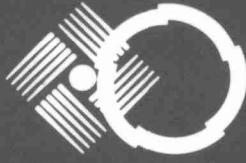


UNIVERSITÉS FRANCOPHONES

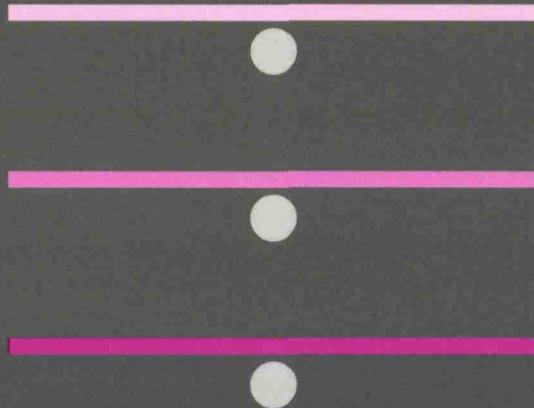


# COPRO-PARASITOLOGIE PRATIQUE

Intérêt et méthodologie  
Notions sur les parasites du tube digestif

JEAN-JACQUES ROUSSET

ASSOCIATION AFRICAINE DE MICROBIOLOGIE ET D'HYGIENE ALIMENTAIRE



ESTEM / AUPELF



# COPRO-PARASITOLOGIE PRATIQUE

Intérêt et méthodologie  
Notions sur les parasites du tube digestif

**JEAN-JACQUES ROUSSET**

**ASSOCIATION AFRICAINE DE MICROBIOLOGIE ET D'HYGIENE ALIMENTAIRE**  
*(Professeur Jemmali-Mongi, Président-Fondateur)*



Editions ESTEM

Cet ouvrage n'aurait pas pu être rédigé sans  
l'enseignement du Professeur HO-THI-SANG  
qui a créé une véritable école française de coprologie pratique  
et dont les travaux ont inspiré de nombreux élèves.

ISBN 2-909455-15-7

© 1993 Editions ESTEM

53 rue de Ponthieu, 75008 Paris

Tél. : 33 (1) 42 56 47 10 - Fax : 33 (1) 42 56 81 33

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur, ou de ses ayants-droit ou ayants-cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivant du Code Pénal.

Achévé d'imprimer en mai 1993

sur les presses de l'imprimerie Laballery — 58500 Clamecy

Dépôt légal : mai 1993

Numéro d'impression : 303086

## **Les collections *Universités francophones* de l'UREF : un instrument nouveau pour consolider l'espace scientifique francophone**

Le présent ouvrage s'inscrit dans la collection *Universités Francophones* de l'UREF, que nous avons créée afin de répondre à des besoins qui s'expriment avec de plus en plus de force et d'évidence dans le monde francophone.

Il s'agit, dans certains cas, de combler des lacunes concernant des domaines de la connaissance intéressant l'ensemble de la communauté scientifique et universitaire. Dans d'autres cas, les ouvrages traitent de thèmes liés au développement : médecine tropicale, agronomie tropicale, sciences vétérinaires, génies appliqués au développement... – thèmes qui font l'objet, par ailleurs, de recherches dans le cadre multilatéral francophone.

Cette collection correspond également à l'objectif que s'est fixé notre Université d'associer étroitement chercheurs et enseignants d'expression française d'Europe et d'Amérique du Nord à ceux de l'Afrique, du Maghreb, de l'Océan Indien, d'Haïti, du Liban, d'Asie du Sud-Est et d'une façon générale, tous les chercheurs qui utilisent le français comme moyen de communication scientifique, pour la rédaction d'ouvrages scientifiques ou didactiques et de revues de recherche.

Enfin, les ouvrages de cette collection sont vendus dans les pays en développement à un prix réduit de moitié afin de les rendre encore plus accessibles au large public d'étudiants que nous voulons atteindre.

Cette politique d'édition et de large diffusion internationale s'inscrit, plus largement, dans le cadre des programmes mis en place par l'UREF pour renforcer l'usage du français comme une des grandes langues des sciences et des techniques de demain.

Professeur Michel Guillou

Recteur de l'UREF

Université des réseaux d'expression française

### **Ouvrages de médecine déjà parus dans les collections *Universités Francophones***

- Biologie des Cancers (*Coordination : J.M. Andrieu*)
- Cancer bronchique à petites cellules (*Coordination : J.M. Tourani*) / Sciences en marche
- Copro-parasitologie pratique (*J.J. Rousset*)
- Gastro-entérologie (*Coordination : M. Mignon*)
- Hépatites virales (*C. Bréchet, S. Pol*) / Sciences en marche
- Hépatologie (*Coordination : M. Bourel*)
- L'essentiel médical de poche (*F. Aubert, P. Guittard*)
- Maladie de Hodgkin (*J.M. Andrieu, P. Colonna*) / Sciences en marche
- Maladies tropicales transmissibles (*Coordination : M. Gentilini, P. Viens*)
- Manuel des techniques virologiques (*P. Payment, M. Trudel*)
- Néphrologie (*Coordination : G. Richet*)
- Paludisme (*Coordination : M. Danis, J. Mouchet*)
- Pédiatrie (*Coordination : Y. Aujard, A. Bourrillon, J. Gaudelus*)
- Pneumologie (*B. Lebeau*)
- Sida, infection à V.I.H., aspects en zone tropicale (*Coordination : M. Rosenheim, A. Itoua-Ngaporo*)
- Sociétés développement et santé (*Coordination : D. Fassin, Y. Jaffré*)
- Traumatismes du crâne et du rachis (*Société de neurochirurgie de langue française*)



# TABLE DES MATIÈRES

## CHAPITRE PREMIER : CADRE HUMAIN

Physiologie de la digestion	1
Le consultant en parasito-coprologie	1
Quand et comment prescrire ?	1
Interrogatoire du consultant	3
Examens associés	4
Le recueil des selles	6
Examen parasitologique normal	6
Examens itératifs et examen fonctionnel de la digestion	7
Régimes, médications et examens de selles	7

## CHAPITRE DEUXIÈME : CADRE TECHNIQUE

Le matériel	9
La microscopie	9
La verrerie	10
Le gros matériel	11
Déroulement des examens directs en techniques courantes	11
Examens microscopiques directs après colorations spéciales	12
Les concentrations	18
Les concentrations par les méthodes physiques de sédimentation	19
Les concentrations par les méthodes physiques de flottation	20
Les méthodes physico-chimiques (méthodes diphasiques)	22
Les méthodes combinées	26
Numération des oeufs	28
Extraction de parasites	29
Cultures des selles	30
Biopsie	33
Techniques spécifiques	33
Conservation, transmission des selles et parasites	35

## CHAPITRE TROISIÈME : CADRE PARASITOLOGIQUE

Les parasites	39
Retentissement organique	41
Les protozoaires du tube digestif	43
Rôle pathogène des protozoaires digestifs	45
Morphologie et épidémiologie des amibes du genre <i>Entamoeba</i>	47
Morphologie et épidémiologie des autres amibes	52
Morphologie des flagellés et <i>Incertae sedis</i>	56
Sporozoaires et ciliés	61
Les vers parasites à œufs fécaux	64
Les cycles parasitaires	64
Epidémiologie des helminthoses	66
Méthode d'étude	66
Diagnostic morphologique dans les cestodoses	69
Diagnostic morphologique dans les trématodoses	73
Diagnostic morphologique dans les nématodoses	76

## CHAPITRE QUATRIÈME : INTERPRÉTATION ET COMPTE-RENDU

Aspect fonctionnel	85
Aspect parasitologique	87
Rédaction du compte-rendu et conclusions	88
<i>Bibliographie</i>	
<i>Iconographie</i>	

# COPROLOGIE PRATIQUE EN LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

## Introduction

Depuis la mère attentive à la digestion de son nourrisson jusqu'au malade obsédé qui cherche dans ses excréments quelque cause à ses inquiétudes, depuis les anciens qui examinaient les excréta, les humaient parfois, jusqu'au coprologiste moderne qui les analyse, depuis les gens de bon sens de la tradition populaire jusqu'aux scientifiques modernes, en tout temps, en tout lieu, de toutes manières, on a pratiqué et on pratique la coprologie c'est-à-dire l'étude des résidus des aliments après passage dans le tube digestif.

"Dis-moi ce que tu manges, je te dirai ce que tu es"... et ce dont tu souffres aurait dû ajouter Brillat-Savarin.

La coprologie est donc d'abord l'étude de la façon dont sont digérés les aliments c'est-à-dire l'étude des fonctions de mastication, de motricité, de sécrétion, de digestion et d'absorption du tube digestif.

Ces fonctions peuvent être modifiées pour des raisons mécaniques, tumorales, dégénératives ou autres, en particulier infectieuses c'est-à-dire virales, bactériennes ou parasitaires; les parasites responsables sont des protozoaires, des vers, des mycètes voire des arthropodes.

Toute la stomatologie et toute la gastro-entérologie pourraient être traitées ici. Toutes les techniques de biochimie, d'immunologie ou de microbiologie y auraient également leur place. Nous laissons aux spécialistes de ces disciplines le soin d'exposer leurs possibilités diagnostiques pour nous limiter à ce que nous étudions dans un laboratoire de parasito-mycologie.

L'évolution actuelle des thérapeutiques et des maladies fait apparaître des troubles et des infections parasitaires jadis ignorées, si bien que la coprologie considérée comme une discipline en voie de régression - les examens endoscopiques limitant la coprologie fonctionnelle et les progrès de l'hygiène réduisant les parasitoses aux maladies d'importation - est redevenue une discipline d'avenir. Tout syndrome abdominal, quel qu'il soit, incite aujourd'hui à prescrire un examen parasitologique des selles parallèlement aux examens radiologiques ou autres, souvent plus traumatisants pour le malade mais également plus coûteux pour la communauté.

# CHAPITRE PREMIER

## CADRE HUMAIN

### Rappel de la physiologie de la digestion

Pour bien interpréter un examen macro ou microscopique des selles, il faut comprendre les mécanismes complexes de la digestion qui permettent l'équilibre du milieu intestinal.

Il est aussi nécessaire de bien intégrer la notion que l'intérieur du tube digestif est en continuité avec le milieu extérieur et que, par conséquent, la muqueuse digestive est en continuité avec la peau et sert, comme la peau, de lieu d'échanges entre l'organisme et le monde qui nous entoure.

Ainsi donc les aliments vont suivre un cheminement tel que, de ce qui passera l'arcade dentaire, une partie sera transformée voire absorbée et une partie sera éliminée sans altération. De plus s'y adjoindront les sécrétions des glandes de la muqueuse digestive et les germes ou parasites vivant sur ou dans cette muqueuse, ainsi que les produits de leurs propres métabolismes et les cellules desquamées de l'épithélium digestif qui, rappelons-le, se renouvelle constamment.

Le tableau I permet d'avoir une vue synthétique de ces phénomènes de digestion. De l'étude de ce tableau, il apparaît que l'on pourra éventuellement comprendre les insuffisances fonctionnelles ou sécrétoires en fonction de ce que l'on trouvera dans les selles mais que parfois des systèmes de compensation viendront cacher ces insuffisances.

Toute altération à un niveau supérieur peut être compensée mais provoquera également des troubles surtout coliques par déséquilibre de pH donc de la flore.

Ainsi donc un parasito-coprologiste devra exercer son métier en ayant suffisamment de notions médico-physiologiques pour réorienter éventuellement le malade qui lui aura été confié vers d'autres explorations cliniques, radiologiques ou biologiques (chimie et bactériologie en particulier). Ceci ne sera possible que s'il l'a exploré, dans sa discipline, dans d'excellentes conditions techniques.

### Le consultant en parasito-coprologie

#### *Quand et comment prescrire ?*

##### Les indications

###### – Indications majeures

Toute dysenterie ou toute diarrhée, sanglante ou non, même pour un européen n'ayant jamais voyagé doit inciter à pratiquer un examen parasitologique des selles. Toute colopathie ou toute douleur abdominale doit imposer la même prescription surtout si l'on a la notion d'un séjour en pays à hygiène incertaine ou la connaissance d'une hyperéosinophilie sanguine.

###### – Indications recommandées

Des syndromes plus discrets voire des entérites ou colopathies dont le diagnostic est déjà posé peuvent bénéficier d'une recherche de parasites digestifs. Des flagellés digestifs peuvent, en effet, aggraver une rectocolite hémorragique vraie.

Tableau I

<b>Bouche</b>	mastication salivation	broyage sécrétion de ptyaline transformation de l'amidon en maltose
<b>Œsophage</b>	transit	
<b>Estomac</b>	contractions brassage sécrétions fundiques et pyloriques - ac. chlorhydrique pH <sub>2</sub> pepsine pH <sub>4</sub> cathepsine pH <sub>5</sub> labferment pH <sub>6</sub> parachymosine - lysozyme - mucus protecteur	broyage et homogénéisation - protéines hydrolysées - disparition tissu conjonctif - gluten solubilisé - lait coagulé - oxalates solubilisés
<b>Grêle</b>	contractions  sécrétions des glandes annexes - bile sels biliaires →  mucine pigments biliaires lécithine cholestérol eau - suc pancréatique trypsine chymotrypsine procarboxypolypeptidase amylase	homogénéisation par brassage progression du bol alimentaire (assez rapide au début puis de plus en plus lente)  émulsion des graisses rôle ds absorption des vit. A, D, E, K.  protéines transformées en polypeptides  amidon transformé en dextrine
maltose	- lipase  glandes intestinales (glandes de Lieberkühn ++) amylase, maltase, lactase invertase amylopolypeptidases (éprepsine) lipase polynucléotidase cellules intestinales lysées protéases nucléases phosphatases absorption - des glucides - des protéines sous forme d'acides aminés - des graisses sous forme d'acides gras ou de mono ou de diglycérides - de l'eau et des sels	graisses transformées en glycérol et acide gras  maltose transformé en glucose
<b>Cæcum et côlon ascendant</b>	flore iodophile amidon, cellulose hydrates de carbone fermentés et productifs de : gaz, alcool, acides gras (libres ou à courte chaîne, sels)	
<b>Côlon transverse</b>		
<b>Côlon descendant et rectosigmoïde</b>	flore de putréfaction restes de peptone sécrétions coliques réabsorption de l'eau	production d'amines aromatiques ammoniaque

Tableau II

absence de dents repas absorbé trop vite	fragments macroscopiquement visibles
transit accéléré par diarrhées motrices, gastrectomie ou hyposécrétion gastrique	débris alimentaires, viande mal digérée et mal dissociée excès de fermentation et de putréfaction
insuffisance biliaire majeure	couleur blanc grisâtre des selles cristaux d'acides gras
insuffisance pancréatique	abondance de graisses neutres fibres musculaires intactes amidon abondant
Insuffisance du grêle	stéatorrhée parfois créatorrhée
insuffisance colique droite	abondance de la cellulose
absence de côlon gauche et de rectosigmoïde	cellulose digestible abondante flore iodophile abondante selle acide riche en eau

### Comment prescrire ?

Le clinicien confie son malade au confrère biologiste dans un but précis : rechercher une cause parasitologique à un syndrome digestif; il devra donc prescrire : "examen parasitologique des selles".

Il a alors deux possibilités :

- ou laisser le consultant biologiste interroger son malade pour savoir ce qu'il doit surtout évoquer comme parasitose - on trouve mieux ce que l'on sait devoir chercher - et quels sont les autres résultats des analyses effectuées ailleurs,

- ou par une lettre d'accompagnement donner les résultats des autres examens cliniques, radiologiques ou biologiques déjà effectués.

D'une part selon le malade, c'est-à-dire le niveau de compréhension médicale de celui-ci et l'importance de la symptomatologie, et d'autre part selon le temps dont dispose le praticien, l'une ou l'autre possibilité sera choisie. Lettre d'accompagnement et consultation du dossier sont les conditions idéales de travail.

La proximité des différents laboratoires voire l'unité administrative fonctionnelle de ceux-ci peuvent inciter le médecin traitant à une prescription plus large du type "exploration coprologique : chimique, bactériologique, virologique et parasitologique" en sachant toutefois qu'une telle prescription entraîne des dépenses importantes.

On prendra garde d'éviter le terme de coproculture qui, mis à part le barbarisme (copro : mot grec, culture : mot latin), ne sous-entend que la recherche de germes qui se multiplient en milieux de culture ordinaires.

### Interrogatoire du consultant

#### Interrogatoire fonctionnel

- Recherche de douleurs abdominales

S'il existe des douleurs abdominales, il faudra préciser leur siège, leur type (douleurs en coup de poignard provoquées par les ascaris), leur horaire (douleurs avant ou après la défécation), leur fréquence, leur productivité (épreintes improductives de l'amibiase aiguë).

### – Les selles habituelles

L'aspect habituel des selles est important pour avoir un élément de comparaison avec les selles que l'on examinera. On interrogera le malade sur leur fréquence, sur des modifications éventuelles survenues dans leur rythme et leur apparence.

Il faut se méfier du terme "normal" qui selon les individus peut être essentiellement variable. Pour certains, par exemple, les selles normales sont des selles en "bouse de vache". De même le mot diarrhée est un terme scientifique abusivement employé dans le grand public d'où la notion de "fausses diarrhées" (selles de constipé dans du liquide).

## Interrogatoire sur les habitudes

### – Habitudes alimentaires

Pour des raisons d'âge, d'éducation, d'origine géographique, de convictions religieuses ou philosophiques voire même pour de simples économies budgétaires, les habitudes alimentaires sont très différentes d'un individu à l'autre.

Un musulman ou un israélite ne mangent pas de porc, un hindou ne consomme pas de viande, le parisien aime le bifteck saignant et le cochon bien cuit tandis que l'anglais préfère la viande bouillie ; le banlieusard fait ses délices des salades de son jardin même souillées de suie et de crottes de chat ou de chien... mais il y a des exceptions. Les modes modernes incitent certains à se gaver de poissons crus et de salades sauvages...

### – Habitudes de voyage

"Unde venis" titrait un article scientifique anglais. D'où viens-tu ? est en effet la question qui semble facile à poser mais il faut savoir la poser et traduire la réponse. Nombreux sont les consultants qui mentent ou se trompent dans leur réponse :

- volontairement : on ne veut pas "avouer" avoir été militaire en Indochine ou au Katanga ;
- involontairement :
  - . par omission : on a oublié un court séjour ancien dans un pays étranger.
  - . par incompréhension : pour certains, séjourner dans un pays, "avoir été" dans un pays c'est y avoir travaillé donc on n'a pas "séjourné" hors de France, même si toutes les vacances se passent à l'étranger.
  - . par "traduction" : déformation de la question : pas de séjour hors de France mais si l'on insiste on découvre que les vacances se sont passées en Norvège ou en Roumanie - c'est comme la France - sans savoir qu'on peut y contracter la bothriocéphalose.
  - . en toute bonne foi : les pieds-noirs ont toujours vécu en France... mais pas métropolitaine.

### – Dates de ces voyages

Étant donné le temps nécessaire à la maturation des helminthes et de leur durée de vie moyenne, le délai entre le voyage éventuel et la date de l'examen est d'une très grande importance mais il faut savoir compter en semaines ou en années selon la mémoire des sujets.

## Examens associés

### Hémogramme

Parmi les divers examens paracliniques, l'hémogramme est le plus important ; il permet de déceler une anémie et/ou une hyperéosinophilie donc d'évoquer certaines parasitoses.

- Une anémie
  - . soit normochrome ;
  - . soit hypochrome (ankylostomoses par exemple) ;
  - . soit macrocytaire (bothriocéphalose).

#### – Une hyperéosinophilie

L'hyperéosinophilie sanguine peut être le témoin d'une affection non parasitaire, d'une intoxication, d'une irritation médullaire, d'une allergie voire d'un syndrome malin mais elle correspond le plus souvent à une infestation<sup>1</sup> par un métazoaire. L'hyperéosinophilie n'est pas constante dans le temps d'où l'intérêt de renouveler les hémogrammes.

#### – Intérêt des examens itératifs

Surveiller l'évolution d'une anémie est utile pour le médecin hématologiste traitant; surveiller l'éosinophilie est indispensable pour le parasitologue.

L'éosinophilie sanguine évolue en effet dans le temps après pénétration d'un métazoaire dans l'organisme selon la courbe de LAVIER (cf. infra). Elle est plus ou moins intense et durable selon l'hôte, le nombre de parasites et l'espèce en cause.

### Vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation est le reflet d'un syndrome inflammatoire. Elle est particulièrement utile en cas d'abcès amibiens ou de destructions tissulaires d'origine parasitaire.

### Bilans biochimiques divers

La destruction du tissu hépatique, par exemple par des migrations de larves de parasites, peut se traduire biologiquement par des élévations de certaines diastases.

### Examens radiologiques et apparentés

La vision de vers dans le duodénum par examen radiologique (transit œso-gastro-duodéal) est classique.

L'échographie, la scintigraphie apportent également des informations précieuses pour les atteintes hépatiques.

Pour le côlon, la radiographie et la coloscopie peuvent objectiver des lésions amibiennes (amœbome) ou permettre de repérer certains vers (trichocéphale).

### Tubage duodéal et biopsies

Une aspiration du suc duodéal voire une biopsie sont parfois les raisons déterminantes de l'examen parasitologique des selles alors que, peut-être, celui-ci aurait dû précéder les investigations pénibles pour le malade et coûteuses pour tous.

---

<sup>1</sup>Nous employons volontairement infestation pour les parasitoses et infection pour les bactério-viroses

## Le recueil des selles

Si, dans la plupart des statistiques publiées, certains parasites semblent ignorés ce n'est pas par ignorance technique mais parce que les examens sont pratiqués dans de mauvaises conditions.

### ***Pour un examen parasitologique normal***

Dans le cas d'un sujet dont le transit est assez facilement commandé ou dont le transit est accéléré il sera facile de demander au consultant de venir déféquer dans les toilettes du laboratoire.

### **Accueil du consultant**

L'accueil du malade et son interrogatoire devront être effectués discrètement. Il est nécessaire de tenir compte de la pudeur qui entoure la fonction de défécation quelle que soit la banalité que le coprologiste mette dans cet examen.

### **Les toilettes**

Les toilettes devront être vérifiées après chaque utilisation. L'idéal serait qu'elles fussent stérilisées; elles devront comprendre :

- un lavabo ;
- une tablette correspondant à un guichet s'ouvrant dans le laboratoire de coprologie et où le consultant pourra poser sa boîte pleine sans devoir sortir des toilettes avec son flacon à la main.

### ***Remarque***

La diversité des modes de défécation en fonction des pays implique la possibilité de choix entre siège à la turque et siège à l'occidentale.

### **La boîte**

Pour pouvoir observer la totalité de la selle, une boîte en matériau transparent est recommandée. Elle devra se fermer facilement après usage.

Sa contenance minimale doit être de 500 ml et son ouverture suffisante (10 à 15 cm de diamètre au minimum).

Un récipient trop grand laisserait la possibilité de souillure par les urines, en particulier pour les femmes, même en ayant recommandé à celles-ci d'uriner avant la défécation.

### **En cas de constipation**

Si, réellement, le consultant ne défèque qu'irrégulièrement et des selles dures, on lui demande d'apporter ses selles émises quand cela lui sera possible et conservées au froid jusqu'à l'heure du transport au laboratoire (cf. B). Le jour suivant on lui prescrira un laxatif salin pour obtenir des selles d'origine cœcale permettant de rechercher les protozoaires coliques voire les anguillules. Les suppositoires, laxatifs huileux ou autres sont vivement déconseillés car ils gênent énormément l'examen microscopique et n'accélèrent pas le transit mais le plus souvent facilitent seulement le passage sigmoïdo-rectal.

Le laxatif salin le plus utilisé est le sulfate de magnésie mais il devra être prescrit avec prudence car, chez les colopathes, il peut avoir des effets trop drastiques. On recommande par exemple une cuillerée à café la veille de l'examen, dissoute dans

un verre d'eau sucrée, éventuellement une autre cuillerée le matin avant le petit déjeuner, quitte à en donner une troisième, après l'arrivée au laboratoire s'il n'y a eu aucun effet.

### **Erreurs commises**

Sous prétexte que les amibes meurent au froid ou pour les faire enkyster, nombreux sont les techniciens qui laissent les selles à l'étuve à 37°. Par ce procédé les amibes bougent beaucoup, épuisent leurs réserves et meurent par dessiccation mais ne s'enkystent pas; les germes et les mycètes se multiplient intensément, ce qui fausse l'examen direct.

### ***Pour les examens itératifs et l'examen fonctionnel de la digestion***

#### **Examens itératifs : intérêt, difficultés**

Il est incontestable qu'un seul examen parasitologique est insuffisant et qu'il est préférable d'effectuer deux ou trois - voire plus - examens dans de bonnes conditions techniques. L'élimination des formes végétatives, kystes ou œufs est irrégulière en fonction de l'état physiologique du sujet et de son alimentation dans les jours qui ont précédé.

Pour des raisons pratiques et en particulier pour les consultants venant d'assez loin, on est parfois amené à accepter des selles de la veille et de l'avant-veille conservées au frais (surtout si ces selles sont moulées donc contenant surtout des kystes et des œufs) et de ne travailler extemporanément que sur les selles du jour.

#### **Examen fonctionnel**

Pour connaître le volume des selles émises en 24 heures, on demandera au consultant de recueillir toutes les selles émises pendant ce laps de temps et de les apporter. C'est sur ces selles émises spontanément que l'on étudiera la fonction digestive.

#### **Diarrhées inopinées**

Certains malades arrivent avec un récipient de fortune contenant une selle diarrhéique émise le matin et suivie d'une impossibilité de défécation. Il sera alors nécessaire de faire préciser exactement les modalités du recueil et du transport ainsi que l'heure exacte de l'émission.

### ***Régimes, médications et examens de selles***

Même s'il est impossible de conseiller le régime idéal pour le malade devant consulter un coprologiste, il est toutefois recommandé d'obéir aux règles suivantes.

#### **Aliments à déconseiller dans les jours qui précèdent l'examen**

- parce qu'ils augmentent le volume fécal : salade cuite, épinards ;
- parce qu'ils contiennent des grains ou des cellules celluloseuses épaisses gênant le montage des préparations microscopiques et les concentrations : poires, fraises et autres fruits donnant une impression de grains sur la langue ;
- les pois et haricots en abondance.

**Médicaments à interrompre si cela est thérapeutiquement possible**

- tous les antiseptiques intestinaux qui, même s'ils ne sont pas totalement amœbicides sont souvent amœbostatiques et induisent des résultats faussement négatifs ;
- les antibiotiques et les sulfamides qui, en agissant sur la flore intestinale, nuisent aux protozoaires et dont certains réduisent peut-être la fréquence de ponte des vers (aucune étude effectuée sur le sujet) ;
- les laxatifs ou adsorbants intestinaux divers (charbon, mucilages). On fera cesser l'absorption des huiles de régime qui sont en réalité de l'huile de paraffine.

**Autres conditions médicales**

Un transit œso-gastro-duodéнал, un lavement baryté doivent suivre et non précéder l'examen parasitologique des selles. Il faut plusieurs jours voire deux semaines pour se débarrasser totalement de la baryte absorbée or celle-ci rend impossible toute technique microscopique sérieuse.

# CHAPITRE DEUXIÈME

## CADRE TECHNIQUE

### Le matériel de laboratoire

Le matériel nécessaire au recueil des selles a été défini précédemment, aussi nous contenterons-nous d'envisager le matériel nécessité par la technique proprement dite.

### *La microscopie*

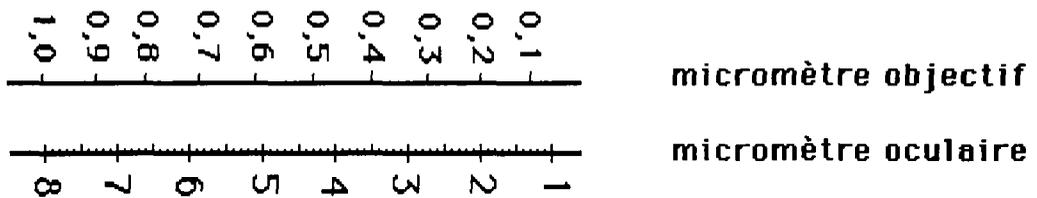
#### Oculaires du microscope

Dans l'un des oculaires sera disposé un micromètre oculaire dont les graduations seront étalonnées pour chaque grossissement d'objectif en utilisant un micromètre objectif.

Rappelons le principe : un micromètre objectif est une lame sur laquelle est collé un disque gravé finement d'un trait gradué indiquant les dixièmes de millimètre. L'étalonnage consiste à superposer les graduations visibles dans l'oculaire aux graduations du micromètre objectif.

Un calcul simple permet de déterminer quelle longueur représente une graduation du micromètre oculaire.

Exemple :



On voit que de 2 à 5,1 il y a 31 divisions du micromètre oculaire correspondant à 0,4 mm donc 1 division correspond à 12,9  $\mu\text{m}$  et si on mesure un œuf de 12 divisions cela signifie qu'il mesure  $12,9 \times 12 = 154,8 \mu\text{m}$ .

#### Objectifs

Étant donné que le coprologiste recherche et étudie aussi bien des protozoaires de quelques microns que des vers visibles à l'oeil nu, il est souhaitable d'avoir un gamme d'objectifs allant de x2,5 jusqu'à x100. En général on travaille à x 2,5 et x 40. Pour un revolver à cinq ouvertures on aura donc x 2,5, x 10, x 25, x 40, x 100.

## **Platine**

Pour explorer soigneusement la totalité d'une lamelle il est souhaitable d'avoir une platine munie d'un chariot; pour bien apprécier la mobilité des protozoaires, une platine chauffante réglée à 37°C ou 37°5C est vivement recommandée.

## **Dispositif de l'éclairage**

Un éclairage normal est le plus souvent suffisant. Le contraste de phase permet de bien voir les flagelles des flagellés, les noyaux des protozoaires et le contenu de certains œufs ; il donne une vision des protozoaires souvent plus originale donc plus agréable.

L'éclairage ultraviolet sera réservé à la recherche de crochets ou d'œufs spontanément fluorescents sous U.V.

## **Loupe binoculaire**

Une loupe binoculaire munie du dispositif de zoom est utile pour rechercher des parasites à la limite de la visibilité optique ou pour suivre des coprocultures helminthologiques.

## **La verrerie**

### **Lames - lamelles**

Les lames porte-objet devront être dégraissées. Les lamelles seront carrées (18 x 18 mm).

### **Baguettes de verre**

Deux types de baguette :

- les unes fines (diamètre 4 à 6 mm), lavables, pour effectuer les prélèvements dans les récipients; elles pourront être remplacées par des pipettes Pasteur boutonnées jetables ;
- les autres larges (diamètre 10 à 12 mm) avec une extrémité aplatie en spatule dans la flamme d'un bec Bunsen à l'aide d'une pince également chauffée; elles servent à écraser et mélanger les matière fécales dans les techniques de concentration.

### **Verres à pieds**

Ces verres à pied assez résistants pour être traités dans les machines à laver n'ont pas besoin d'être gradués; ils sont utilisés pour les concentrations. Ils doivent pouvoir contenir 125 ml de liquide.

Pour certaines techniques (Faust et Ingalls), on emploie des verres de 500 ml.

### **Ampoules à décanter forme poire**

Ces ampoules de 500 à 1 000 ml sont utiles pour les recherches d'œufs dans les urines et pour certaines concentrations.

### **Tubes à centrifuger à fond conique**

Nous préférons les tubes de 30 ml à ouverture de 25 mm aux tubes de 15 ml à ouverture de 15 mm mais ceci est affaire d'habitude. Ne pas utiliser les tubes plastiques jetables sans avoir testé leur résistance à l'éther.

## **Divers**

- Boîtes de Petri et bacs Borrel (colorations).
- Entonnoirs de verre d'un diamètre de 10 cm d'ouverture avec robinet de vidange.

- Tubes à essai.
- Tubes à hémolyse munis de bouchon pour conserver les selles colorées par la technique du MIF.
- Mortier de 1 litre.
- Flacons de grande taille pour pipettes et lames sales (eau de Javel).
- Nous rangeons dans la verrerie les portoirs correspondant à ce type de matériel.

### ***Le gros matériel et divers***

- une étuve à 37° pour les cultures mycologiques éventuelles ;
- une étuve à 25° pour certaines cultures ;
- un réfrigérateur pour conserver des selles non utilisées et pour les milieux de culture en attente ;
- une centrifugeuse robuste; comme on doit utiliser de l'éther, pour des raisons de sécurité, il est préférable d'employer une centrifugeuse réfrigérée; certains, étant donné que les vitesses demandées sont faibles, se contentent d'une simple centrifugeuse à main ;
- une machine à laver la verrerie, éventuellement ;
- des bacs à eau de Javel (verrerie sale en attente) ;
- armoire pour produits inflammables ;
- armoire ordinaire pour produits chimiques divers et flacons de solutions spéciales
- flacons à parois foncées ;
- passoires de forme "chinois" à mailles de 1 mm<sup>2</sup> et de 7 cm d'ouverture ;
- bec Bunsen et bec Mecker, anses métalliques.

## **Déroulement des examens directs en techniques courantes**

### ***Examen macroscopique***

Tout compte-rendu d'examen coprologique doit comporter une description des selles :

- leur couleur ;
- leur abondance ;
- leur aspect : selles en billes (en scybales), en fragments, moulées, moulées fermes ou moulées molles, pâteuses, semi-liquides ou franchement liquides.

Les selles sont homogènes ou hétérogènes ; par exemple : selles dures fragmentées dans un liquide fécaloïde ou avec du sang, du mucus, etc...

Sera aussi notée la présence d'éléments nutritionnels macroscopiquement visibles et non mastiqués. Curieusement il arrive que ce soit le coprologiste qui signale au clinicien la mauvaise denture de son patient.

Naturellement les parasites macroscopiquement visibles seront recueillis à l'aide d'une pipette Pasteur ou de pinces souples et disposés dans une boîte de Petri avec un peu de soluté physiologique de NaCl. Ils seront examinés secondairement à la loupe binoculaire et éventuellement subisolés et rincés.

On comprend l'avantage des boîtes transparentes pour repérer les parasites situés dans le fond des boîtes sous les matières fécales (ascaris, oxyures, anneaux de ténia par exemple).

Pour des selles non souillées d'urine la mesure du pH présente un intérêt dans l'étude de la physiologie de la digestion.

## **Examen microscopique standard**

### **Examen direct en solution salée isotonique**

L'examen direct est le temps majeur de l'examen coproparasitologique. On dit parfois que dix examens directs bien effectués sont souvent plus intéressants et plus fiables que deux concentrations hâtivement lues.

A l'aide d'une fine baguette on prélèvera des selles en superficie et en profondeur à différents endroits en privilégiant les zones où des anomalies sont patentées (mucus sanglant).

Ces petites particules de matière fécale seront diluées sur lame dans une goutte de soluté NaCl à 9 ‰, éventuellement tiédi.

La dilution doit être suffisante pour que, après écrasement sous une lamelle, il soit possible de reconnaître les caractères d'un journal à travers la préparation.

L'écrasement se fera avec le doigt protégé par un papier buvard et des doigts ou des gants protecteurs (absorption de l'excès de liquide et hygiène individuelle).

On lira toute la ou les préparations aux objectifs faibles et on regardera au moins une centaine de champs microscopiques à l'objectif x 40. L'objectif à immersion sera réservé pour des études fines d'un parasite déjà repéré.

### **En solution de Lugol double**

Les mêmes dilutions seront effectuées dans une goutte de solution de Lugol double (cf. formule infra) et examinées avec le même soin en sachant que, dans cette solution, les protozoaires s'immobilisent rapidement mais que la chromatine des noyaux colorée en sombre est bien nette.

Avec la solution de Lugol, la flore iodophile du colon apparaît en brun et l'amidon mal digéré en bleu ; l'amidon transformé en érythrodeuxine est coloré en rouge violet.

### **La dilution en eau distillée**

Elle peut être d'un certain secours lorsqu'une grande abondance de blastocystis ou de formes végétatives d'autres protozoaires rend difficile le repérage des kystes éventuels.

Ces derniers résistent bien à l'eau alors que les formes végétatives éclatent rapidement ; parfois avant de mourir elles se gonflent et leur noyau apparaît (*Dientamoeba fragilis*).

## **Examen microscopique direct après colorations spéciales**

Les différentes techniques seront décrites et le formulaire correspondant à chacune d'elles regroupé à la fin du chapitre.

Les colorations spéciales sont effectuées pour préciser la morphologie d'un protozoaire observé et par conséquent pour affiner le diagnostic d'espèce. Elles peuvent correspondre à une recherche spécifique d'un parasite, *Cryptosporidium*, responsable de diarrhées du nourrisson ou des sujets immunodéficients.

Enfin la technique de Kato est plus une décoloration qu'une coloration ; elle permet de mieux repérer certains œufs de parasite et éventuellement de pratiquer une numération de ces œufs.

### **Colorations en tubes**

– Au Merthiolate Iode Formol (technique de Sapero, Lawless et Strome)

Dans un tube à hémolyse on met 0,15 ml d'une solution de Lugol à 5 %. On y ajoute 2,35 ml d'une solution de merthiolate-éosine-formol en respectant bien l'ordre ci-dessus (ne pas ajouter la solution iodée à la solution de merthiolate ; ne préparer le mélange qu'au moment de l'emploi pour éviter les précipités).

Après mélange, la coloration des selles peut s'effectuer en ajoutant dans le tube un gros pois de matières fécales à l'aide d'une tige qui permet d'homogénéiser le tout.

Après vingt à trente minutes, les selles se sont déposées dans le fond du tube. La couche superficielle du sédiment est la plus riche en protozoaires. Les formes végétatives sont fixées immédiatement, pseudopodes encore visibles. La chromatine des noyaux est colorée en brun par l'iode.

Les kystes mûrs apparaissent en clair sur fond rose et semblent donc avoir des reflets verdâtres. Leurs noyaux fixés par le formol sont nets et parfois déjà colorés par l'iode. Ultérieurement l'éosine pénètre à l'intérieur des kystes.

Des selles ainsi fixées peuvent être conservées plusieurs mois voire plusieurs années en boîte obscure. Pour les réétudier, il est nécessaire de bien agiter le tube puis de le laisser de nouveau reposer pendant vingt minutes.

#### – Coloration au cristal violet de Bailenger

La coloration de Bailenger peut être réalisée en tube ou directement sur la lame en diluant une goutte de la suspension de selles avec le colorant.

Les parasites sont colorés très rapidement. Le cytoplasme des protozoaires devient rose tandis que la chromatine des noyaux apparaît en noir. Cette coloration est stable pendant plusieurs jours.

### Coloration sur lame

#### – Coloration à l'hématoxyline ferrique

Les protozoaires ont été décrits après coloration par cette technique de référence. Il est donc nécessaire de la connaître malgré la difficulté de son exécution.

##### – Effectuer un étalement humide :

- . sur une lame bien dégraissée, déposer une goutte de selles (ou de mucus) pures si elles sont liquides ou diluées dans du soluté isotonique éventuellement additionné d'un dixième de sérum (meilleure fixation) ;
- . avec le bord d'une lamelle réaliser l'étalement en faisant des zigzags et des changements de vitesse d'exécution pour obtenir des différences d'épaisseur.

##### – Fixer immédiatement sans laisser sécher :

- . soit par la solution ordinaire de Bouin, fraîchement préparée (durée de fixation : au moins 15 n) puis passer la lame dans deux bains d'alcool à 90° puis un bain d'alcool à 70° où la lame peut rester quelques jours. Il est possible de retirer l'excès (lames jaunes) d'acide picrique restant par du carbonate de lithium à 1% puis de rincer à l'eau
- . soit par le fixateur de Duboscq-Brasil recommandé pour les kystes; durée de la fixation : 15 minutes ;
- . soit par la solution de Schaudinn acétique qui semblerait la meilleure ; durée de la fixation : 1 heure.

Avant la coloration, plonger la lame 10 à 20 minutes dans un bain d'alcool à 70°, additionné d'iode (couleur ambrée) puis rincer dans des bains d'alcool à 70° avant de laver à l'eau.

- Mordancer : plonger la lame dans une solution aqueuse d'alun de fer à 3% : 30 minutes à l'étuve à 37°.
- Colorer à l'hématoxyline : plonger la lame dans les bains d'hématoxyline. A température de la pièce 24 h sont nécessaires pour bien colorer les amibes. Dans l'étuve à 37°, 30 à 60 minutes peuvent suffire. Les parasites sont alors bien noirs.
- Différencier avec la solution aqueuse d'alun de fer à 1% en surveillant au microscope cette différenciation jusqu'à ce que les noyaux apparaissent nettement.
- Arrêter la différenciation par d'abondants lavages à l'eau.

– Déshydrater par passage dans deux bacs d'alcool à 70°, deux bacs d'alcool à 90°, un bac d'alcool à 95°, deux bacs d'alcool absolu; par deux ou trois bacs de toluène (ou xylène) on rend la lame susceptible de recevoir une goutte de baume de Canada ou de baume synthétique et la lamelle est posée définitivement.

#### – Coloration à l'A.P.V.-Trichrome

L'irrégularité des résultats de cette technique, liée à la difficulté d'obtenir des produits chimiques de qualité, nous fait regretter de ne pouvoir la conseiller dans le cadre des examens systématiques. Les images obtenues sont en effet, quand la coloration est réussie, extraordinaires de pureté.

– Frottis :

- . diluer au quart sur une lame une petite goutte de selles dans la solution d'APV et mélanger avec un petit agitateur ;
- . étaler en couche mince sur environ le tiers de la lame; les colorations seront ultérieurement effectuées en tube Borrel ;

**Remarque :** la dilution peut être effectuée en tube à hémolyse et le frottis différé de plusieurs mois si nécessaire.

– Coloration :

- . mettre les frottis dans de l'alcool à 70° contenant assez d'iode pour donner une coloration ambrée à la solution : 3 à 10 min ;
- . alcool à 70° : 2 min ;
- . alcool à 50° : 2 min ;
- . rincer à l'eau du robinet
- . solution de Gomori : 30 min ;
- . alcool à 90° contenant 0,5 % d'acide acétique : 5 à 10 secondes ;
- . alcool à 95° : rincer pendant 30 secondes environ.

– Montage

- . alcool absolu : une minute ;
- . xylène : 5 minutes ;
- . montage en baume synthétique.

#### – Coloration au noir chlorazol de Kohn

Cette coloration permet de colorer les trophozoïtes en gris et de bien voir la structure des noyaux. Les kystes apparaissent en bleu pâle avec des noyaux bien nets. C'est une technique facile à réaliser.

- Effectuer un étalement humide mince si possible (cf. technique ci-dessus).
- Plonger la lame dans le fixateur colorant de Kohn et la laisser 8 à 10 heures.
- Laver à l'eau courante, déshydrater et monter au baume de Canada ou au baume synthétique comme ci-dessus.

#### – Colorations pour recherche de cryptosporidies

La technique actuellement reconnue comme la plus fiable pour trouver des oocystes de *Cryptosporidium* est la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.

Elle s'effectue sur frottis mince de selles ou sur le surnageant après centrifugation des selles selon la technique de Janecko-Urbanyi.

- Sécher le frottis à l'air.
- Fixer au méthanol pur pendant 5 minutes
- Sécher de nouveau.
- Colorer la lame dans un bain de fuchsine phéniquée :1 heure.
- Rincer à l'eau puis différencier dans de l'acide sulfurique à 2 % pendant 20 secondes en agitant la lame.
- Rincer à l'eau puis colorer dans une solution de vert malachite à 5 % pendant 5 minutes ou dans une solution de bleu de méthylène à 3 %.
- Rincer à l'eau et sécher à l'air.

Les cryptosporidies apparaissent en rouge sur fond vert ou bleu et sont donc faciles à repérer à l'objectif x 40 et à diagnostiquer à l'immersion (objectif x 100). D'autres techniques proposées ont une valeur certaine (colorations à l'auramine, par anticorps monoclonal fluorescent,...) mais elles nécessitent l'emploi d'un microscope à fluorescence, sont souvent chères et ne sont pas d'un emploi facile pour tout laboratoire et à toute heure.

La coloration par les solutions de May-Grünwald et de Giemsa ne nous semble pas de lecture aisée.

#### – Coloration pour recherche de microsporidies

Les spores d'*Enterocytozoon bienewisi*, visibles après une coloration générale aux solutions de May-Grünwald et Giemsa, sont plus facilement mises en évidence par la technique de coloration au trichrome :

- Formoler la selle dans une solution de formol à 10%.
- Effectuer un frottis de la selle.
- Fixer le frottis pendant 5 minutes dans un bain de méthanol.
- Plonger dans la solution de chromotrope 2R, 90 minutes.
- Rincer deux fois :
  - . à l'eau du robinet d'abord ;
  - . en solution acide-alcool ensuite :
    - acide acétique : 4,5 ml
    - alcool à 90 % : 995,5 ml

Les spores, recherchées à l'objectif x100, apparaissent en rouge.

#### Technique de décoloration des selles

La technique de Kato permet de distinguer rapidement à un faible grossissement les œufs de parasites dans une préparation épaisse de selles rendue translucide par la solution de glycérine-vert malachite.

- Des bandes de cellophane de 3 x 2 cm sont immergées pendant au moins 24 heures dans une solution de glycérine-vert malachite.
- Déposer et étaler grossièrement environ 20 à 50 mg de matières fécales (exactement 20 mg pour une numération) sur une lame porte-objet.
- Recouvrir par une des bandes de cellophane préalablement apprêtées.
- Presser à l'aide d'un papier filtre pour répartir régulièrement la couche de selles.
- Laisser la préparation s'éclaircir pendant 10 minutes à une distance de 20 cm d'une lampe de 100 w (ou 1 h à la température ambiante ou 30 minutes à 30° C ou 12 minutes à 42° C).
- Examiner sans plus attendre pour éviter une altération voire une lyse des œufs.

#### Formulaire

- Solution de Lugol double
  - . iodure de potassium : 0,2 g
  - . iode en paillettes : 0,1 g
  - . eau distillée : 10 ml

Dissoudre l'iode dans très peu d'eau, ajouter l'iode peu à peu et compléter avec le reste de l'eau.

A conserver en flacon brun avec date de fabrication (à renouveler toutes les 2 à 3 semaines).

#### – Pour la technique du MIF

- Solution de Lugol à 5 %
  - . iode en paillettes : 0,5 g
  - . iodure de potassium : 1,0 g
  - . eau distillée : 10 ml

Préparation : dissoudre l'iodure dans très peu d'eau, ajouter l'iode peu à peu et, lorsque tout est dissous, compléter avec le reste de l'eau.

Cette solution devra être conservée en flacon brun, à l'abri de la lumière et la date de fabrication devra être inscrite sur le flacon. En effet cette solution n'est stable que pendant quelques semaines.

- Solution mère de merthiolate :

- . teinture de merthiolate Lilly 1/1000 : 200 ml (formule n°99)
- . formol du commerce : 25 ml
- . glycérol : 5 ml
- . eau distillée : 250 ml

- Si l'on ne peut se procurer la teinture de merthiolate du commerce, la solution mère peut se préparer selon la formule suivante :

Ajouter dans l'ordre :

- . éosine à l'eau : 0,8 g
- . alcool à 100 : 210 ml
- . eau distillée : 650 ml
- . acétone : 40 ml
- . merthiolate : 0,4 g (mercuriothiosalicylate de Na)
- . monoéthanolamine : 0,4 g
- . formol : 50 ml
- . glycérol : 10 ml

Ces solutions sont à conserver en flacons bruns.

- Pour la coloration de Bailenger :

Laisser pendant une nuit en contact :

- . cristal violet : 2 g
- . fuchsine basique : 0,05 g
- . alcool à 95° : 20 ml
- . phénol cristallisé fondu : 10 ml
- . eau distillée : 100 ml

Conserver ce colorant dans un flacon hermétiquement bouché à l'abri de la lumière (verre teinté). Prélever le colorant en surface sans l'agiter (dépôt).

- Pour l'APV Gomori :

- Solution aqueuse saturée à froid  $HgCl_2$  : dissoudre à chaud 10 % de ce sel, laisser refroidir, décanter le surnageant au fur et à mesure des besoins.

- Solution de Schaudinn

- |                                     |         |
|-------------------------------------|---------|
| . solution ci-dessus : 2 volumes    | 93,5 ml |
| . alcool éthylique à 95° : 1 volume |         |
| . glycérol : 1,5 ml                 |         |
- . acide acétique glacial : 5,0 ml

- Solution d'APV : aux 100 ml obtenus ci-dessus ajouter 5 g d'APV (alcool polyvinylique N° 90-50), qui se dissolvent à 75°C au bain-marie, en prenant garde de ne pas enflammer l'alcool.

Cette solution est stable pendant un an au minimum (Petithory et coll.)

**Remarque** : penser que la solution de  $HgCl_2$  est corrosive pour tout métal

- Solution de Gomori

- . chromotrope 2 R : 0,6g
- . vert lumière SF : 0,3 g
- . acide phosphotungstique : 0,7 g
- . acide acétique : 1 ml
- . eau bidistillée : 100 ml

Après un certain nombre d'utilisations, la coloration faiblit et la solution doit être renouvelée.

– Pour la coloration à l'hématoxyline ferrique

– Fixateurs

- . Fixateur de Bouin ordinaire :
  - solution aqueuse saturée d'acide picrique : 15 ml
  - formol du commerce : 5 ml
  - acide acétique cristallisable : 1 ml
- . Fixateur de Duboscq-Brasil (Bouin alcoolique) :
  - alcool éthylique à 80° : 150 ml
  - formol du commerce : 60 ml
  - acide acétique cristallisable : 15 ml
  - acide picrique : 1 g
- . Solution de Schaudinn acétique :
  - solution aqueuse saturée de sublimé : 200 ml
  - alcool éthylique à 90° : 100 ml

Au moment de l'emploi, ajouter de l'acide acétique cristallisable pour obtenir une solution à 1 %.

. Mordanceur

- alun de fer : 3 g
- eau distillée : 100 ml

. Colorant

- hématoxyline : 1 g
- alcool éthylique à 90 : 10 ml

Après dissolution complète par agitation, compléter à 100 ml par de l'eau distillée.

. Différenciateur

- alun de fer : 1 g
- eau distillée : 100 ml

– Pour la coloration de Kohn

. Solution de base

- alcool éthylique 90° : 170 ml
- alcool méthylique : 160 ml
- acide acétique glacial : 20 ml
- phénol fondu : 20 ml
- acide phosphotungstique (solution aqueuse 1 %) : 12 ml
- eau distillée : qsp 1000 ml

Préparation avec 5 g de noir chlorazol (noir formique Geigy) : dans un mortier réduire le noir en poudre et ajouter progressivement la solution de base jusqu'à obtention d'une pâte bien lisse. Bien mélanger alors cette pâte avec une petite quantité de solution (50 à 100 ml), laisser reposer, recueillir le surnageant et recommencer jusqu'à dissolution complète du colorant qui sera alors en saturation dans la solution de base entièrement utilisée.

Après un à deux mois de maturation à la lumière, la solution colorante d'un rouge foncé, presque noir (cerises très mûres) sera prête à l'emploi après filtration. Elle peut être utilisée telle quelle ou, au moment de l'emploi, diluée aux deux tiers dans la solution de base.

– Pour la coloration de Ziehl-Neelsen-Henriksen-Pohlenz

. Fuchsine phéniquée de Ziehl

- fuchsine basique : 10 g
- phénol : 28 g
- éthanol : 150 ml
- eau : qsp 1000 ml

- . Acide sulfurique à 2 %
  - acide sulfurique : 2 ml
  - eau distillée : 98 ml
 Ajouter goutte à goutte l'acide dans l'eau.
- . Solution de vert malachite
  - vert malachite : 5 g
  - eau distillée : 100 ml
- Pour la coloration au trichrome de Weber et coll. (1992)
  - . chromotrope 2R : 6 g
  - . fast green (Aldrich) : 0,15 g
  - . acide phosphotungstique : 0,7 g
 Ajouter 3 ml d'acide acétique glacial, laisser reposer pendant trente minutes et mélanger à 100 ml d'eau distillée.
- Pour la technique de Kato
  - . Solution glycérine - vert malachite
    - glycérol pur : 100 ml
    - eau distillée : 100 ml
    - solution vert malachite à 3 % : 1 ml

## Les concentrations

On appelle concentrations les techniques par lesquelles on essaie, à partir de la grande quantité de matières fécales recueillies, d'obtenir dans un faible volume les œufs, larves, kystes voire formes végétatives fixées de parasites par élimination des résidus de la digestion.

Pour ce faire, on joue sur les densités et affinités différentes de ces résidus et des parasites recherchés.

La grande diversité des constituants des selles et des espèces parasites explique que les concentrations ne puissent être totalement efficaces sauf peut-être les concentrations dites combinées qui sont en réalité la succession de plusieurs techniques sur le même échantillon de selles.

Seront donc envisagées successivement les méthodes physiques, les méthodes physico-chimiques et les méthodes combinées. Dans le grand nombre de méthodes proposées seront présentées celles qui, pour leur commodité et leur efficacité, sont les plus utilisées dans les laboratoires français dont les résultats semblent très fiables sur le plan international.

### ***Techniques générales***

#### **Le choix des techniques**

##### – Enquête épidémiologique spécifique

Pour une enquête recherchant une espèce particulière de parasite, on devra choisir une technique plus spécifique pour trouver ce parasite. Il faudra tenir compte de sa facilité d'exécution et de son prix de revient.

##### – Enquête épidémiologique générale sur le terrain

Pour une étude plus générale, les techniques devront être faisables après transport donc fixation des matières fécales. Le fixateur peut modifier le résultat de certaines techniques par ailleurs très efficaces.

### – Analyse coproparasitologique pour un malade

Il est recommandé pour un cas clinique particulier d'effectuer soit une technique combinée soit deux techniques différentes sans hésiter à pratiquer une voire deux autres techniques si l'interrogatoire ou les renseignements cliniques permettent une orientation vers une parasitose donnée.

### **Prélèvements pour concentration**

Aussi bien certains œufs que les kystes sont répartis irrégulièrement dans les matières éliminées en une seule défécation. Il est donc nécessaire de prélever des fragments de selles à différents endroits à l'aide d'un agitateur de verre aplati en palette (cf. matériel verrerie).

### **Homogénéisation, filtration**

#### – Homogénéisation

Quel que soit le liquide diluant, les selles devront être triturées dans un verre à pied, au début dans une très petite quantité de liquide pour obtenir une pâte qui sera secondairement étendue. Le résultat sera un diluat correspondant à ce qui est recommandé pour la technique choisie.

#### – Filtration

Pour éliminer les particules alimentaires non fragmentées (peaux de fruits par exemple), le diluat obtenu est filtré à travers une passoire (forme chinois) à mailles de 1 mm<sup>2</sup> environ et de 7 cm d'ouverture et recueilli dans un autre verre à pied.

Un peu de liquide propre permet de rincer la passoire et d'emporter les éventuels œufs restés dans les mailles.

La passoire, après usage, sera brossée et flambée (destruction d'œufs éventuellement restés accrochés dans les mailles).

#### – Brève sédimentation

Après moins d'une minute le filtrat sera transvasé lentement dans un autre verre ou directement utilisé. Ces quelques secondes de sédimentation permettent aux petits éléments lourds de tomber dans le fond du verre à pied (cellules scléreuses de poires par exemple).

## ***Concentrations par les méthodes physiques de sédimentation***

### **Sédimentation simple**

#### – Intérêt

Technique recommandée pour les larves d'anguillule et les œufs d'ascaris non fécondés. Elle ne nécessite pas de produit chimique particulier.

#### – Inconvénients

De nombreuses cellules végétales (féculents en particulier) sédimentent aussi vite que les parasites recherchés et l'examen microscopique n'est pas toujours facile.

#### – Déroulement de la technique

Dix à vingt grammes de selles sont dilués dans 250 à 500 ml d'eau du robinet et le filtrat laissé dans un verre à pied. Après une heure, le surnageant est rejeté et le sédiment remis en suspension dans une même quantité d'eau. La même manipulation est renouvelée plusieurs fois jusqu'à obtention d'un liquide surnageant clair. Le culot est alors examiné.

Certains, au lieu d'attendre la sédimentation, gagnent du temps par des centrifugations lentes.

### **Méthode de Faust et Ingalls en eau glycinée**

#### – Intérêt

Cette technique de terrain est employée pour rechercher les œufs de *Schistosoma mansoni* mais permet aussi de trouver œufs d'*Ascaris* non fécondés et larves d'anguillule.

#### – Inconvénients

Comme pour la technique précédente, l'examen microscopique peut être rendu difficile par la présence de certains résidus.

#### – Déroulement de la technique

Cinq grammes de selles sont dilués dans 300 ml d'eau glycérolée à 0,5%. On pratique trois sédimentations successives en verres à pied d'une durée de 1 heure, 45 minutes puis 30 minutes.

Les œufs de schistosomes sont plutôt en surface du sédiment mais il est recommandé d'effectuer des prélèvements à différents niveaux.

### **Méthode de Van Someren et Grégoire en colonne haute**

#### – Intérêt

Cette technique vétérinaire est utilisée par certains médecins pour rechercher essentiellement les œufs de grande douve.

#### – Inconvénients

L'inconvénient majeur de cette technique réside dans la nécessité d'utiliser un appareillage spécial c'est-à-dire un tube de verre de 1 cm de diamètre intérieur et de 2,10 m de haut. En bas de ce tube un tuyau de caoutchouc de quelques centimètres peut être fermé par une pince. Il relie le grand tube de verre à un autre tube de verre, court, muni d'un robinet.

#### – Déroulement de la technique

Le grand tube est rempli de solution de Teepol à 1 % en évitant une forte agitation (bulles). Quatre grammes de selles diluées dans 36 ml de cette même solution sont tamisées à travers la passoire ordinaire voire à travers une deuxième passoire à mailles plus fines (un tiers de millimètre de côté).

Le filtrat est versé lentement dans le liquide de la colonne. Après 20 minutes exactement la pince du tuyau en caoutchouc est serrée et, au robinet, on recueille quelques gouttes de liquide où se sont condensés les œufs de douve particulièrement denses (densité : 1,2).

### **Concentrations par les méthodes physiques de flottation**

Les méthodes de flottation reposent sur le principe que les œufs ont une coque qui les protège pendant un certain temps de la pénétration de liquides plus denses; une dilution avec ces liquides aura tendance à les laisser flotter en surface tandis que les résidus plus lourds ou ceux qui s'imprègnent rapidement tombent dans le fond des récipients.

Comme pour les méthodes de sédimentation, la simplicité des formules pour préparer le liquide de dilution ne nécessite pas un alinéa spécifique pour le formulaire.

### **Méthode de Willis**

#### – Intérêt

Dans les enquêtes épidémiologiques, cette technique présente l'avantage de la simplicité d'exécution, de la rapidité et d'un faible prix de revient (eau chlorurée sodique). Elle concentre bien les œufs d'ancylostomidés et d'hyménoélidés.

**– Inconvénients**

La solution de chlorure de sodium pénètre assez facilement dans les œufs et il ne faut pas dépasser le temps prescrit dans le déroulement de la technique.

**– Déroulement de la technique**

Les selles sont diluées au dixième environ dans une solution aqueuse de chlorure de sodium à saturation (25 grammes dans 100 ml environ; densité 1 200), puis filtrées rapidement.

La suspension obtenue est versée dans un tube jusqu'à la limite supérieure (léger bombement du liquide au dessus du bord). On place alors délicatement une lamelle qui doit recouvrir tout le tube sans bulle d'air.

Un quart d'heure plus tard on retire la lamelle qui est déposée sur une lame et la lecture de la concentration est effectuée avant évaporation de l'eau et cristallisation du sel ce qui, en pays chaud, peut se produire rapidement.

**Méthode de Faust simplifiée****– Intérêt**

Alors que la méthode originale exige plusieurs sédimentations dans l'eau par centrifugation, avant la flottation, dans la méthode simplifiée on se contente d'une seule centrifugation.

**– Inconvénients**

La densité du liquide de dilution (1,18) est proche de celle de la solution de Willis et n'a pas l'avantage de la simplicité pour se procurer le corps chimique de base (sulfate de zinc). Cette méthode ne permet guère de trouver plus d'œufs que la méthode de Willis. Elle exige l'utilisation d'une centrifugeuse.

**– Déroulement de la technique**

Les selles sont diluées au dixième environ dans une solution saturée de sulfate de zinc (sulfate de zinc 331 g, eau qsp 1000 ml), tamisées et centrifugées environ une minute à 2300 tours/minute. Dès l'arrêt de la centrifugation, on prélève à l'anse métallique la couche superficielle qui contient les œufs et on la dépose sur une lame pour examen.

**Méthode de Janeckso et Urbanyi****– Intérêt**

La technique proposée par Janeckso et Urbanyi concentre bien les œufs de grande douve, de schistosomes et d'ancylostomidés ainsi que les larves d'anguillule dont les déformations éventuelles n'interdisent pas la reconnaissance. Elle concentre assez bien les embryophores de ténia et les œufs de trichocéphale.

**– Inconvénients**

La solution iodo-mercurique est toxique (étiquette rouge), doit être conservée dans un flacon bien bouché et est très corrosive. Elle forme avec les métaux des balances, des divers matériels (centrifugeuse, tuyaux de plomb) et surtout des bijoux (alliances, montres-bracelets), des amalgames irréversibles. Comme presque toutes les méthodes de flottation, cette technique est inefficace pour trouver les kystes sauf ceux de giardia.

**–Déroulement de la technique**

Trois à cinq grammes de selles sont triturés dans 20 ml de la solution iodo-mercurique (biiodure de mercure 150 g, iodure de potassium 110 g et eau 400 ml).

Pour préparer la solution : dissoudre l'iodure dans un peu d'eau, ajouter le biiodure en remuant, puis après dissolution complète, ajouter le reste de l'eau. La densité obtenue est de 1 440.

Après tamisage, le filtrat est centrifugé à 2 500 tours/mn pendant 3 à 4 minutes. La couche superficielle recueillie à l'aide d'une anse ou d'une baguette de verre aplatie en spatule est examinée au microscope dans le quart d'heure qui suit.

## **Méthodes physico-chimiques (méthodes diphasiques)**

### **Principes théoriques**

#### **– Principes**

Par une solution chimique, certains résidus fécaux sont dissous et d'autres acquièrent une affinité pour l'éther. Le principe de ces techniques est donc de mélanger les selles avec une solution déterminée puis d'agiter le tout avec de l'éther avant de centrifuger pour recueillir œufs et kystes.

Bailenger a montré que le pH de la solution était l'élément déterminant pour la plus ou moins grande efficacité d'une technique selon le parasite recherché. Par exemple, pour les œufs d'ankylostomes, un pH acide est plus favorable mais en revanche, pour les œufs de *S. mansoni*, il recommande un pH basique.

#### **– Détails techniques de la centrifugation**

##### **. Préparation**

Les selles triturées (mélange au dixième environ) dans la solution choisie sont tamisées à travers une passoire comme cela est décrit pour les techniques physiques puis, après moins d'une minute de brève sédimentation, le filtrat est versé dans un tube à centrifuger à fond conique en le remplissant à moitié ou aux deux tiers.

On ajoute de l'éther en laissant un espace vide au dessus de la couche éthérée pour permettre une bonne agitation.

Le tube bouché à la main protégée d'un gant (matériau non soluble dans l'éther) est alors agité énergiquement pendant au moins trente secondes à une minute et, sauf pour le M.I.F.-concentration, aussitôt centrifugé. Il faudra prendre garde aux possibles petites projections d'éther souillé en retirant la main de l'orifice du tube.

##### **. Centrifugation**

La suspension éthéro-liquide obtenue est centrifugée à une vitesse lente de l'ordre de 1500 à 2000 tours/minute pendant une à trois minutes.

#### **– Résultats de la centrifugation**

Après centrifugation, les constituants de la suspension sont répartis en quatre couches :

- . couche superficielle d'éther coloré par les corps éthéro-solubles (graisses diverses) ;
- . couche épaisse et adhérent aux parois du tube, contenant les résidus lipophiles ;
- . couche de solution aqueuse de dilution colorée par les corps hydrosolubles ;
- . culot devant contenir les parasites et qui doit être aussi petit que possible voire presque indiscernable à l'oeil nu.

#### **– Suite de la technique**

- . Décoller la couche des résidus lipophiles à l'aide d'une baguette de verre.
- . Retourner le tube au dessus de l'évier (en faisant couler de l'eau) ou d'un bac à déchets liquides.

Penser qu'ainsi est jeté de l'éther, donc travailler loin d'une flamme ou... d'une cigarette; penser également que, dans la technique au MIF-concentration (comme précédemment dans la flottation de Janeckso-Urbanyi), sont rejetés des sels de mercure considérés comme toxiques et faisant l'objet d'une réglementation pour le contrôle sanitaire des eaux usées.

En France, les liquides contenant des sels de mercure doivent être recueillis dans des récipients de plastique bouchés, qui seront confiés à des services spécialisés.

- . Essuyer les parois du tube avec un coton tenu à la pince en laissant toujours le tube avec l'ouverture dirigée vers le bas pour éviter de souiller le culot avec les résidus.
- . Retourner alors le tube et ajouter une goutte de solution isotonique pour remettre en suspension le culot qui sera examiné;

#### – Prélèvement du culot

Le culot sera prélevé à la pipette Pasteur mais il est impératif de ne pas aspirer. Le liquide devra monter par capillarité dans l'effilure, au besoin en penchant légèrement le tube. En aspirant on risquerait, en effet, que le culot ne montât au delà de l'effilure et que les parasites recherchés et le liquide se répartissent sur toute la surface interne de la pipette Pasteur : tout serait alors à refaire.

### Formulaire

Il est commode, dans le travail courant, de posséder en une seule page les formules des liquides de dilution; c'est pourquoi est présenté ce formulaire avant l'étude de chaque technique.

#### – Solution de Telemann modifiée par Rivas

- . acide acétique cristallisable : 5 ml
- . eau : qsp 1000 ml

#### – Solutions de Carles et Barthélémy

- A) . NaCl : 9 g
  - . formol officinal : 10 ml
  - . eau : qsp 1000 ml
- B) . acide citrique : 100 g
  - . formol officinal : 20 ml
  - . eau : qsp 1000 ml

#### – Solution de Bailenger

- . acétate de sodium : 15 g
  - . acide acétique : 3,6 ml
  - . eau distillée : qsp 1000 ml
- Ajuster à pH5 avec acide acétique ou soude diluée, à l'aide d'un pH-mètre.

#### – Solutions de Thébault

- A . acide trichloracétique à 20 % : 10 ml
  - . formol officinal : 100 ml
  - . eau : qsp 1 000 ml
- B . bromure de sodium cristallisé : 622 g
  - . eau distillée : 1000 ml

#### – Solutions de Ritchie

- . eau chlorurée sodique à 9 ‰
- . eau formolée à 10 % (formol officinal)

#### – Solution de MIF (cf. page 15)

### Méthode de Telemann modifiée par Rivas

#### – Avantages

Facile à pratiquer, rapide, cette technique concentre bien les parasites les plus courants (*Giardia*, *Entamoeba* et œufs de trichocéphale). La coque des kystes d'*Entamoeba histolytica* se dédouble lors de la centrifugation ce qui est un argument diagnostique intéressant.

– Inconvénients

Les œufs de bilharzies, d'ascaris ou de grande douve restent dans la couche lipophile: c'est donc une méthode à déconseiller dans les pays où sévissent ces parasitoses.

– Déroulement de la technique

Aucune particularité n'est à signaler par rapport à la technique générale des concentrations diphasiques.

**Méthode de Carles et Barthélémy**

– Avantages

Par cette technique le culot obtenu est très faible et, débarrassés de la majorité des bactéries des selles, les parasites apparaissent "propres". Les œufs de trichocéphale ou d'ankylostome et les kystes amibiens sont retrouvés aisément et facilement identifiables.

– Inconvénients

Le pH particulièrement bas (1,8) est défavorable pour retrouver les œufs de schistosomes ou les larves d'anguillule. Par ailleurs la technique exigeant deux centrifugations est plus longue que les techniques en un temps.

– Déroulement de la technique

Une première centrifugation du filtrat obtenu après dilution dans le liquide A (eau isotonique formolée) permet d'éliminer, avec le surnageant, des bactéries et des substances hydrosolubles.

Une seconde centrifugation est effectuée après mise en suspension du culot dans le liquide citrique B et agitation avec une quantité égale d'éther. Seul le culot est examiné.

**Méthode de Bailenger**

La méthode proposée par Bailenger tient compte de l'importance du pH mais la technique ne diffère pas de celle de Telemann et Rivas.

– Avantages

Elle est beaucoup plus fiable dans la recherche des kystes et des œufs se concentrant bien dans un pH aux environs de 5 (giardia, amibes, trichocéphale, ankylostome).

– Inconvénients

Pour rechercher les œufs de schistosome une autre technique est nécessaire.

– Déroulement de la technique

Les manipulations sont identiques à celles de la méthode de Telemann et Rivas.

**Méthode de Thébault simplifiée (Valentin et Solle)**

La méthode de Thébault est en réalité une méthode combinée mais rares sont les techniciens qui n'utilisent pas la méthode simplifiée proposée par Valentin et Solle.

– Avantages

L'émulsion avec l'éther est pratiquée dans une ampoule à décanter et par conséquent il est possible de techniquer sur une plus grande quantité de selles.

Cette méthode est particulièrement intéressante pour concentrer les kystes des petites amibes et en particulier les *Endolimax nanus* dont les noyaux deviennent, grâce au formol du liquide de dilution, extraordinairement nets. On retrouve également, fixées, des formes végétatives d'amibes et les œufs de trichocéphale.

– Inconvénients

Les kystes d'*Entamoeba coli* et surtout de *Giardia* descendent assez mal. C'est donc

une excellente méthode à utiliser seulement pour préciser le diagnostic de rares kystes observés à l'examen direct ou après une méthode altérant leur morphologie.

#### – Déroulement de la technique

On dilue 10 g de selles environ dans 100 ml de solution d'acide trichloracétique. Le filtrat obtenu après tamisage doit reposer une minute avant d'être versé dans une ampoule à décanter (forme ballon ou forme poire). On ajoute une quantité égale d'éther et on agite vigoureusement en faisant évacuer l'éther vaporisé par ouverture du robinet *tenu en haut* (risques de projection du bouchon si ce geste n'est pas effectué).

On laisse reposer 2 à 10 minutes avant de retirer le bouchon et de soutirer quelques centimètres cubes que l'on centrifugera. Le culot sera examiné au microscope. Dans la technique originelle le culot est repris par la solution bromurée. Une deuxième centrifugation permet, par flottation, de recueillir les parasites en surface. La technique originelle de Thébault est donc une méthode combinée.

### **Méthode de Ritchie simplifiée**

#### – Avantages

Cette méthode peut être utilisée sur les selles formolées donc sur des selles collectées pour enquêtes épidémiologiques. Elle concentre bien les œufs d'ascaris et de schistosome.

#### – Inconvénients

Le culot souvent volumineux est de lecture difficile.

#### – Déroulement de la technique

Mis à part le liquide de dilution, la technique est la même que pour la concentration de Telemann-Rivas.

### **Méthode de Blagg et al.**

#### – Avantages

Cette méthode permet de concentrer les œufs de schistosome et d'ascaris. Les kystes de protozoaires voire les formes végétatives sont colorés et ainsi facilement identifiables.

#### – Inconvénients

Le culot obtenu est souvent important. La manipulation de grandes quantités de liquide coloré à l'éosine augmente les risques de taches et surtout la présence de mercure souille les effluents du laboratoire.

#### – Déroulement de la technique

Les selles sont diluées au dixième dans la solution de merthiolate-formol, pure ou additionnée de Lugol à 5 % (cf. coloration des selles). Après tamisage le filtrat est versé dans un tube à centrifuger où l'on ajoute moitié moins d'éther. Une agitation énergique permet d'obtenir une suspension qu'on laisse reposer deux minutes.

Si la suspension reste stable la centrifugation (1700 tours/minute pendant 1 minute) permet d'obtenir un culot qui sera prélevé avec les soins habituels et examiné.

Si l'éther forme une couche superficielle libre il faut ajouter un millilitre d'eau et recommencer l'agitation.

On remet de l'eau jusqu'à l'obtention d'une suspension stable après deux minutes et c'est alors seulement que la centrifugation peut être effectuée.

## **Méthodes combinées**

Chaque méthode de concentration proposée présente l'inconvénient d'éliminer des parasites et doit donc être choisie en fonction de ce que l'on recherche préférentiellement.

Les méthodes les plus intéressantes pour la diversité des kystes ou œufs concentrés laissent souvent à examiner un culot relativement important.

En combinant flottations et méthodes diphasiques, C. Junod obtient d'excellents résultats.

### **Première méthode de Junod**

#### **– Avantages**

Les statistiques publiées par l'auteur de cette méthode montrent sa productivité. C'est certainement l'une des méthodes les plus intéressantes tant pour les recherches d'œufs que pour celles de formes végétatives ou kystes de protozoaires. Elle remplace l'exigence de plusieurs techniques différentes pour trouver des parasites de densité différente.

#### **– Inconvénients**

Cette technique nécessitant cinq centrifugations demande un temps assez long. D'autre part l'utilisation d'une solution d'iodo-mercurate présente les inconvénients déjà signalés pour la méthode de Janeckso et Urbanyi (solution toxique et corrosive).

#### **– Déroulement de la technique**

- . Concentration diphasique (MIF Concentration ou Bailenger) en utilisant peu d'éther et en agitant modérément pour obtenir volontairement un culot important (première centrifugation).
- . Le culot est remis en suspension dans une solution de sulfate de zinc à saturation. On pratique alors une deuxième centrifugation pendant 30 secondes à faible vitesse ce qui permet d'obtenir un surnageant et un culot (deuxième centrifugation).
- . Ce surnageant est dilué au quart avec de l'eau distillée et centrifugé (troisième centrifugation); le culot est examiné.
- . Le culot de la deuxième centrifugation est repris dans une solution d'iodomercurate de potassium de densité 1,5 (cf. formulaire) et la suspension est de nouveau centrifugée (quatrième centrifugation). Le surnageant est repris et dilué. Ce dernier diluat est centrifugé (cinquième centrifugation) et le culot est examiné.

### **Deuxième méthode de Junod (Junod simplifiée)**

#### **– Avantages**

C. Junod considère que sa technique simplifiée donne autant de bons résultats que la technique complète.

#### **– Inconvénients**

Quoique simplifiée, la technique impose encore quatre centrifugations et l'emploi d'une solution de iodo-mercurate.

#### **– Déroulement de la technique**

- . Mettre en suspension environ 8 g de selles dans 50 ml de solution de NaCl à 8,5 ‰, éventuellement formolée à 8 %. Tamiser, centrifuger à 1200 tours/minute pendant une minute, éliminer le surnageant, faire une préparation d'une microgoutte du culot, l'examiner et remettre en suspension le reste du culot dans 20 ml d'une solution isotonique formolée (par exemple la solution A ci-dessous).

**Remarque** : quand cette méthode combinée intervient en complément d'une technique polyvalente usuelle, cette première centrifugation peut être supprimée.

- . Ajouter 5 à 7 ml d'éther éthylique, agiter modérément, centrifuger à 1200 tours/minute pendant une minute et conserver le culot.
- . Remettre le culot en suspension dans 4 à 6 ml de solution d'iodomercurate (solution B ci-dessous de densité 1,40), centrifuger à 1200 tours/minute pendant deux minutes; évacuer le surnageant et examiner le culot en totalité au microscope.

### **Méthode de sédimentation-flottation pour œufs et larves**

#### **– Avantages**

Pour une recherche spécifique d'œufs ou de larves, Junod considère que la méthode ci-dessous est plus productive.

#### **– Inconvénients**

Quand la teneur des selles en lipides est anormalement élevée, les concentrations sans éther sont encombrées de graisses neutres, savons et acides gras.

#### **– Déroulement de la technique**

- . Première centrifugation (1200 tours/minute, une minute) de la suspension fécale en eau à 8,5 % de NaCl; culot conservé.
- . Mise en suspension du culot dans 20 ml de solution acéto-acétique formolée sans adjonction d'éther et centrifugation à 1200 tours/minute pendant une minute; aspirer le surnageant et la partie superficielle du culot.
- . Mise en suspension du culot dans 5 à 7 ml de solution d'iodomercurate de potassium de densité 1,35 et centrifugation (1200 tours/minute pendant une minute).
- . Transfert (décantation) du surnageant dans un autre tube conique, adjonction de 20 ml d'eau et centrifugation (1200 tours/minute pendant deux minutes).
- . Examen du culot.

### **Sédimentation-flottation au saccharose pour protozoaires**

#### **– Avantages**

Également mise au point par C. Junod, cette technique, bien exécutée, permet de trouver de rares formes végétatives de protozoaires alors que les kystes sont inexistantes. Elle est d'exécution rapide et surtout recommandée quand l'examen direct a prouvé la présence de rares formes végétatives et qu'aucun kyste n'a été retrouvé pour pouvoir affirmer le diagnostic. Elle est utilisable sur des selles fixées au M.I.F.

#### **– Inconvénients**

Une certaine technicité est indispensable pour ne pas confondre les amibes et flagellés avec les blastocystis et champignons qui sont un peu déformés. De plus une selle trop riche en lipides ne peut être ainsi concentrée. Noter en outre que des sels de mercure sont encore utilisés.

#### **– Déroulement de la technique**

- . Fixation :
  - triturer 3 à 4 grammes de selles dans 50 ml de solution acéto-acétique formolée fraîchement préparée (solution AAF) ;
  - tamiser et recueillir en tube bouché ;
  - attendre au moins 2 à 3 heures avant de poursuivre.
- . Sédimentation
  - centrifuger 10 à 15 ml de la suspension à 1800-2000 tours/minute pendant 90 secondes dans un premier tube (T1) ;

- rejeter le surnageant ;
- prélever (lame 1) et garder en milieu humide (boîte avec coton hydraté) la couche supérieure du culot.
- . Flottation
  - verser, dans le tube T1, 8 à 10 ml de solution de saccharose (cf. formulaire) puis 0,5 ml de solution de chlorure mercurique à 1,5 % en eau distillée ;
  - agiter très doucement (éventuellement avec un agitateur) ;
  - centrifuger à 1000 tours/minute pendant 45 secondes ;
  - décanter le surnageant dans un tube T2 (si une partie est peu limpide ne garder que 1 ou 2 ml de la partie supérieure) ;
  - prélever et garder la surface du culot (lame 2).
- . Précipitation
  - ajouter 20 à 30 ml d'eau dans le tube T2 et diluer le culot ;
  - centrifuger à 2000 tours/minute pendant 90 secondes ;
  - examiner le culot (lame 3).
- . Lecture dans l'ordre des lames 3 puis 1 et 2 si la lame 3 n'est pas satisfaisante.

## Formulaire

- Première technique de Junod (densité 1,5)
  - . liqueur de Thoulet (Prolabo) de densité 3,17 : 100 ml
  - . eau distillée : 334 ml
- Deuxième technique de Junod
  - . Solution A (acéto-acétique formolée)
    - acétate de sodium : 15 g
    - acide acétique cristallisable : 20 ml
    - formol : 40 ml
    - eau : qsp 1000 ml
  - . Solution B (densité 1,40)
    - liqueur de Thoulet : 1 volume
    - eau : 4,42 volumes
  - . Solution de densité 1,35
    - liqueur de Thoulet : 1 volume
    - eau : 5,20 volumes
- Sédimentation-Flottation en saccharose
  - . saccharose : 120 g
  - . eau : 200 ml
- Si le surnageant est trop chargé, reprendre la suspension initiale en AAF et utiliser alors :
  - . saccharose : 90 à 100 g
  - . eau : 200 ml

## Les techniques spéciales

### *Numération des œufs*

#### Intérêt - généralités

Pouvoir mesurer l'importance d'une infestation parasitaire permet d'apprécier les possibilités de retentissement physiologique des parasitoses (anémie due ou non aux ankylostomes présents), d'évaluer l'efficacité d'une thérapeutique

(élimination de tous les vers ou d'un certain pourcentage de ceux-ci) et de chiffrer des enquêtes épidémiologiques. Bien évidemment si le nombre d'œufs trouvés dans les selles est généralement proportionnel au nombre de vers, pour les protozoaires, la numération des kystes est sans intérêt puisque leur nombre varie en fonction des conditions locales de multiplication.

On a l'habitude d'exprimer les résultats en nombre d'œufs par gramme de selles pâteuses. Quand les selles ont un autre aspect, on applique les coefficients de correction suivants :

- . selles solides : x 0,5
- . selles semi-liquides : x 1,5
- . selles liquides : x 2

### Méthodes utilisées

– La méthode d'éclaircissement de Kato

Elle peut être employée (cf page 29) pour compter les œufs; il suffit de peser une quantité fixe de selles (20 mg) et de multiplier par 50 le nombre obtenu pour avoir le nombre d'œufs par gramme avant la correction due à l'aspect de la selle.

– La méthode de L.C. Brumpt

Elle a le mérite de la facilité. Dans un flacon de Becher on pèse une certaine quantité de selles moulées (4,6 grammes par exemple) et on la dilue au 1/10 avec de l'eau ordinaire ou de la soude décinormale (dans cet exemple par 41,4 ml). Après homogénéisation voire tamisage s'il y a de grosses particules, le liquide est agité et aspiré dans une pipette graduée. On laisse tomber le liquide goutte à goutte. La première goutte est recueillie sur une lame. On compte le nombre de gouttes contenues dans 1 ml (exemple 23 gouttes).

Les œufs sont comptés dans la totalité de la goutte recueillie (exemple 8). Il suffit alors de poser la multiplication : nombre trouvé x nombre de gouttes x dilution x coefficient de correction :

$$. 8 \times 23 \times 10 \times 0,5 = 920 \text{ œufs par gramme de selles pâteuses.}$$

**Tableau I**  
Quelques résultats de numération d'œufs

Espèces	Nombre d'œufs/gramme/femelle	Nombre de vers au total (mâles et fem.)
Ankylostome	125	2
Ascaris	1000	2
Nécator	50	2
Trichocéphale	75	2,7
Fasciolopsis	126	1 (hermaphrodite)

## Extraction de parasites

### Méthode de Baermann et Lee modifiée

– Principe

Les larves rahbditoïdes d'anguillule ont un hydrothermotropisme positif. En mettant en contact des selles contenant des larves avec de l'eau chaude celles-ci seront attirées vers l'eau où elles seront facilement repérées.

– Appareillage

Le plus simple est d'utiliser un entonnoir à robinet (cf. verrerie); à défaut pourra être employé un entonnoir ordinaire se terminant par un tuyau de caoutchouc fermé d'une pince de Mohr.

Dans cet entonnoir sera disposée une passoire métallique tapissée d'une voire deux couches de papier fin (papier Kleenex dédoublé).

#### – Technique

De l'eau chauffée à 45° est versée dans l'entonnoir jusqu'à mi-hauteur. La passoire métallique est remplie de selles, pâteuses de préférence. Lorsque la passoire est placée dans l'entonnoir les selles doivent affleurer le niveau de l'eau chaude.

Deux à trois heures plus tard, l'eau est soutirée soit dans une boîte de Petri que l'on examine à un fort grossissement de loupe binoculaire soit dans un tube à centrifuger. Après 5 minutes de centrifugation à 1500 à 2000 tours/minute, on regarde le culot.

#### – Résultat

Si les selles sont assez récemment émises, si leur consistance permet la circulation des larves, les chances de déceler ces dernières sont considérablement augmentées par rapport aux méthodes de concentration habituelles.

Des trichomonas, des miracidiums de schistosome sont parfois également observés dans le culot de centrifugation.

#### **Méthode de I. de Carneri (recherche de *Balantidium coli*)**

Les selles sont, comme dans la technique de Baermann, mises au contact d'eau chaude. La particularité de la méthode d'I. de Carneri repose sur le fait que l'eau doit être tamponnée à pH 7,2. L'eau est ensuite centrifugée et le culot examiné.

Nous signalons pour mémoire que Lubinsky propose d'attirer le *Balantidium* par galvanotaxie. Cette méthode, à notre connaissance, n'est pas utilisée.

### **Cultures des selles**

#### **En protozoologie (sans les sporozoaires)**

##### – Intérêt

La culture des selles en milieux spécifiques pour protozoaires permet la multiplication de rares amibes ou flagellés observés à l'examen direct et dont le diagnostic n'a pu être établi d'une façon certaine. Cet artifice technique est aussi un moyen pour mettre en évidence des protozoaires qui n'auraient pas été décelés d'emblée en particulier certains flagellés sans kystes (*Pentatrichomonas*) ou à kystes rares (*Enteromonas*). On ne devra pas toutefois s'imaginer que la coproculture pallie les insuffisances techniques. En effet certains parasites, *Blastocystis* par exemple, peuvent envahir le milieu et gêner la multiplication des autres protozoaires par des phénomènes de concurrence vitale.

Il faut en outre souligner que *Giardia intestinalis* ne se multiplie pas sur les milieux ordinaires pour amibes et flagellés.

##### – Milieux utilisés

On trouve dans le commerce le milieu de Dobell et Laidlaw vendu en deux parties, d'une part en tube contenant du sérum de cheval coagulé incliné et d'autre part des ampoules de 5 ml de solution de Ringer enrichie au sixième par du sérum de cheval et contenant une suspension de grains d'amidon de riz. Au moment de l'emploi on verse stérilement les 5 ml de l'ampoule dans le tube de sérum coagulé. Après l'avoir réchauffé à l'étuve à 37° le milieu peut êtreensemencé.

Les laboratoires Difco offrent un milieu déshydraté (Cleveland et Collier) qu'il faut reconstituer et stériliser avant l'emploi.

##### – Ensemencements

On prélève proprement (éviter l'addition de germes non fécaux) 0,5 g environ de matière fécale à la pipette ou à la baguette de verre selon la densité des selles (sur des selles moulées prélever à divers endroits).

Ces prélèvements seront dissociés dans le liquide de culture (deux tubes de préférence au minimum) en évitant d'oxygéner le liquide (pas de bulles) et les tubes disposés dans l'étuve à 37°.

#### – Lecture

Les tubes sont examinés tous les jours pendant trois jours.

Les prélèvements sont effectuées :

- . pour les flagellés dans le liquide ;
- . pour les amibes à la surface du sérum coagulé en la raclant légèrement.

Dans tous les cas la zone la plus riche en protozoaires est celle située immédiatement au-dessus du sédiment d'amidon de riz (milieu de Dobell).

La ou les gouttes disposées sur une lame sont traitées comme un examen direct avec possibilités de coloration vitale ou après fixation.

### En protozoologie (coccidies)

Lorsqu'on observe des oocystes de coccidie dans les selles, pour affirmer le diagnostic de genre et d'espèce, il est nécessaire de provoquer leur maturation par une coproculture à température du laboratoire. Les selles, légèrement réhydratées par addition d'eau distillée pourront être mélangées avec un peu de poudre de charbon ou de solution d'acide chromique à 0,5 % pour éviter les fermentations.

La lecture sera effectuée tous les jours. C'est après 48 à 72 heures que les sporozoïtes seront formés.

### En helminthologie

#### – Intérêt

Les progrès de la thérapeutique rendent moins nécessaire la différenciation sur larves strongyloïdes, après coproculture, entre les œufs de *Necator americanus* et d'*Ancylostoma duodenale*. Un souci d'exactitude diagnostique ou des enquêtes épidémiologiques peuvent encore inciter à effectuer des coprocultures.

Quoique la multiplication in vitro des anguillules (cycle sexué) ne soit pas toujours observée, une coproculture positive peut permettre d'affirmer un diagnostic qu'une concentration ou une extraction de Baermann n'auraient pu prouver.

#### – Matériel utilisé

##### . Culture sur buvard en boîte de Petri

Trois ou quatre lames porte-objets sont enveloppées d'un buvard assez épais et disposées en paquet au centre d'une boîte de Pétri dans laquelle on verse 10 ml d'eau distillée stérile.

##### . Culture sur buvard en tube à essai

Dans les tubes à essai à large ouverture on introduit quelques millilitres d'eau distillée stérile.

On prépare par ailleurs des bandes de papier buvard assez rigide dont la largeur est inférieure au diamètre intérieur des tubes et d'une longueur égale à celle du tube.

##### . Culture sur charbon

On utilise du charbon de bois grossièrement réduit en poudre et déposé dans une boîte de Petri.

#### – Technique

##### . Généralités

Quelle que soit la technique utilisée, les boîtes de Petri ou tubes seront placés dans une étuve à 25° et la lecture sera effectuée :

- au deuxième jour pour trouver des larves rhabditoïdes d'ancylostomidés et des larves strongyloïdes infestantes d'anguillule ;

- aux troisième, quatrième et cinquième jours pour rechercher les larves strongyloïdes d'ancylostomidés et d'anguillule et d'autre part des adultes mâles et femelles du cycle externe de l'anguillule ;
- aux septième, huitième et neuvième jours, les larves infestantes d'ancylostomidés et d'anguillule.

On remarque que, constamment, peuvent exister des larves strongyloïdes, donc infestantes, d'anguillule et, par conséquent, des précautions devront être prises pour éviter que des gouttes d'eau contaminées soient au contact de la peau non seulement des techniciens mais aussi du personnel d'entretien non averti.

#### . Culture sur buvard en boîte de Petri

Sur la face libre du paquet de lames on étale quelques grammes de selles. Les larves auront tendance à gagner l'eau libre du fond de la boîte où elles sont repérées à la loupe ou dans le culot de centrifugation du liquide recueilli.

#### . Culture sur buvard en tube

Quelques grammes de selles sont étalés sur les bandes de buvard en respectant le haut et le bas du papier. Le buvard sera alors plongé dans l'eau des tubes qui ne sera pas souillé par les matières fécales. Les tubes seront fermés pour éviter odeurs et dessiccation. Les larves circuleront sur le papier buvard humide et gagneront le fond du tube. Au moment d'examiner les tubes il suffit de retirer à la pince la bande de papier dont le haut affleure l'extrémité du récipient.

#### . Culture en charbon de bois

Quelques grammes de selles seront malaxés avec de l'eau et le charbon de bois pour former une pâte homogène qui sera disposée au centre de la boîte de Pétri sans atteindre les bords en formant une petite éminence qui devra toucher le couvercle après fermeture de la boîte.

Les larves (géotropisme négatif) se retrouvent dans les gouttelettes d'évaporation condensées dans le couvercle et facilement observées à la loupe. En cas de coproculture d'anguillules positive, avec multiplication, leur nombre est parfois tel que l'on peut, à l'oeil nu, distinguer leur flux migratoire au gré d'un rayon lumineux (phototropisme positif).

Quand les larves sont peu nombreuses (ancylostomidés ou anguillules) il est possible de pratiquer une extraction de Baermann sur la coproculture.

## En mycologie

### – Intérêt

La culture mycocoprologique n'a pratiquement d'intérêt que dans le cadre d'une numération de colonies ce qui implique la nécessité d'effectuer lesensemencements le plus rapidement possible après la défécation.

De rares arthrospores de *Geotrichum* et des levures à l'examen direct correspondant à quelques colonies sur milieux de culture ne témoignent pas d'un processus pathologique. En revanche des filaments mycéliens ou pseudo-mycéliens à l'examen direct et un tapis de colonies de *Candida albicans* en culture correspondent à un déséquilibre de flore préjudiciable au patient. On devra donc ensemenecer les tubes avec une quantité relativement fixe de matière fécale (une anse de platine par exemple).

### – Milieux de culture

Les milieux seront les classiques milieux de Sabouraud additionnés d'antibiotiques. L'un des deux tubes (minimum) ensemencés contiendra en outre de l'actidione. La culture s'effectuera à 37° et les colonies observées après 24 h et 48 h seront comptées et identifiées.

### – Ensemencement

Le contenu de l'anse de platine sera dissocié dans le peu de liquide du fond du tube

et l'ensemencement se fera sur la pente en partant du fond selon la technique de l'épuisement de la semence (étalement en stries).

Pour mieux compter les colonies, on préfère souvent couler le milieu en boîte de Petri. Quand les selles sont trop fermes, le contenu de l'anse sera dissocié dans quelques gouttes d'eau stérile dans un petit tube à hémolyse.

#### – Pour le diagnostic des colonies observées

Pour ce diagnostic, on se reportera à des livres spécialisés de mycologie. Rappelons que *Candida albicans* est considéré comme un saprophyte du tube digestif mais que plus de dix colonies par anse de platine doit inciter à interpréter le résultat en fonction de la clinique (mycose orificielle ou de voisinage ? état immunitaire du malade ? antibiothérapie ? etc...) et éventuellement à pratiquer un antifongogramme.

## **Biopsie**

### **Généralités**

Pour la recherche d'œufs de schistosomes en général il est commode pour le gastro-entérologue de pratiquer des biopsies rectales ou sigmoïdiennes. Il sera plus productif d'effectuer cette biopsie au niveau de microlésions (érosions en coup d'ongle ou hypertrophie muqueuse localisée).

Rappelons à ce sujet que prélever à la pince coupante un fragment de muqueuse n'est absolument pas douloureux pour le patient. On peut également trouver ainsi des amibes dans la muqueuse. D'autres prélèvements peuvent parvenir au laboratoire (biopsies vésicales). Il est important que ces fragments ne soient pas fixés au liquide de Bouin ou au formol qui les durcissent plus ou moins et n'autorisent qu'une technique anatomopathologique. Les fragments devront être rapidement transmis dans quelques millilitres d'eau salée isotonique.

### **Utilisation des prélèvements**

#### – Recherche de protozoaires

Pour les biopsies rectosigmoïdiennes, il peut être utile d'effectuer un examen direct de raclage de muqueuse à la recherche en particulier d'amibes hématophages.

#### – Recherche d'œufs de schistosome

Le fragment biopsique en entier ou partagé en quelques morceaux est placé sur une lame posée sur une surface plane et solide. Une deuxième lame écrase le fragment en appuyant fortement.

Une lamelle recouvre ensuite le fragment écrasé pour l'examen microscopique.

Les œufs sont recherchés au faible grossissement. Si la masse muqueuse est trop dense optiquement il est possible de l'éclaircir par un montage dans la gomme au chloral :

- . eau distillée : 50 ml
- . hydrate de chloral : 50 g
- . glycérine : 20 ml
- . gomme arabique : 30 g

Dissoudre à froid le chloral, ajouter la glycérine et suspendre dans le liquide la gomme placée dans un nouet de mousseline.

La lecture sera effectuée 24 à 48 h après le montage de la préparation.

## **Techniques spécifiques**

Nous regroupons dans ce chapitre les techniques qui ne sont employées que pour chercher certains parasites particuliers et sont donc à effectuer en plus des techniques habituellement pratiquées dans le laboratoire.

## Recherche d'œufs d'oxyure par la cellophane adhésive (Scotch-test de Graham)

### – Principes, avantage

La femelle de l'oxyure vient mourir sur la marge anale en libérant les œufs qu'elle contient. Ces œufs entourés d'un peu de mucosités restent souvent collés pendant quelques heures dans les petits plis de la marge anale avant de tomber dans les draps ou sous-vêtements.

C'est le plus souvent la nuit, alors que les contractions intestinales diminuent, que les oxyures femelles sortent du rectum.

Les œufs seront donc retrouvés sur la marge anale plus que dans les selles. Pour les prélever, on utilise du papier adhésif transparent; les œufs sont recherchés à travers le papier qui sert de lamelle.

### – Inconvénients

Il est difficile au technicien de laboratoire d'effectuer lui-même le prélèvement au moment propice (nuit ou petit matin). Réalisée plus tard la méthode a plus de risques d'être infructueuse.

### – Technique du prélèvement

Plusieurs matins de suite, au réveil, avant la défécation il faut essuyer la marge anale, en la dépliant si possible, avec le côté adhésif d'une bande de cellophane transparente du type "scotch" large de 2 cm et longue de 5 cm environ. Ne pas employer le scotch dit invisible qui a une certaine opacité. Le fond de tube en verre recommandé par certains est avantageusement remplacé par un doigt ganté.

Cette recherche étant souvent effectuée chez les enfants, il faudra expliquer à la mère comment "torcher" avec la cellophane adhésive dès le réveil et en expliquant bien le moment où le prélèvement doit être effectué. Après le prélèvement, la bande est collée sur une lame porte-objets qui sera transmise au laboratoire.

### – Technique de l'examen

Les œufs seront recherchés directement à travers le papier adhésif. Les plicatures de celui-ci, obligatoires au moment du prélèvement - et prouvant que la technique a été bien réalisée - peuvent gêner l'observation microscopique. Il est recommandé alors de décoller presque totalement la bande, de déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et de replacer le papier en ne recollant que l'extrémité. D'autres utilisent une goutte de toluène. Le but de cette manoeuvre est d'éliminer les bulles d'air. Les œufs sont alors facilement repérés.

Indépendamment des œufs d'oxyure, il est possible de trouver des embryophores de *Taenia* (migration transanale des proglottis) voire d'autres œufs (trichocéphale).

## Tubage duodéal

### – Principes, avantages

Pour des parasites duodénaux, pour des œufs de douve éliminés dans la bile, certains recommandent de transmettre au laboratoire de parasitologie, le liquide d'aspiration duodénale ce qui élimine la dilution par la masse des matières fécales.

Pour la recherche des œufs de douve, on prélève séparément la bile A d'origine cholédocienne, la bile B d'origine vésiculaire et la bile C d'origine hépatique.

### – Inconvénients

Le tubage duodéal, quoique couramment pratiqué dans les services cliniques, est assez désagréable pour le patient.

### – Utilisation du liquide d'aspiration

. Examen direct d'une goutte de liquide et d'une parcelle de mucosités (recherche de *Giardia*).

. Décantation, centrifugation

Dans des ampoules à décanter, on laisse sédimenter quelques heures les différents prélèvements, au besoin après dilution dans de l'eau salée isotonique. Les sédiments sont recueillis et centrifugés. Les culots sont examinés.

On peut alors trouver des œufs de douve, d'ancylostomidés ou d'ascaris, des œufs ou larves d'anguillule. S'il y a trop de mucus, on peut l'éliminer par de la soude caustique diluée à 5 %.

. Frottis du reste du culot de centrifugation pour coloration spécifique à la recherche de *Cryptosporidium* ou de *Microsporidia*.

## "Entérotest"

### – Principe, avantages

L'entérotest est un système de prélèvement duodénal moins importunant pour le patient. Un fil lesté est avalé par le malade jusqu'à ce qu'il atteigne le duodénum (repère sur le fil). C'est ce fil qui est envoyé au laboratoire.

### – Utilisation

A l'aide des doigts gantés, on essuie le fil et on recueille ainsi le mucus déposé le long de celui-ci. C'est dans ce mucus que seront recherchés essentiellement giardias et larves d'anguillule (examens directs voire dilution et centrifugation).

## Examen des urines

### – Généralités

Dans les urines sont éliminés les œufs de *S. hæmatobium* car, volontairement, nous ne parlons pas des autres œufs exceptionnels. Par ailleurs il est possible de trouver des *Trichomonas vaginalis* dont on connaît les possibilités de survie prolongées dans l'urine (plusieurs heures).

### – Recueil des urines et techniques

. Pour une recherche de *Trichomonas*

Recueillir les urines du premier jet matinal, les centrifuger et examiner le culot à l'examen direct à frais et après coloration de May-Grünwald-Giemsa en utilisant une eau légèrement alcaline.

. Pour une recherche d'œufs de bilharzie

Ou bien on recueille les urines de toute une miction dans un grand verre (importance des urines de fin de miction) ou bien on demande l'apport des urines de 24 heures.

Sera prélevé à la pipette et examiné au microscope tout filament visible en suspension dans l'urine d'autant plus si ce filament est plus ou moins imprégné de sang.

Après une heure de sédimentation dans des verres à pied, une partie du surnageant est rejetée et le reste versé dans de grandes ampoules à décanter forme poire.

Quelques heures plus tard le sédiment est soutiré, centrifugé et examiné au microscope. Les cristaux urinaires peuvent souvent être dissous par acidification progressive de l'urine à l'acide acétique dilué.

. Dans les enquêtes épidémiologiques

Une seringuée d'urines est filtrée à travers un papier millipore secondairement éclairci. Il s'agit plus d'une technique d'approche diagnostique que d'une technique vraie de diagnostic. La quantité d'urines filtrées dépend des auteurs (quantité fixe ou totalité de la miction).

## Conservation, transmission des selles et parasites

Des vers vivants ou morts peuvent être éliminés par des patients. Certains malades mentaux, ou seulement des personnes anxieuses, apportent au laboratoire

des vers ou arthropodes qu'ils prétendent avoir expulsés et l'avis d'un spécialiste lointain est parfois nécessaire.

Certains kystes ou œufs de parasite trouvés ne correspondent pas à des éléments connus chez l'homme et un autre avis est indispensable. Ceci se produit lorsque les consultants viennent de régions aux parasitoses mal connues (canaques de Nouvelle-Calédonie par exemple) ou qu'ils ont absorbé avec leur alimentation des parasites animaux dont les œufs sont alors en simple transit mais posent un problème diagnostique au coproparasitologiste en médecine humaine.

## Arthropodes

Les arthropodes ont une couche chitineuse externe dure et des organes riches en eau.

La fixation se fera à l'alcool à 90° et surtout pas au formol qui durcit irrémédiablement les parties molles.

## Vers

### – Cestodes

Les anneaux des cestodes lavés à l'eau doivent être étalés entre deux lames que l'on maintient serrées à l'aide d'un fil. Le tout est plongé dans le fixateur de Bouin, de Dubosq-Brasil ou dans le mélange alcool-formol (alcool à 90° : 90 ml et formol du commerce : 10 ml).

Ainsi fixés, les anneaux peuvent être colorés ultérieurement et exactement diagnostiqués par un spécialiste.

### – Trématodes

Une fixation dans l'alcool à 70°, en extension si possible, permet toujours au spécialiste de reprendre la fixation si nécessaire et de colorer le ver.

### – Nématodes

On chauffe de l'alcool à 70° jusqu'à ce que des bulles apparaissent (50 à 60° C) et on le verse sur le nématode préalablement lavé à l'eau salée isotonique ; il meurt ainsi en extension. Si le ver est mort, il est inutile de chauffer l'alcool.

## Selles

La conservation des selles parasitées est toujours aléatoire et dépend de facteurs peu contrôlables en particulier en ce qui concerne la conservation des kystes de protozoaires.

Une coprothèque doit être révisée avant chaque utilisation pour l'enseignement et même dans ce cas l'oxygénation des suspensions liée à l'ouverture des flacons peut altérer rapidement une selle que l'on croyait bien conservée.

### – Formes végétatives de protozoaires

Si l'eau dite physiologique (à 0,9 % de NaCl) et formolée à 5 % peut conserver les formes végétatives de protozoaires, celles-ci deviennent assez vite difficiles à reconnaître même en y ajoutant de la solution de Lugol pour colorer les noyaux.

En revanche les suspensions de selles dans le colorant MIF permettent de garder pendant des années voire une décennie de nombreux protozoaires parfaitement identifiables.

Les formes végétatives d'entéromonas et les trichomonas sont, comme les autres protozoaires, bien conservées mais les flagelles ont tendance à adhérer à la paroi cellulaire et rien n'est plus diagnosticable.

Pour un conseil diagnostique, il est donc possible d'envoyer un tube de MIF coloration à condition que ce tube parvienne au spécialiste dans les deux ou trois semaines qui suivent la fixation-coloration.

Pour envoi d'échantillons ou pour conservation simple en coprothèque, Junod

propose la solution acéto-acétique formolée (voir les méthodes de concentration de Junod).

– Formes kystiques de protozoaires

Là encore le MIF coloration en tube et la solution de Junod peuvent être utilisés mais la seule fixation à l'eau salée isotonique formolée à 5 % permet une très longue conservation.

Nous possédons des kystes d'amibes et des sporocystes de *Sarcocystis* ainsi fixés depuis vingt ans.

– Œufs

La plupart des œufs peuvent être fixés et conservés dans la même solution de NaCl formolée à 5 %; toutefois il est parfois difficile d'affirmer qu'il s'agit bien d'une fixation étant donné que la coque de certains œufs est tellement épaisse et résistante que l'on peut croire morts des œufs en survie (embryophores de *Taenia* par exemple).

Pour les œufs d'ascaris, il est illusoire d'espérer tuer les cellules embryonnaires par du formol à 5 %. Il faut en effet atteindre des concentrations en formol de 15 % dans le liquide de dilution des selles moulées pour empêcher un œuf de s'embryonner.

### Envoi des échantillons

Rappelons que, pour respecter la loi et faire preuve de bon sens, il ne faut expédier que des selles fixées et incapables de fermenter. Tout élément posant problème devra être décrit avec soin, donc mesuré, pour permettre au consultant d'identifier rapidement la cause de l'interrogatoire diagnostique. Un maximum de renseignements cliniques devra accompagner l'échantillon en songeant qu'un biologiste est un consultant et non un distributeur de résultats.

Le tube contenant le prélèvement sera disposé dans un étui métallique et le tout placé dans une boîte en bois ou en carton robuste (triple emballage).



# CHAPITRE TROISIÈME

## CADRE PARASITOLOGIQUE

### Les parasites en général

#### *Les parasites*

#### Leur nom

Il n'est pas pensable de dresser une liste exhaustive de tous les parasites intestinaux qui ont été décrits chez l'homme et, même si cette liste était établie, elle serait nécessairement incomplète dans la mesure où toute modification dans les habitudes alimentaires, toute occupation constante d'un nouveau biotope soit par l'homme soit par un animal peut provoquer l'apparition d'une nouvelle parasitose.

A titre d'exemple citons le fait que vingt-cinq espèces de douves de la famille des Hétérophyidés sont susceptibles d'être retrouvées chez l'homme.

Nous présentons donc ci-dessous un extrait de la liste établie par les experts de l'O.M.S. et publiée en 1987. Quelle que soit l'opinion que chacun peut avoir sur la validité de certaines espèces et sur l'exactitude du nom employé, il est normal de se soumettre à une loi internationale.

<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Isospora belli</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Isospora hominis</i>
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Necator americanus</i>
<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Opisthorchis felineus</i>
<i>Clonorchis sinensis</i>	<i>Opisthorchis viverrini</i>
<i>Cryptosporidium muris</i>	<i>Paragonimus africanus</i>
<i>Dientamoeba fragilis</i>	<i>Paragonimus kellicotti</i>
<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Paragonimus westermani</i>
<i>Endolimax nanus</i>	<i>Pentatrichomonas hominis</i>
<i>Entamoeba coli</i>	<i>Retortamonas intestinalis</i>
<i>Entamoeba gingivalis</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Schistosoma japonicum</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>
<i>Entamoeba polecki</i>	<i>Schistosoma mekongi</i>
<i>Enterobius vermicularis</i>	<i>Strongyloides fuelleborni</i>
<i>Enteromonas hominis</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>
<i>Fasciola gigantica</i>	<i>Taenia saginata</i>
<i>Fasciola hepatica</i>	<i>Taenia solium</i>
<i>Fasciolopsis buski</i>	<i>Trichinella spiralis</i>
<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Trichomonas tenax</i>
<i>Heterophyes heterophyes</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Hymenolepis nana</i>	<i>Trichuris trichiura</i>
<i>Iodamoeba butschlii</i>	

#### Nomenclature

On remarque que, dans cette liste, les parasites sont désignés sous leur nom scientifique latin. Un nom local peut exister en chaque langue pour des parasites macroscopiquement visibles mais ce nom est souvent imprécis (Ver solitaire désigne à la fois *Taenia saginata* et *Taenia solium*). Pour les parasites microscopiques, seul le nom scientifique est utilisable. Le fait d'utiliser le latin, c'est-à-dire une langue morte, présente l'avantage d'éviter toute susceptibilité nationaliste.

Les règles de la nomenclature utilisée depuis le suédois Linné (1758) sont admises par l'ensemble de la communauté scientifique internationale.

De ces règles complexes on doit retenir qu'un animal ou une plante possède un nom de genre qui s'écrit toujours avec une majuscule et un nom d'espèce avec une minuscule; toutefois, en botanique, et en botanique seulement, le nom d'espèce pouvait être écrit avec une majuscule quand ce nom d'espèce est tiré d'un nom propre.

Comme exemples pratiques nous écrivons *Taenia saginata*, *Entamæba hartmanni*, *Candida albicans* mais on utilisait *Candida Guillermondi* ; on écrit maintenant *Candida guillermondi*.

Après le nom latin on écrit le nom du savant qui a décrit le parasite : sans parenthèse si le nom de description est conservé, avec parenthèses dans le cas contraire. Ces noms ne sont pas utiles dans un compte-rendu.

Un résultat d'examen parasitologique de selles ne respectant pas ces règles de nomenclature incite à penser que le microscopiste n'est pas un vrai scientifique.

### **Modes de contamination pour les parasites digestifs**

Il est difficile pour le grand public d'appréhender la diversité des modes de contamination pour les parasitoses digestives. Ceci sera étudié pour chaque parasite mais nous tenons à insister sur le fait que l'on peut se contaminer :

- . en mangeant des aliments souillés par des formes végétatives ou des kystes de protozoaires ainsi que par des œufs de ver (rôle du péril fécal) ;
- . en absorbant des aliments contenant des formes de multiplication (*Sarcocystis*) ou des formes larvaires de parasite. Cés aliments sont aussi bien de la chair de mammifère que de la chair de poisson d'eau douce ou d'eau de mer. Il peut s'agir également de crustacés ou de gastéropodes, voire de salade (cresson) ;
- . en nageant en eau douce par pénétration active transcutanée de larves lors d'un bain sans avoir pour cela de lésions dermatologiques préexistantes ;
- . en marchant pieds nus sur un sol souillé ou seulement en ayant contact avec des herbes ou des parois contaminées.

### **Temps de maturation des parasites**

Entre le moment où un parasite est absorbé ou pénètre activement dans l'organisme et le moment où le diagnostic peut être affirmé par la découverte d'élément caractéristique dans les selles s'écoule un temps variable selon les parasites. Pour certains d'entre eux ce temps est imprécis.

#### **– Pour les protozoaires**

Pour les amibes et flagellés qui se multiplient dans le tube digestif, il suffit que leur nombre soit suffisant pour que les kystes ou formes végétatives soient retrouvés.

Pour *Isospora*, il semble qu'une semaine soit nécessaire avant la sortie des oocystes.

#### **– Pour les vers**

Les œufs ne seront retrouvés, pour les espèces sexuées, que dans la mesure où des femelles parasitent le tube digestif. Un ascaris mâle ne pond pas. Cette évidence biologique n'est pas toujours intellectuellement intégrée par les malades voire leur médecin clinicien. Parallèlement une femelle isolée peut ne pondre que des œufs non fécondés donc atypiques.

### **Durée de vie des parasites**

Les parasites ne sont pas éternels et c'est une notion qui n'est pas toujours présente à l'esprit car on a tendance à confondre les parasites qui se multiplient dans l'organisme et ceux qui ne vivent que le temps de leur reproduction.

### – Pour les protozoaires

Les amibes, les flagellés se multiplient dans le tube digestif et il semblerait logique d'affirmer qu'un sujet parasité le reste toute la durée de son existence or pour des raisons de modification de pH voire de développement de certaines immunités, nous avons constaté des guérisons de trichomonose buccale ou de giardiase sans prise de médicament.

Les sporozooses guérissent spontanément soit parce que le cycle biologique l'exige (*Isospora hominis*) soit parce qu'une immunité apparaît (*Cryptosporidium* et *Isospora belli*). Dans les syndromes d'immunodépression ces dernières sporozooses peuvent persister.

### – Pour les helminthes

Seules les anguillules se reproduisent dans l'organisme et l'infestation dure autant que la vie de leur hôte. Pour les autres vers, les chiffres proposés sont ceux relevés dans la littérature mais en réalité nombreux sont ceux qui sont discutés. Par exemple certains affirment que les schistosomes meurent spontanément en quelques années, fait discuté par d'autres sur de solides arguments. Nous avons connu des malades qui se débarrassaient sans aucune thérapeutique de leur *Taenia saginata* après 18 mois d'évolution. Là encore le rôle des aliments - certains comme les cucurbitacées ont des graines ténifuges - et des acquisitions d'immunité doivent jouer un rôle mal connu. Ces notions sont résumées en tableaux plus loin.

## **Retentissement organique**

Les parasites du tube digestif peuvent être parfaitement tolérés ou au contraire déterminer des troubles graves. Selon le parasite, selon le nombre de parasites mais aussi selon l'hôte c'est-à-dire son âge et son état physiologique en général, les troubles seront plus ou moins majorés. C'est la raison pour laquelle il faut être très prudent dans l'interprétation des résultats et craindre avant tout le comportement manichéen qui consiste à classer les parasites en parasites pathogènes et parasites saprophytes, ils sont ou habituellement pathogènes ou incidents; ce dernier mot ne préjuge pas de leur éventuel rôle dans les symptômes observés.

## **Réactions locales**

Lorsqu'un protozoaire vit au contact de la muqueuse (*Giardia*) et surtout lorsqu'il pénètre dans les cellules du tube digestif (sporozoaires) il provoque une irritation locale avec afflux de cellules inflammatoires.

Même si le nombre des éosinophiles circulant dans le sang périphérique n'est pas modifié, il est banal d'observer, en biopsie, une hyperéosinophilie locale et, dans les excréta, de nombreux cristaux de Charcot-Leyden résultant de la destruction de ces éosinophiles.

Pour les helminthes la fixation sur (ténia) ou dans (trichocéphales) la muqueuse est cause d'une inflammation plus localisée tandis qu'un ver comme l'ascaris qui migre en s'aidant de ses lèvres denticulées provoque une irritation plus étendue.

Les ancylostomidés qui "broutent" la muqueuse duodénale et la font saigner sont responsables de duodénite en général. Les exemples pourraient être multipliés selon les vers éventuellement observés.

## **Réactions générales**

Indépendamment des localisations extra-intestinales des parasites (abcès amibiens du foie, abcès de la peau dans les distomatoses...) on peut observer des réactions générales lors de parasitoses digestives pour des parasites qui, classiquement, ne quittent pas la lumière intestinale et, à plus forte raison, pour ceux qui migrent dans l'organisme.

### - Fièvre

Rappelons la fièvre élevée de l'abcès amibien du foie; il est plus intéressant de mentionner l'état pseudo-grippal qui accompagne l'isosporose et qui peut durer plusieurs jours.

Des irrégularités thermiques sont possibles lors de migrations de larves de ver soit parce que les larves ont entraîné des germes en perforant la muqueuse soit parce que leur métabolisme est suffisamment intense pour provoquer des réactions organiques majeures. Dans la trichinose on peut observer un véritable état pseudo-septicémique.

### - Anémie

Si certains protozoaires, giardia par exemple, favorisent une malabsorption il faut d'autres facteurs pour que s'établisse une véritable anémie.

Dans les verminoses, les anémies les plus fréquentes sont dues à la perte de sang observée dans l'ankylostomose. L'ankylostome en effet a été comparé à une sangsue qui se nourrit de sang et fait saigner la muqueuse duodénale.

Tout aussi classique mais beaucoup plus rare est l'anémie macrocytaire de la bothriocéphalose qui serait due à une véritable compétition biologique entre le ver et son hôte pour l'absorption de la vitamine B12.

Dans d'autres verminoses, la malabsorption voire des phénomènes de toxicité jouent un rôle anémiant.

### - Hyperéosinophilie

Quoique l'on ait décrit une brève et peu intense poussée d'hyperéosinophilie dans les isosporoses, on doit retenir que seuls les métazoaires déterminent une hyperéosinophilie sanguine décelable dans le sang périphérique.

L'importance de l'hyperéosinophilie dépend :

- . du parasite (plus ou moins grand contact avec l'organisme, métabolisme plus ou moins intense, adaptation variable à l'espèce humaine) ;
- . du nombre de parasites ;
- . de la sensibilité de l'individu parasité.

C'est souvent quand diminue l'éosinophilie sanguine que les vers sont adultes donc capables de pondre.

Elle évolue classiquement selon une courbe schématiquement décrite par Lavier. Après absorption ou pénétration de la forme contaminante, courte période d'incubation puis ascension rapide de l'éosinophilie jusqu'à un palier plus ou moins bref; ensuite décroissance d'abord rapide puis lente avec un retour asymptotique à une éosinophilie normale. Lavier comparait cette courbe au geste du violoniste qui, après avoir monté rapidement son archet, le redescend sur la corde de plus en plus lentement en laissant mourir sa note avec un subtil vibrato.

**Tableau I**  
Evolution de l'éosine selon les vers

Espèces	Latence (jours)	Montée (semaines)	Amortissement	Taux maximum observé	
<b>Nématodes</b>	anguillule	quelques	6	aucun	60-80
	ankylostome	20	12-13	2 ans	65-75
	ascaris	1-2	3	7 semaines	13-55
	oxyure	6-7	3-4	rapide	20-25
	trichine	8	3-4	des années	60-80
	trichocéphale	quelques	3-4	très rapide	43
<b>Trématodes</b>	bilharzies	25-35	7-10	quelques années	80-90
	grande douve	15-20	12-16	5-8 ans	70-90
	opisthorchidés	11-15	3-4	quelques années	20-30
<b>Cestodes</b>	bothriocéphale	12	7	rapide	15
	vers solitaires	30 ?	8-10	12 semaines	35

## Réactions immunologiques

Les parasitoses sont causes de réactions d'immunité cellulaire et plasmatique. Pour établir les diagnostics on fait de plus en plus appel à des sérodiagnostics mais il est bon de connaître les limites de telles techniques diagnostiques.

Pour que des réactions organiques générales soient décelables il faut qu'une quantité suffisante d'antigène soit en contact avec le sujet parasité et que ce dernier réagisse intensément. Il faut d'autre part que les anticorps ne soient pas saturés par un excès d'antigènes.

De plus, de telles réactions sérologiques ont souvent une spécificité discutable étant donné les communautés antigéniques des parasites zoologiquement proches.

On discute actuellement sur la valeur du sérodiagnostic dans la période d'incubation d'un téniasis. On sait que les anticorps anti-ascaridiens sont très élevés dans l'onchocercose, filariose tropicale. Tous les parasitologues ont connu des bilharziens éliminant quotidiennement des dizaines d'œufs et sans anticorps décelables sérologiquement.

La sérologie des parasitoses digestives est certes importante mais elle n'est pas encore, loin s'en faut, sur le point d'éliminer le morphologiste et le clinicien. On peut espérer que par des techniques immunologiques, il sera un jour plus facile de repérer certains protozoaires ou de déceler des métabolites spécifiques dans les matières fécales.

## Les protozoaires parasites du tube digestif

Quel que soit le protozoaire en cause, les méthodes pour l'étudier sont comparables et peuvent être envisagées globalement. La connaissance résumée des rôles pathogènes éventuels des différents protozoaires est nécessaire au coproparasitologiste. Il est plus facile d'envisager ensemble les morphologies comparatives des amibes du genre *Entamoeba* avant d'étudier les autres amibes par ordre alphabétique.

Pour les flagellés, l'ordre anatomique (parasites buccaux, duodéno-iléaux et coliques) prévaut sur l'ordre alphabétique. Les parasites à classification atypique ou douteuse sont réunis en fin de chapitre.

### Méthode d'étude

Dans les protozooses digestives on peut retrouver dans le matériel d'étude soit des formes végétatives seulement, pour certains flagellés, soit des formes végétatives et des kystes pour les autres flagellés et les amibes, soit des kystes seulement pour les sporozoaires.

### Formes végétatives et kystes en général

– Forme végétative de protozoaire

On appelle forme végétative ou trophozoïte, la forme sous laquelle un protozoaire se présente lorsqu'il se nourrit, grossit et se divise. Pour se nourrir il doit chercher sa nourriture et la faire pénétrer dans son organisme; il sera donc mobile et contiendra des vacuoles digestives plus ou moins nettes.

La mobilité se manifeste pour les amibes par exemple par l'émission de pseudopodes qui sont des languettes de cytoplasme coulant dans un certain sens plus ou moins lentement selon l'amibe, la température et la viscosité du milieu. Ces pseudopodes sont formés à partir de la partie externe de l'amibe appelée exoplasme souvent plus claire que la partie interne appelée endoplasme.

Les flagellés ont des organes locomoteurs leur permettant de se diriger vers leur nourriture.

#### – Kyste de protozoaire

On appelle kyste la forme de résistance des protozoaires. Quand les conditions requises pour circuler et se nourrir ne sont plus remplies ou bien, pour les sporozoaires, à la fin d'un cycle sexué, le parasite va sécréter une coque qui lui permettra de résister à des conditions de salinité ou de pH. On peut observer successivement :

- . un prékyste : protozoaire immobile ayant abandonné toute inclusion alimentaire ;
- . un kyste jeune : même aspect mais présence d'une membrane rigide périphérique ;
- . un kyste immature : dans certains genres, les noyaux sont en division et on observe parfois une vacuole temporaire iodophile ;
- . un kyste mûr.

### Étude d'une forme végétative d'amibe

#### – À frais

La forme végétative d'amibe doit être étudiée à 37° sur des selles récemment émises; en effet sur des selles réchauffées sur platine chauffante certains caractères peuvent être modifiés du fait de la souffrance du protozoaire : du cytoplasme peut être abandonné, des pseudovacuoles apparaître, le noyau devenir visible. On étudie successivement :

- . la taille de l'amibe ;
- . son contenu :
  - endoplasme et exoplasme différenciés ou non ;
  - présence ou absence de vacuoles digestives et leur contenu ;
  - noyau visible ou invisible à frais et son aspect ;
  - parfois des granules réfringents évoquant une framboise et correspondant à un parasite d'amibe appelé *Sphaerita* ;
  - la forme des pseudopodes (larges, longs, en doigts de gant ...) ;
  - la façon de circuler de l'amibe (une seule direction ou non, rapidité...).

#### – Après coloration

L'intérêt de colorer une forme végétative de protozoaire est de pouvoir étudier la structure exacte du noyau. C'est en effet sur cette structure que repose la classification des amibes.

### Étude d'une forme végétative de flagellé ou de cilié

#### – À frais

- . La taille moyenne du flagellé

La taille moyenne du flagellé repéré présente un intérêt certain mais on se méfiera de ne pas confondre un petit chilomastix avec un gros entéromonas par exemple.

- . La façon de se mouvoir

Avec un peu d'entraînement, on distingue les sautilllements de l'entéromonas des mouvements tourbillonnants du chilomastix et des zigzags du pentatrichomonas.

- . L'aspect général

Le petit entéromonas est vaguement triangulaire, le chilomastix pointu à une extrémité et arrondi à l'autre extrémité tandis que le pentatrichomonas est en forme d'amande terminée par un appendice caudal. Le chilomastix donne là l'apparence d'être tordu sur lui-même tandis que le retortomonas ne présente pas cet aspect.

. L'étude à frais après ralentissement des mouvements  
 En laissant refroidir la préparation, on observe un ralentissement des mouvements des flagelles et de l'éventuelle membrane ondulante ce qui rend ceux-ci plus faciles à repérer.

Bailenger propose d'augmenter la viscosité du liquide de dilution de l'examen direct en utilisant la formule suivante :

- . alginate de sodium type Pectalgine Basse Viscosité : 2 g
- . chlorure de sodium : 0,6 g
- . eau distillée : 100 ml

Cette préparation est réalisée à froid ou mieux à chaud.

#### – Après coloration

Si ce n'est pour des études morphologiques précises, l'étude après coloration n'a que peu d'intérêt pour les formes végétatives de flagellés. Le diagnostic est beaucoup plus facile à l'examen direct à frais.

### Étude de la forme kystique de protozoaire

#### – À frais

Le kyste de protozoaire est réfringent et à contours nets et définis, non déformable. Il faudra s'assurer, en tapotant éventuellement sur la lamelle qu'il est visible dans sa totalité et, pour les kystes non sphériques, dans une vision latérale. On peut alors définir sa forme et le mesurer. (Que d'erreurs sont commises sur des kystes ovoïdes examinés en vue apicale et confondus avec des kystes sphériques ! )

A l'intérieur de ce kyste et toujours sans coloration on repère aisément avec une lumière adéquate les vacuoles, certains noyaux, des flagelles ou des cristalloïdes.

#### – Après coloration

Une coloration à base d'iode (Lugol, MIF-coloration) permet d'apprécier l'iodophilie des vacuoles observées et surtout d'étudier la structure des noyaux permettant le diagnostic de genre et, si ces noyaux ne sont plus en activité, le diagnostic d'espèce en particulier dans le genre *Entamoeba*.

#### – Après concentration

La résistance des parois des kystes aux centrifugations peut être un argument diagnostique.

## Rôle pathogène des protozoaires digestifs

### Amibiase

On ne doit parler d'amibiase que pour l'infestation par *Entamoeba histolytica*. Rappelons que des études récentes ont prouvé que toutes les souches d'*Entamoeba histolytica* n'ont pas le même pouvoir pathogène mais il est impossible sur des critères morphologiques de distinguer ces différentes souches. Après absorption d'un kyste infectant, un sujet contaminé peut d'emblée souffrir d'amibiase aiguë ou présenter une amibiase chronique qui, à tout moment, est susceptible de se transformer en amibiase aiguë ou de se compliquer d'un abcès amibien. Abcès amibien et amibiase aiguë peuvent être mortels.

#### – Amibiase chronique

Dans l'amibiase chronique le malade souffre de colite plus ou moins grave avec des alternances d'épisodes de diarrhées et de constipation des douleurs coliques, un malaise digestif constant et des intolérances alimentaires.

#### – Amibiase aiguë

Dans l'amibiase aiguë, l'amibe devenue hématophage ulcère largement la paroi cæco-colo-rectale et le malade émet du mucus sanglant avec de faux besoins

douloureux, des spasmes coliques. Il peut se présenter comme un constipé n'éliminant que du mucus ou un diarrhéique relatif (quelques émissions de selles féco-mucoïdes quotidiennes). L'extension des ulcérations muqueuses peut se terminer par des perforations et la mort.

#### – Abcès amibien

Chez un amibien chronique méconnu, chez un amibien en poussée aiguë peut survenir un abcès amibien dont la localisation préférentielle est le foie. On observe une douleur hépatique intense, une fièvre assez élevée et une forte altération de l'état général. Le diagnostic est affirmé par la sérologie. L'hémogramme et la vitesse de sédimentation prouvent une infection grave (polynucléose neutrophile et vitesse de sédimentation très accélérée). Certains aspects cliniques sont très trompeurs. Non traité, l'abcès amibien est mortel.

### Balantidiose

Maladie rare la balantidiose peut, comme l'amibiase être une affection chronique et évoluer vers une forme aiguë nécrosant la muqueuse colique. On a également décrit des abcès à distance.

### Coccidioses et maladies apparentées

#### – Isosporose

*Isospora hominis* est subdivisé par certains auteurs avec de solides arguments, en deux espèces *Sarcocystis bovihominis* et *suihominis*. Il est relativement peu pathogène. Seul le cycle sexué s'effectue dans la muqueuse de l'intestin grêle. C'est donc en cas de repas de viande mal cuite hyperinfestée que le sujet peut présenter quelques jours de diarrhées spontanément résolutive.

#### – *Cryptosporidium muris* et cryptosporidiose

Chez un sujet immunocompétent ou bien la symptomatologie est nulle ou, au pis, peut-on observer quelques jours de diarrhées avec nausées, malaise général, voire petite poussée fébrile mineure.

Chez le sujet immunodéprimé, les diarrhées vont en s'aggravant et peuvent être suffisamment intenses (plusieurs litres par jour) pour provoquer la déshydratation et la mort du malade.

#### – *Enterocytozoon bienersi* et microsporidiose

Quelques cas de diarrhées chroniques graves ont été rapportées chez des sujets immunodéprimés

#### – *Isospora belli* et isosporose

Chez le sujet immunocompétent on observe habituellement un syndrome grippal avec des signes digestifs bâtarde (nausée...) et des diarrhées durant quelques jours à quelques semaines. La maladie peut être inapparente.

Chez le sujet immunodéprimé la maladie est grave et ne guérit pas spontanément.

### Giardase

*Giardia intestinalis* est incontestablement cause de troubles multiples (diarrhées, malabsorption, douleurs pseudo-ulcéreuses, etc...) chez l'adulte aussi bien que chez l'enfant, mais il existe des porteurs asymptomatiques.

### Autres protozooses

*Dientamoeba fragilis* est souvent associée à une irritation colique.

Le rôle de *Blastocystis*, de *Pentatrichomonas* est discuté dans la pathogénie de certains troubles.

Pour les autres protozoaires tant au niveau de la bouche qu'au niveau du colon nous renvoyons à ce que nous écrivions ci-dessus sur les parasites incidents.

D'une façon pratique, il n'a jamais été prouvé que la présence de protozoaires digestifs était bénéfique pour l'organisme parasité et elle est le témoin d'une alimentation souillée. Nous conseillons donc toujours de traiter ces parasitoses.

### Traitements en 1993

#### – Parasitoses luminales coliques

Pour l'amibiase chronique, pour les protozooses, les amœbicides de contact, difétarsonne, tilbroquinol ou diiodohydroxyquinoléine par exemple, sont remarquablement efficaces. Pour la balantidiose, on préférera certains antibiotiques (cyclines).

En cas d'amibiase aiguë et d'abcès amibiens du foie ce sont les dérivés imidazolés qui doivent être prescrits (métronidazole par exemple).

Soulignons que ces médicaments, s'ils sont d'indispensables amœbicides diffusibles sont de médiocres amœbicides de contact et ne doivent pas être prescrits en première intention dans l'amibiase chronique.

#### – Parasitoses du grêle

Pour *Giardia* ce sont encore les imidazolés qui seront prescrits. Pour les coccidioses certains antimalariques et sulfamides ou des antibiotiques actifs contre les sporozoaires seront essayés, malheureusement pas toujours avec succès.

En particulier, on ne peut traiter la cryptosporidiose des immunodéprimés qu'avec beaucoup de difficultés.

## **Morphologie et épidémiologie des amibes du genre *Entamoeba***

### ***Entamoeba coli* (Grassi 1879)**

*Entamoeba coli* est l'une des amibes les plus fréquemment observées. De nos statistiques il ressort qu'environ 4% des occidentaux non voyageurs hébergent ce protozoaire, 12% des maghrébins, 24% des africains noirs et 10 à 20% des asiatiques. Ces chiffres sont donnés à titre indicatif et sont révisable en fonction de l'évolution de l'hygiène (adduction d'eau, tout à l'égout etc...). C'est le kyste qui est la forme contaminante.

#### – Forme végétative à frais

*Entamoeba coli* est la plus grosse des amibes du colon. Son diamètre varie de 15 à 30 voire 40  $\mu\text{m}$ . Elle bouge assez peu, ses pseudopodes sont courts à base large, assez clairs et différent par leur réfringence de l'endoplasme granuleux contenant souvent de grosses vacuoles digestives (bactéries, levures, voire kystes de flagellé).

Les mouvements de l'amibe vont dans diverses directions comme si cette grosse amibe hésitait à aller vers un but déterminé.

Le noyau est visible à frais sous forme d'un cercle réfringent de 5  $\mu\text{m}$  de diamètre.

#### – Formes atypiques

Il existe des formes naines (12  $\mu\text{m}$ ) ou des formes plus petites par abandon du cytoplasme (selles vues tardivement).

Dans les selles très liquides ou en culture l'amibe peut être plus véloce et aller dans une seule direction. Le noyau reste visible à frais sans coloration.

#### – Forme végétative après coloration

Les colorations permettent l'étude du noyau. Le noyau mesure de 5 à 7  $\mu\text{m}$  de diamètre. Il est limité par une membrane tapissée de chromatine bien nette disposée d'une façon irrégulière en mottes grossières. Parfois un bloc de

chromatine plus gros donne l'impression que le bord du noyau a été plissé, chiffonné. Près du centre il existe une autre masse, le caryosome, plus ou moins difficile à repérer car mal coloré par l'iode. Ce caryosome est assez gros; sa situation excentrique et sa masse sont caractéristiques.

Après coloration à l'hématoxyline ferrique on décrit en outre, des granulations dites chromatiques, autour du caryosome.

#### – Forme kystique

Le kyste d'*Entamoeba coli* est le plus souvent sphérique mais il n'est pas rare qu'il soit ovoïde, en ballon de rugby voire moins régulier. Il mesure de 14 à 20  $\mu\text{m}$  de diamètre mais on observe parfois des kystes nains de 13  $\mu\text{m}$  et des kystes géants de 30  $\mu\text{m}$ . La paroi des kystes est épaisse, très nette, rendant le kyste facile à repérer à un grossissement moyen.

Le kyste mûr contient en général 8 noyaux visibles à frais sans coloration. Ces noyaux sont des sphères en suspension dans une autre sphère. La mise au point microscopique réalise une véritable coupe optique du kyste et les noyaux ne sont discernables que s'ils sont sur le plan de coupe ou 1 à 2  $\mu\text{m}$  au dessus ou au dessous. On comprend donc que, pour compter tous les noyaux, il soit nécessaire de faire varier la mise au point sur toute l'épaisseur du kyste.

Après coloration les noyaux sont plus beaux et plus petits de moitié qu'un noyau de forme végétative. Ils semblent avoir une chromatine plus fine et leur caryosome est net. On se gardera bien d'établir un diagnostic d'espèce sur la structure nucléaire des noyaux observés dans un kyste d'*Entamoeba*.

Au MIF-coloration l'éosine pénètre plus tard que l'iode dans le kyste qui apparaît, par contraste, à reflets verdâtres avec des noyaux très nets sur le fond rose de la préparation.

- . Les kystes mûrs atypiques peuvent contenir 16 ou même 32 noyaux.
- . Les kystes en formation ont pratiquement la taille et la forme d'un kyste mûr.
- . Le kyste à un noyau contient une vacuole iodophile en formation et un énorme noyau en pleine activité avec une chromatine périphérique très grossière et un caryosome fragmenté.
- . Le kyste à 2 noyaux est occupé par une vaste vacuole iodophile et les deux noyaux ovalisés, en activité, sont repoussés à la périphérie; ils ont tendance à se placer en deux points diamétralement opposés.
- . Le kyste à 4 noyaux n'a plus de vacuole mais les gros noyaux groupés au centre ont toujours cet aspect caractéristique de noyaux en activité (caryosome fragmenté). Ces noyaux sont visibles à frais.

On peut observer des images curieuses telle celle de ce kyste à 4 noyaux avec 2 tout petits noyaux ayant fini de se diviser, un noyau de taille moyenne devant se diviser une fois et un gros noyau devant se diviser deux fois.

- . Les cristoïdes sont également appelés chromidies ou corps sidérophiles (colorés en noir par l'hématoxyline ferrique). Ce sont des cristaux le plus souvent en aiguille, irrégulièrement présents dans les kystes. Ils sont parfois groupés en faisceau. Ils sont plus rarement épais et trapus.

Après concentrations diphasiques de Telemann-Rivas le contenu des kystes est granuleux et les noyaux difficilement visibles. Une centrifugation légèrement trop forte rétracte en boule le contenu du kyste à l'intérieur de la coque (aspect en grelot).

#### ***Entamoeba histolytica* Schaudinn 1903 (et non *dysenteriae*)**

On dit de l'amibiase qu'elle est la maladie des mains sales. C'est incontestablement dans les zones à hygiène réduite qu'elle est la plus fréquente mais il existe des amibiases françaises autochtones.

La fréquence de l'*Entamæba histolytica* doit être jugée avec prudence en lisant les diverses publications. Des chiffres de 60% de porteurs ont été cités dans certain pays : ou bien il s'agit de souches non pathogènes, ou bien il y a des erreurs, ou bien les hôpitaux sont surchargés d'abcès amibiens et d'amibiase aiguës... ce qui se saurait.

Dans notre laboratoire nous trouvons des prévalences de 0,3% en France, 6% au Maghreb, 8% en Afrique Noire, 6% en Asie, mais beaucoup plus chez les Turcs et les immigrés sud-américains.

La forme végétative se présente sous deux aspects, l'aspect *minuta* (petite forme) qui correspond à l'amibiase chronique et est seule susceptible de s'enkyster et la forme *histolytica* (répétition du nom d'espèce : ce pléonasmе permettant d'insister sur le pouvoir nécrotique de cette forme pour les tissus).

#### – Forme *minuta* végétative à frais

. Forme habituelle

L'*Entamæba histolytica minuta* mesure en moyenne entre 10 et 12  $\mu\text{m}$ . Elle est assez rapide en allant dans une seule direction. Les pseudopodes d'ectoplasme hyalin évoquent une goutte d'huile entraînant un endoplasme très finement granuleux. C'est une amibe propre, comparée à la grosse *Entamæba coli* tachée de ses vacuoles digestives. Le noyau n'est pas visible à frais mais on peut observer des *Sphærita* intracytoplasmiques.

. Formes atypiques

Dans les selles tardivement examinées et refroidies la mobilité est plus irrégulière. Avant de se lyser l'amibe peut présenter un noyau visible à frais.

Il existe par ailleurs des formes naines (6 à 10  $\mu\text{m}$ ) qu'il ne faudra pas confondre avec *Entamæba hartmanni*. C'est la coloration montrant un noyau de taille normale et de structure caractéristique qui permettra de lever le doute.

#### – Forme *minuta* végétative après coloration

Le cytoplasme clair ne contient qu'un élément colorable, le noyau. Celui-ci mesurant 3 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre est composé d'une membrane nucléaire très peu épaisse, tapissée de grains de chromatine petits, régulièrement disposés, comparés à de fines perles formant une couche d'épaisseur sensiblement régulière. Le caryosome, net, est central ou sub-central et se présente comme une petite perle isolée. L'aspect général du noyau évoque la régularité d'une roue.

Après coloration à l'hématoxyline on ne distingue pas de granulations chromatiques autour du caryosome.

#### – Forme *histolytica*

L'*Entamæba histolytica histolytica* est la forme la plus facile à reconnaître. Dans un crachat rectal, dans un filament mucoïde sanglant que l'on aura prélevé avec soin, on repère aisément ces grandes amibes mobiles mesurant parfois 30 à 40  $\mu\text{m}$  et contenant de une à des dizaines d'hématies plus ou moins digérées, donc de taille irrégulière mais ayant conservé leur couleur jaune-orangée caractéristique. Le déplacement de ces amibes fait culbuter les hématies dans le cytoplasme et on a l'impression de voir glisser un sac de plastique mal rempli de petites mandarines.

Rares mais parfois présentes existent des *Entamæba histolytica histolytica* qui ont fini de digérer des hématies et n'en ont pas absorbé d'autres. Leur taille géante, la pureté de leur cytoplasme, leur mobilité et, après coloration, la structure de leur noyau prouvent qu'il s'agit bien d'une *Entamæba histolytica histolytica* c'est-à-dire que le malade est en phase d'amibiase aiguë.

La coloration de MIF montre un noyau de type *histolytica* mais ce noyau est très gros jusqu'à 7 à 8  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les hématies sont colorées en rouge par l'éosine de la préparation. Avec l'hématoxyline ferrique ces hématies apparaissent noires.

### . Causes d'erreur

Dans certaines colites graves, recto-colite hémorragique en particulier, on observe du mucus et du sang à l'examen macroscopique. Microscopiquement on voit de nombreuses cellules desquamatives coliques, des polynucléaires aux pseudopodes larges souvent frangés à leur extrémité et des macrophages pouvant contenir de rares hématies. Dans ces macrophages le noyau est visible à frais sous l'aspect d'une masse réfringente et ces cellules n'ont pas une mobilité facilement décelable comme celle d'une amibe.

On a décrit des rares cas d'*Entamæba coli* ayant absorbé une hématie mais plus fréquemment on voit des *Entamæba coli* contenant des levures dans une vacuole digestive. Ces levures, rouges après coloration, sont confondues avec des hématies.

### – Forme kystique

Le kyste d'*Entamæba histolytica* est presque toujours sphérique. Une forme plus ovoïde voire plus irrégulière est certes observable mais beaucoup plus rarement que dans l'espèce *Entamæba coli*. Il mesure en moyenne de 12 à 14 µm mais dans des variétés naines on peut en trouver de 8 à 10 µm.

La paroi du kyste est fine si bien qu'il est parfois difficile de savoir si la sphère repérée est un prékyste ou un kyste vrai d'autant que le contenu est optiquement vide sauf en cas de présence de vacuole (kyste jeune) ou de cristalloïdes.

. Le kyste mûr contient normalement 4 noyaux groupés au centre ou dispersés dans la petite sphère kystique. Ces noyaux mesurent environ 2 µm de diamètre.

. Les kystes en formation présentent successivement un puis deux noyaux dont l'activité rend la structure plus atypique.

. Le kyste à un noyau peut contenir une vacuole iodophile, quand il s'agit d'un kyste nain le noyau semble relativement gros et son diamètre est au moins égal au rayon du kyste.

. Le kyste à deux noyaux contient souvent une vacuole iodophile et les deux noyaux restent accolés du même côté de la vacuole à la différence du kyste à deux noyaux d'*Entamæba coli*.

. On a décrit d'exceptionnels kystes à 8 noyaux.

. Le ou les cristalloïdes, repérables à frais, sont trapus et évoquent la forme d'un petit pain, d'une saucisse. Leur présence n'est pas obligatoire. Ils ne se colorent pas au MIF-coloration qui, par ailleurs, permet facilement de colorer les noyaux et est une excellente technique pour diagnostiquer les kystes d'*Entamæba histolytica*.

Après concentration de Telemann-Rivas la coque des kystes d'*Entamæba histolytica* a tendance à se dédoubler donnant l'impression d'un croissant clair entre la paroi externe et la paroi interne. Ce phénomène qui se produit pour d'autres kystes n'est pas observé avec le kyste d'*Entamæba coli* qui peut, rappelons-le, donner une image de grelot mais dont la coque ne se dédouble pas.

### ***Entamæba hartmanni* von Prowasek, 1912**

A cause de sa petite taille elle est souvent confondue avec l'*Endolimax nanus* (cf. infra). A cause de sa morphologie, de son kyste à quatre noyaux elle est parfois dénommée variété naine d'*Entamæba histolytica*.

Dans certaines statistiques son nom n'apparaît pas et curieusement, par rapport aux statistiques sérieuses, l'incidence d'*Entamæba histolytica* est majorée. Pour nous, nous ne l'observons pratiquement pas chez les Français mais elle est présente chez 2 % des Maghrébins, 4 % des Africains Noirs et 2 à 4 % des Extrême-Orientaux.

### – Forme végétative à frais

*Entamæba hartmanni* se présente comme une petite amibe mobile d'un diamètre de 3 à 7 µm. Exceptionnellement elle peut atteindre 10 µm. Elle circule dans le

champ microscopique en coulant rapidement comme l'*Entamæba histolytica*. Sa petite taille ne lui permettant pas d'absorber de grosses particules, cette amibe a donc un endoplasme finement granuleux. Fine, gracile, aux mouvements rapides, elle donne une impression d'élégance. Le noyau n'est pas visible à frais.

#### – Forme végétative après coloration

Après coloration au MIF, le noyau du type *Entamæba* est particulièrement net. Si, théoriquement, la chromatine est irrégulièrement répartie à la périphérie et le caryosome de grande taille, en réalité la petitesse du noyau (1 à 3 µm) ne permet pas d'apprécier ces subtilités morphologiques et il serait facile de croire qu'il s'agit d'un noyau d'*Entamæba histolytica* si l'on ne tenait compte de la taille de l'amibe et du noyau.

#### – Forme kystique

Le kyste habituellement sphérique mesure de 3 à 10 µm de diamètre et contient, mûr, quatre noyaux de 1 à 1,5 µm de diamètre c'est-à-dire extrêmement petits.

Les kystes immatures peuvent contenir quelques petites vacuoles mal colorées par le Lugol. Dans le kyste à un noyau le diamètre de celui-ci n'atteint jamais la taille du rayon du kyste (25 à 40 % selon Ho-Thi-Sang).

### ***Entamæba polecki* von Prowasek, 1912**

Cette amibe du porc est exceptionnellement observée chez l'homme. Elle semblerait plus fréquente dans les populations où l'élevage du porc est communément pratiqué en liberté dans le village. Elle est certainement confondue avec *Entamæba histolytica* ou plutôt avec une association de cette amibe et de l'*Entamæba coli*. Elle est abondante dans certaines diarrhées.

#### – Forme végétative à frais

La taille de cette amibe est variable allant de 10 jusqu'à 25 µm. Si, comme dans l'*Entamæba histolytica*, endoplasme et exoplasme sont nets et le noyau peu ou pas visible à frais, en revanche elle contient souvent de grosses vacuoles digestives et sa mobilité la fait comparer à une *Entamæba coli*. Toutefois, dans les selles diarrhéiques, elle peut avoir des mouvements rapides unidirectionnels.

#### – Forme végétative après coloration

Le noyau à membrane nucléaire mince est comparable à celui de l'*Entamæba histolytica* mais peut être plus irrégulier.

#### – Forme kystique

On comprend la difficulté d'affirmer le diagnostic d'*Entamæba polecki* sur la seule forme végétative et nous pensons qu'aucun coprologiste ne peut éliminer la possibilité d'une association avec *Entamæba histolytica* ou *Entamæba coli* lorsqu'il observe de nombreuses formes végétatives d'*Entamæba polecki*. En revanche l'étude des kystes est plus satisfaisante. En effet ces kystes, sphériques en général et de taille très irrégulière (9 à 17 µm), ne contiennent qu'un seul noyau. Des formes atypiques en contiennent deux mais jamais plus. Ce noyau relativement petit est du type *Entamæba histolytica*. Dans les kystes immatures sont observables de nombreuses petites vacuoles très rarement réunies. Les cristalloïdes sont fréquents, nombreux, de toute taille et de toute forme.

C'est après coloration à l'hématoxyline ferrique que l'on peut sans discussion affirmer le diagnostic sur la présence dans de nombreux kystes d'une masse d'inclusion pouvant cacher le noyau.

Avec cette même technique on remarque que le nucléoplasme est plus foncé que le cytoplasme, comme dans la forme végétative d'ailleurs.

### ***Entamœba gingivalis* Gros, 1849**

Cette amibe de la bouche n'est pratiquement observée que dans la *materia alba* prélevée au niveau du collet dentaire. Elle est présente chez 40% des français adultes. Sa transmission est le plus souvent directe (rôle du baiser labio-labial). Elle ne s'enkyste pas. Sa taille, son contenu (grosses vacuoles contenant même des flagellés) et son noyau visible à frais la font ressembler à une *Entamœba coli*. Elle se cultive facilement sur le milieu de Dobell.

### **Morphologie et épidémiologie des autres amibes**

Ne sont classiquement observées chez l'homme que deux autres genres d'amibes *Endolimax* et *Iodamœba*.

#### ***Endolimax nanus* (Wenyon et O'Connor 1917)**

*Endolimax nanus* dispute à *Entamœba coli* le titre de la première des amibes coliques humaines. Elle lui est d'ailleurs très fréquemment associée. Nous l'observons chez 2 % des français, 12 % des maghrébins, 19 % des africains noirs et 10 à 24 % des asiatiques. Le kyste est la forme contaminante. Sa petite taille est cause de sa méconnaissance dans de nombreuses statistiques.

. *Remarque sur la nomenclature* : *Limax*, la limace, est en latin du genre masculin c'est donc avec raison que les experts l'appellent *Endolimax nanus* et non *Endolimax nana* comme beaucoup l'ont appris.

#### – Forme végétative à frais

Cette minuscule amibe se différencie peu, par sa taille (5 à 10 µm), de l'*Entamœba hartmanni* mais en revanche ses pseudopodes sont caractéristiques. En effet l'amibe émet souvent simultanément des boules d'exoplasme comparées à de petites oreilles de souris. Pour les déplacements les bulles se greffent sur une autre bulle qui s'allonge donnant l'impression de ramifications naissant sous nos yeux.

Le cytoplasme est finement granuleux et les *Sphæritæ* possibles sont rares. Exceptionnellement (formes prémitotiques ?) on peut observer des formes "géantes" de 13 à 15 µm.

Le noyau n'est pas visible à frais.

#### – Formes végétatives après coloration

Le MIF-coloration rend parfaitement visible le noyau sous la forme d'un grain très réfringent qui est le caryosome discoïde plus ou moins accolé à la membrane nucléaire fine mais nette.

Quand ce gros nucléole est vu par-dessus il apparaît comme une masse distincte séparée de la membrane nucléaire par un croissant clair.

Quand il est de profil il semble correspondre à un épaissement de cette membrane et on discute alors de la possibilité d'une *Entamœba*. Une étude soigneuse au plus fort objectif, une petite mobilisation de l'amibe permettent de lever les doutes.

Un minimum d'attention évite de la confondre avec *Entamœba hartmanni*. En revanche il est parfois difficile de distinguer une grosse *Endolimax nanus* d'une petite *Iodamœba*. Les granulations achromatiques absentes du noyau d'*Endolimax* ne sont discutables qu'après coloration à l'hématoxyline ou à l'APV.

#### – Forme kystique

Les kystes d'*Endolimax nanus* sont des sphéroïdes plus ou moins allongés. Leur forme est rarement régulière. On les compare souvent à de petites pommes de terre nouvelles, sphériques sans être de vraies billes. Ils mesurent 3 à 7 µm de diamètre mais les formes allongées peuvent aller au delà de ces mensurations. Ils sont nets, cerclés d'une fine membrane et optiquement vides à frais.

Après coloration à l'iode et surtout après toute technique de coloration (MIF) ou de concentration (Thébault) utilisant un liquide formolé les noyaux sont parfaitement nets sous forme de grains (1 à 4, rarement plus). Dans le MIF-coloration, l'éosine pénètre plus tardivement que le formol et les kystes clairs à reflets verdâtres sont parfaitement repérables.

La paroi des kystes se dédouble souvent après centrifugation. Classiquement ils ne contiennent pas de vacuole, toutefois (kystes altérés?) quelques kystes peuvent être ponctués de vacuolettes iodophiles).

### ***Iodamæba butschlii* (von Prowasek, 1912)**

On dit que *Iodamæba butschlii* est une amibe habituellement parasite du porc mais, curieusement, elle est beaucoup plus fréquente en pays musulman (Maghreb, Afrique de l'Ouest, Proche-Orient : 2 à 3 %) qu'en Europe (0,3 %) ou aux Antilles (près de 1 %). Le kyste est contaminant.

Certains auteurs classiques tiennent encore au nom de *Pseudolimax butschlii*.

#### **– Forme végétative à frais**

De taille moyenne (8 à 15  $\mu\text{m}$ ) cette amibe peut, au premier coup d'oeil, être confondue avec *Entamæba histolytica minuta*.

Toutefois les vacuoles digestives sont souvent nombreuses et assez grosses et les pseudopodes caractéristiques. L'amibe en effet émet des coulées d'ectoplasme en une digitation (doigt de gant) qu'elle rétracte pour en émettre d'autres en un autre point, parfois limitées à une sorte de boule. Dans les selles fluides, elle peut circuler.

Le noyau est facilement visible à frais chez les amibes qui souffrent, or cette amibe est très fragile.

#### **– Forme végétative après coloration**

Après coloration le noyau, assez gros, se présente sous l'aspect d'un volumineux caryosome réfringent arrondi ou ovalaire, central ou excentrique, dans un noyau de 4 à 6  $\mu\text{m}$ , limité par une mince membrane mal colorable. Entre la membrane et le caryosome des granulations dites achromatiques sont repérables après coloration par l'hématoxyline ou l'APV.

#### **– Forme kystique**

Le kyste de *Iodamæba butschlii* est facile à diagnostiquer. A frais on repère aisément ces éléments de taille et surtout de forme irrégulières. De 5 à 20  $\mu\text{m}$  de largeur et de longueur, ils sont comparables à de grosses pommes de terre. Sans coloration, on distingue très bien une vacuole et un grain réfringent correspondant au caryosome du noyau. Après coloration à l'iode, la vacuole très iodophile apparaît en brun foncé elle est toujours présente parfois petite et parfois tellement grande que le noyau est difficile à observer. Unique, elle peut sembler double quand elle est bilobée.

A la MIF-coloration le caryosome est net dans le halo clair du nucléoplasme dont la limite avec le cytoplasme n'est marquée que par la différence de couleur parce que la membrane nucléaire est fine. A l'hématoxyline des grains dits achromatiques sont visibles entre caryosome et membrane nucléaire.

**Tableau II (A) :**  
**Structure nucléaire des protozoaires amiboïdes des selles**

Genres	Membrane nucléaire	Caryosome	Autres détails
<i>Endolimax</i>	nette	gros, arrondi, central ou ovulaire excentré ou croissant périphérique	pas de granulations achromatiques
<i>Entamoeba</i>	tapissée d'une couche de chromatine	plus ou moins central plus ou moins gros selon l'espèce	réseau de très fines granulations entre caryosome et membrane nucléaire
<i>Iodamoeba</i>	mince	grosse masse irrégulière centrale ou paracentrale	granulations achromatiques entre membrane et caryosome
<i>Dientamoeba</i>	mince	central en 4 ou 5 grains chromatiques en amas irrégulier	deux noyaux en général, finement reliés

**Tableau II (B) :**  
**Structures nucléaires des amibes du genre *Entamoeba***  
*(après coloration à l'hématoxyline ferrique)*

<i>Entamoeba</i>	Membrane nucléaire	Diamètre en $\mu\text{m}$	Couronne chromatique	Caryosome
<i>coli</i>	épaisse	5 à 7	granulations grossières, irrégulièrement réparties	assez gros et excentré dans le noyau, entouré d'un halo clair et de granulations chromatiques
<i>histolytica</i>	fine	3 à 5 f.min 5 à 8 f.hist	granulations fines et régulièrement disposées	central ou subcentral, rarement excentré ( <i>f. minuta</i> ), punctiforme, petit ; halo clair, irrégulièrement étroit ; pas de granulation chromatique
<i>hartmanni</i>	fine	inf. à 3	granulations grossières	subcentral ou excentré et relativement gros
<i>polecki</i>	mince	4 à 7	granulations fines et régulièrement disposées	très petit, central ou excentré sur fond plus sombre que le cytoplasme

**Tableau III :**  
**Comparaison des cytoplasmes des formes végétatives amiboïdes**  
*(examen direct sans coloration)*

Espèce	T. moy. en µm	Déplacement	Pseudopodes	Vacuoles	Inclusions
<i>D. fragilis</i>	10-12	nul ou très faible	en ailes de ventilateur	petites et peu visibles	bactéries etc... pouvant déformer le protozoaire
<i>E. nanus</i>	5-10	nul ou faible sauf diarrhée	boules claires en grappe	petites, nettes	très peu, sphaerita parfois
<i>E. coli</i>	15-30	anarchique faible, lent sauf diarrhée	courts, larges se rétractant sans cause	nombreuses grosses	bactéries, sphaerita parfois kystes ou f.v. de protozoaire
<i>E. hartmanni</i>	5-7	unidirectionnel	hyalins	petites	peu, sphaerita rarement
<i>E. histolytica</i>	10-12 15-30	unidirectionnel	hyalins	petites, peu visibles sauf f. hist.	peu, sphaerita rarement, hématis (f. hist.)
<i>E. polecki</i>	10-25	nul sauf diarrhée	ronds, lents	grosses	très abondantes
<i>I. butschlii</i>	8-15	faible, amibe fragile	doigts de gant, puis grosses boules	nombreuses, taille moyenne	très abondantes

**Tableau IV :**  
**Comparaison des kystes d'*Entamoeba* immatures**

Kystes	<i>E. coli</i>	<i>E. hartmanni</i>	<i>E. histolytica</i>	<i>E. polecki</i>
à 1 noyau	noyau visible à frais gros noyau souvent ovale, en activité caryosome fractionné	noyau invisible à frais, occupant 25-40% du diamètre, nombreuses petites vacuoles	noyau invisible à frais, occupant 40-50% du diamètre, (45-50% dans k. nains), quelques vacuoles irrégulières	noyau occupant 25-30% du diamètre, multitude de petites vacuoles (diff. dist. noyau)
à 2 noyaux	noyaux ovalaires de chaque côté de grande vacuole iodophile	noyaux côte à côte, nombreuses petites vacuoles	noyaux côte à côte, vacuole iodophile fréquente	rare (1%)
à 4 noyaux	noyaux groupés de grande taille de forme irrégulière	voir kyste mûr	voir kyste mûr	

**Tableau V :**  
**Comparaison des kystes amibiens mûrs**

Remarque : les kystes parfaitement mûrs ne contiennent pas de cristoïdes mais comme ces éléments sont encore présents longtemps après la fin de la division de maturation des noyaux, ils sont décrits dans les kystes mûrs.

Espèce	Taille en $\mu\text{m}$ réfringence	Forme	Cristalloïdes	Vacuoles	Nb de noyaux
<i>E. nanus</i>	3-7 peu réfringent	sphère $\pm$ difforme	jamais	non	1 à 4
<i>E. coli</i>	14-30 très réfringent	ballon (foot ou rugby) parfois difforme	en aiguilles	non	8 voire 16 même 32
<i>E. hartmanni</i>	3-10 réfringent	sphérique ou ovalaire	trapus, en saucisses	non	4 très fins de 1 à 1,5 $\mu\text{m}$
<i>E. histolytica</i>	12-14 8-10 (nains) assez réfringent	sphérique rarement déformé	trapus, en saucisses	non	4 de 2 $\mu\text{m}$ except. 8
<i>E. polecki</i>	9-17 réfringent	sphérique	tous aspects possibles	2 à 4 petites mal colorées à l'iode	1 petit
<i>I. butschlii</i>	5-20 réfringent	toutes les formes	non	toujours, $\pm$ grande	1 seul visible à frais

### **Morphologie des flagellés et Incertae sedis**

En partant de la bouche, on observe des flagellés au niveau du collet dentaire (*Trichomonas tenax*), dans le duodéno-iléon (*Giardia intestinalis*) puis dans le cæcum et le colon. A ce niveau à côté de la bande des quatre flagellés classique (*Chilomastix*, *Enteromonas*, *Pentatrichomonas* et *Retortamonas*) il faut placer un flagellé d'aspect amibien *Dientamæba* et un parasite inclassable mais que des travaux tout récents placent dans les protozoaires : *Blastocystis hominis*.

#### ***Trichomonas tenax* (Mueller, 1773)**

Ce flagellé vit dans la *materia alba* au niveau du collet dentaire. Il est souvent associé à la pyorrhée alvéolo-dentaire et, comme d'ailleurs *Entamæba gingivalis*, on peut éventuellement le retrouver dans les cryptes amygdaliennes en cas d'infections chroniques. Chez les adultes français, on compte environ 20 % de sujets infestés. Il est vraisemblable qu'il participe à l'irritation gingivale. Il ne s'enkyste pas et est transmis le plus souvent directement lors d'un baiser labio-labial. Associé à des germes, on l'a retrouvé dans des localisations pulmonaires ou pleurales. S'il est possible de le déceler par examen direct à frais d'un prélèvement de *materia alba* la mise en évidence par culture en 24 à 72 heures est nettement plus facile. Il résiste bien en milieu humide à température de la pièce.

#### **. Description**

De 5 à 10  $\mu\text{m}$  de long de moyenne il est plus petit à 39° et plus gros et grand à 30°. En forme d'amande se terminant par un petit éperon (extrémité de l'axostyle) il circule grâce à un bouquet de quatre flagelles antérieurs et une membrane ondulante que l'on peut observer lorsque l'animal ralentit ses mouvements (milieu épais ou stade prémortel).

### ***Giarda intestinalis* Lambl, 1859**

Ce parasite du duodéno-iléon est en général facilement reconnu sous sa forme kystique. Il est le plus souvent cause de troubles digestifs. Ne se multipliant pas dans les milieux habituels pour protozoaires, le diagnostic repose sur la découverte des formes végétatives par tubage duodéal, après entérotests ou dans les selles très diarrhéiques et sur la reconnaissance des kystes caractéristiques dans les selles.

En dehors des petites épidémies (crèches, écoles) plus fréquentes en pays d'hygiène réduite, il s'observe chez 5 à 10 % des consultants d'Europe de l'Ouest. Le kyste est contaminant.

#### – Forme végétative

Fragile, la forme végétative ralentit vite ses mouvements hors de l'organisme mais, même peu mobile, sa morphologie est si caractéristique qu'on la reconnaît bien à frais et encore plus facilement après coloration qui souligne ses traits distinctifs. Sa forme générale est de, face, celle d'une poire allongée, d'une toupie et, de profil, d'un bonnet, d'une corne d'abondance. Dans la partie antérieure, déprimée, on observe deux noyaux volumineux dont la disposition évoque les deux taches dorsales du serpent à lunettes. Une étude attentive permet de compter huit flagelles tous dirigés vers l'arrière, deux antéro-latéraux, deux postéro-latéraux, deux ventraux et deux postérieurs qui prolongent l'axostyle et restent très longtemps agités d'une certaine mobilité quand la forme végétative est mourante.

Dans les formes prékystiques, on observe, en outre, des corps en formes de virgules réfringentes, les corps parabasaux, en arrière des noyaux.

#### – Forme kystique

##### . Kystes typiques

Après immobilisation la forme végétative sécrète une coque et se divise. Le kyste mûr contiendra donc deux parasites c'est-à-dire quatre noyaux.

Avant de prendre sa forme définitive, c'est-à-dire un ovale particulièrement régulier le kyste jeune est plus large dans la région des noyaux et on peut observer quelques mouvements à l'intérieur de la paroi du kyste. Le kyste mûr mesure 10 à 13  $\mu\text{m}$  de long sur 8 à 9  $\mu\text{m}$  de large. La paroi est fine mais les parasites ne remplissent pas tout l'espace offert : il existe un espace sous la coque soulignant celle-ci d'un halo clair.

Dans le kyste les noyaux sont suffisamment réfringents pour être visibles à frais, de même que les corps parabasaux. Les flagelles réunis en mèche dessinent une sorte de S souple au milieu du kyste dans le sens de la longueur.

##### . Kystes dégénérés, kystes "bleus"

Sous traitement mais aussi spontanément on peut trouver des kystes au contenu mort, rétracté. D'autre part à côté de kystes typiques existent parfois des kystes plus petits qu'ils ne faut pas confondre avec des kystes d'*Endolimax* ou de *Chilomastix* et qui présentent la particularité de prendre une belle couleur bleu-acier au colorant de Lugol. Il arrive que seule persiste la coque ouverte ayant perdu son contenu.

### ***Chilomastix mesnili* (Wenyon, 1910)**

*Chilomastix mesnili* est sensiblement aussi fréquent que *Pentatrichomonas hominis* ... ou aussi rare c'est-à-dire 1 à 3 % dans les zones à risque fécal.

Selon les régions c'est l'un ou l'autre des parasites qui domine mais aussi selon la compétence des techniciens car la confusion est fréquente entre les deux parasites d'autant plus qu'ils sont souvent associés. La contamination est due à l'absorption du kyste.

#### – Forme végétative

Ce gros flagellé est de taille assez variable. Les plus petits peuvent être confondus avec l'*Enteromonas*; les plus gros atteignent 15 à 20  $\mu\text{m}$  de long sur 5 à 6 de large.

La forme est caractéristique : arrondi en avant, pointu en arrière le flagellé est reconnaissable à ses mouvements tourbillonnants. En observant attentivement le parasite on voit un sillon de torsion dans le sens de la longueur du parasite lui donnant l'aspect d'un linge essoré. Le cytostome est net et contient un court flagelle qui semble battre dans le cytostome. C'est ce caractère qui a permis de donner son nom au parasite (cil entre les lèvres). En avant partent trois autres flagelles. Des vacuoles digestives sont parfois visibles dans le cytoplasme.

#### – Forme kystique

L'élimination des kystes est très irrégulière. Ils peuvent passer inaperçus parce que petits mais, à la coloration de MIF, on les distingue bien en clair sur fond rose.

Ces kystes mesurent de 5 à 8,5  $\mu\text{m}$  et ont la forme d'une grosse poire ronde. La paroi est épaisse, réfringente. A la pointe du kyste on observe un petit aplatissement et un épaississement de la coque.

A frais et surtout après coloration on ne voit qu'un seul gros noyau excentrique occupant presque la moitié de la largeur et formé d'une couronne de chromatine tapissant une membrane nucléaire fine. Il ne faut pas confondre ce noyau avec un noyau d'*Entamoeba*. La mèche des flagelles réunis est latéralisée par le noyau mais visible.

#### ***Enteromonas hominis* da Fonseca, 1915**

*Enteromonas* est le plus petit des flagellés du tube digestif de l'homme. Sa petitesse, sa fragilité (il ne survit au maximum que trois à quatre heures dans les selles pâteuses) font qu'il est rarement diagnostiqué.

La rareté des kystes et la difficulté de les reconnaître diminuent encore les chances de diagnostic si bien qu'il n'apparaît pas dans nombre de statistiques dans des régions où il est notoirement présent. Pour nous, nous l'observons chez 1 à 2 % des Africains Noirs et de moins en moins au fur et à mesure que l'on remonte vers les pays occidentaux. Il est fréquemment associé à *Pentatrichomonas hominis*.

#### – Forme végétative

De la taille d'une grosse levure (3 à 5  $\mu\text{m}$ ) l'*Enteromonas* danse, se trémousse sur place dans le champ microscopique mais très vite il s'immobilise et il faut être attentif pour distinguer les lents mouvements languissants de ses trois flagelles. Vaguement triangulaire il n'a pas de cytostome visible. L'un des deux flagelles antérieurs est dédoublé à partir des deux tiers de sa longueur. Le troisième ne s'individualise qu'à la partie postérieure du protozoaire sans former de membrane ondulante. Après coloration (MIF) une recherche attentive à l'immersion permet de retrouver les *Enteromonas* et de voir le flagellé dédoublé.

#### – Forme kystique

Relativement gros par rapport à la taille de la forme végétative le kyste d'*Enteromonas* mesure de 6 à 8  $\mu\text{m}$  de long sur 3 à 4  $\mu\text{m}$  de large. Il est en forme d'ovoïde allongé, plus petit et surtout plus mince que le kyste de *Giardia*. La minceur de la paroi permettra de le différencier des arthrospores évoluées de *Geotrichum*. Il contient de un à quatre noyaux. Après coloration les flagelles peu visibles s'entrecroisent au centre du kyste.

#### ***Pentatrichomonas hominis* (Davaine, 1860)**

*Pentatrichomonas hominis* est un flagellé observé chez 1 à 3 % des personnes venant de zones à hygiène incertaine.

Ce flagellé est très résistant sous sa forme végétative et ne s'enkyste pas. Le contagé s'effectue donc par absorption d'aliments souillés où survit la forme végétative. Il est souvent associé à *Enteromonas hominis*. La culture en est facile sur milieu de Dobell.

La taille de ce parasite est de l'ordre de 10 à 15 microns de long sur 7 à 10 microns de large. Certains exemplaires sont plus petits. La forme en amande (pointue aux deux extrémités) est caractéristique, prolongée à l'extrémité postérieure par un spicule qui correspond au prolongement de l'axostyle (axe "rigide" du parasite). En milieu épais ou avant de mourir le parasite laisse observer ses cinq flagelles antérieurs et sa membrane ondulante qui ondule latéralement comme la crête d'un dragon de légende.

Le cytostome (zone de formation de vacuoles digestives : bouche du protozoaire en quelque sorte) n'est pas nettement visible. La coloration n'apporte aucune aide réelle au diagnostic. La culture permet d'augmenter le nombre de parasites et de mieux les étudier en cas de doute.

### ***Retortamonas intestinalis* (Wenyon et O'Connor, 1917)**

Encore appelé par certains, *Embadomonas*, le *Retortamonas* est certainement le plus rare des flagellés diagnostiqués chez l'homme. Sa découverte est anecdotique. Il est plus fréquent, comme tous les parasites à contamination kystique, dans les pays à hygiène réduite.

#### – Forme végétative

Le *Retortamonas* est un peu plus petit que le *Chilomastix* et a le même aspect général mais il n'y a pas de sillon de torsion pour cacher le cytostome si bien que celui-ci est visible de profil et forme une sorte d'encoche. Il n'y a pas de flagelle dans le cytostome. En avant on ne compte que deux flagelles.

#### – Forme kystique

Le kyste de *Retortamonas* est le plus petit des kystes des flagellés humains. Il mesure que 4 à 6  $\mu\text{m}$  de long sur 2 à 3  $\mu\text{m}$  de large. Il est piriforme comme le kyste de *Chilomastix* mais en forme de poire allongée. Sa paroi est épaisse. Après coloration on voit très bien un noyau unique au centre de la partie large entourée des deux flagelles qui se réunissent pour gagner l'extrémité effilée formant une sorte de Y.

**Tableau VI :**  
**Formes végétatives des flagellés**

Genres	Taille en $\mu\text{m}$	Forme		Détails caractéristiques	Autres flagelles
		face	profil		
<i>Chilomastix</i>	14-20 / 6-10 parfois plus petit (6-10)	allongé avec beaucoup de vacuoles alimentaires		sillon de torsion, cytostome avec flagelle	3 partant de l'avant
<i>Enteromonas</i>	3-5	triangulaire ou arrondi		formes de divisions fréquentes 1 fl. av. divisé	2 en avant 1 en arrière
<i>Giardia</i>	10-20 / 6-10	toupie cerf-volant	cuiller	2 noyaux 1 faux axostyle corps parabasaux	2 fixés en avant 2 en arrière 4 latéraux
<i>Pentatrichomonas</i>	10-15 / 7-10	en amande, pointu aux deux bouts		membrane ondulante, axostyle dépassant de l'extrémité postérieure, pas de cytostome visible	5 (parfois 3-4) fixés en avant
<i>Retortamonas</i>	5-17 / 3-4	allongé	oiseau sabot	pas de torsion, cytostome sans flagelle	2 fixés en avant

**Tableau VII :**  
**Kystes de flagellés**

Genres	Taille en $\mu\text{m}$	Forme	Paroi	Noyau	Détails particuliers
<i>Chilomasix</i>	5-8,5 / 4-6	poire arrondie	épaisse surtout à l'apex	1 gros latéralisé	Noyau, flagelle, cystostome plus ou moins nets
<i>Enteromonas</i>	6-8 / 3-4	ovale très allongée	mince, peu réfringente	1 à 4	cont. 4 parasites, flagelles peu visibles
<i>Giardia</i>	10-13 / 8-9	ovale pur (k. mûr)	mince réfringente	4	cont. 2 parasites flagelles → cloison corps parabasaux visibles
<i>Retortamonas</i>	4-6 / 2-3	poire allongée	épaisse réfringente	1 central	flagelles formant un Y

### ***Dientamoeba fragilis* Jepps et Dobell, 1918**

Parce que l'on sait que l'*Histomonas*, flagellé parasite des oiseaux, peut prendre un aspect amiboïde et parce que l'étude fine du noyau de la dientamibe prouve qu'il s'agit bien d'une espèce proche de l'*Histomonas* on peut actuellement affirmer que *Dientamoeba fragilis* est un flagellé... sans flagelle. Incontestablement liée à des colites surtout chez les enfants où elle est beaucoup plus fréquente que chez les adultes, cette pseudoamibe pose en outre le mystère de sa transmission. On ne lui connaît pas de kyste et pourtant elle est très fréquemment observée, en particulier en Afrique du Nord (4 à 10 % selon les régions). Pour Burrows et Swerdlow (1956) elle serait transmise par l'œuf d'oxyure.

Elle tient son nom d'espèce au fait qu'elle se lyse rapidement en eau du robinet. Avant d'éclater, on distingue la ou les deux masses nucléaires lui donnant son nom de genre. En revanche elle survit assez longtemps dans les selles à la température du laboratoire mais elle s'arrondit, ressemble à un polynucléaire et un long moment est nécessaire pour la réchauffer et l'inciter à émettre des pseudopodes.

En cas de diarrhées (enfants) elle se trouve en grande abondance mais dans des selles pâteuses ou moulées molles, elle peut être plus rare et, si elle est associée à d'autres amibes caractéristiques, un observateur inattentif la méconnaît souvent.

Sa taille moyenne est de l'ordre de 10 à 12  $\mu\text{m}$  mais des diamètres de 6 à 16  $\mu\text{m}$  sont possibles. Le protozoaire émet des pseudopodes à base large, clairs et courts parfois effilochés comme des pseudopodes de polynucléaires et dont la partie distale est fréquemment plus étalée que la base. Ces pseudopodes émis dans plusieurs directions ont été comparés à des ailes de ventilateur.

Le cytoplasme est assez réfringent, granuleux et contient des vacuoles digestives parfois très grandes. Une bactérie absorbée par la dientamibe peut la déformer comme le boa ayant mangé un éléphant dans le dessin de Saint-Exupéry. Des *Sphaerita* augmentent éventuellement l'hétérogénéité du contenu cellulaire.

Après coloration au MIF le ou les deux noyaux pas toujours visibles apparaissent en ombres denses. Après l'hématoxyline ferrique on voit nettement un ou deux noyaux reliés alors par un fin filament. La membrane nucléaire est très mince et le noyau contient un caryosome formé de 4 ou 5 granules chromatiques en amas.

### ***Blastocystis hominis* Brumpt, 1912**

Ne se multipliant que dans les milieux pour protozoaires, insensibles aux antifongiques, sensibles aux amœbicides de contact, les blastocystis ont pourtant

longtemps été classés dans les champignons inférieurs. Des études récentes imposent de les ranger dans les protozoaires quoique leur place exacte soit extrêmement floue. Quant à leur rôle pathogène, nous sommes persuadés qu'ils ne sont pas innocents dans l'étiologie de certaines colites. Nous les trouvons chez 20 % des français et plus de 40 % des africains noirs.

*Blastocystis hominis* se présente sous forme d'éléments arrondis de toute taille (2 à 15  $\mu\text{m}$ ) pouvant évoquer des kystes d'amibe. La limite externe très réfringente est renforcée par une zone claire d'épaisseur variable qui repousse à distance les fines particules et bactéries en suspension.

Après coloration on distingue bien une grande vacuole non iodophile et, à la périphérie, un à quelques noyaux.

Il est possible que le contenu forme une masse granuleuse. Des aspects de bourgeonnements comme on en voit dans les levures sont parfois observés.

Nous n'avons pas, personnellement, observé de pseudopodes.

En cas d'abondance de *Blastocystis* et si l'on craint de ne pas repérer de rares kystes amibiens il est recommandé d'effectuer un examen direct après dilution en eau distillée ou en eau du robinet. Cette dilution les fera éclater et seuls persisteront les kystes suspectés.

## **Sporozoaires et ciliés**

Quatre sporozoaires pouvant se développer dans le tube digestif (grêle essentiellement) sont diagnostiqués par examen coproparasitologique ; un seul cilié, le *Balantidium*, est décrit au niveau du gros intestin.

### ***Enterocytozoon bieneusi* Desportes, 1985**

Le diagnostic est porté sur l'examen histopathologique de biopsies duodéno-jéjunales colorées par les techniques de May-Grünwald-Giemsa ou de Ziehl ou par l'hématoxyline-éosine-safran. Sont observées, en intracellulaire, des spores ou des plasmodes en amas. L'exactitude du genre et de l'espèce n'est affirmée qu'après étude au microscope électronique.

La mise en évidence des spores éliminées dans les selles est effectuée sur frottis après coloration de May-Grünwald-Giemsa ou mieux après trichrome. A l'objectif x100 les spores apparaissent alors en rouge, de forme ovoïde mesurant de 1 à 1,5  $\mu\text{m}$  de long sur 1  $\mu\text{m}$  de large. La présence d'une vacuole plus claire permet de les distinguer des bactéries environnantes.

### ***Cryptosporidium muris* Tyzzer, 1907**

La contamination par *Cryptosporidium* est due à l'absorption d'oocystes. Elle est suivie de multiplications asexuées (schizogonies) et de gamétogonies se déroulant sous la membrane des cellules intestinales mais en dehors du cytoplasme proprement dit, se terminant par l'élimination d'oocystes retrouvés dans les selles. En cas de diarrhées chez les immunodéprimés et chez les enfants primo-infestés, ces oocystes sont nombreux dans les selles; la surveillance des selles des immunodéprimés permet de déceler des débuts de rechute sur la présence de rares parasites.

#### **Description**

C'est essentiellement après coloration de Ziehl et Neelsen qu'on repère au fort objectif à sec (X 40) de petits disques rouge vif sur le fond bleu-vert, mesurant environ 4 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre.

A l'objectif à immersion, on distingue nettement une paroi épaisse et, à l'intérieur, des granules plus réfringents (quatre normalement dont souvent un ou deux ne sont pas discernables). La coloration, inhomogène, se traduit par l'existence de zones plus sombres presque noires dans ces oocystes.

Il est illusoire d'espérer distinguer ces oocystes sans coloration sauf en cas d'hyperinfestation.

On a décrit des cryptosporidioses généralisées atteignant même la muqueuse bronchique.

### ***Sarcocystis bovihominis* et *Suihominis* c'est à dire *Isospora hominis* (Raillet et Lucet, 1891)**

L'homme est hôte de la phase sexuée de développement de deux sporozoaires très proches dont la schizogonie s'effectue selon l'espèce chez le bœuf ou le porc. Les fréquences d'observation sont liées à celles de la consommation de viande mal cuite. En France, selon les régions, les saisons, les habitudes alimentaires on trouve de 2 à 3 % de selles contenant *Sarcocystis bovihominis*; en revanche *Sarcocystis sui hominis* est beaucoup plus rare (viande de porc habituellement bien cuite et porc élevé dans de bonnes conditions d'hygiène).

Pour obéir aux préceptes des experts nous employons *Isospora hominis* mais pour la différence entre les deux espèces dues au bœuf et au porc nous utilisons les termes de *Sarcocystis*.

#### . Description

Les sporocystes d'*Isospora hominis* sont habituellement trouvés en petit nombre et le plus souvent après concentration. Ils sont isolés ou encore groupés en couple et les axes des sporocystes sont alors parallèles. Les hyperinfestations causes de diarrhées, sont très rares. Les sporocystes de *Sarcocystis bovihominis* mesurent en moyenne 14 à 15  $\mu\text{m}$  et ceux de *Sarcocystis sui hominis* 12 à 13  $\mu\text{m}$  c'est dire combien il est souvent difficile de les distinguer.

Leur morphologie est identique; ils sont régulièrement ovalaires comme un kyste de *Giardia* avec lesquels ils peuvent être confondus mais leur paroi est nettement plus épaisse, très réfringente. A l'intérieur on remarque, à un pôle une boule de grosses granulations appelée corps résiduel et, à côté, quatre corps en saucisse, plus ou moins parallèles, les sporozoïtes.

### ***Isospora belli* Wenyon, 1923**

Parasite essentiellement observé en pays chaud, *Isospora belli* doit un regain d'actualité à sa particulière gravité chez les immunodéprimés.

Une à plusieurs multiplications schizogoniques aboutissent à des gamétogonies intracellulaires avec élimination d'oocystes dans les selles.

#### – L'oocyste

L'oocyste éliminé dans les selles a la forme d'un œuf de poule mesurant en moyenne 30  $\mu\text{m}$  de long (25 à 33) sur 12  $\mu\text{m}$  de large (12 à 16). La coque est mince, lisse, transparente et incolore ce qui peut être cause d'une méconnaissance de ce parasite. A fort grossissement on remarque un micropyle fermé d'un minuscule couvercle : c'est-à-dire une petite interruption dans la paroi de l'oocyste.

Dans cet oocyste une seule cellule arrondie, granuleuse, sphérique de 10 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre. Très rarement, dans des selles fraîchement émises, on peut observer des oocystes contenant deux cellules sphériques de 7 à 8  $\mu\text{m}$  de diamètre.

#### – Évolution

Dans les selles abandonnées à la température du laboratoire soit telles quelles, soit additionnées de poudre de charbon (contre les fermentations) ou de solution aqueuse d'acide chromique à 0,5 %, on voit la cellule sporoblastique se diviser en deux sporoblastes qui, en 48 heures, se transforment en sporocystes. Ces deux sporocystes restent accolés dans l'oocyste et ne se libèrent pas normalement. Ils sont alors infestants. Ces sporocystes mesurent de 11 à 14  $\mu\text{m}$  de long sur 7 à 9  $\mu\text{m}$  de large donc plus petits en général que ceux d'*Isospora hominis*. Ovalaires, à membrane réfringente, ils contiennent un volumineux corps résiduel compact,

bien limité, au centre du sporocyste; autour de ce corps résiduel s'allongent quatre sporozoïtes en forme de banane dont l'une des extrémités serait plus pointue.

– Diagnostic différentiel

Il n'est pas rare d'observer dans des selles humaines des coccidies en transit. Rappelons que lorsqu'il s'agit d'un parasitisme les oocystes doivent être tous au même stade d'évolution, non cuits (coagulés) et appartenir au genre *Isospora* (sporoblastes égaux) qui, jusqu'à présent, est seul connu comme susceptible de parasiter l'homme.

Dans le genre *Eimeria*, fréquent chez les animaux, l'oocyste comprend rapidement quatre sporoblastes et bientôt quatre sporocystes à deux sporozoïtes. Le genre *Eimeria* est parasite aussi bien de certains mammifères, lapin par exemple, que des oiseaux ou des poissons. On en trouve dans de très nombreux organes.

**Balantidium coli (Malmsten, 1857)**

Ce seul cilié parasite de l'homme est rarement diagnostiqué. L'homme se contamine en absorbant des kystes éliminés par les rats et les porcs, réservoirs de cette parasitose.

– Forme végétative

A l'examen direct ou après coproculture on remarque facilement ce gros protozoaire de 50 à 100 µm de long sur 40 à 60 µm de large circulant rapidement grâce aux cils dont il est couvert. Ces cils sont disposés en bandes longitudinales et plus épais près du cytostome (péristome). De forme ovoïde, contenant des vacuoles digestives et des vacuoles contractiles d'excrétion, il ne peut être confondu qu'avec des ciliés libres (vérifier que l'eau de dilution n'est pas souillée avant de porter un diagnostic de balantidiose). A frais et surtout après coloration on voit la grosse masse du macronucleus. Le micronucleus dans une encoche du macronucleus n'est mis en évidence que par des techniques très fines de coloration.

– Forme kystique

Le kyste plus ou moins ovalaire mesure de 45 à 65 µm de long. Il a des reflets verdâtres et est entouré d'une paroi très réfringente à double contour. Il ne contient qu'un seul balantidium susceptible de se mouvoir à l'intérieur de sa coque.

**Tableau VIII :**  
**Coccidies observées dans les selles humaines**

Nom	Oocyste (µm)	Sporocyste (µm)	Autres particularités
<i>C. muris</i>	sphérique 4-5		pratiquement visibles seulement après coloration
* <i>E. stiedai</i> * <i>E. perforans</i>	30-49 / 20-28 26-35 / 14-20	abs. avec un foie animal : ne sont pas observés dans les selles humaines sous une forme évoluée	
* <i>E. sardinae</i>	sphérique 30-40	(30-32 / 7,5)	couleur jaune ou brun clair
* <i>E. clupearum</i>	sphérique	(10/7)	incolore
<i>I. belli</i>	25-33 / 12-16	(11-14 / 7-9)	+ critaux de Charcot-Leyden et acides gras
<i>I. hominis</i>	non observé	14-15 / 9-10	le plus souvent en très petit nombre
* <i>I. bigemina</i>	18-20 / 14-16	(13-15 / 9-10)	aspect : grande forme ; parf. spor.
* <i>I. rivoltai</i>	20-24 / 15-20	(12-15 / 9-10)	spor. parfois observés (transit)

*C.* = *Cryptosporidium* ; *E.* = *Eimeria* ; *I.* = *Isospora*.

Mensurations entre parenthèses : éléments observés après évolution (culture)

\* : coccidies animales en transit

**Tableau IX :**  
**Détails morphologiques (coccidies humaines)**

Nom	Forme	Contour	Contenu
Oocyste de <i>C. muris</i>	sphère	réfringent épais	4 sporozoïtes en grains difficilement visibles après coloration
Sporocyste d' <i>I. belli</i>	ovale régul. allongé	net, épais réfringent	4 sporozoïtes en bananes et corps résiduel limité
Sporocyste d' <i>I. hominis</i>	ovale régul. allongé	net, épais réfringent	4 sporozoïtes en bananes et corps résiduel grossier, non limité

## Les vers parasites à œufs fécaux

Le tube digestif peut contenir de nombreuses espèces différentes de vers parasites dont certains sont très spécifiques de l'homme. Embryologiquement, l'entoblaste est à l'origine du tube digestif, de celui-ci bourgeonnent les canaux biliaires, les bronches et bronchioles. Les vers parasites de ces voies pondent des œufs que l'on retrouvera éventuellement dans les selles. Avant d'envisager la morphologie de ces œufs (ou larves) un bref rappel des cycles parasitaires est indispensable.

### **Les cycles parasitaires**

#### **Cestodes**

Les cestodes, vers plats en ruban qui intéressent l'homme font partie des cyclophyllidés ou des pseudophyllidés. Les cestodes parasites de l'homme au stade adulte se retrouvent dans l'intestin grêle. Ils sont hermaphrodites.

##### – Chez les cyclophyllidés

L'œuf ou sa partie interne l'embryophore, est éliminé dans les selles de l'hôte définitif, homme pour ce qui nous intéresse ici. Pour évoluer cet œuf résistant devra être avalé par un hôte intermédiaire où il se transformera en cysticerque infectant, boule de quelques millimètres présente dans la graisse ou la viande de bœuf (*Taenia saginata*) ou de porc (*Taenia solium*).

La larve de l'*Hymenolepis nana* est morphologiquement proche du cysticerque (d'où le terme de cysticercoïde) et est retrouvée chez le ver de farine. Assez fréquemment cette larve est présente dans la paroi de l'intestin grêle des sujets infestés (auto-infestation possible).

##### – Chez les pseudophyllidés

L'œuf s'embryonne dans le milieu extérieur, libère une larve (coracidium) qui évolue chez un crustacé microscopique d'eau douce où elle devient une larve procercoïde. Ce crustacé, le cyclops, est absorbé par des poissons. Après le court délai suffisant pour que la larve procercoïde soit devenue plérocercioïde... donc infestante, l'homme se contamine en consommant ces poissons mal cuits. La bothriocéphalose est donc une parasitose des mangeurs de poissons d'eaux douces.

#### **Trématodes**

Les trématodes vers plats foliacés sont, ou bien des douves, parasites des bronches, du tube digestif ou des voies biliaires, ou bien des bilharzies (schistosomes) parasites des vaisseaux du système porte et dont les œufs sont retrouvés dans les selles ou les urines. Les douves sont hermaphrodites, les schistosomes sont sexués.

### – Cycles des douves

Les œufs éliminés dans les selles éclosent, parfois après maturation, et libèrent un miracidium qui va pénétrer chez un mollusque spécifique, premier hôte intermédiaire.

Dans le mollusque, à température suffisante, on observe une évolution et une multiplication de la larve (stades successifs de sporocyste et de rédies). Les cercaires formées dans les rédies vont sortir du mollusque et se transformer en métacercaires dans ou sur un deuxième hôte intermédiaire dont l'absorption sera contaminante. Les douves sont peu spécifiques à l'état adulte.

### – Cycle des schistosomes

De l'œuf infestant sort un miracidium qui pénètre dans un mollusque spécifique où s'effectuent évolution et multiplication (sporocyste, sporocystes fils). Les cercaires qui en sortent pénètrent activement à travers la peau de l'homme qui est en contact avec de l'eau douce contaminante.

## Nématodes

Les vers ronds de l'intestin ou nématodes pénètrent chez l'homme par voie buccale ou par voie transcutanée. Ils sont sexués.

### – Cycle buccal

Les deux nématodes du gros intestin sont contaminants par voie buccale sans cycle interne particulier. L'œuf émis par l'oxyure est directement contagieux (auto-infestation possible) tandis que l'œuf de trichocéphale a besoin de mûrir dans le milieu extérieur (contamination par fruits ou verdure souillée). L'absorption de l'œuf libère une larve qui devient adulte dans l'intestin.

*Ascaris* femelle pond des œufs qui doivent mûrir dans le milieu extérieur pour être infestants. La larve qui sort dans l'intestin après absorption de l'œuf effectue une migration avec maturation qui la fait passer par le foie, le cœur droit, le poumon, les bronches et la trachée-artère avant qu'elle ne soit déglutie et ne devienne adulte dans le grêle où le ver s'installe pour un à deux ans avant de mourir.

### – Cycles transcutanés

Ankylostomes et nécators sont présents dans le duodénum. Les œufs pondus par les femelles évoluent et éclosent après élimination dans le milieu extérieur. Les larves rhabditoïdes qui en sortent évoluent en larves strongyloïdes qui, secondairement, muent et restent dans cette mue (larves "enkystées"). Ces larves strongyloïdes enkystées à géotropisme négatif et dermatropisme positif passent directement à travers la peau saine. Le sang veineux les conduit au cœur droit et le reste du cycle est superposable à celui de l'ascaris. La durée de vie des ankylostomes est au maximum de cinq ans; les nécators peuvent vivre beaucoup plus longtemps (dix ans ...).

Dans l'anguillulose, ce sont des femelles que l'on observe dans le grêle. Les larves rhabditoïdes issues dans l'intestin sont retrouvées dans les selles. Elles peuvent, dans le milieu extérieur, ou se transformer directement en larves strongyloïdes infestantes, ou bien évoluer en adultes mâles et femelles qui permettent la naissance de nombreuses larves rhabditoïdes, bientôt elles aussi transformées en larves strongyloïdes infestantes.

Les larves strongyloïdes infestantes ont le même devenir que les larves strongyloïdes enkystées des ankylostomes et des nécators.

Dans l'anguillulose, un cycle interne assure la pérennisation de l'infestation chez l'homme.

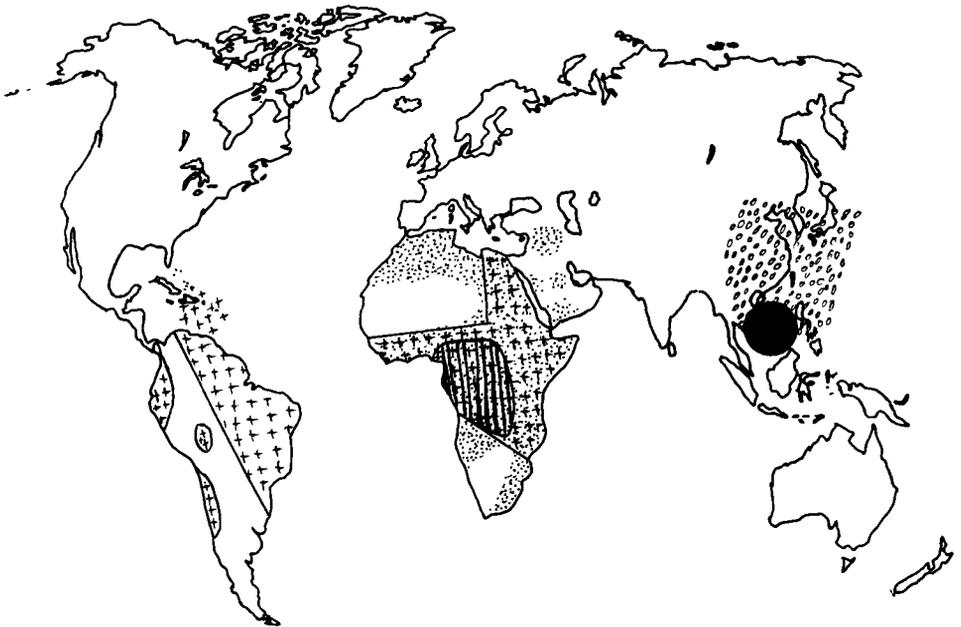
## Rôle pathogène et traitement

Les vers peuvent être cause de réactions très importantes au moment de la migration. Ainsi les troubles respiratoires observés lors des migrations pulmonaires des larves de certains nématodes (ascaris, ancylostomidés, anguillule) peuvent aller jusqu'à la mort (anguillulose maligne). C'est aussi le cas des larves de grande douve traversant le péritoine., la capsule de Glisson et le tissu hépatique pour gagner les voies biliaires.

Une fois installés dans leur site définitif, les vers ont une action mécanique, irritative, toxique, favorisant pour les infections bactériennes et parfois spoliatrice (ancylostomidés, bothriocéphale).

Les plathelminthes sont sensibles à la niclosamide, au praziquantel.

Les némathelminthes sont détruits en particulier par les dérivés du mébendazole.



### Bilharzioses

	Schistosoma haematobium
	Schistosoma mansoni
	Schistosoma intercalatum
	Schistosoma japonicum
	Schistosoma mekongi

## Épidémiologie des helminthoses

L'oxyurose, helminthose à transmission directe sans maturation dans le milieu extérieur, est une maladie cosmopolite.

Trichocéphalose et ascariose sont liées à l'usage de l'engrais humain et la résistance des œufs dans le milieu extérieur en fait des parasitoses cosmopolites pouvant sévir pratiquement sous tous les climats.

Les verminoses à transmission cutanée (ankylostomose, anguillulose) sévissent dans les pays chauds et humides, en particulier là où la population marche pieds nus. L'anguillule est la plus tolérante aux conditions thermiques et peut même évoluer en France continentale.

Les bilharzioses ont besoin non seulement d'eau douce chaude pour évoluer mais également d'espèces particulières de mollusques, c'est ce qui explique l'irrégularité de la répartition de ces maladies (cf. carte).

Les autres helminthoses sont liées aux habitudes alimentaires mais aussi à la présence de certains hôtes intermédiaires et aux possibilités d'adaptation thermique des vers.

Le *Diphyllobothrium latum* (bothriocéphale) est un cestode des lacs et deltas d'eau froide d'Europe et d'Amérique du Nord, mais d'autres espèces sont observées en Afrique et en Amérique du Sud.

Les petites douves de l'intestin sévissent en Méditerranée et au Proche, Moyen et Extrême-Orient.

La grande douve de l'intestin est commune à l'homme et au porc en Asie du Sud-Est.

La grande douve du foie est endémique dans toutes les zones d'élevage des bovidés en pays tempérés faisant place à la douve géante en pays chaud.

De la lecture du Tableau X, il est aisé de conclure qu'un coprologiste risque de contracter dans ses manipulations, outre des maladies à protozoaires, une oxyurose et une hyménolépiase. S'il pratique des coprocultures helminthologiques, il devra craindre les larves d'ankylostome, de nécator et d'anguillule.

## Méthodes d'étude

### Étude des œufs

Nous ne considérons que les œufs trouvés dans les selles fraîchement émises et étudiées dans de bonnes conditions techniques, c'est-à-dire vus en couche mince : un banal œuf de trichocéphale observé en vue apicale apparaît rond et centré par une masse claire alors que quelques tapotements sur la lamelle montreraient sa forme oblongue régulière caractéristique et son double bouchon muqueux. Pour les œufs, sont importants la forme, la taille, l'aspect de la coque et le contenu.

#### – Forme des œufs

La coupe optique des sphéroïdes ou ovoïdes que sont les œufs les transforme en disques ou ovales plus ou moins réguliers.

Se présentent comme des disques les embryophores de *Taenia* et les œufs d'*Hymenolepis*.

Les autres œufs sont ovales. Cet ovale peut évoquer un œuf de poule (une extrémité plus fine que l'autre) et c'est ce que l'on observe pour les œufs de douve de Chine, de petite douve de l'intestin...

Il peut être dissymétrique dans son grand axe avec un côté plus bombé que l'autre (oxyure) voire avec un côté bombé et un côté incurvé (*Heterodera*).

Les autres œufs, d'ascaris, d'ankylostome, de trichocéphale, de schistosome, de grande douve, de bothriocéphale, se présentent sous la forme d'un ovale régulier.

**Tableau X :**  
**Modes de contamination de l'homme par les helminthes**

Nom	Stade contaminant	Temps minimum, d'incubation dans la nature	Hôte intermédiaire ou mode de contamination
Anguillule	larve	2 à 8 jours à 25°	pénétration transcutanée
Ankylostome nécator	larve	10 jours à 25°	pénétration transcutanée boue
Ascaris	œuf	3 semaines à 25°	légumes verts crus
Oxyure	œuf	0 à quelques heures	mains sales, poussière
Ternidens	larve	10 jours	légumes verts crus
Trichocéphale	œuf	3 à 4 semaines à 25°	légumes verts crus
Trichostrongylé	larve	10 jours	légumes verts crus
Grande douve du foie	métacercaire	2 à 5 mois selon température	cresson sauvage
Petite douve du foie	métacercaire	2 à 3 mois	fourmi
Douve de Chine	métacercaire	1 mois environ	poisson cru (lacs)
Grande douve intestinale	métacercaire	3 mois environ	chataignes d'eau
Douve pulmonaire	métacercaire	3 à 6 mois	écrevisse, crabe d'eau douce
Métagonimus	métacercaire	??	poisson cru (lacs)
Petite douve intestinale	métacercaire	??	poisson cru (lacs et mer)
Schistosomes	cercaires	1 mois environ	pénétration transcutanée (eau)
Bothriocéphale	larve plérocercarioïde	1 à 2 mois	poisson cru (lacs)
Dipylidium	larve cysticercoïde	3 à 4 semaines	puce de chien (accid.)
Hymenolepis	œuf ou larve cysticercoïde	direct ou 4-5 jours	mains, crudités, ver de farine
Ténia (saginata)	cysticerque	2,5 à 4,5 mois	viande de bœuf crue
Ténia (solium)	cysticerque	3 mois	viande de porc crue

#### – La taille

Le diamètre des œufs sphéroïdes, la longueur et la largeur des œufs ovoïdes sont d'une importance majeure. Combien d'erreurs, parfois ridicules, n'avons-nous pas observées parce que le biologiste ne possédait pas de micromètre ou bien, tout simplement, oubliait qu'il avait la possibilité de l'utiliser.

#### – La coque de l'œuf

La coque des œufs peut être épaisse ou mince, simple ou double, lisse ou ornementée, d'épaisseur constante ou non, ininterrompue ou faisant place à une zone de structure différente (bouchon muqueux) ou marquée de traits de rupture (opercule).

#### – Le contenu

Le contenu de l'œuf peut remplir la totalité de l'espace offert ou ne l'occuper que partiellement. Il s'agit parfois d'une seule masse cellulaire, de plusieurs cellules (blastomères) toutes identiques ou au contraire dissemblables. La présence d'un

embryon n'est pas rare et les structures de cet embryon sont d'une grande importance (six crochets par exemple dans les œufs ou embryophores des cestodes). Un aspect fragmenté, coagulé, en grains évoquera un œuf en transit ou un œuf non fécondé (*Ascaris*).

### Étude des larves

Dans des selles récemment émises on n'observe normalement que des larves rhabditoïdes de *Strongyloides stercoralis* (anguillule) mais il faudra savoir distinguer ces larves de parasite de celles des nématodes végétaux en transit et même des adultes de nématodes tels les mâles d'oxyure dont la petite taille peut être cause d'erreur.

On étudiera donc la taille de la larve, son aspect général et la structure du tube digestif : rhabditoïde s'il y a un double renflement de la partie antérieure (double striction séparée par une petite boule), strongyloïde si ce renflement atténué est simple (simple striction).

Il faudra également examiner attentivement l'extrémité antérieure (capsule, lèvres etc...), et postérieure (queue effilée ou non) en regardant s'il existe une ébauche génitale et où se situe le pore anal.

### Étude des adultes

Spontanément des vers adultes (oxyures, ascaris...) ou des fragments de vers (cestodes) peuvent être éliminés. On notera leur taille, leur couleur, leur forme, la présence et la disposition des organes de nutrition, de reproduction, de fixation. Il faut se garder d'aspects atypiques dus à des traitements et ne pas se laisser abuser par des éléments végétaux en transit dont l'apparence générale évoque un helminthe ou par des animaux tombés accidentellement dans les matières fécales (asticots).

## Diagnostic morphologique dans les cestodoses

Nous limiterons cette étude morphologique aux éléments indispensables pour reconnaître un ver adulte, soit au niveau du scolex lorsque le ver est éliminé, soit sous l'aspect des anneaux (proglottis). Les œufs éliminés dans les selles seront nécessairement décrits.

### Adultes

#### – La tête ou scolex

Elle se présente sous l'aspect d'un renflement de la partie fine du ver. La tête des ténias a un diamètre de 1 à 2 millimètres, celle de l'hyménolépis un tiers de millimètre. Ces scolex sont munis de quatre ventouses. *Taenia saginata* est inerme, *Taenia solium* a une double couronne de crochets et *Hymenolepis* une couronne simple. La tête du bothriocéphale, allongée (1 x 5 millimètres), est munie de deux organes de fixation ou bothridies qui correspondent à des sortes de ventouses allongées.

#### – Les anneaux ou proglottis

. *Taenia saginata* Leuckart, 1869 et *solium* Linné, 1758

Ce sont généralement les anneaux mûrs du genre *Taenia* que l'on retrouve dans les selles. Ces anneaux sont musculeux, donc spontanément mobiles, blanchâtres et comparables à des pâtes alimentaires cuites. Ils peuvent s'allonger ou se rétracter et ce n'est qu'une fois morts, fixés et étalés qu'on peut donner une taille de 1,5 à 2 cm de long sur 0,5 à 1 cm de large.

Les anneaux immatures commencent au niveau du cou et sont alors nettement plus larges que longs même si cette largeur est inférieure au millimètre.

Tableau XI :  
Taille des œufs

Nom du ver	longueur en $\mu\text{m}$			largeur en $\mu\text{m}$		
<i>Ancylostoma duodenale</i>	71	60	56	45	40	34
<i>Ascaris lumbricoides</i> fécondé	84	60	45	58	45	35
<i>Ascaris lumbricoides</i> non fécondé	105	90	78	55	45	38
<i>Enterobius vermicularis</i>	60	55	50	32	31	30
<i>Heterodera radiculicola</i>	120	100	82	43	30	24
<i>Necator americanus</i>	76	70	64	45	40	36
<i>Strongyloides stercoralis</i>	58	54	52	39	32	31
<i>Syngamus laryngeus</i>		84			42	
<i>Toxocara canis</i>	94	75	80	83	72	65
<i>Toxocara leonina</i>	95	80	76	76	70	63
<i>Toxocara mystax</i>	85	70	68	75	65	58
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	118	80	75	52	45	31
<i>Trichuris trichiura</i> et autres espèces proches	65	55	49	29	25	20
<i>Clonorchis sinensis</i>	30	28	26	17	16	15
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	50	45	40	30	28	25
<i>Echinostoma ilocanum</i>	116	100	83	82	63	53
<i>Fasciola gigantica</i>	190	170	150	95	80	70
<i>Fasciola hepatica</i>	145	135	130	90	80	70
<i>Fasciolopsis buski</i>	140	130	125	85	80	70
<i>Gastrodiscus hominis</i>		150		72	65	60
<i>Heterophyes heterophyes</i>	30	26	25	17	16	15
<i>Metagonimus yokogawai</i>	30	28	27	17	16	15
<i>Opisthorchis felineus</i>	30	28	26	15	13	11
<i>Paragonimus kellicotti</i>	91	85	77	53	53	53
<i>Paragonimus ringeri</i>	100	95	85	67	55	50
<i>Schistosoma haematobium</i>	160	135	120	60	50	40
<i>Schistosoma intercalatum</i>	240	175	140	75	68	60
<i>Schistosoma japonicum</i>	78	72	60	55	50	45
<i>Schistosoma mansoni</i>	160	145	130	70	65	60
<i>Diphyllobothrium latum</i>		70			45	
<i>Dipylidium caninum</i>						
. capsules ovifères		très variable			variable	
. œufs	42	38	35	œufs ronds		
<i>Hymenolepis diminuta</i>	80	70	60	œufs ronds		
<i>Hymenolepis nana</i>	50	45	40			
<i>Taenia saginata</i>				30		
. œufs	60	55	50	± arrondis		
. embryophores	40	35	30	28	25	20
<i>Taenia solium</i>	50	45	40	30		

**Tableau XII :**  
**Morphologie des œufs : petite clef dichotomique**

Aspect extérieur	Contenu	Nom du ver
<b>Coque simple et lisse :</b>		
- mince ou peu épaisse		
. non operculée	4 blastomères 8 blastomères 16 et plus une larve des grains réfringents	ankylostome nécator trichostrongyle, ternidens anguillule, hétérodera ascaris (non fécondés)
. operculée	une cellule ovulaire cerclée de cellules vitellines	grande douve, douve de l'intestin, hétérophidés, douve du poumon, échinostome, gastrodiscus, bothriocéphale
	un miracidium	douve de Chine et des félidés, métagonimus
- épaisse		
. non operculée	un embryon gyreniforme ou vermiforme une cellule ovulaire	oxyure ascaris (sans coque ext.)
. operculée	un miracidium	petite douve (œuf mûr)
. avec éperon		
- terminal	un miracidium	schistosome (haematob. ou intercalatum)
- latéral		
. court ou "bosse"	un miracidium	schistosome (japonicum)
. long	un miracidium	schistosome (mansoni)
<b>Coque double</b>		
- externe mamelonnée interne lisse et épaisse	une cellule ovulaire	ascaris (œuf typique)
- externe épaisse séparée de l'interne par un espace clair	un embryon hexacanthé	hymenolepis
- épaisse brun foncé, striée	un embryon hexacanthé	taenia

Au fur et à mesure que de nouveaux anneaux repoussent vers l'extrémité les anneaux précédemment formés ceux-ci s'élargissent, puis s'allongent pour atteindre leur taille définitive.

On distingue les anneaux du *Taenia saginata* de ceux du *Taenia solium* sur la structure de l'utérus rendu visible par injection à l'aide d'une aiguille hypodermique d'encre de Chine diluée. Si cette injection est effectuée dans l'utérus les arborescences de l'organe apparaissent en noir sur fond clair sinon on obtient l'image en négatif. Une compression entre deux lames est nécessaire pour bien voir la structure utérine. L'acide acétique cristallisable pur éclaire l'anneau, permet de voir les œufs mais ne rend pas toujours l'utérus particulièrement net.

L'utérus de *Taenia solium* est composé d'un axe central sur lequel se greffent 7 à 10 ramifications qui vont s'épanouir en arborescence, en branchettes secondaires. L'utérus de *Taenia saginata* donne naissance à 15 à 30 ramifications qui se divisent par dichotomie.

Latéralement, les anneaux ont une petite éminence correspondant au pore génital où aboutissent les organes mâles et femelles.

. Autres cestodes :

Les anneaux mûrs d'*Hymenolepis* ne sont observés que dans l'intestin grêle. Ils mesurent au maximum 1 cm de large sur un tiers de mm de long. Les pores génitaux sont tous du même côté du ver.

Les anneaux mûrs de bothriocéphale se vident de leurs œufs avant d'être éliminés sous forme de débris indigestibles. En place, de forme grossièrement carrée, encore accrochés à la chaîne du cestode ils mesurent environ 1 cm de long et de large. L'orifice génital et l'orifice de ponte sont médians.

## Œufs

### - Œufs de *Taenia*

Ils sont vaguement arrondis et mesurent de 50 à 60  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ils sont entourés d'une coque externe mince, transparente et incolore contenant d'une part de nombreux granules réfringents et d'autre part un embryophore avec un embryon hexacanthé (6 crochets).

. L'embryophore de *Taenia saginata* est en forme de sphère légèrement ovalisée mesurant en moyenne 35  $\mu\text{m}$  de diamètre (20 à 28  $\mu\text{m}$  sur 30 à 40  $\mu\text{m}$  en cas d'ovale vrai). La coque est lisse, épaisse de 4 à 5  $\mu\text{m}$ , de couleur brun foncé et composée de bâtonnets, comme une barrière de pieux.

. L'embryophore de *Taenia solium* est légèrement plus grand (jusqu'à 50  $\mu\text{m}$ ) et moins ovalisé que celui de *Taenia saginata*. La coque est plus épaisse (5 à 6  $\mu\text{m}$ ) et la densité des pieux constituant la "palissade" de la coque est plus grande.

En réalité il est très difficile sur la seule morphologie de distinguer les embryophores de *Taenia saginata* de ceux de *Taenia solium* et même d'embryophores de cestodes animaux en transit.

### - Œufs d'*Hymenolepis nana* (von Siebold, 1852) et *diminuta* (Rudolphi, 1819)

L'œuf d'*Hymenolepis nana* est particulièrement caractéristique. De forme légèrement ovalaire il mesure 30 x 40  $\mu\text{m}$  pouvant aller jusqu'à 50  $\mu\text{m}$ . De couleur claire, cet œuf est transparent et on distingue très nettement d'une part la coque externe limitée par une mince et lisse enveloppe hyaline et, d'autre part, la partie interne (20 x 30  $\mu\text{m}$ ) contenant l'embryon hexacanthé et limitée par une enveloppe munie de deux mamelons disposés aux pôles opposés de la partie interne de l'œuf. Ces mamelons sont reliés par quatre ou cinq filaments souples qui serpentent dans la coque externe. Il faut jouer sur la vis micrométrique de mise au point pour bien suivre ces filaments qui courent dans toute l'épaisseur de la coque externe.

Beaucoup plus rare l'*Hymenolepis diminuta* du rat est parfois signalé chez l'homme. L'œuf est beaucoup plus grand (60 x 80  $\mu\text{m}$ ) et la coque externe plus épaisse. La partie interne (30 à 35  $\mu\text{m}$ ) contient l'embryon hexacanthé mais, fait caractéristique, il n'y a pas de filaments polaires même si, parfois, de petits mamelons sont visibles sur la coque interne.

### - Œufs de *Diphyllobothrium latum* (Linné, 1819) : bothriocéphale

Deux semaines après le contagement apparaissent dans les selles des malades de nombreux œufs régulièrement ovalaires de 70  $\mu\text{m}$  de long sur 45  $\mu\text{m}$  de large.

Leur couleur est claire, plus ou moins jaunâtre. La coque est lisse, mince et il faut être très attentif pour voir un opercule qui, en général, n'apparaît nettement que si l'on casse l'œuf en appuyant sur la lamelle. L'œuf est entièrement occupé par une masse de cellules vitellines entourant une cellule assez différenciée, la cellule ovulaire. Remarquons que l'embryon hexacanthé ne se formera que quelques semaines plus tard et n'est donc pas visible dans l'œuf retrouvé dans les selles. La présence d'un opercule est cause de confusion avec l'œuf de douve.

## **Diagnostic morphologique dans les trématodoses**

Les trématodes comprennent les douves qui ont une morphologie générale commune et les schistosomes qui vivent dans le sang et dont seuls les œufs sont retrouvés dans les excréta. Seules les douves peuvent être éventuellement recueillies dans les selles, les expectorations, voire dans les abcès.

### **Douves adultes**

Les douves sont des vers hermaphrodites. Les plus grandes (grande douve du foie, douve géante du foie, grande douve de l'intestin) mesurent de 2 à 7 cm de long et les plus petites quelques millimètres (certains hétérophyidés). En forme de feuille, de couleur claire ou rougeâtre les douves possèdent des organes de fixation, les ventouses. Chez les distomiens on distingue la ventouse orale antérieure où s'ouvre la bouche qui se continue par un tube digestif incomplet et la ventouse ventrale. Par des colorations spécifiques on peut voir habituellement deux testicules parfois ramifiés, un ovaire, une glande coquillière et un utérus de forme plus ou moins complexe et contenant des œufs. L'orifice génital est en avant ou en arrière de la ventouse ventrale.

### **Œufs des douves**

Les œufs de douves sont tous operculés. L'opercule correspond à des points de moindre résistance de la coque de l'œuf; cette sorte de clapet se soulèvera sous la pression du miracidium en libérant la larve. Cet opercule est parfois difficile à repérer; en suivant attentivement le bord de la coque on peut voir un amincissement correspond à la limite de l'opercule.

Il est assez fréquent de trouver des œufs de grande douve et surtout de petite douve du foie dans les selles humaines sans que cela ait une signification pathologique. En mangeant du foie de génisse ou de veau parasité, on élimine des œufs mais le ver est mort (œufs en transit). Plus rarement on observe des œufs en transit de distome d'autre origine (poisson par exemple) et cela pose alors des problèmes quasi-insurmontables au coprologiste. Pour confirmer que les œufs observés sont des œufs en transit il suffit de renouveler l'examen une semaine plus tard.

– Œufs non embryonnés à coque mince

#### **. Grande douve : *Fasciola hepatica* Linné, 1758**

Les œufs sont grands (130 à 140  $\mu\text{m}$  x 70 à 80  $\mu\text{m}$ ) en forme d'ovale pratiquement pur pour la plupart d'entre eux. Ils sont de couleur claire très légèrement bruns. La coque est lisse parfois recouverte de petits précipités. Elle a une certaine épaisseur c'est-à-dire que, pour la dessiner, on doit tracer deux traits parallèles. Au niveau des deux extrémités elle est légèrement plus épaisse. Les limites de l'opercule sont visibles sous l'aspect d'un amincissement de cette coque. A l'intérieur on note de nombreuses cellules emplissant la totalité de l'œuf, dont les limites sont peu nettes et dont le noyau n'est pas visible. Le diagnostic différentiel est à faire avec les œufs d'*ascaris* non fécondés et les œufs d'acariens en transit (cf. infra).

#### **. Douve géante : *Fasciola gigantica* Cobolt, 1855**

L'œuf est morphologiquement comparable mais les dimensions nettement plus grandes puisque l'œuf peut atteindre 190 x 95  $\mu\text{m}$ . En réalité selon les variétés locales, les tailles sont différentes (150, 160  $\mu\text{m}$ ...).

#### **. Grande douve de l'intestin : *Fasciolopsis buski* (Lankester, 1857)**

Dans les selles de sujets ayant séjourné dans le Sud-Est asiatique et ayant consommé des végétaux aquatiques crus, on peut observer des œufs de 125 à 135  $\mu\text{m}$  sur 70-75  $\mu\text{m}$  et morphologiquement très proches des œufs de *Fasciola hepatica*.

Ils s'en distinguent par l'absence de précipités sur la coque et une cicatrice rugueuse nette au pôle opposé à l'opercule. La coque est beaucoup plus fine. Les cellules vitellines sont nettes et leur noyau visible (description Ho-Thi-Sang).

. **Douves du poumon** *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878), *kellicotti* (Ward, 1908), mais aussi *africanus*, *uterobilateralis* etc...

Les œufs de ces douves des bronchioles sont retrouvés dans l'expectoration ou, après déglutition, dans les selles.

Ce sont des œufs de grande taille (85 à 100 µm x 50 à 65 µm) de couleur brun clair et de forme ovoïde assez régulière avec parfois un léger aplatissement au niveau de l'opercule.

La coque est mince et lisse avec un petit épaississement à l'opposé de l'opercule et une petite aspérité externe. Cet opercule est souligné d'un petit rebord faisant saillie sur le contour de l'œuf et continuant souvent la forme de l'opercule comme le ferait le léger débord d'un toit. L'opercule repose sur une étroite collerette en saillie sur la ligne du contour. Il faut souligner que dans une même expectoration on peut trouver des œufs relativement différents : la forme générale est régulière ou en amphore; le pôle opposé à l'opercule est parfois net parfois largement épais et rugueux; l'opercule continue la forme ovoïde ou semble aplati. Ces irrégularités dans la morphologie expliquent les grandes différences de description des divers auteurs de traités de coprologie. Selon les espèces, d'autres détails peuvent varier.

Les cellules vitellines entourent la cellule ovulaire centrale plus claire.

#### – Œufs embryonnés à coque épaisse

. **Petite douve du foie** *Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819)

Les cas humains sont rarissimes car il faut accidentellement manger une fourmi pour être contaminé.

L'œuf trouvé dans les selles des animaux parasités mesure 40 à 50 µm sur 25 à 30 µm; ils sont brun clair et de forme asymétrique tant dans le sens longitudinal (un pôle plus aminci que l'autre) que dans le sens transversal (un côté bombé et un côté plus aplati).

La coque est lisse et épaisse interrompue par un opercule à l'extrémité la plus large. A l'intérieur de la coque transparente, on voit nettement un embryon cilié.

Les œufs en transit observés dans les selles humaines ont tous les aspects : coque foncée (cuite) ou très claire (œufs immatures non cuits), intérieur rétracté ou contenant un bloc cellulaire, rarement un embryon.

C'est sur l'hétérogénéité de la morphologie des œufs que l'on peut affirmer qu'il s'agit d'œufs en transit.

On pourrait envisager de ne pas signaler ces œufs puisqu'ils sont seulement le témoignage d'une alimentation de mauvaise qualité et non d'un parasitisme. Nous nous refusons à le faire; en effet si un autre laboratoire a déjà mentionné la présence de ces œufs dans un examen pratiqué la veille, il est important de souligner que nous les avons retrouvés mais que nous sommes sûrs qu'il s'agit d'œufs en transit. De plus cela incite les consultants à mieux surveiller la qualité de leur alimentation et les rassure quant au soin apporté à l'examen pratiqué.

. **Douve des félidés et douve de Chine** : *Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875), *Opisthorchis viverrini* (Poirier 1886) et *Opisthorchis felinus* (Rivolta, 1884)

Les œufs de la famille des Opisthorchidés mesurent de 25 à 30 microns sur 12 à 17 µm de large; ils sont en forme de petite amphore à ventre gonflé et à col rétréci se terminant par un opercule qui, en "toit de pagode", débord nettement sur la limite de l'œuf.

Les œufs de *Clonorchis* sont sensiblement plus bombés que ceux du genre *Opisthorchis*. Théoriquement la surface de l'œuf de *Clonorchis* est recouverte d'une résille qui retient les particules en suspension et qui lui donne un aspect

poussiéreux "d'œuf sale". *Opisthorchis viverrini* a un œuf muni d'une pointe à l'extrémité opposée à l'opercule tandis que celui *Opisthorchis felineus* n'a pas de pointe ou une pointe très réduite.

Ces classiques subtilités diagnostiques sont en réalité assez théoriques car, en pratique, les infestations par plusieurs espèces de douves ne sont pas rares et il est plus logique de répondre simplement : œufs d'Opisthorchidés.

#### . Petite douve de l'intestin *Heterophyes heterophyes* (Siebold, 1852)

L'œuf d'*Heterophyes* a une taille équivalente à celle des œufs d'Opisthorchidés (25 x 15 µm) et une couleur similaire (jaune clair) mais sa forme est nettement plus régulière et l'opercule ne forme pas de rebord en toit de pagode. La coque est relativement épaisse et peut présenter un simple bouton (pas de pointe) au côté opposé à l'opercule. A l'intérieur l'embryon n'est pas nécessairement formé mais se forme en quelques jours. Il a un aspect symétrique ce qui, selon Bailenger, le différencie des embryons asymétriques des Opisthorchidés.

#### . Autres douves

Dans la seule famille des Hétérophylidés on a décrit vingt-cinq espèces susceptibles de parasiter l'homme.

Nous avons nous-même observé un cas où les œufs mesuraient moins de 15 µm de long (*Ascocotyle coleostoma* vraisemblable) : la malade avait consommé du poisson cru en Haute-Egypte. Il n'est pas possible de décrire tous les œufs et il faut, en cas de problèmes diagnostiques, se reporter aux gros traités d'helminthologie tels ceux édités par l'Académie des Sciences de Moscou.

### Œufs de schistosomes ou bilharzies

On peut trouver dans les selles les œufs de tous les schistosomes parasites de l'homme c'est-à-dire, selon les régions *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma intercalatum* et *Schistosoma hæmatobium*. On discute la possibilité d'œufs correspondant à des infestations mixtes par des espèces animales (*Schistosoma bovis*).

Dans les urines c'est essentiellement l'œuf de *Schistosoma hæmatobium* qui est retrouvé. Toutefois, surtout en cas d'infestation mixte, il est possible de déceler des œufs de *Schistosoma mansoni* mais ces découvertes sont anecdotiques.

Tous les œufs de schistosomes ont un éperon mais celui-ci peut, dans certaines espèces, se réduire à une boursouflure.

#### – *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907

Dans du mucus recouvrant une selle moulée, dans la selle elle-même, en concentration ou en biopsie de muqueuse sigmoïdienne, on repère facilement un grand œuf de 130 à 160 µm de long sur 60 à 70 µm de large.

La forme est régulièrement ovale et la couleur claire car la coque est assez peu épaisse mais, caractéristique essentielle, on observe sur cette coque une saillie formant éperon. Il faut parfois tapoter sur la lamelle pour que l'éperon couché sur le côté soit bien net. Cet éperon est implanté au quart de la longueur de l'œuf et la pointe est dirigée vers l'extrémité de l'œuf, son axe faisant avec l'axe de l'œuf un angle variant de 60 à 80 degrés. Il ressemble à une épine de rosier.

Dans l'œuf vivant, on observe un embryon cilié, le miracidium, pouvant bouger et où les quatre flammes vibratiles sont toujours témoins de sa vitalité. La flamme vibratile se présente comme une petite oriflamme flottant dans une sphère. Ces quatre flammes sont situées symétriquement de part et d'autre de l'axe du miracidium et à la limite des quarts antérieur et postérieur.

L'œuf mort est souvent plus petit et a tous les aspects possibles, noirâtre parce qu'en cours de calcification, vide ou presque parce que non évolué etc... L'éperon caractéristique permet de le reconnaître malgré ces atypies.

– *Schistosoma japonicum* Katsurada, 1904, *mekongi* Voge, Bruckner & Bruce, 1978

Ces œufs ont un aspect général ovoïde, de plus petite taille que les œufs de *S. mansoni* et plus bombés, ils posent des problèmes diagnostiques si l'on ne connaît pas l'origine asiatique de la contamination.

Ils mesurent 60 à 75  $\mu\text{m}$  de long sur 45 à 55  $\mu\text{m}$  de large; leur coque est celle des œufs de schistosome et ils contiennent un miracidium mais l'éperon est ridiculement petit; parfois réduit à une simple excroissance mais parfois plus net et crochu. E. Brumpt préfère les considérer comme dépourvus d'éperon. La présence du miracidium, la relative finesse de la coque, l'absence d'opercule permettent de ne pas les confondre avec des œufs ou de nématode ou de douve.

– *Schistosoma intercalatum* Fisher, 1934

Dans les selles ou les biopsies rectales, on remarque facilement ces œufs très grands (140 à 240  $\mu\text{m}$  x 50 à 85  $\mu\text{m}$ ) se terminant par un éperon très long (jusqu'à 20  $\mu\text{m}$ ), parfois crochu, qui semble séparé du contour de l'œuf par une sorte d'épaulement.

La forme allongée des œufs n'est pas régulière. En effet, la partie opposée à l'éperon est souvent plus amincie que ne le voudrait une forme ovalaire stricte. Decroocq parle de "pincement" de l'extrémité. Le miracidium qu'il contient, assez curieusement, est partagé en deux parties comme si une ceinture ou une gaine le rétrécissait en son milieu c'est ce que Becquet appelle la "bilocation apparente du miracidium"; ce qui correspond à une sorte de bourrelet situé sur la face interne de la coque en position équatoriale de l'œuf.

– *Schistosoma hæmatobium* (Bilharz, 1852)

Normalement c'est dans les urines que l'on trouve les œufs de *S. hæmatobium*, urines de 24 h, urines de fin de miction, mais l'imprégnation de tout le petit bassin par les œufs fait qu'il est possible d'en trouver dans les selles et que, surtout, on les observe facilement en biopsie rectale parfois associés avec ceux de *Schistosoma intercalatum*.

Morphologiquement proches des œufs de *Schistosoma intercalatum*, ils s'en distinguent par leur taille inférieure (120 à 160  $\mu\text{m}$  x 40 à 60  $\mu\text{m}$ ) par leur forme plus régulièrement ovoïde et par leur éperon en continuité avec la forme de l'œuf sans l'épaulement de l'œuf de *S. intercalatum*. On prendra garde, dans les urines, à ne pas les confondre avec les grands cristaux d'urates et, dans les selles, avec certaines cellules végétales.

## **Diagnostic morphologique dans les nématodoses**

Parmi les vers ronds ou nématodes, nombreux sont ceux qui peuvent parasiter le tube digestif et il n'est pas possible d'être exhaustif dans la mesure où certains nématodes animaux, dans des conditions écologiques ou physiologiques particulières, sont accidentellement observés chez l'homme.

Dans la description des adultes nous insisterons plus sur ceux qu'il n'est pas rare de recueillir dans les excréta. Seules les larves d'anguillules sont présentes dans les selles et même si, classiquement, en cas de diarrhée due à la trichinose, on peut observer larves voire adultes de trichine, nous ne les décrivons pas car le fait est rare et fugace et la trichinose est elle-même une maladie peu fréquente.

Des larves d'*Anisakis marina* absorbées dans des poissons, mal ou non cuits, harengs en particulier, peuvent être recueillies dans les pièces opératoires (de l'estomac au rectum) ou vomies ou éliminées dans les selles.

Le diagnostic d'espèce est du ressort d'helminthologistes de Faculté des Sciences et la clinique est souvent suffisamment évocatrice pour ne pas nécessiter l'intervention du parasito-coprologiste.

## Adultes

### – *Ascaris lumbricoides* Linné, 1758

La brève durée de vie des ascaris implique que ces vers sont facilement éliminés dans les matières fécales. Leur tendance à migrer (canal cholédoque, canal de Wirsung, appendice) les amène parfois dans l'estomac d'où ils sont rejetés par vomissements. Les patients sont impressionnés par l'élimination de véritables petits serpents parfois encore mobiles dont la taille pour les adultes âgés varie de 15 cm pour le mâle à 20 à 25 cm pour la femelle. On distingue les sexes sur le fait que l'extrémité postérieure du mâle est recourbée en crosse d'évêque.

Comme le nom d'espèce l'indique, l'ascaris ressemble au ver de terre (lombric, c'est-à-dire *Lumbricus* en latin). Il est large d'un demi-centimètre environ et de couleur rosâtre. Translucide, finement strié transversalement il laisse voir ses organes internes.

### – *Enterobius vermicularis* (Linné 1758) ou oxyure

Son nom scientifique indique que ce ver vit dans l'intestin et son nom commun, d'origine grecque, qu'il a la queue pointue.

On recueille la femelle sur la marge anale ou à la superficie des selles où sa couleur et parfois sa mobilité la font aisément repérer. C'est la femelle longue d'environ 1 cm qui a une extrémité postérieure effilée. Elle est de couleur blanche mais translucide. A la partie antérieure on voit distinctement, quand la masse de l'utérus bourré d'œufs ne le cache pas, l'œsophage caractéristique avec son renflement sphérique bien individualisé. De chaque côté de la tête un élargissement aliforme donne au ver un aspect de tête ronde. Cet élargissement se continue par une crête nettement visible en coupe histologique.

Le mâle, plus rarement observé et le plus souvent dans les concentrations, est beaucoup plus petit (3 à 5 mm). L'extrémité céphalique est comparable à celle de la femelle. L'extrémité postérieure, obtuse est recourbée en crosse et permet d'observer le spicule recourbé en hameçon dans l'intérieur de la courbe caractéristique du mâle.

### – *Ancylostoma duodenale* (Dubini, 1843) et *Necator americanus* (Stiles 1902)

Parasites duodénaux de 1 à 2 cm de long les ancylostomidés morts sont lysés avant d'atteindre l'orifice anal. Tout au plus pourrait-on avoir la chance de les trouver dans une aspiration duodénale. On verrait alors la différence entre mâle et femelle sur l'épanouissement de la bourse copulatrice de l'extrémité postérieure du mâle et les facultés traumatiques des vers sur la présence de lames (nécator) ou de crochets chitineux (ancylostome) dans la capsule buccale.

### – Autres nématodes

Pour information signalons que l'anguillule femelle parthénogénétique mesure 2 mm et vit dans le duodénum.

Les trichostrongyles mesurent moins de 1 cm et sont parasites le plus souvent de l'intestin grêle. Ils sont assez fréquents en Afrique Noire, au Moyen-Orient et à Madagascar. *Ternidens diminutus* mesure 1 cm et vit dans le gros intestin. Il serait fréquent dans certaines régions de l'Afrique du Sud.

## Larves

Dans des selles récemment émises, pratiquement la seule larve de nématode que l'on peut observer est celle de l'anguillule *Strongyloides stercoralis* (Bavay, 1876). Elle peut être observée à l'examen direct, dans le liquide d'extraction de Baermann ou après concentrations (flottations, MIF-concentration). C'est la larve rhabditoïde qui est normalement trouvée dans les selles. L'éventualité de la découverte d'une larve strongyloïde n'est pas à rejeter. Toute larve ne correspondant pas à la

description ci-dessous devra être discutée dans le cadre des larves obtenues par coproculture (cf. infra).

La larve rhabditoïde d'anguillule mesure 250 à 300  $\mu\text{m}$  de long sur 15  $\mu\text{m}$  de large. Elle est translucide. On voit bien son œsophage à double renflement (portion intermédiaire en forme d'olive). L'extrémité postérieure est modérément effilée. Un grand espace clair au milieu du ver correspond à l'ébauche génitale. Une petite encoche près de l'extrémité postérieure est le pore anal.

## Œufs

### – *Ascaris lumbricoides* Linné, 1758

Si l'on en croit la légende, Esope disait que la langue est la meilleure et la pire des choses, de même peut-on dire que le diagnostic d'œuf d'ascaris est le plus facile et le pire qui soit. En effet l'œuf d'ascaris typique est reconnu par tout débutant d'autant qu'une femelle d'ascaris pond beaucoup et que le nombre d'œufs est tel, dès l'examen direct, qu'il est difficile de ne pas les voir.

En revanche aucune description ne peut correspondre à la diversité des œufs d'ascaris atypiques et seule une souplesse de compréhension et d'adaptation permettra de reconnaître comme œuf un élément que d'autres confondraient facilement avec un résidu végétal.

L'œuf d'*Ascaris* typique mesure 60  $\mu\text{m}$  x 45  $\mu\text{m}$ . Il est régulièrement ovoïde et de couleur brun foncé puisqu'il s'imprègne de la couleur ambiante des selles. Il possède une double coque épaisse. La coque externe est mamelonnée et peut, selon les cas, donner l'impression d'être couverte de verrues ou d'être creusée de multiples entonnoirs comme un bloc de glaise où l'on aurait enfoncé les doigts. La coque interne lisse, incolore, de 3 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur contient une volumineuse cellule germinative qui n'occupe pas la totalité de l'espace offert. Laissés à température de la pièce les œufs vont s'embryonner en quelques semaines.

### . Œufs d'*Ascaris* atypiques et œufs non fécondés

À côté des œufs typiques on peut observer des œufs atypiques qui, pour des raisons diverses, ont perdu leur coque externe mamelonnée. Évidemment plus petits (50  $\mu\text{m}$  x 35  $\mu\text{m}$ ) et de couleur claire ils sont reconnaissables grâce à l'épaisseur de leur coque et à la grosse cellule unique qu'ils contiennent.

Quand les femelles solitaires ne sont pas fécondées ou quand le nombre de mâles est insuffisant on observe des œufs infertiles. Ils sont en général plus grands (80 voire 90  $\mu\text{m}$ ) et si certains sont encore ovoïdes, d'autres prennent des formes indescriptibles (en bouteille, en triangle...). La coque externe peut disparaître ou ne subsister que par plaque ou au contraire être exubérante (plus de 15  $\mu\text{m}$  d'épaisseur). La coque interne est fine, comparable à celle de l'œuf de douve.

Le contenu est grossièrement granuleux et très réfringent. Infertiles, ces œufs ne sont pas susceptibles de s'embryonner. Quand le malade n'héberge qu'une femelle isolée ou quand le nombre des femelles est nettement plus important que celui des mâles, les œufs retrouvés dans les selles sont non fécondés et donc atypiques; ils deviennent alors d'un diagnostic plus difficile.

### – Trichocéphale *Trichuris trichiura* (Linné, 1771)

Il est exceptionnel que les œufs de trichocéphale soient atypiques. Nous avons observé, après traitement antihelminthique insuffisant, des œufs arrondis à un seul pôle muqueux et des œufs triangulaires à trois pôles. Normalement l'œuf de trichocéphale mesure 55  $\mu\text{m}$  x 25  $\mu\text{m}$  et est de forme régulièrement ovoïde se terminant comme un citron par deux pôles aplatis. A chaque pôle on observe un bouchon muqueux clair qui déborde légèrement sur la ligne de contour de l'œuf.

La coque est épaisse et la couleur foncée. A l'intérieur, on distingue une grosse cellule arrondie, granuleuse. La seule erreur possible est la confusion avec les œufs des rares *Capillaria acrophila* (cf. infra).

**Tableau XIII :**  
**Œufs d'ascaris typiques et atypiques**

	<b>typiques</b>	<b>atypiques</b>
taille	45-84 / 35-58 $\mu\text{m}$ moyenne : 60/45 $\mu\text{m}$	78-105 / 38-55 $\mu\text{m}$
forme	ovoïdes, symétriques	plus ou moins ovoïdes parfois informes, boursoufflés
coque externe	épaisse, mamelonnée couleur fécale (brune)	- soit insignifiante, irrégulière à mamelons rares, bas, clairs - soit boursoufflée (20-30 $\mu\text{m}$ ) transparente, incolore ou jaunâtre - soit absente : l'œuf ressemble à un œuf de grande douve non operculé
coque interne	lisse, incolore, épaisse	plus ou moins mince comme dans un œuf d'ankylostome
contenu	une cellule ovulaire occupant la majeur partie de l'œuf	granulations très réfringentes le plus souvent de toutes les tailles

– *Oxyure Enterobius vermicularis* (Linné 1758)

L'œuf d'oxyure est décelé dans les selles ou sous la cellophane adhésive lors du scotch-test de Graham. Dans les selles il arrive que l'on écrase, incidemment, une femelle adulte lors de la concentration et l'on trouve alors des œufs immatures. Il faut savoir les diagnostiquer.

. Œuf immature : mesurant 50 à 60  $\mu\text{m}$  sur 30 à 32  $\mu\text{m}$  et parfois plus petit, l'œuf d'oxyure immature est en général ovoïde et incolore. Sa coque épaisse et lisse contient ou une grosse cellule germinative, ou de multiples cellules. Seule l'épaisseur de la coque permet de ne pas confondre cet œuf avec les œufs d'ankylostome.

. Œuf embryonné : l'œuf d'oxyure recueilli sur la marge anale mesure 50 à 60  $\mu\text{m}$  sur 30 à 32  $\mu\text{m}$  et est nettement dissymétrique avec un côté plus bombé que l'autre et une extrémité plus large ce qui fait que la forme générale s'inclut grossièrement dans un triangle rectangle. Il est incolore mais réfringent à cause d'une coque lisse très épaisse. Il contient soit un embryon dit "gyriniforme" c'est-à-dire composé d'une masse cellulaire où la partie antérieure de l'embryon commence à s'individualiser soit un embryon nettement constitué replié sur lui-même, habituellement en trois segments, et doué de motilité dans la coque, en particulier sous l'effet de la chaleur (platine chauffante).

– Ancylostomidés : *Ancylostoma duodenale* (Dubini, 1843) et *Necator americanus* (Stiles, 1902)

Les œufs des ancylostomidés mesurent de 60 à 70  $\mu\text{m}$  de long sur 40  $\mu\text{m}$  de large, ceux d'*Ancylostoma* étant en général plus petits que ceux de *Necator*. L'association des deux espèces à l'intérieur d'un même hôte est possible. Ils sont de forme assez régulière en général. Ils sont incolores, transparents, à coque lisse et très mince.

Ils contiennent quatre à huit cellules, les blastomères, n'occupant qu'une partie centrale de l'œuf. Classiquement on observerait quatre blastomères dans les œufs d'*Ancylostoma* et huit dans les œufs de *Necator* mais il y a loin de la théorie à la pratique et il faut se méfier de faire reposer son diagnostic sur ce seul élément.

En réalité, la différence entre les deux espèces était de grande importance quand les antihelminthiques étaient d'efficacité variable selon les vers. Les médicaments modernes permettent d'accepter la réponse : œufs d'ancylostomidés. Pour des études plus approfondies, les coprocultures sont nécessaires (cf. infra).

– **Autres œufs de nématodes parasites**

. **Œufs de type ancylostomidés** : les œufs de trichostrongylés mesurent jusqu'à 90 µm sur 50 µm de large ; ils sont asymétriques tant dans un sens - une extrémité plus large que l'autre - , que dans l'autre - un côté presque plat et l'autre bombé -. Ils contiennent un grand nombre de blastomères (au moins 16).

Les œufs de *Ternidens* sont de taille comparable mais plus minces (40 microns) et moins dissymétriques que ceux des trichostrongylés.

Les œufs de *Strongyloides fuelleborni*, anguillule de singes africains, mesurent 54 µm sur 32 µm et ressemblent à de petits œufs d'ankylostome mais ils sont embryonnés dans les selles récemment émises.

*Capillaria aerophila* et *Syngamus laryngeus* sont des nématodes parasites des voies respiratoires rarement observés chez l'homme. Des cas ont été publiés aux Antilles françaises et en Russie. Les œufs ressemblent à ceux de trichocéphale. Ils sont retrouvés dans l'expectoration et dans les selles. Ils mesurent 60 à 74 µm x 35 à 40 µm et, à la différence de ceux-ci, les bouchons muqueux débordent beaucoup moins des limites de l'œuf. Leur coque est granuleuse.

Il en est de même de *Capillaria philippinensis*, responsable de troubles digestifs dans l'ouest de l'Océan Pacifique.

– **Œufs et larves en transit**

Dans l'alimentation courante il est banal d'absorber des nématodes libres ou parasites de plantes ou bien leurs œufs. De même dans certains aliments non pasteurisés, l'absorption d'acariens donc de leurs œufs se traduit par l'élimination d'éléments posant des problèmes diagnostiques.

. **Œufs d'*Heterodera*** : *Heterodera* est un nématode que l'on peut observer dans les racines de certains végétaux consommées crues (radis par exemple). L'œuf, très grand (95 à 100 µm x 40 µm) est caractéristique car allongé en forme de saucisse avec un côté bombé et un côté concave. Il est clair et à paroi mince et contient soit des blastomères soit une larve repliée sur elle-même.

. **Œufs d'acarien** : dans les croûtes de certains fromages, dans les farines avariées peuvent se développer de petits acariens microscopiques. Leurs œufs à coque lisse et mince peuvent être confondus avec des œufs de nématodes s'ils sont non altérés et non embryonnés ou avec des œufs de douve s'ils sont cuits (couleur plus brune) malgré l'absence d'opercule. Ils sont en général de grande taille (plus de 120 microns) et s'il y en a plusieurs on remarque chez certains une structure complexe avec de petites pattes visibles. L'hétérogénéité de l'évolution et la disparition des œufs lors d'un examen ultérieur sont des arguments confirmant le fait qu'il s'agit d'œufs en transit.

. ***Rhabditis* libres** : les larves de *Rhabditis* ne sont jamais vivantes dans les selles. Leur œsophage antérieur est de forme plus allongée que celui des larves d'anguillules et surtout le pharynx qui s'étend de la bouche à l'œsophage est plus long et net parce que chitinisé.

**Nématodes observés en coproculture**

En coproculture, on peut observer des larves d'anguillule, d'ankylostome, et de nécator ainsi que des adultes stercoraux du cycle sexué de *Strongyloides stercoralis*. Des rhabditis libres sont toujours possibles; la structure chitineuse du pharynx les fera reconnaître ainsi que le fait que, dans cette culture, aucune larve strongyloïde n'apparaîtra.

Les femelles de *Strongyloides stercoralis* libres mesurent 1 mm sur 50 µm de large sont droites et contiennent de nombreux œufs. Les mâles plus petits (700 µm x 36 µm) ont l'extrémité postérieure recourbée et deux spicules. Ces adultes ont un œsophage du type rhabditoïde mais à pharynx court.

Les larves peuvent être comparées au stade rhabditoïde et au stade strongyloïde. Nous reproduisons (cf. infra) les tableaux du polycopié du Professeur Ho-Thi-Sang.

Dans les coprocultures helminthologiques peuvent être retrouvées différentes larves de nématodes. Le diagnostic exact des larves de trichostrongylés ou de ternidens relève de l'hyperspécialisation des purs scientifiques. Dans la pratique courante de laboratoire on devra pouvoir différencier facilement les larves d'anguillule de celles des ankylostomidés et, dans cette famille, les larves d'ankylostome de celles de nécator.

La description des larves comprend : leur *longueur totale*, la longueur de la *cavité buccale*, la forme de l'*œsophage* (cylindrique, il est dit *strongyloïde* ; à double renflement, il est dit *rhabditoïde*), l'aspect des *ébauches organiques*, un *pore anal* à partir duquel se mesure la *longueur de la queue*.

Les larves évoluent par mues; si la larve est encore entourée de sa mue on parle de *larve enkystée* avec sa gaine.

### **Vers macroscopiquement visibles dans les selles**

Sur ou dans des selles moulées, il est possible de recueillir :

- des adultes d'oxyure, essentiellement des femelles ;
- des ascaris adultes, mâles ou femelles ;
- des anneaux isolés (proglottis), des fragments de chaîne d'anneaux ou des ténias entiers.

En cas de diarrhées particulièrement intenses, tous les parasites du tube digestif sont susceptibles d'être retrouvés.

### **Autres éléments d'origine animale pouvant être observés dans les selles :**

- D'origine parasitaire : crochets chitineux de la larve de l' *Echinococcus granulosus* du chien qui est responsable du kyste hydatique; la rupture d'un tel kyste dans les voies respiratoires, biliaires ou autres va libérer les protoscolex qui seront digérés pour ne laisser que les crochets.

- De transit : nématodes libres sous forme de larves (*Rhabditis* : cf. infra) ou d'oeufs plus ou moins embryonnés à coque parfois échinulée; oeufs plus ou moins embryonnés d'insectes ou d'arachnides de la poussière ou des aliments tels que les fromages fermentés.

- D'apport : larves pondues par les mouches pendant ou juste après la défécation; petits animaux tombés dans le récipient de recueil des selles; récipient mal nettoyé avant usage (pot d'enfant).

**Tableau XIV**  
**Larves observées dans les coprocultures**

**Larves rhabditoïdes**

	Anguillulé	Ancylostomidé
Longueur	250-300 µm / 15 µm	250-300 µm / 15 µm
Œsophage	rhabditoïde	rhabditoïde
Pharynx	court	long
Extrémité postérieure	modérément effilée	très effilée
Ébauche génitale	grande et nette	petite et peu nette

**Larves strongyloïdes**

	Anguillule	Ancylostomidé
Longueur	500-600 µm / 15-20 µm	500-600 µm / 25-30 µm
Gaine	absente	plissée
Longueur de l'œsophage	moitié du corps	quart du corps
Extrémité postérieure	tronquée : deux pointes	plus ou moins pointue

**Larves strongyloïdes enkystées des Ancylostomidés**

	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Necator americanus</i>
Longueur (identique)	500-600 µm / 25-30 µm	500-600 µm / 25-30 µm
Gaine (striations)	courte (str. peu nettes)	longue (str. très nettes)
Extrémité postérieure	effilée, sommet arrondi	conique, sommet pointu
Tête	large et aplatie	petite et arrondie
Stylets buccaux	peu développés	bien développés
Intestin antérieur	moins large que le bulbe	même largeur que le bulbe
Ébauche génitale	loin du milieu du corps	près du milieu du corps

N.B. les premières larves strongyloïdes d'anguillule ont encore une gaine où la larve a une queue tronquée

**Tableau XV :**  
**Helminthes parasites de l'homme**

Nom	Organe parasité longévité chez l'homme	Taille des adultes (en mm))	Forme, couleur	Incubation parasitologique (semaines)
Anguillule	duodénum, jusqu'à sa mort	femelles seulement 2,2/0,034	ver rond cylindrique	3
Ankylostome	duodénum, 5 ans	10 (mâle) � 15 (fem.)	rond, rosé	6
Ascaris	grêle, 18 mois	170 (m) � 250 (f)	"ver de terre" rosé	9-10
Nécator	duodénum, 10 ans	10 (m) � 15 (f)	rond, rosé	6
Oxyure	c�cum, côlon, quelques semaines	3-5 (m) � 12 (f)	"vermicelle" blanc	3
Ternidens	côlon, quelques années	9 (m) � 11 (f)	"vermicelle" rosé	?
Trichocéphale	côlon, 10-15 ans	30 (m) � 50 (f) sur 0,3 sauf extrémité	brun, fin sauf le tiers postérieur (1mm))	4
Trichostrongyle	duodénum, longévité inconnue	4-8/0,2	fin, rosé	?
Grande douve	canaux biliaires, 10-15 ans	20-30/10	en feuille	12-14
Douve de Chine Opisthorchidés	canaux biliaires, 25 ans	10-20/2-4	en petite feuille	3-4
Grande douve de l'intestin	grêle, 6 mois	30-70/14-15	en grande feuille	12-14
Petites douves de l'intestin	grêle, nombreuses années	1-2,5/0,4-0,7	très petites rougeâtres	2-3
Douves du poumon	bronchioles, plus de 6 ans	8-16/4-8	grains de café rouges	?
<i>S. haematobium</i>	œufs : vessie adultes : système porte, 20 ans	9-16/1 (m) 12-20/0,3 (f)	m : enroulé, clair f : fine, sombre	10
<i>S. intercalatum</i>	œufs : rectum adultes : système porte, 20 ans	9-16/1 (m) 12-20/0,3 (f)	m : enroulé, clair f : fine, sombre	10
<i>S. japonicum</i>	œufs : côlon adultes : système porte, 20 ans	9-16/1 (m) 12-20/0,3 (f)	m : enroulé, clair f : fine, sombre	5-6
<i>S. mansoni</i>	œufs : côlon adultes : système porte, 20 ans	9-16/1 (m) 12-20/0,3 (f)	m : enroulé, clair f : fine, sombre	10
Bothriocéphale	grêle, plus de 15 ans	2000 à 20 000	long ruban	2
Dipylidium	grêle, longévité inconnue	150-400/2-3	collier rose	3
Hym�nol�pis	grêle, 8 ans (?)	10-25/0,5-0,7	fil court	2-3
Vers solitaires	grêle, + de 15 ans	2000 à 12 000	long ruban	8-14

N. B. C'est volontairement qu'ont été exclus de cette liste les vers très rarement observés chez l'homme ou dont les cycles sont encore mal connus.



# CHAPITRE QUATRIÈME

## L'INTERPRÉTATION ET LE COMPTE-RENDU

### Aspect fonctionnel

#### *Traduction de l'examen macroscopique*

#### **Diarrhées**

Il est important de signaler dans un compte-rendu si les selles ont un aspect liquide, pâteux, moulé ou si elles sont extrêmement dures.

Cet aspect macroscopique est plus riche d'enseignement que le calcul chimique de la teneur en eau.

Dans les fausses diarrhées une hypersécrétion sigmoïdo-rectale permet l'élimination des selles dures et de liquide ; la teneur en eau est celle d'une diarrhée mais le sujet est constipé.

#### **La forme de la selle**

La forme et surtout le diamètre d'une selle moulée sont importants. Dans les colites où les contractions physiologiques ont disparu les selles apparaissent minces et non formées.

#### **La couleur de la selle**

Elle doit être mentionnée avec son interprétation éventuelle. Le praticien qui reçoit le résultat de l'examen coprologique trouvera plus facile de savoir, sans devoir interroger son patient, que les selles claires peuvent être liées à une insuffisance biliaire où à l'absorption de tel produit ou au contraire que les selles noires résultent de la consommation d'une grande quantité de boudin et non d'une hémorragie (méléna).

#### **La présence de sang**

La présence de sang macroscopiquement visible doit être mentionnée en précisant si celui-ci est mêlé à du mucus superficiel ou ajouté en microhémorragie comme cela se constate en cas d'hémorroïdes ou bien s'il s'agit d'une diarrhée muco-hémopurulente (rectocolite hémorragique, amibiase aiguë, dysenteries infectieuses).

#### **La mesure du pH**

Elle n'a d'intérêt qu'en cas de phénomènes de fermentation (pH<6), de carence en disaccharidases (pH<5) ou pour déceler des contaminations urinaires (pH<7).

#### **Des fragments végétaux et surtout de viande**

Ces fragments sont plus signe d'insuffisance de mastication (état de la denture) que d'insuffisance gastrique.

Ces deux troubles peuvent d'ailleurs coexister. On les observe également en cas de transit accéléré.

## **Traduction de l'examen microscopique**

Dès les débuts de la microphotographie paraissait en Allemagne en 1899 un traité permettant de savoir les aliments qu'avaient consommés les consultants. Il est de fait qu'il est possible de reconnaître les débris végétaux les plus courants et qu'un bon coprologiste sait distinguer l'ichtyophage du mangeur de bœuf, ou l'amateur de champignons du gourmand de betterave.

La connaissance de ces éléments permet de ne pas commettre des erreurs diagnostiques qui, si elle sont classiques, n'en demeurent pas moins renouvelées.

### **Hématies, macrophages et polynucléaires**

Nombreux sont les microscopistes hématologistes qui ne voient que le sang coloré et qui sont incapables de reconnaître une hématie en suspension dans un liquide physiologique avec sa couleur jaunâtre et ses altérations diverses. Innombrables sont les biologistes qui sont incapables de décrire les pseudopodes d'un polynucléaire souvent étalés et chevelus. Les macrophages parfois hémato-phages ont un noyau visible à frais sous forme d'une masse réfringente et n'ont jamais les pseudopodes des amibes dysentériques.

Dans les rectocolites hémorragiques, sang, pus (polynucléaires plus ou moins altérés) et macrophages sont extrêmement nombreux. Un examen attentif permet d'observer des éléments granuleux émettant des pseudopodes qui ne doivent pas être confondus avec des amibes.

### **Cristaux**

Certains cristaux (oxalates en enveloppe de lettre) sont banals et leur présence est liée à l'alimentation. En revanche, les cristaux de Charcot-Leyden en forme d'aiguille de boussole sont les témoins d'une hyperéosinophilie locale. Cette hyperéosinophilie correspond souvent à une infestation parasitaire digestive à métazoaires (ténia, trichocéphale, oxyure par exemple) et est reflétée par une hyperéosinophilie sanguine.

Elle peut également être liée à une inflammation éosinophilique locale sans retentissement hématologique. On trouve en effet d'assez nombreux cristaux de ce type dans la rectocolite hémorragique, dans l'amibiase aiguë et surtout dans la coccidiose à *Isospora belli*.

### **Éléments non parasitaires**

Nous avons déjà cité les œufs ou animaux en transit mais il faut souligner que peuvent poser des problèmes diagnostiques des éléments végétaux divers.

#### **– Grains de pollen végétaux**

La lecture d'un traité de palynologie permet d'apprécier la diversité des grains de pollen que l'on peut absorber seulement en respirant un bouquet. Que ces grains se retrouvent dans les selles est donc normal et encore plus si on avale des tisanes ou si l'on consomme des fruits en période de pollinisation d'autres plantes. Remarquons toutefois que le miel ne contient plus de grains de pollen microscopiquement décelables. Les grains de pollen ont souvent un aspect trilobé que ne présentent pas les œufs ou kystes de parasites. Il faut savoir reconnaître les grains ronds des pollens de guimauve et surtout des fleurs de la famille des artichauts (chardons) qui sont couverts de protubérances pouvant les faire confondre avec des œufs d'*Ascaris*.

#### **– Spores mycéliennes**

Les spores de truffe sont ovalaires et couvertes de poils parfois agglutinés. Leur teinte foncée, leur forme ovalaire sont source d'erreurs (confusion avec des œufs d'*Ascaris*).

Les spores de morille très réfringentes, ovalaires, souvent encore groupées par huit dans des asques, peuvent simuler des kystes de *Giardia*.

La spore arrondie de *Tilletia* la carie du blé quoique couverte de ponctuations doit être discutée dans le cadre du diagnostic des kystes d'*Entamoeba coli*.

#### – Autres éléments

Les poils végétaux à bords parallèles et à paroi épaisse, sans structure interne ne devraient pas être confondus avec des larves d'anguillule.

Les filaments mycéliens doivent être mentionnés dans le compte-rendu surtout s'ils bourgeonnent à partir d'une spore arrondie ou d'une arthrospore de *Geotrichum*.

Les fragments de viande mal digérés, par insuffisance gastro-pancréatique ou par accélération du transit du grêle, se présentent comme des parallélépipèdes à angles à peine arrondis et dont les striations du muscle sont encore nettes. Bien digérée la viande apparaît sous forme d'éléments jaunâtres à angles très arrondis, très clairs et connus sous le nom de corps de Nothnagel.

## Aspect parasitologique

### *Notions générales*

#### Les techniques parasitologiques

Devront être mentionnées toutes les techniques utilisées afin qu'un autre biologiste puisse savoir si tel ou tel parasite a été spécifiquement recherché.

#### Le nom des parasites

Les parasites observés devront être mentionnés par leur nom scientifique et leur nom courant s'il existe. Nous rappelons qu'une faute dans l'expression du nom est un signe de méconnaissance ou de négligence.

#### Le nombre

Il est certain que le nombre même approximatif d'œufs témoigne de l'intensité du parasitisme par les helminthes. On peut discuter de l'importance de cette notion de nombre pour les protozoaires.

On remarquera toutefois que, si pour ce qui est de l'infestation donc de la thérapeutique, c'est en protozoologie la loi du tout ou rien qui prédomine, pour relier une symptomatologie à une parasitose le nombre peut être important. Pour *Giardia*, pour *Isospora*, pour *Pentatrichomonas*, pour *Blastocystis* on sera incité à lier la diarrhée observée aux parasites si leur nombre est important.

### ***Parasites pathogènes et non-pathogènes : Urgence***

Nous n'insisterons jamais assez sur l'interdiction absolue que doit se donner le coprologiste de dire que tel parasite est saprophyte et tel autre pathogène. Tout au plus a-t-il le droit de répondre par une fréquence de troubles observés, c'est-à-dire parasite plus ou moins bien supporté.

Pour certains parasites le compte-rendu doit partir en urgence.

***Trois cas mettent en jeu la vie du malade : l'anguillulose maligne, la cryptosporidiose aiguë dans le SIDA et l'amibiase aiguë.***

## Rédaction du compte-rendu

L'examen parasitologique des selles est donc un examen bioclinique de première importance et le compte-rendu doit être pour le clinicien la possibilité de savoir comment se nourrit son malade et de connaître l'état de son tube digestif depuis l'arcade dentaire jusqu'à l'anus.

A la lecture du résultat tout autre coprologiste doit reconstituer les modalités du prélèvement, les possibilités et les difficultés techniques donc la fiabilité des conclusions.

Le compte-rendu devra donc exprimer dans l'ordre :

- . les modalités du prélèvement (par exemple : selle émise au laboratoire ou selles apportées) ;
- . l'aspect macroscopique de la selle éventuellement son pH ;
- . l'aspect microscopique sans et après coloration en précisant quelles techniques de coloration ont été effectuées ;
- . les techniques de concentration et les techniques spécifiques utilisées ;
- . le nom et le nombre de parasites observés.

Il ne faudra pas hésiter en cas de doute à recommander un nouveau prélèvement qui sera évidemment techniqué gratuitement. Tout médecin est conscient que le doute fait partie de la connaissance et hésiter sur un diagnostic microscopique n'a rien de déshonorant.

Le coprologiste est un biopathologiste c'est-à-dire un consultant médical en une discipline de travail microscopique comme le radiologiste dans sa spécialité technique d'imagerie. Il doit donc jouer son rôle de médecin capable de diagnostiquer voire de conseiller le praticien pour que celui-ci soigne au mieux celui dont ils ont la charge c'est-à-dire le malade.

## Bibliographie sommaire

On trouvera dans la plupart de ces ouvrages d'autres références bibliographiques de grande importance pratique.

- BAILENGER J. Coprologie parasitaire humaine.  
E. Drouillard ed. Bordeaux 1958
- EUZEBY J. Les parasitoses humaines d'origine animale.  
Flammarion ed. Paris 1984
- HO-THI-SANG Polycopié du cours de coprologie de la Faculté de  
Médecine de Paris 1966
- LARRIBAUD J. et BENSIMON P.  
Coprologie fonctionnelle et flore intestinale de l'adulte.  
Centre Documentation Robert et Carrière  
Heures de France ed. Paris 1969
- LEGER N., NOTTENGHEM M.J. et PESSON B.  
Guide de parasitologie pratique.  
SEDES ed. Paris 1981

MANET L. et SAVEL J.

Parasitologie (Techniques usuelles de biologie clinique)  
Flammarion ed. Paris 1971

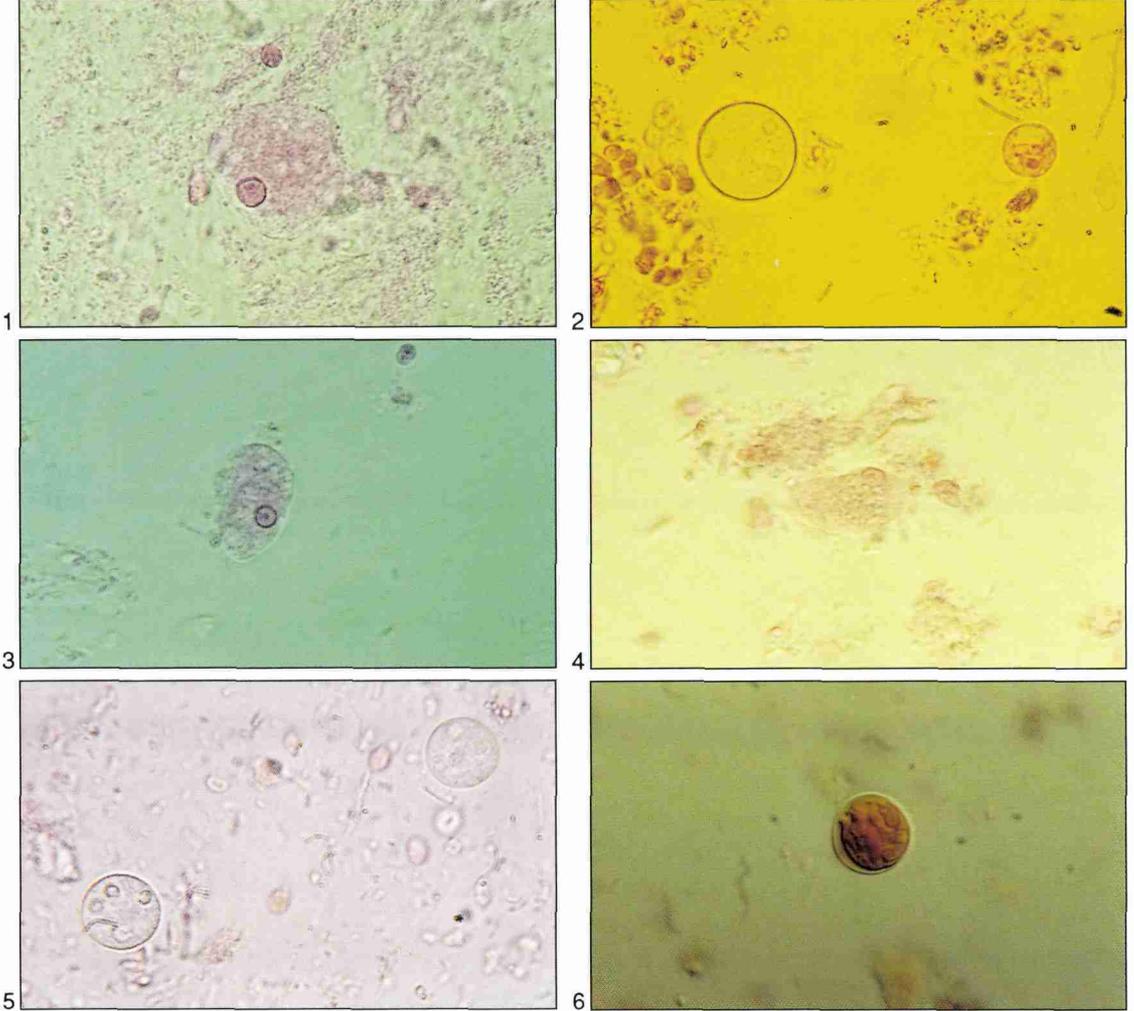
THIENPONT D., ROCHETTE F. et VANPARISS O.F.J.

Diagnostic de verminose par examen coprologique.  
JANSSEN RESEARCH FOUNDATION 1979

Nous remercions également pour leur travaux et leurs publications nos collègues et amis, et en particulier les docteurs C. JUNOD et J. PETITHORY.

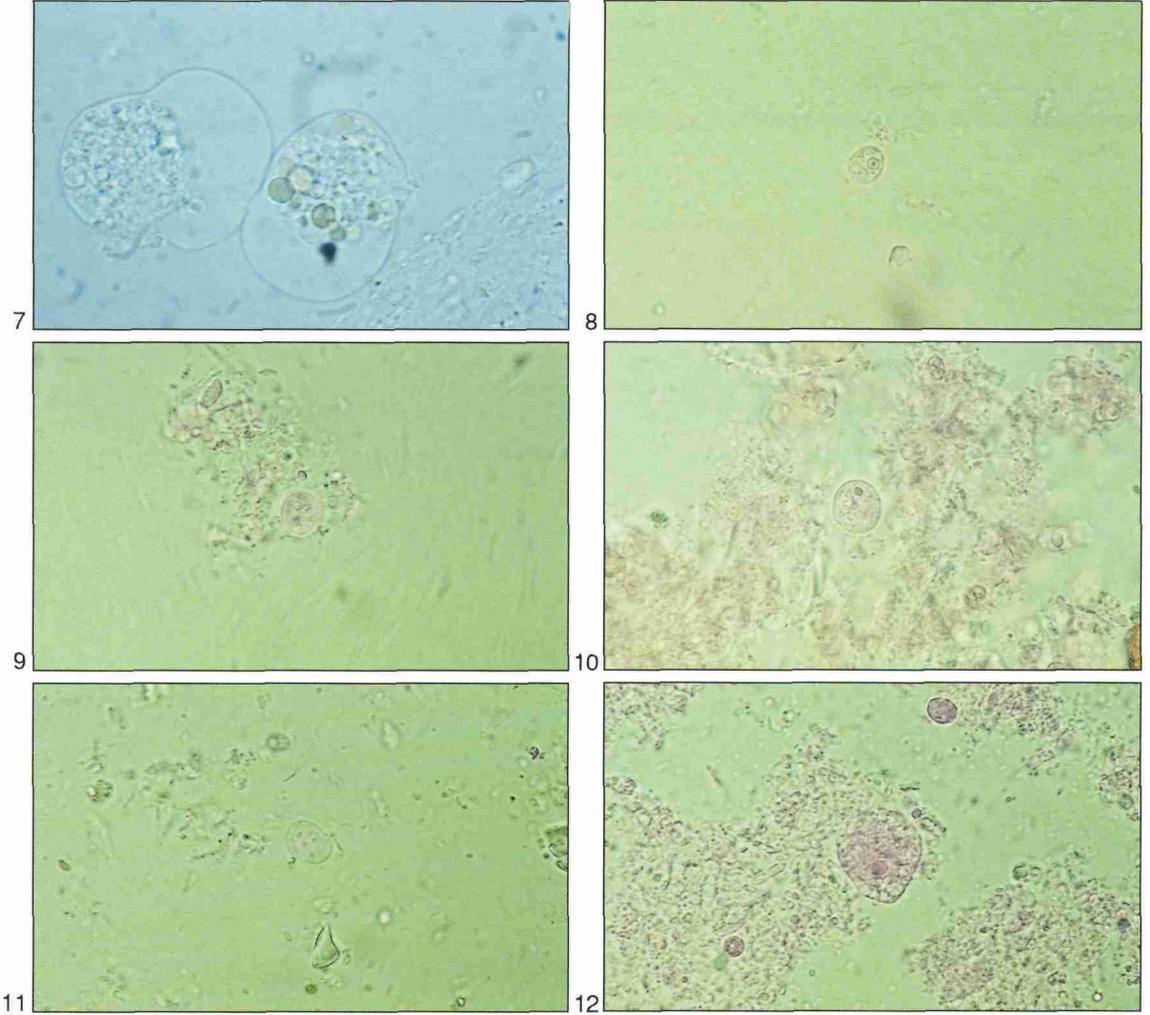


## Iconographie



1. Forme végétative d'*Entamoeba coli* (MIF-coloration). Voir l'aspect grossier de la chromatine de l'entamibe et le caryosome excentré.
2. Kyste d'*Entamoeba coli*. Au moins cinq des huit noyaux sont visibles. L'éosine de la MIF-coloration n'a pas encore pénétré dans le kyste qui paraît ainsi légèrement bleu-verdâtre. A côté une *Iodamoeba butschlii*.
3. Forme végétative d'*Entamoeba histolytica minuta* (MIF-coloration). Voir la netteté et la finesse de la structure nucléaire.
4. Forme végétative d'*Entamoeba histolytica minuta* contenant une *Sphaerita* (MIF-coloration).
5. Deux kystes d'*Entamoeba histolytica* (MIF-coloration).
6. Kyste d'*Entamoeba histolytica* coloré par la solution de Lugol. La concentration de Telemann-Rivas a dédoublé la coque du kyste. On remarque la présence d'un corps sidérophile, particulièrement net grâce au contraste de phase.

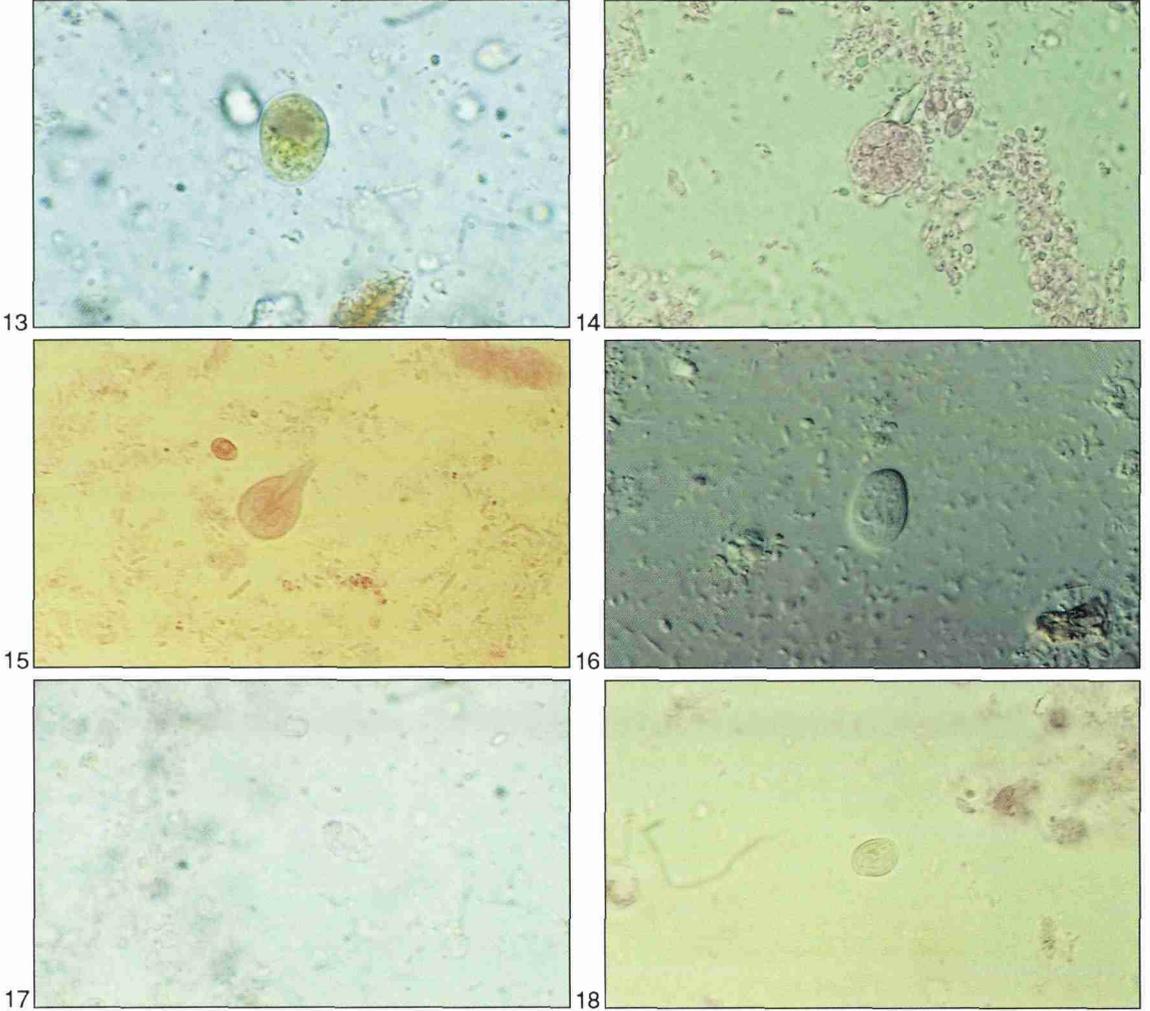
1. ناشطة أنتاميبا كولبي (صنع بالميف). أنظر الهيئة الخشنة للصبغين و الجسيم النووي المركزي.
2. كيس أنتاميبا كولبي. نشاهد على الأقل 5 من 8 نوى. لا تزال إيوزين الميف لم تدخل داخل الكيس الذي يبدو في لون أزرق - أخضر. بجانبه نرى يوداميبا بوتشلي.
3. ناشطة أنتاميبا هيسطوليتيكا مينوتا (صنع بالميف). أنظر وضوح و دقة الهيئة النووية.
4. ناشطة أنتاميبا هيسطوليتيكا مينوتا حاوية لسفاريوتا (صنع بالميف).
5. كيسان لأنتاميبا هيسطوليتيكا (صنع بالميف).
6. كيس أنتاميبا هيسطوليتيكا صنع بالليغول. بمفعول التثقيب بطريقة تيليمان-ريفاس، تضاعف قيض الكيس. لاحظ وجود عنصر أليف للحديد، واضح بسبب تباين الأطوار.



7. Examen direct d'un crachat rectal (sans coloration) : deux *Entamoeba histolytica histolytica*. Voir les hématies intracytoplasmiques.  
 8. Forme végétative d'*Entamoeba hartmanni* (MIF-coloration). Apprécier la petitesse de l'amibe et de son noyau. La chromatine périphérique est relativement irrégulière.  
 9. Kyste d'*Entamoeba hartmanni* : kyste à quatre noyaux minuscules mais incontestablement du genre *Entamoeba*.  
 10. Forme végétative d'*Endolimax nanus* (MIF-coloration). Voir le gros caryosome entouré d'un halo clair limité par la membrane nucléaire.  
 11. Kyste d'*Endolimax nanus* (MIF-coloration). Les trois grains visibles dans le kyste correspondent aux caryosomes.  
 12. Forme végétative d'*Iodamoeba butschlii*. La structure nucléaire est nette.

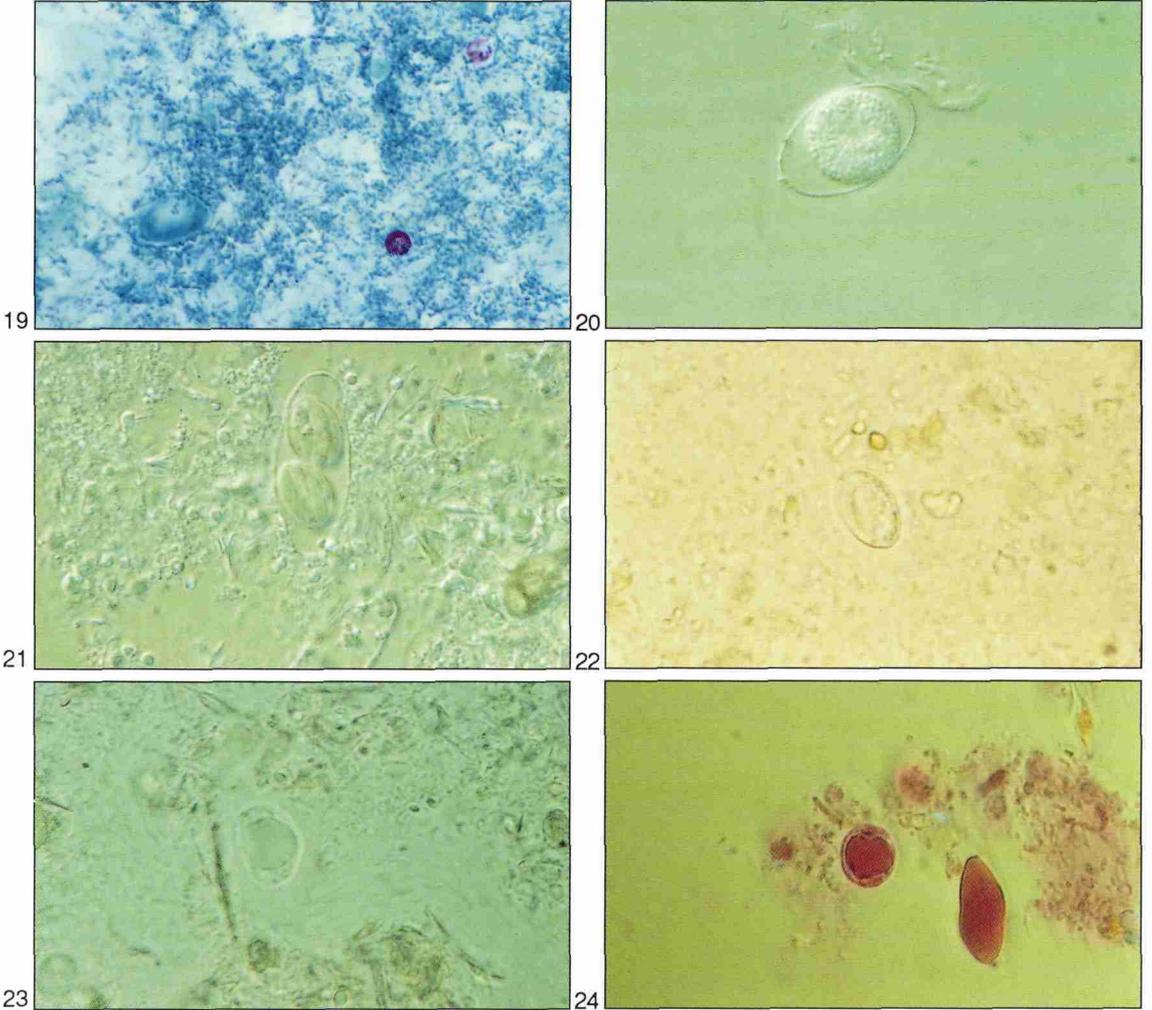
7. فحص مباشر لخراج شرجي (بدون صبغ) : نشاهد جسمين من جنس *انتاميبا هيسثوليتيكا هيسثوليتيكا*. أنظر الكريات الحمراء داخل الهيولي.  
 8. ناشطة *انتاميبا هارتماني* (صبغ بالميف). لاحظ صغر حجم الأميبا و نواتها والصبغين الدائرية غير المنتظمة نسبيا.  
 9. كيس *انتاميبا هارتماني* به 4 نوى صغيرة من نوع *انتاميبا* بدون أي شك.  
 10. ناشطة *اندوليماتكس نانوس* (صبغ بالميف). أنظر الجسميم النووي الكبير المحاط بهالة نيرة محدودة بالغشاء النووي.  
 11. كيس *اندوليماتكس نانوس* (صبغ بالميف). أنظر الجسميمات النووية الثلاثة في شكل حبيبات  
 12. ناشطة *يوداميبا بوتشلي* بهيئتها النووية الواضحة.

## Iconographie



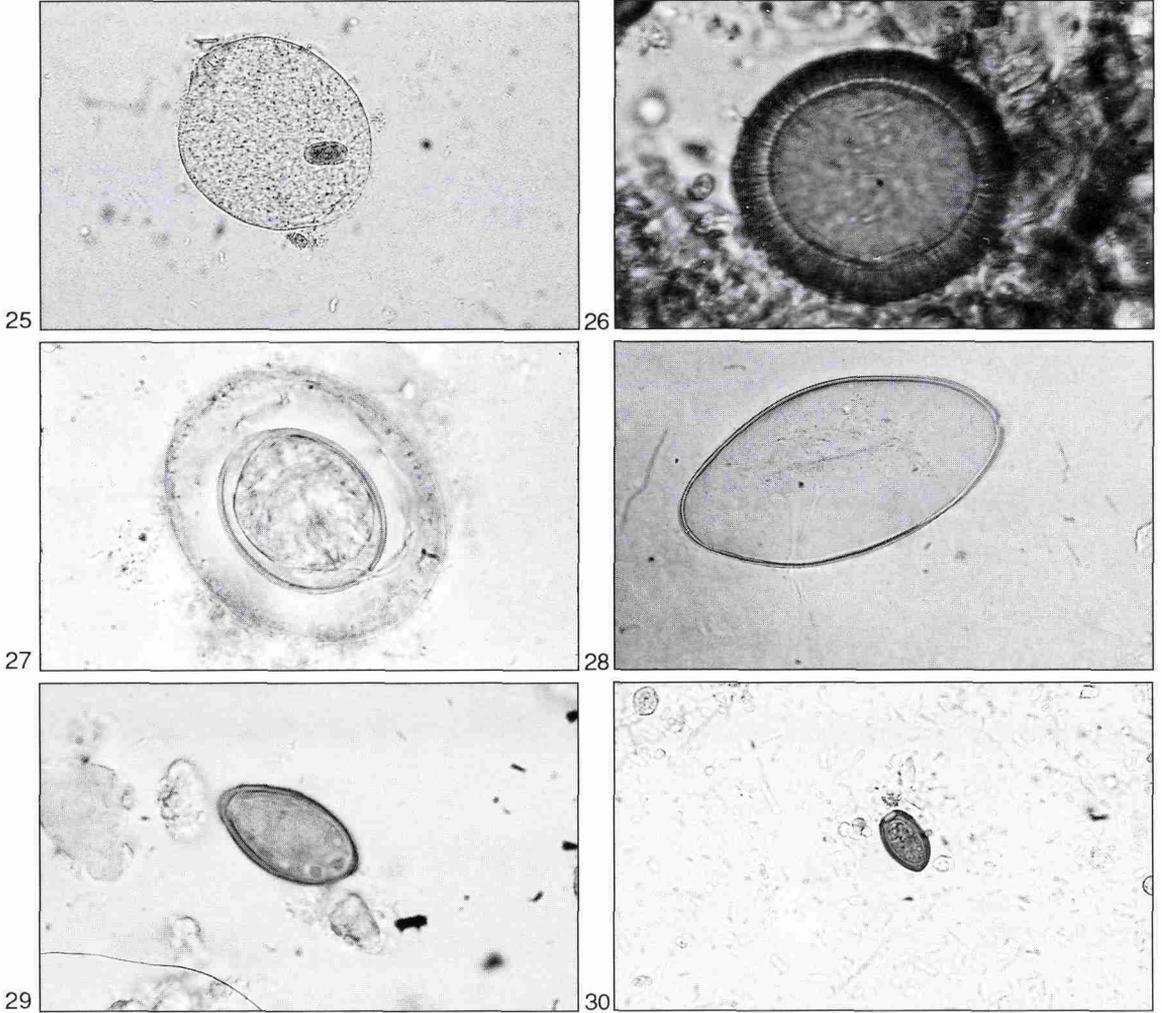
13. Kyste d'*Iodamoeba butschlii* avec sa vacuole iodophile typique (colorant de Lugol).  
 14. *Dientamoeba fragilis*. La MIF-coloration permet de voir deux zones inhomogènes correspondant aux deux noyaux reliés par un fin filament.  
 15. Forme végétative de *Giardia intestinalis* (MIF-coloration).  
 16. Kyste de *Giardia intestinalis*. Les structures sont visibles grâce au contraste de phase et au colorant de Lugol.  
 17. Forme végétative de *Chilomastix mesnili*. Malgré l'aspect en poire et le cytostome évocable, le diagnostic est difficile sur une forme végétative fixée alors que sur selles fraîches, il est évident.  
 18. Forme kystique de *Chilomastix mesnili* avec un noyau excentrique.

13. كيس يوداميبيا بوشليي به الفجوة المحبة لليود النموذجية (صبغ باليود).  
 14. دياتاميبيا فراجيليس. يسمح الصبغ بالميف من مشاهدة نواتين مرتبطتين بخيط دقيق.  
 15. ناشطة جيارديا انتستيناليس (صبغ بالميف).  
 16. كيس جيارديا انتستيناليس. تبدو هيئة الكيس واضحة بسبب تباين الأطوار و الليغول.  
 17. ناشطة كيلوماستيكس مستيلي. رغم الشكل الإجاصي و المثغرة، فإن التشخيص من خلال الناشطة يبقى عسيراً في حين أنه بديهي من خلال فحص العينة الغضة.  
 18. كيس كيلوماستيكس مستيلي بنواته اللامركزية.



19. Deux oocystes de *Cryptosporidium* colorés selon la technique de Ziehl modifiée par Nielsen. L'élément ovulaire est un kyste de *Giardia*.  
 20. Oocyste d'*Isospora belli*.  
 21. *Isospora belli* : deux sporocystes formés dans l'oocyste après coproculture. Voir les sporozoïtes dans les sporocystes.  
 22. Sporocyste d'*Isospora (Sarcocystis) hominis*.  
 23. *Blastocystis hominis* : examen direct sans coloration. Voir le halo clair entourant le parasite et la grosse vacuole non iodophile.  
 24. *Blastocystis hominis* (MIF-coloration).

19. كيسان بيضيان كريبْتوسْبورِيدِيَوْمٌ صبغاً بطريقة زيهل - نيلسن، أنظر العنصر البيضوي: إنه كيس جيارديا.  
 20. كيس بيضي إيزوسْبورَا بِلِي.  
 21. إيزوسْبورَا بِلِي: كيسان بوغيان تكوّنّا داخل الكيس البيضي بعد استزراع البراز. أنظر الحيوانات البوغية داخل الاكياس.  
 22. كيس بوغي إيزوسْبورَا ( ساركوسيسْتيس ) هومينيس.  
 23. بلاسْتوسيسْتيس هومينيس: فحص مباشر دون صبغ، أنظر الهالة النيرة المحيطة بالطفيلى و الفجوة الكبيرة غير الاليفة للبود.  
 24. بلاسْتوسيسْتيس هومينيس (صبغ باليف).



25. *Balantidium coli* : forme végétative.

26. Embryophore de *Taenia*. Le fort grossissement permet d'apprécier la structure de la coque et de voir les crochets de l'embryon hexacanthé.

27. Œuf d'*Hymenolepis nana*.

28. Œuf de *Fasciola hepatica*. L'opercule est marqué par un amincissement de la coque de l'œuf.

29. Œuf d'*Heterophyes heterophyes*. L'œuf est embryonné et l'opercule net.

30. Œuf d'*Ascocotyle coleostoma* vraisemblable. C'est le plus petit des œufs de douve trouvés dans des selles humaines.

25. ناشطة بالانتيديوم كولي.

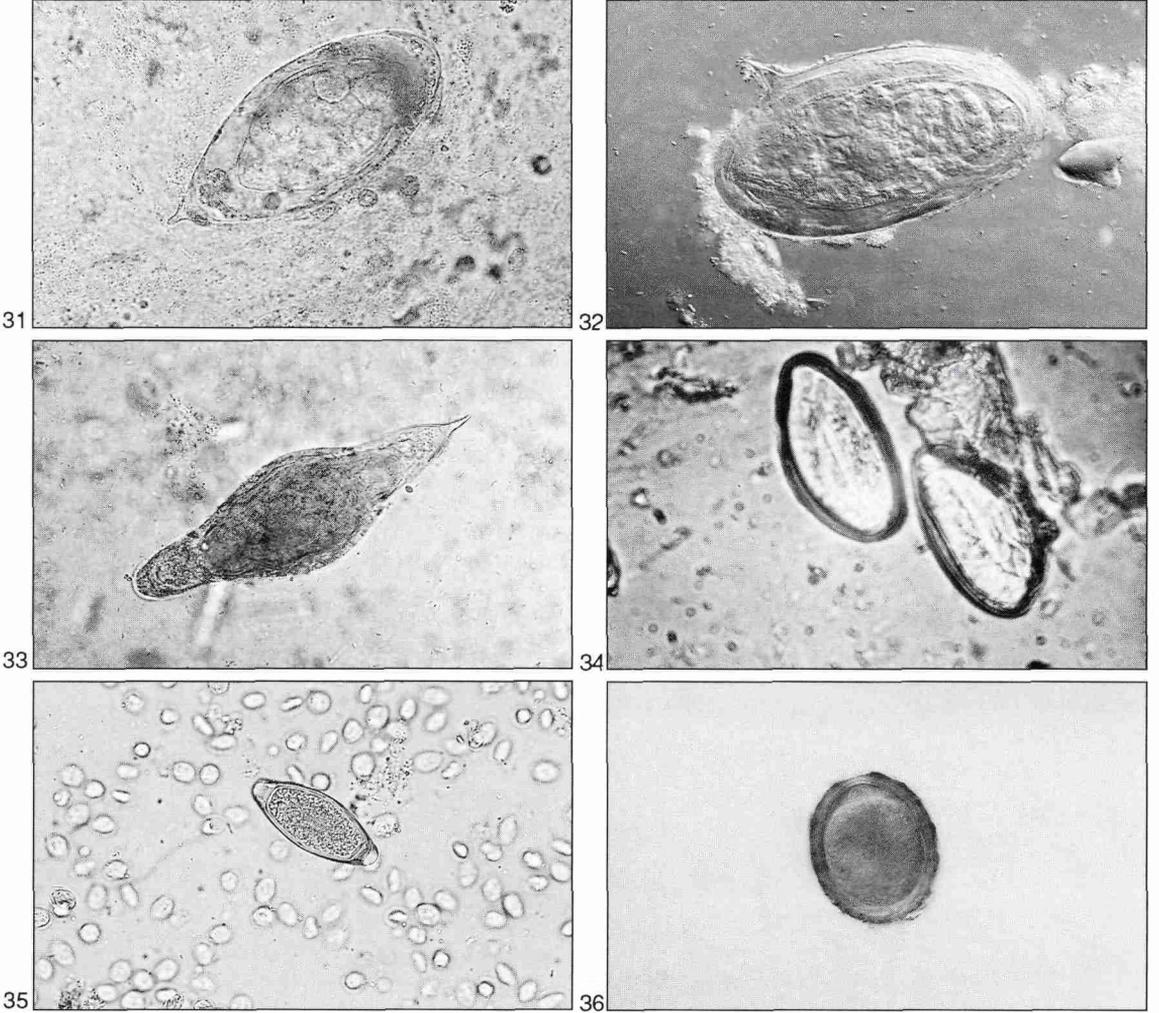
26. حاملة الجنين لتينيا. التكبير القوي يسمح بالتعرف على هيئة القيص و مشاهدة أنياب الجنين سداسي الأنياب.

27. بيض هيمينوليبيس نانا.

28. بيض فاستيولا هيباتيكا. تظهر السهيفة عبر نحافة قيص البيضة.

29. بيضة هيتيروفيتاس هيتيروفيتاس تحوي جنينا و لها سهيفة واضحة.

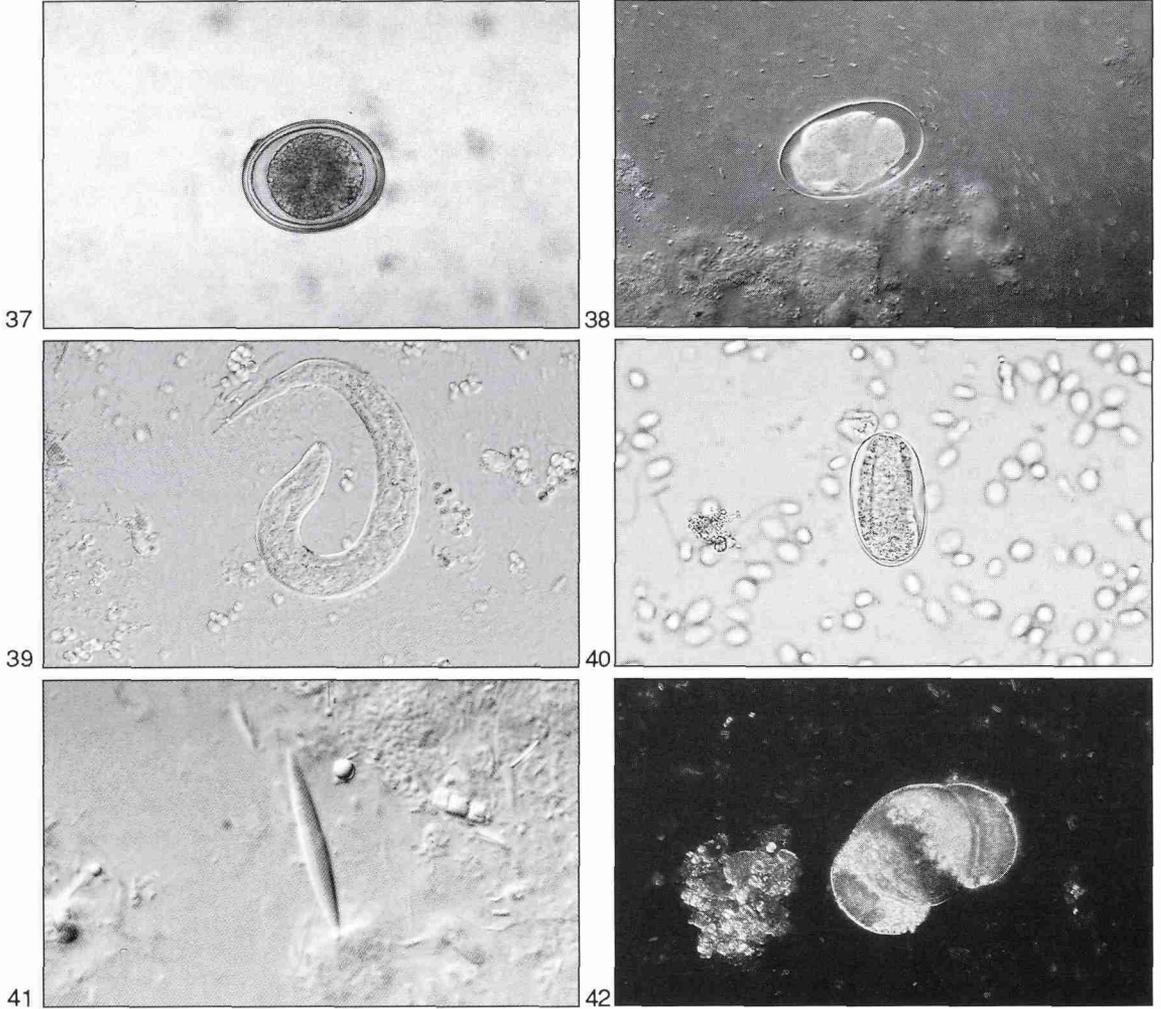
30. بيضة آسكوكوتيل كوليوستوما. أصغر بيض الأذناف المشاهدة في براز الإنسان.



31. Œuf de *Schistosoma hæmatobium* dans l'urine.  
 32. Œuf de *Schistosoma mansoni* : l'éclairage met en évidence les cils de l'embryon.  
 33. Œuf de *Schistosoma intercalatum*.  
 34. Œufs d'*Enterobius vermicularis* prélevés à la cellophane adhésive. Voir l'embryon replié dans l'œuf.  
 35. Œuf de *Trichuris trichiura* sur un parterre de kystes de *Giardia*.  
 36. Œuf typique d'*Ascaris lumbricoides* avec sa double coque.

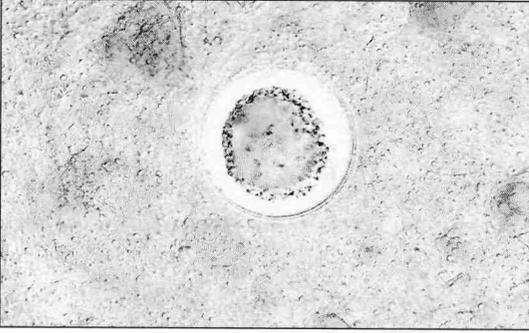
31. بيضة شيسْتُوْرُوْمَا هِيْمَاتُوْبِيُوْم وسط البول.  
 32. بيضة شيسْتُوْرُوْمَا مَانْسُونِي: يسمح التَّنوير من مشاهدة أهداب الجنين.  
 33. بيضة شيسْتُوْرُوْمَا أَنْتَرْكَالَاتُوْم.  
 34. بيض أَنْتِيرُوْبِيُوْس فَرْمِيْكُولَارِيْس ملتقطة بواسطة السِيلُوْفَان اللُّصُوْق. انظر الجنين الملتوي داخل البيضة.  
 35. بيضة تْرِيْكِيُوْرِيْس تْرِيْكُوْرَا وسط مجموعة من أكياس جيارديا.  
 36. بيضة نموذجية أَسْكَارِيْس لَمْبْرِيْكُوَيْدَاس بقبيضا المضاعف.

Iconographie



37. Œuf atypique d'*Ascaris lumbricoides* dont la coque externe est réduite à quelques granulations.  
 38. Œuf d'Ancylostomidé.  
 39. Larve rhabditoïde de *Strongyloides stercoralis*.  
 40. Œuf de *Strongyloides fuelleborni*.  
 41. Cristal de Charcot-Leyden.  
 42. Élément végétal (pollen).

37. بيضة لأنموذجية أسكاريس لُمبَرِيكُوِيدَاس، القِيض الخَارجي مَكون من بَعض الحَبِيبَات.  
 38. بيضة أنيقلِيسية.  
 39. يرقة سترنْجِيلُوِيدَاس سِتَارْكَوَلَارِيس.  
 40. بيضة سترنْجِيلُوِيدَاس فُوِيلِيَبُوَرْتِي.  
 41. بلورات شاركو-لايدن.  
 42. عنصر نباتي ( صواح ).



43

44

43. Élément végétal.

44. Œuf atypique. Cet œuf de *Trichuris* altéré peut poser des problèmes diagnostiques.

43. عنصر نباتي.

44. بيضة لأنموذجية. إنها بيضة تريكوريس مشوهة، تحدث عدّة صعوبات تشخيصية.