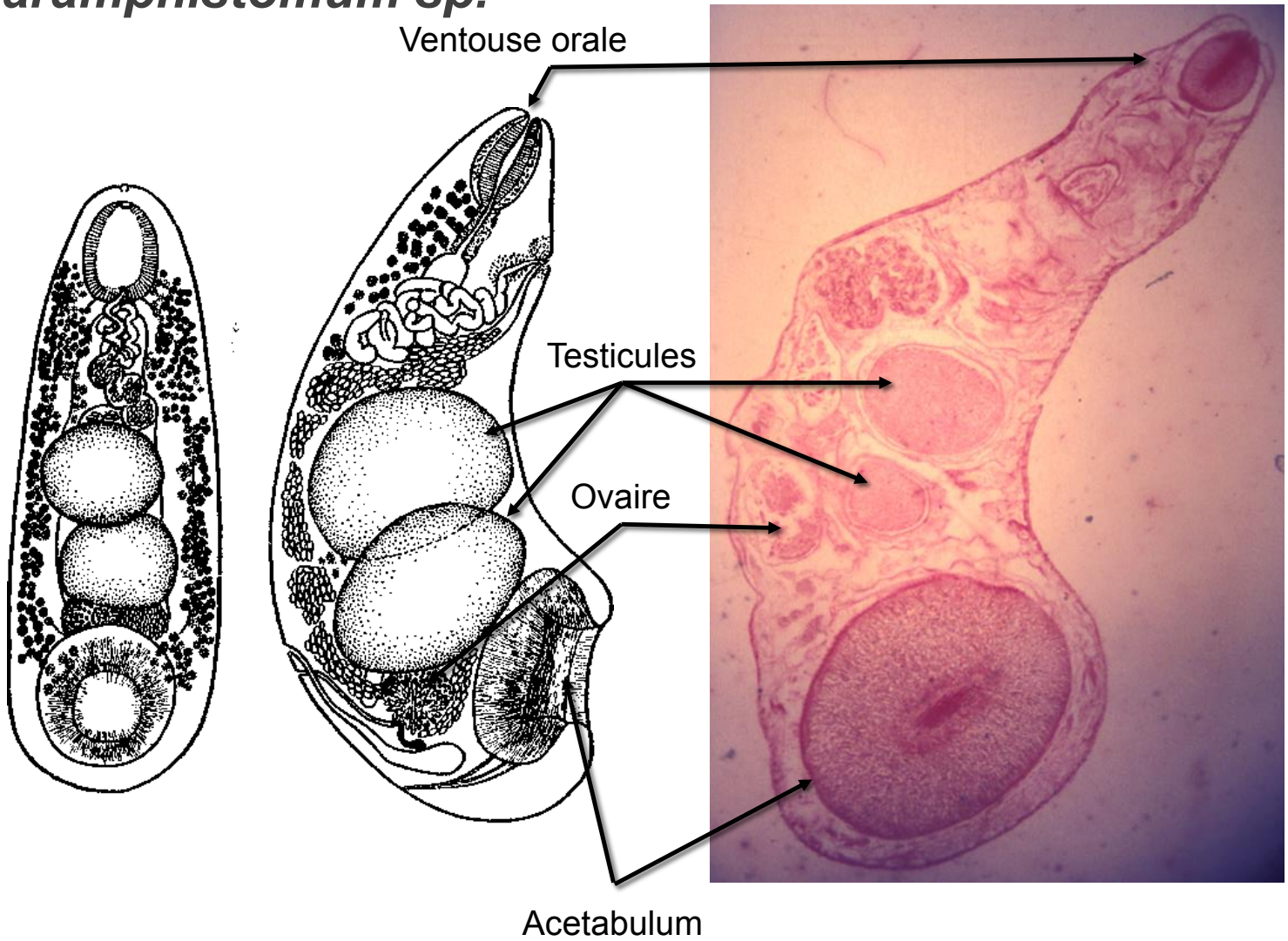
Souvent asymetrique, à paroi épaisse et brune

Miracidium peu visible avec 2 taches sombres.

“the coffee grain egg”



Paramphistomum sp.



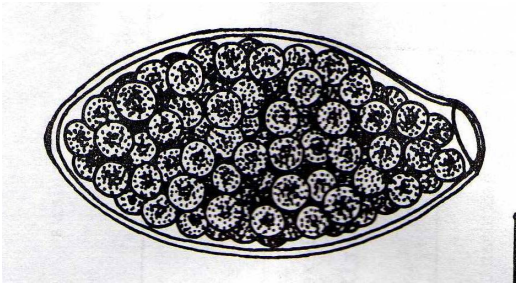
Veto Focus

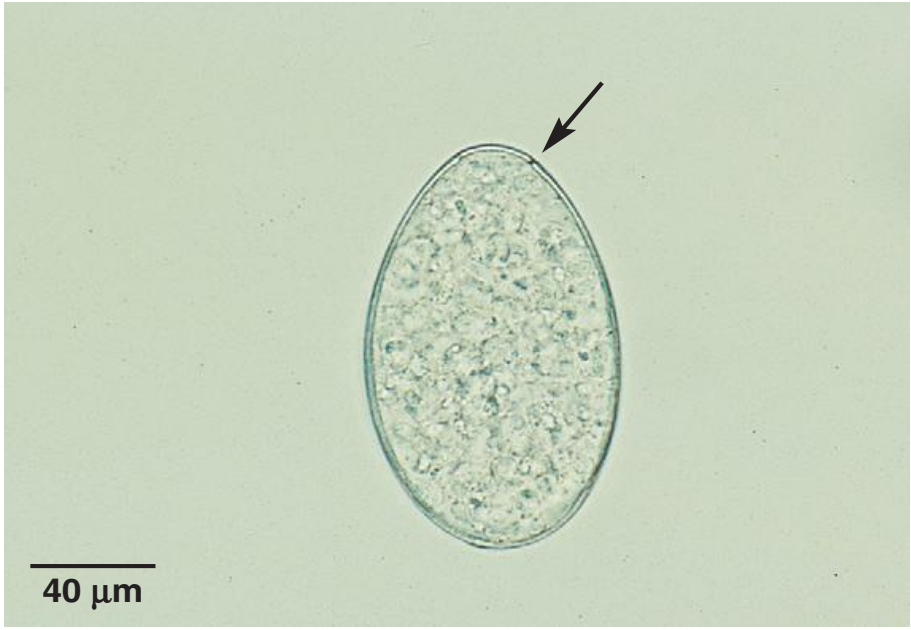
Paramphistomum sp

Oeuf de grande taille: 160µm/90µm

Ovoïde, à coque mince, opercule à un pole.

Contenat un syncitium vert pâle, non homogène et présentant des “mottes”, ocupant tout l’oeuf.



Fasciola hepatica

Pramphistomum sp