

Infestation naturelle par *Passalurus ambiguus* en élevage lapins de chair. Intérêt d'une nouvelle méthode de diagnostic coproscopique et importance du ciblage des animaux pour les prélèvements fécaux.

B. LE NORMAND¹, S. CHATELLIER¹, P. MERCIER²

1. SCP Fouqué-Gounot-Le Normand-Le Page-Donon, Clinique Vétérinaire des Marches de Bretagne, 35460 St Brice en Coglès
2. Virbac France, 06515 CARROS

Résumé : Des échantillons de fèces sont prélevés pour examens coproscopiques dans un élevage naturellement infesté par *Passalurus ambiguus*. La coproscopie est réalisée selon deux méthodes : la méthode Mc Master et la méthode Mini-Flotac. La méthode Mini Flotac est une méthode simple et pratique qui se montre pertinente pour mettre en évidence la présence d'œufs d'helminthes dans les fèces en ciblant certaines catégories de lapines : les primipares et les inséminées non gravides. Notre étude montre que la méthode Mc Master préconisée pour la recherche de coccidies chez le lapin (méthode INRA avec un échantillon unique prélevé sur un grand nombre d'animaux et homogénéisé) manque de sensibilité pour la recherche d'œufs d'helminthes. Les deux méthodes restent appropriées pour la recherche de coccidies.

Abstract : Natural infestation by *Passalurus ambiguus* in a rabbit farm. Interest of a new copromicroscopic method for parasitological diagnosis and importance to select sensitive animals for the fecal sampling procedure.

Fecal samples were collected for copromicroscopic diagnosis in a naturally *Passalurus ambiguus* infested rabbit farm. Copromicroscopic analyses were performed using two methods: the Mc Master and the Mini Flotac techniques. The Mini Flotac technique is a simple, easy to use method and relevant for assessing helminth eggs in fecal samples on targeted animals: primiparous and non-pregnant inseminated animals. The study showed that the Mc Master technique recommended for oocysts count (INRA method with only one homogenized feces sample on many animals) was not enough sensitive for helminth eggs diagnosis. Nevertheless both techniques were relevant for the coccidiosis diagnosis.

Introduction

Les parasites digestifs fréquemment rencontrés en élevages cynicoles rationnels sont les coccidies (Szkucik *et al.*, 2013) et les oxyures (Harkness *et al.*, 2010). La présence d'oxyures, souvent ignorée par l'éleveur (absence de signes cliniques et période pré-patente longue du parasite, 56 à 63 jours ; Boecker, 1953) est révélée lors d'autopsie. L'absence de parasites adultes dans les crottes des lapines fraîchement émises lors de l'insémination ne constitue pas un dépistage parasitologique négatif contrairement aux idées largement répandues sur le terrain. Dans cette étude, nous avons utilisé une nouvelle méthode coproscopique, le Mini Flotac (Maurelli *et al.*, 2014), et l'avons comparé à la méthode Mc Master avec la méthodologie conseillée par l'Inra pour la recherche des coccidies décrite par P. Coudert *et al.* (1995). Cette nouvelle méthode se doit d'être facile à mettre en œuvre et suffisamment fiable pour éviter une autopsie sur des animaux adultes ou sur de jeunes reproducteurs.

1. Matériel et méthodes

L'étude se déroule dans un élevage naisseur-engraisseur constitué de 2 maternités conduites chacune sur un cycle de 42 jours avec un décalage de 3 semaines. Des autopsies, réalisées dans cet élevage sur des lapines de réforme ou non gravides, confirment une forte infestation par des oxyures adultes (*Passalurus ambiguus*) et présence de formes

infestantes (œufs, larves) observées après examen microscopique des contenus caecaux.

1.1. Animaux

Les lapines (primipares et multipares) sont hébergées dans un bâtiment tunnel avec fosse à racleur et logées en cages individuelles (maternité 1). Les lapines nullipares (pré-cheptel) sont hébergées dans un bâtiment séparé avec fosse à racleur et logées également en cages individuelles entre 12 et 23 semaines.

1.2. Echantillons fécaux

Les prélèvements sont des crottes récupérées 1 heure après le passage du racleur. Les premiers prélèvements fécaux sont effectués sur les lapines en production à un stade IA+35 j et sur les lapines en pré-cheptel à 12 et 18 semaines d'âge.

En maternité, 5 prélèvements sont réalisés sous les cages de 20 multipares, répartis sur toute la maternité (prélèvements M1, M2, M4), sur des lapines primipares (M3), sur des lapines multipares et des lapines inséminées mais non gestantes (M5).

En pré-cheptel, 2 prélèvements fécaux sont effectués sous les cages de 20 lapines de 18 semaines d'âge (PC1) ou de 12 semaines d'âge (PC2).

1.3. Analyses coproscopiques

L'examen coproscopique est fait selon deux méthodes :

La méthode Mini Flotac, nouvelle technique développée par le Pr Cringoli (Cringoli, 2006, Cringoli *et al.* 2010), est fondée sur la flottation. Cette méthode repose sur l'utilisation du Fill-Flotac (collecteur permettant l'homogénéisation des crottes dans le liquide de flottation et la filtration de l'homogénéisât) et du Mini Flotac (disque de lecture comprenant 2 chambres de 1 ml). Un échantillon de 2 g de crottes sèches est homogénéisé à une solution de Chlorure de Sodium à saturation (densité 1,20) puis les 2 chambres sont remplies avant lecture.

La méthode Mc Master est fondée sur la technique classique de recherche de coccidies sur mélange de fèces (300 g), les crottes sont mélangées et un aliquot de 40 g est homogénéisé dans la solution de flottation (solution de Chlorure de Sodium à saturation, densité 1,20).

La méthode Mini Flotac est utilisée pour chaque prélèvement (M1, M2, M3, M4, M5 et PC1, PC2).

La méthode Mc Master est utilisée sur un prélèvement en mélange de la maternité et du pré-cheptel.

Nous avons choisi de comparer ces 2 méthodes sur des tailles d'échantillon différentes : le Mini Flotac sur des petits échantillons ciblés et la méthode INRA avec le protocole décrit par Coudert en 1995 sur un plus gros échantillon ; en effet, cette dernière méthode nécessite beaucoup de manipulations et de matériel (balance, béchers, filtre, éprouvette, mixeur, pipettes) et la pratiquer sur de petits échantillons ciblés est onéreux compte tenu du temps passé, et donc peu envisageable en routine. A l'inverse, la méthode Mini-Flotac se présente en un kit de 2 éléments (schéma 1) : un pot permettant l'échantillonnage, l'homogénéisation du prélèvement, sa filtration et le remplissage des chambres de la cellule de lecture, et un cadran de lecture équipé de 2 chambres de 1 ml chacune, dont la partie supérieure tourne pour l'observation microscopique, ne laissant qu'un film très mince à observer, ce qui augmente énormément le confort de lecture.

Le temps de la coproscopie avec la méthode Inra sur l'échantillon groupé a été équivalent au temps des 7 coproscopies avec les 3 kits Mini Flotac.

Schéma 1. Kit Mini Flotac : pot de traitement du prélèvement et cadran de lecture.



2. Résultats et discussion

Les résultats de comptage d'œufs d'oxyures dans les différents prélèvements figurent dans le tableau 1.

Tableau 1. Nombre d'œufs (par gramme de fèces) suivant les différentes catégories d'animaux.

	Mc Master	Mini Flotac
M1	négatif	0
M2		0
M3		20
M4		0
M5		40
PC1	négatif	10
PC2		0

Les résultats coproscopiques avec la méthode Mc Master sont négatifs sur le prélèvement de mélange alors que les résultats avec la méthode Mini Flotac sont positifs sur certaines catégories d'animaux : M3, M5 et PC1 (respectivement les lapines primipares, les lapines inséminées non gravides et les lapines de pré-cheptel âgées de 18 semaines). Ces résultats confirment nos observations antérieures (Le Normand *et al.*, 2007) montrant que dans un élevage contaminé, les animaux les plus infestés sont les jeunes lapines, à partir de 12-15 semaines jusqu'au deuxième cycle de production. Le parasitisme digestif est un des facteurs le plus fréquemment impliqué dans l'irrégularité des résultats de reproduction. Les lapines inséminées mais non gravides constituent donc une cible de choix pour les prélèvements. La sensibilité de la méthode Mini Flotac est bonne à condition de cibler les animaux prélevés.

La méthode Mc Master, bien adaptée pour la recherche de coccidies sur un prélèvement de mélange manque de sensibilité pour la recherche d'helminthes en échantillon de grande taille comme nous l'avons pratiqué ici. Nous avons essayé de la pratiquer sur les petits échantillons ciblés avec le pot de préparation du Mini Flotac pour éviter toutes les étapes matérielles successives de pesée, d'homogénéisation, de filtration et de remplissage : la suspension obtenue est trop dense pour une lecture fiable sur cellule Mc Master ; le gros avantage du kit Mini Flotac est en effet la conception de la lecture sur cadran tournant permettant l'observation d'une couche très mince et donc une lecture microscopique facilitée et très confortable.

A la faveur des examens coproscopiques, nous avons également pu observer la présence de coccidies : le résultat est positif sur PC2 par Mini Flotac (3880 opg) et sur PC de mélange par Mc Master (4400 opg). Ainsi, les résultats des deux méthodes pour la recherche de coccidies semblent équivalents, la différence de comptage étant due à la variabilité selon la méthode utilisée, raison pour laquelle des résultats d'analyse ne peuvent se comparer d'un laboratoire à l'autre ou d'une méthode à l'autre.

Conclusions

Le recours à une méthode coproscopique non invasive est intéressant pour déterminer la présence d'œufs d'helminthes dans un élevage, sans recourir à l'autopsie de lapines. La méthode Mini Flotac est extrêmement simple à mettre en œuvre et nécessite peu de matériel, pas de centrifugation, le disque de lecture est pratique et incassable (matière plastique) mais le temps d'attente avant lecture (10 minutes) rend cette technique un peu lente (13 minutes au total pour traiter un p relèvement en comptant ce t emps d'attente). Cette méthode s'est montrée suffisamment sensible pour détecter les œufs d'helminthes. La méthode Mc Master sur échantillon de grande taille, ainsi qu'elle est décrite par Coudert, n'est pas suffisamment sensible si les échantillons sont mélangés sur différentes catégories d'animaux. Utiliser cette méthode sur échantillons ciblés nécessite d'obtenir 300 g de crottes fraîches sur un petit nombre de lapines, ce qui paraît relativement inadapté ; de plus cette méthode est consommatrice de matériel et de temps, ce qui rend son utilisation répétée sur des échantillons ciblés relativement inenvisageable.

La méthode Mini-Flotac utilisée dans cette étude répond à tous les critères recherchés : praticité, facilité de mise en œuvre, fiabilité et sensibilité. Cependant, il faut l'utiliser en choisissant précisément les animaux à prélever : les lapines nullipares, les lapines primipares et les lapines inséminées non gravides constituent les cibles de choix.

Références

- BOECKER H. 1953. Die Entwicklung des Kaninchen Oxyuren *Passalurus ambiguus*. Zeitschrift für Parasitenkunde 15: 491-518.
- COUDERT P., LICOIS D., DROUET-VIARD F., 1995. Eimeria species and strains of rabbit. In: Eckert J, Braun R, Shirley MW, Coudert P (eds) COST. 89/820. Biotechnology: guidelines on techniques in Coccidiosis Research. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, pp 52-73.
- CRINGOLI G., 2006. Flotac, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique. Parasitologia 48(3):381-4.
- CRINGOLI G., RINALDI L., MAURELLI M-P., UTZINGER J., 2010. FLOTAC : new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nat. Protoc, 5(3):503-15.
- HARKNESS J.E., TURNER P.V., VANDE WOUDE S, WHELER C.L. 2010: Biology and medicine of rabbits and rodents. 5th Edition. Iowa, USA, Blackwell Publishing, 472 pp.
- LE NORMAND B., CHATELLIER S., 2007. Synthèse des analyses bactériologiques de routine sur utérus de lapines, relation avec la clinique et les lésions. 12èmes Jour. Rech. Cunicole, Le Mans, 231-234, ITAVI Ed., PARIS.
- MAURELLI MP., RINALDI L., ALFANO S., PEPE P., COLES G., CRINGOLI G., 2014. Mini Flotac, a new tool for coproscopic of common intestinal nematodes in dog. Parasit Vectors 6;7: 356.
- SZKUCIK K., PYZ-LUKASIK R., OKTAWIAN K., PASZKIEWICZ W., 2013. Occurrence of gastrointestinal parasites in slaughter rabbits. Parasitol Res, 113(1):59-64.