

LES PRELEVEMENTS EN PARASITOLOGIE

1. INTRODUCTION :

Les prélèvements en parasitologie sont réalisés pour la recherche d'un ou plusieurs parasites dans un échantillon, confirmer ou infirmer le diagnostic d'une parasitose ou pour le suivi thérapeutique.

Le prélèvement doit être réalisé au laboratoire de parasitologie, sinon il doit être acheminé dans un flacon stérile le plus tôt possible au laboratoire tout en respectant les conditions de conservation selon le type du prélèvement.

Plusieurs prélèvements sont réalisés ou orientés au laboratoire de parasitologie (selles, urines, sang, moelle osseuse, sérosité cutané...) en fonction de la localisation du parasite recherché ou la symptomatologie clinique. Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignement.

2. Fiche de renseignement en parasitologie :

Elle doit contenir les informations suivantes :

- Nom prénom âge du patient ;
- L'adresse (zone urbaine, rurale, d'endémie) ;
- La notion de séjour en zone d'endémie ;
- Présence d'animaux ;
- Les habitudes culinaires ;
- Le tableau clinique et les signes para clinique (biologiques et radiologiques) ;
- Notion d'un terrain d'immunodépression ;
- Notion de traitement en cours notamment antiparasitaire.

3. Types de prélèvement en parasitologie :

2.1. Prélèvement de selles :

2.1.1. Préparation du patient :

De nombreux examens coprologiques sont faussement négatifs parce que les malades n'ont pas été soumis à l'indispensable préparation ou celle-ci a été insuffisante ou incorrecte.

Cette préparation consiste à proscrire pendant au moins trois jours :

- **Les médicaments opaques non absorbables** : charbon végétal, produits de contraste, substances grasses (huile laxatif, suppositoires).
- **Les aliments laissant beaucoup de résidus** : Légumes secs (pomme de terre), légumes vers (choux et salade), fruits à cuticules résistantes (tomates, pêches, abricots), grains à enveloppes sclérifiées (haricots, lentilles), fruits à grains nombreuses et de petite taille (figues, fraises).
- **Les aliments et les médicaments qui colorent la selle** : Betteraves, charbon, fumafer.
- **Toutes thérapeutiques susceptibles d'avoir une action antiparasitaire** : ont l'inconvénient majeur de camoufler la parasitose, ex : métronidazole, fluvermal.

2.1.2. Condition du prélèvement :

Le malade déposera sa première selle du matin dans un **réceptacle propre et sec**, possédant **une large ouverture**, à **fermeture hermétique**, si possible transparent, et sur lequel est collée une étiquette portant le *nom et prénom ou le numéro du malade, la date et l'heure de l'émission de la selle*.

Une quantité de 30-50 g suffit pour l'examen mais les selles ne doivent surtout **pas mélangées aux urines**.

La condition idéale de prélèvement c'est au niveau du laboratoire, sinon la selle doit parvenir au laboratoire dans un **délai très bref**.

L'intérêt de ce délai réside dans le fait que les formes végétatives sont sensibles aux variations de la température et à la déshydratation. De plus certains œufs d'helminthes s'embryonnent dans le milieu extérieur et rendent difficile le diagnostic d'espèce, exemple : œufs d'*Ankylostoma duodenale* et *Necator americanus*.

Si le délai est beaucoup plus long, on doit procéder à la conservation de la selle.

2.1.3. Conservation de selles :

La conservation des selles et des parasites peut se faire de plusieurs manières :

- **Conservation par le froid** : Dans une boîte hermétique à **+4°C**, on pourra conserver d'une manière acceptable les **kystes de protozoaires** et les **œufs d'helminthes**.
- **Eau formolée à 10%** : C'est une solution fixatrice et conservatrice **des kystes de protozoaires et des œufs d'helminthes** seront conservés dans du *formol* à 10%.
- **Merthiolate iode Formol(MIF)** : Il permet une coloration et une conservation beaucoup plus longue des **formes végétatives** (quelques années) et des **kystes de protozoaires** (indéfiniment) colorés. De plus, il permet d'effectuer une concentration physico-chimique sur des selles prélevées hors du laboratoire (technique de Sapero, Lawless et Strome).

2.1.4. Techniques à réaliser :

- **Examen parasitologique des selles (EPS)** :
 - Examen direct macroscopique et microscopique ;
 - Techniques de concentration ;
 - Techniques de coloration ;
 - Coproculture.

2.1.5. Indication de l'examen parasitologique des selles :

EPS met en évidence et identifie :

- **Les parasites vivants dans le tube digestif de l'homme** : *Ascaris lumbricoïdes* vit dans l'intestin grêle de l'homme et élimine ses œufs dans les selles.
- **Les parasites pour lesquels les selles sont un moyen d'élimination** de leurs formes de dissémination dans le milieu extérieur : *Schistosoma mansoni* adulte vit dans les vaisseaux sanguins et élimine ses œufs dans les selles.

2.2. Prélèvement de sang :

2.2.1. Condition du prélèvement :

Le prélèvement de sang est effectué :

- Soit au doigt du patient (face latérale de l'annulaire),
- Soit par ponction veineuse sous anticoagulant (EDTA) sauf pour sérologie (tube sec).

2.2.2. Techniques à réaliser :

Les techniques à mettre en œuvre sont :

- L'état frais pour la recherche des parasites extracellulaires ;
- Frottis sanguin et goutte épaisse ;
- Test de dépistage rapide ;
- Techniques de concentration :
 - Centrifugation en tube capillaire ;
 - Système QBC ;
 - Triple centrifugation ;
 - Techniques de leucoconcentration.
- Culture et hémoculture ;

- Inoculation à l'animal ;
- Technique de biologie moléculaire
- Techniques sérologique par dosage des anticorps ou des antigènes circulants.

2.2.3. Indication :

Il est utilisé pour la recherche des parasites sanguicoles :

- **Plasmodium** (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malarie* et *P. knowlesi*) agent du paludisme.
- **Babesia** (*B. microti*, *B. divergens*) agent de babésioses.
- **Trypanosoma**. *brucei* agent de trypanosomose africaine.
- **T. cruzi** agent de trypanosomose américaine.
- **Leishmania sp.** Agent de leishmaniose viscérale (chez sujet VIH+).
- **Toxoplasma gondii** agent de toxoplasmose (chez sujet immunodéprimé).
- **Wuchereria bancrofti**, **Brugia malayi** et **Brugia timori** agent de filarioses lymphatiques.
- **Loa loa** agent de loase.

Mais aussi pour le diagnostic sérologique de certaines parasitoses : **toxoplasmoses, amœbose tissulaire, leishmaniose viscérale, hydatidose, distomatoses, bilharzioses...**

2.3. Prélèvement des urines :

2.3.1. Indication :

Les éléments parasitaires dans les urines sont essentiellement : les **œufs de Schistosoma haematobium** et les **trophozoites de Trichomonas vaginalis**.

2.3.2. Condition du prélèvement :

Deux modalités de prélèvement selon le parasite recherché :

- **Pour les œufs de S. haematobium :**
 - Soit on recueille les urines de la 2^{ème} partie d'une miction après effort modéré (sautillement sur place, montée d'escalier),
 - Soit les urines de 24 heures (meilleur prélèvement).
- **Pour T. vaginalis :** on recueille les urines matinales du premier jet.

2.3.3. Techniques à réaliser :

- Examen du **culot de centrifugation** à 1500 trs/mn pendant 5 minutes.
- Filtration sur **filtre polycarbonate**, **test l'éclosion miracidienne** et **test de vitalité** pour les œufs de *S. haematobium*.
- **Coloration MGG (May Grunwald Giemsa) ou Giemsa** et **culture** pour *T. vaginalis*.

2.4. Prélèvement vaginal :

2.4.1. Indication :

La recherche des **trophozoites de Trichomonas vaginalis** chez la femme.

2.4.2. Condition du prélèvement :

La malade **ne doit pas effectuer une toilette interne et n'avoir aucune relation sexuelle dans les 48 heures** qui précèdent l'examen.

Le prélèvement se fait par écouvillon stérile, et est pratiqué au niveau des **culs-de-sac et glandes sous spéculum sans lubrifiant**.

2.4.3. Techniques à réaliser :

- Examen direct.
- Frottis coloré par MGG ou Giemsa.
- Culture sur milieu pour protozoaires.

2.5. Prélèvement urétral :

2.5.1. Indication :

La recherche des **trophozoites de *Trichomonas vaginalis*** chez l'homme.

2.5.2. Condition du prélèvement :

On prélève l'**écoulement purulent du matin avant toute toilette** à l'aide d'un écouvillon stérile.

2.5.3. Techniques à réaliser :

- Examen direct.
- Coloration MGG ou Giemsa.
- Culture sur milieu pour protozoaires.

2.6. Prélèvement cutané :

2.6.1. Indication :

Recherche de :

- ***Leishmania sp.*** dans les **exsudats cutanés**.
- ***Dracunculus medinensis*** (filaire de Médine) : extraction du ver adulte.
- ***Onchocerca volvulus*** : biopsie cutanée exsangue.

2.6.2. Condition du prélèvement :

- **Pour *Leishmania sp.* :**

Le prélèvement des sérosités par un vaccinostyle est effectué à la périphérie de la lésion cutanée dans ses parties infiltrées, en évitant la zone ulcérée au centre car elle peut être surinfectée par les bactéries. Les sérosités sont étalées sur une lame porte objet en zig-zag ou par mouvement circulaire.

- ***Dracunculus medinensis*:**

Extraction du ver adulte en l'enroulant sur un bâtonnet à raison de 1cm/jour.

- **Biopsie cutanée exsangue pour *Onchocerca volvulus* :**

- Retirer un petit copeau de la peau à l'aide d'une pince à sclérotomie, sans anesthésie.
- Le prélèvement n'est pas douloureux car il est superficiel.
- Il ne doit pas être hémorragique (contamination par les filaires sanguicoles).
- Il se réalise au niveau des crêtes iliaques ou au niveau des omoplates.

2.6.3. Techniques à réaliser :

- **Pour *Leishmania sp.* :**

- Coloration Giemsa ou MGG.
- Culture sur milieu NNN (Novy- MacNeal, Nicolle).

- **Biopsie cutanée exsangue pour *Onchocerca volvulus* :**

- Examen à la loupe binoculaire ou microscope x10 des microfilaires mis dans de l'eau physiologique.

2.7. Prélèvement de la moelle osseuse :

2.7.1. Indication :

Diagnostic de la leishmaniose viscérale.

2.7.2. Condition du prélèvement :

La moelle osseuse est prélevée par ponction sternale ou iliaque et recueillie dans un tube contenant de l'EDTA ou du citrate de sodium.

2.7.3. Techniques à réaliser :

- Frottis fixé et coloré par MGG ou Giemsa.
- Culture sur milieu NNN.
- Inoculation à l'animal.

2.8. Prélèvement du liquide céphalo-rachidien (LCR) :

2.8.1. Indication :

La recherche de :

- ***Trypanosoma brucei gambiense* et *T.b. rhodesiense*** agent de la **trypanosomose humaine africaine**.
- ***Trypanosoma cruzi*** agent de la **maladie de Chagas**.
- ***Toxoplasma gondii*** agent de la toxoplasmose principalement chez les sujets immunodéprimés.
- **Amibes libres (*Naegleria fowleri* agent de la méningo-encéphalite amibienne primitive, *Acanthamoeba sp.* et *Balamuthia mandrillaris* agent de l'encéphalite granulomateuse amibienne).**

2.8.2. Condition du prélèvement :

Le prélèvement du LCR ou la ponction lombaire est effectué après une asepsie rigoureuse, par l'introduction d'un stylet entre deux vertèbres du bas du dos (L3-L4 ou L4-L5). La quantité de 3ml est suffisante.

2.8.3. Techniques à réaliser :

- Examen direct.
- **Formule leucocytaire.**
- Technique de concentration : **simple ou double centrifugation.**
- Coloration MGG ou Giemsa.
- Culture.

2.9. Prélèvement du lavage bronchoalvéolaire (LBA) :

2.9.1. Indication :

Diagnostic de :

- **Distomatose pulmonaire à *Paragonimus sp.***
- **Hydatidose pulmonaire** en cas de vomique hydatique.

2.9.2. Condition du prélèvement :

Le prélèvement de LBA est pratiqué au cours de la bronchoscopie, il consiste à instiller du sérum physiologique au niveau des bronches, puis à le ré-aspirer.

2.9.3. Techniques à réaliser :

- Examen direct et après centrifugation.

2.10. Prélèvement du suc ganglionnaire :

- Le sur ganglionnaire est prélevé à l'aiguille, à la recherche de ***Trypanosoma brucei gambiense* et *T.b. rhodesiense*** agent de la **trypanosomose humaine africaine**.

2.10.1. Techniques à réaliser :

- Examen direct.
- Frottis fixé et coloré par MGG ou Giemsa.

2.11. Liquide de tubage duodéal :

2.11.1. Indication :

Recherche des :

- ***Giardia duodenalis*,**
- **Œufs de Douves,**
- **Œufs et larves d'Anguillule.**

2.11.2. Condition du prélèvement :

Introduire une sonde par la bouche ou le nez dans le tube digestif haut pour prélever les sécrétions duodénales.

Examen est déplaisant mais non douloureux, s'effectue sans anesthésie. Le liquide prélevé est versé dans un tube stérile.

2.11.3. Techniques à réaliser :

Examen direct (ne dépasser pas 1 heure).

2.12. Biopsie rectale :

2.12.1. Indication :

Recherche des :

- **Amibe : *Entamoeba histolytica histolytica*.**
- **Œufs de Schistosomes.**

2.12.2. Condition du prélèvement :

– **Pour l'amibe :**

Le prélèvement est effectué au niveau d'une ulcération en « **coupe d'ongle** » mis dans un liquide fixateur (Bouin ou formol).

– **Pour les œufs de schistosomes :**

Les fragments de la muqueuse ou de la sous-muqueuse prélevés lors de la rectoscopie sont mis dans du sérum physiologique (pas dans un liquide fixateur), puis dans de l'eau distillée pour la déshémoglobination. Les fragments sont par la suite écrasés entre lame et lamelle dans la gomme du chloral.

2.12.3. Techniques à réaliser :

– **Pour l'amibe :**

- Examen direct.
- Colorations histologiques : **PAS (periodic acid Schiff), l'hématoxyline ferrique ou le trichrome.**

– **Pour les œufs de schistosomes :**

- Examen direct (compter le nombre des œufs, noter le caractère vivant ou mort).
- Coloration **Ziehl Neelsen.**

Référence :

1. ANOFEL, Parasitologie et mycologie médicale, guides des analyses et pratiques diagnostiques.2017, Elsevier Masson SAS.
2. Y.J. Golvan, LES nouvelles techniques en parasitologie.1990, Flammarion médecine sciences.
3. V. Guillaume, Fiches pratiques de parasitologie.2007, De Boeck & Larcier.