

PRÀCTIQUES DE MALALTIES PARASITÀRIES - COPROLOGIA

PROTOCOLS DE LES FLOTACIONS AMB SOLUCIONS DE SACAROSA O SULFAT DE ZINC, AMB CENTRIFUGACIÓ.

- 1) Homogeneïtzeu la mostra de femta amb un morter o bé amb l'agitador magnètic, segons la seva consistència. Utilitzeu solució salina fisiològica o aigua de l'aixeta.
- 2) Filtreu la mostra a un o més tubs graduats, a través d'un colador i una gasa, tot utilitzant un embut. Ompliu els tubs fins al nivell dels 10 ml.
- 3) Marqueu els tubs amb retolador abans d'introduir-los a la centrífuga.
- 4) Centrifugueu a 1500 rpm durant uns 2 minuts.
- 5) Decanteu directament el sobrenedant al safareig. El sediment no es perdrà.
- 6) Afegiu a cada tub uns pocs mil·lilitres de la solució concentrada (sacarosa o sulfat de zinc, segons el cas) i agiteu els tubs fins que es desfaci el sediment.
- 7) Torneu a afegir la solució de concentració corresponent fins al nivell dels 10ml. En el cas del sulfat poden formar-se moltes bombolles; caldrà eliminar-les amb una pipeta Pasteur.
- 8) Centrifugueu a 1500 rpm durant uns 2 minuts.
- 9) Acabeu d'omplir els tubs del tot amb la solució corresponent, fins que quedi un menisc convex al capdamunt del tub. Eviteu, si és possible, que se'n vessi contingut.
- 10) Col·loqueu un cobreobjectes en contacte amb el menisc de la solució, i deixeu-l'hi durant uns 5-10 minuts.
- 11) Dipositeu el cobreobjectes damunt d'un portaobjectes i examineu-lo detingudament i completament, utilitzant l'objectiu de 10 augments.

El pas inicial amb aigua té dues funcions: d'una banda facilita la filtració (que seria més difícil si la féssim directament amb la solució de sucre, atesa la seva viscositat), i d'una altra ens serveix per netejar una mica la mostra.

La segona part és la flotació pròpiament dita, en la qual utilitzem una solució d'alta densitat per tal d'aïllar les formes de transmissió que siguin menys pesants. En aquest protocol, però, utilitzem la centrifugació en sacarosa per tal d'accelerar aquest procés de flotació. D'aquesta manera només caldrà esperar uns 5 o 10 minuts perquè les formes de transmissió estiguin concentrades al capdamunt del tub, en contacte amb el cobreobjectes.

PRÀCTIQUES DE MALALTIES PARÀSITÀRIES - COPROLOGIA

TÈCNICA DE FLOTACIÓ AMB SOLUCIÓ DE SULFAT DE ZINC AL 33% (densitat 1,18) SENSE CENTRIFUGACIÓ

- 1) Homogeneïtzeu la mostra amb un morter o vas de precipitats, segons la consistència de la femta. Poseu-hi aproximadament uns 2-3 grams de femta i uns 15-20 ml. lilitres de la solució de sulfat de zinc per a cada tub que calgui omplir.
- 2) Filtreu la mostra a tubs de centrifuga graduats, a través d'un colador i una gasa, tot utilitzant un embut. Poseu els tubs a una gradeta, de manera que no puguin caure. Ompliu els tubs fins al capdamunt, fins que quedi un menisc convex a la superfície. Procureu que no se'n vessi el contingut i que no s'hi formin bombolles.
- 3) Diposeu un cobreobjectes al capdamunt dels tubs, en contacte amb la solució, i deixeu-ho reposar durant 20 minuts.
- 4) Col.loqueu el cobreobjectes al damunt d'un portaobjectes i examineu-lo al microscopi detingudament i completament utilitzant l'objectiu de x10. Per confirmar la naturalesa d'alguna estructura, podeu utilitzar el de x40.

TÈCNICA DE SEDIMENTACIÓ AMB FORMOL-ACETAT D'ETIL.

- 1) Homogeneïtzeu la mostra de femta utilitzant el morter o un vas de precipitats en agitació, segons la seva consistència. Utilitzeu solució salina fisiològica o aigua de l'aixeta.
- 2) Filtreu la mostra, utilitzant embut, colador i gasa, a un o més tubs de centrifuga fins al nivell dels 10 ml. Marqueu els tubs amb retolador.
- 3) Centrifugueu els tubs a 1500-2000 rpm durant dos minuts.
- 4) Decanteu el sobrenedant dels tubs. Afegiu-hi formol salí al 10% fins arribar al nivell dels 8 ml. Tapeu els tubs i agiteu-los fins que es desfaci el sediment.
- 5) Afegiu-hi 2 ml d'acetat d'etil fins arribar al nivell dels 10 ml i agiteu novament.
- 6) Centrifugueu els tubs a 2000 rpm durant dos minuts.
- 7) Amb una pipeta Pasteur, desenganxeu la capa de brutícia que queda entre les dues fases i decanteu el contingut dels tubs a un recipient de residus.
- 8) Observeu el sediment obtingut entre porta i cobreobjectes. Prèviament pot escaure afegir-hi unes gotes de formol salí per tal de diluir una mica la mostra.

PRÀCTIQUES DE MALALTIES PARÀSITÀRIES - COPROLOGIA

COPROCULTIU.

- 1) Homogeneïtzeu la femta en un morter, afegint-hi una mica d'aigua o solució salina fisiològica. Heu d'obtenir una mescla pastosa, no líquida.
- 2) Dipositeu la femta en una placa de Petri en el fons de la qual heu col·locat, prèviament, una capa de paper de filtre.
- 3) Mantingueu la placa a una temperatura d'uns 25-27°C durant uns 7-10 dies. Periòdicament haureu d'humitejar una mica la mostra. També és recomanable d'obrir la placa una estona cada dia per tal d'oxygenar el coprocultiu.

TÈCNICA DE BAERMANN.

- 1) Col·loqueu la femta, provinent o no d'un coprocultiu, al damunt d'una gasa situada sobre un colador.
- 2) Dipositeu el colador sobre l'embut de l'aparell de Baermann, de manera que la mostra quedi submergida en l'aigua continguda a l'embut.
- 3) Deixeu-ho reposar unes 24-48 hores. Passat aquest temps, obriu la clau o la pinça de l'extrem inferior de l'embut i recolliu uns pocs mil·lilitres de líquid, on estaran concentrades les larves.
- 4) Per tal d'observar les larves, poseu-les entre porta i cobreobjectes. Atès que les larves estaran vives, caldrà immobilitzar-les per tal d'apreciar llur morfologia i poder mesurar-les. Això s'aconsegueix afegint una gota de lugol a la preparació o bé escalfant-la una mica amb un encenedor.

PRÀCTIQUES DE MALALTIES PARASITÀRIES – COPROLOGIA

COPROLOGIA QUANTITATIVA. TÈCNICA DE McMASTER.

- 1) Dipositeu un gram de matèria fecal i 14 mil.lilitres de sulfat de zinc al 33% (densitat 1,18) en un vas de precipitats. Homogeneïtzeu la mescla mitjançant un agitador magnètic.
- 2) Filtreu la mostra, igual que en l'apartat A, a un altre vas de precipitats. Procureu, d'una banda, no llençar l'imant que heu utilitzat per agitar i, d'una altra, que quedi la menor quantitat de líquid possible a la gasa. Deixeu el líquid filtrat en agitació constant a l'agitador magnètic.
- 3) Amb una pipeta Pasteur, ompliu els dos reticles de la cambra de McMaster, evitant introduir-hi bombolles d'aire. Deixeu reposar la cambra uns 10 minuts.
- 4) Observeu els reticles al microscopi, utilitzant l'objectiu de x10. Compteu el total d'ous, coccidis, etc. i feu la mitjana dels dos reticles. La quantitat d'ous, coccidis, etc. per gram de femta s'obté multiplicant aquest valor per 100.

Dimensions d'un reticle: 1 x 1 x 0,15 cm. Volum = 0,15 cc.

Altres proporcions que es poden emprar són: 3 g femta + 42 ml solució salina,
2 g femta + 28 ml solució salina.

PROTOCOL DE LA TINCIÓ DE ZIEHL-NEELSEN MODIFICADA (criptosporidis).

- 1) Feu un frotis del sediment fecal i deixeu-lo assecar.
- 2) Fixeu els portes amb metanol absolut, fins que el metanol s'evapori.
- 3) Cobriu el frotis amb la solució de fucsina fenicada durant 20 minuts.
- 4) Renteu amb aigua de l'aixeta.
- 5) Cobriu les preparacions amb la solució d'àcid sulfúric al 7% durant 1,5 minuts.
- 6) Renteu amb aigua de l'aixeta.
- 7) Cobriu les preparacions amb el verd de Malaquita durant 1,5 minuts.
- 8) Renteu amb aigua de l'aixeta i deixeu assecar els portes.

1F. McMASTER COUNTING CHAMBER.

Without doubt this is the piece of equipment most frequently used in methods for estimating nematode egg counts in faeces. If difficulty is encountered with the purchase of this item it should be possible to manufacture it locally (*Figure 2*). It is possible to estimate the number of eggs using different multiplication factors with any one method depending on the dilution of the faeces and the exact area examined. Since both the ruled grids and each chamber are precise measurements one can count the eggs under one grid, both grids, one chamber or the total area (both chambers). For example where the dilution of faeces is 1 in 10, the examination of both chambers (the total volume is 1 ml) would require a multiplication factor of 10 and examination of one chamber a factor of 20. Similarly since the volume under one grid is 0.15 ml a multiplication factor of either 15 or 30 is used depending on the number of grids examined. In use, the suspension of faeces to be examined is run into each chamber (using a Pasteur pipette) until it is full and then the chosen area is examined and all eggs seen are counted. The eggs float to lie immediately below the upper glass of the chamber while the debris sinks to the floor of the chamber. The eggs are therefore clearly in focus while the debris is quite indistinct. Weber Scientific International Ltd. (England) now make two further modifications to the McMaster counting chamber. One has a ruled grid in each chamber with the volume under each grid being 0.5 ml while the other has two chambers, each of which holds 1.0 ml.

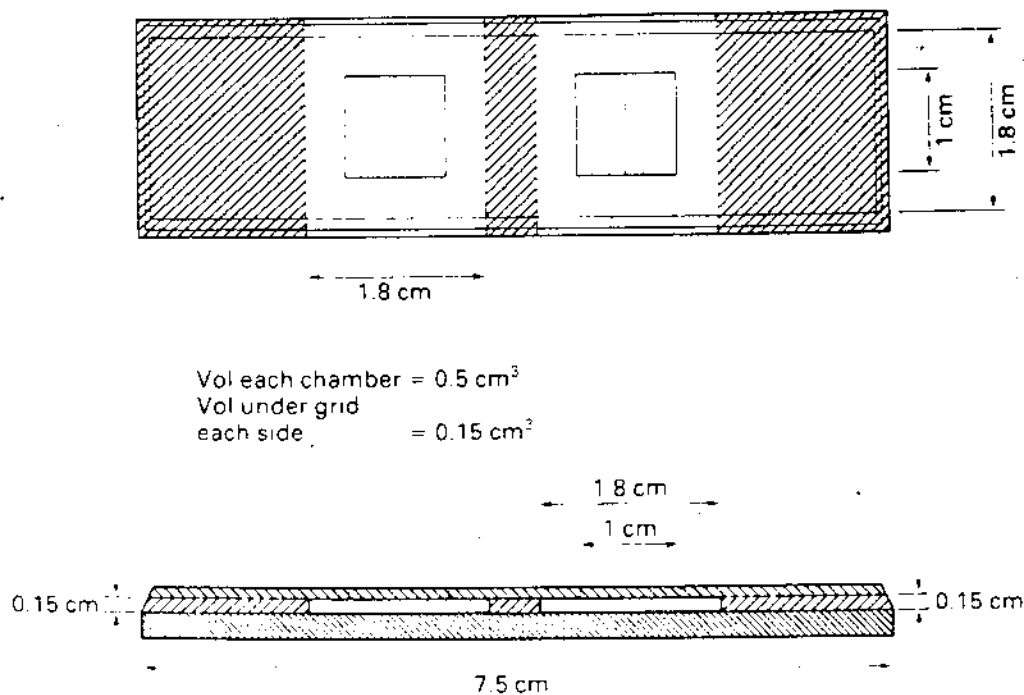


Figure 2 McMaster counting chamber

$$1 \text{ g fermta} + 14 \text{ ml solució salina} = 15 \text{ ml totals}$$

$$\text{Volum reticle} = 1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 0,15 \text{ cm} = 0,15 \text{ cc}$$

$$\text{Nombre d'ous (o mitjana)} = \bar{x}$$

$$\frac{\bar{x}}{0,15} \cdot \frac{15}{1} = \boxed{100 \cdot \bar{x}}$$

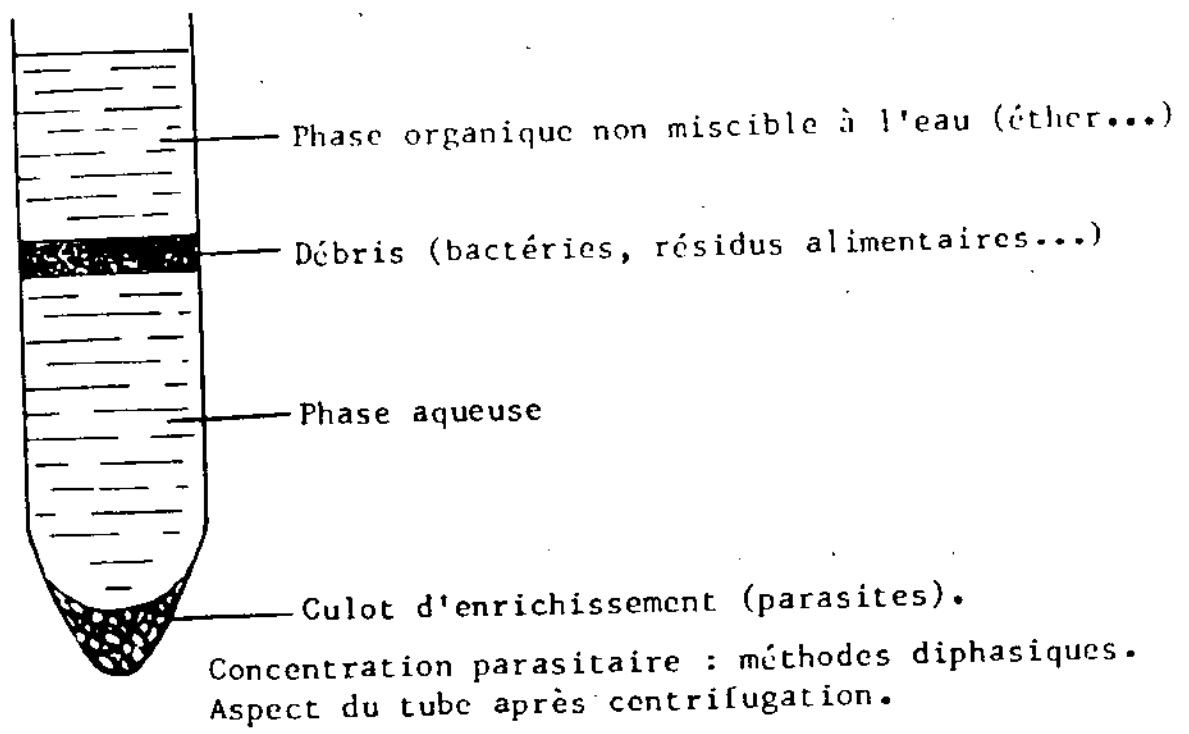


Fig. 231. (d'après J. BAILENGER)

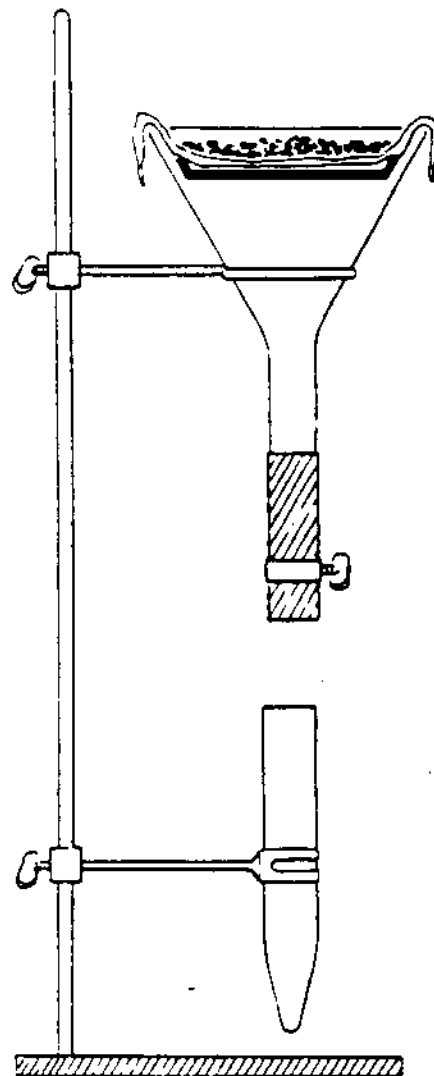
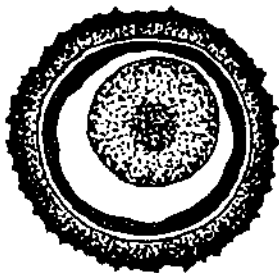
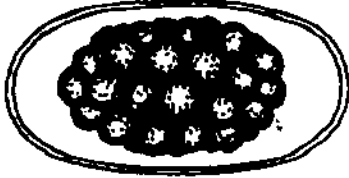
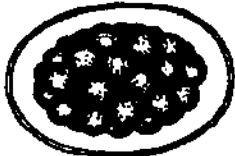
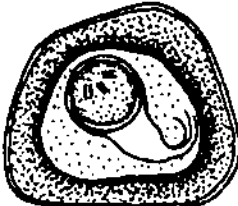


Fig. 28. Baermann apparatus.

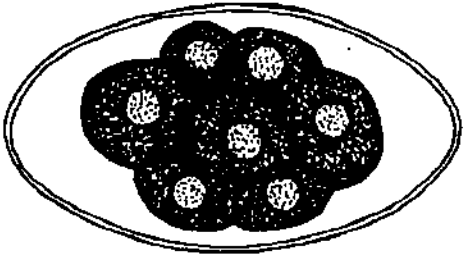
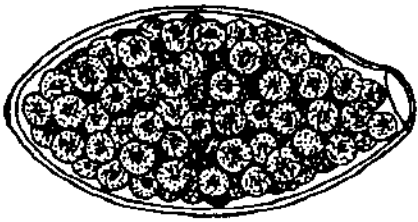
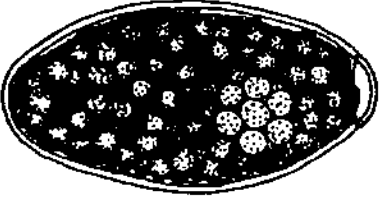
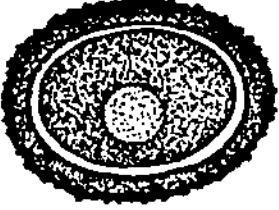
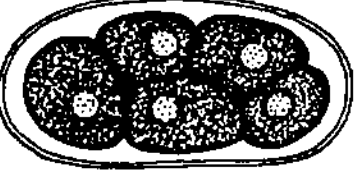
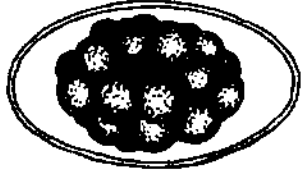
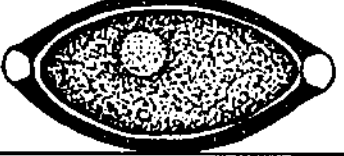
		Dimensions (en microns)	Coque	Contenu
<i>Parascaris equorum</i>		90 - 100	épaisse, foncée, surface irrégulière	1 cellule
Strongles digestifs (Cyathostomines)		100 - 110 x 40 - 45 (longueur > double du diamètre)	mince, côtés rectilignes, pôles égaux	morula emplissant incomplètement la coque, 8-16 blastomères
Strongles digestifs (Strongylus sp.)		80 - 90 x 45 - 50 (longueur < double du diamètre)	mince, côtés convexes, pôles égaux	morula emplissant incomplètement la coque, 8-16 blastomères
<i>Oxyuris equi</i>		90 x 40	mince, asymétrique, 1 opercule	embryon
<i>Anoplocephala</i> sp.		50 - 80	épaisse, complexe, un appareil piriforme	embryon hexacanthé
Strongyloïdes <i>westeri</i>		40 - 50 x 30 - 40	mince	embryon

La coprologie chez le Cheval

On peut en outre observer occasionnellement chez les Equidés :

- des œufs d'un autre strongle dig. : *Trichostrongylus axei* (pôles inégaux, morula à 32 blastomères),
- des œufs embryonnés (90 µm) et larves (400 µm) de *Dictyocaulus arnfieldi* (surtout chez l'âne)
- des œufs embryonnés (35 µm) et larves (100 µm) d'*Habronema* sp.
- des ookystes d'*Eimeria leuckarti*, très volumineux (80 x 60 µm) et à coque brun foncé.

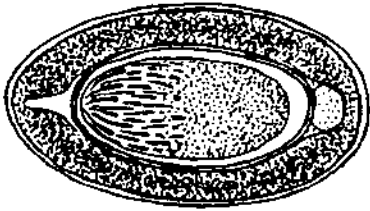
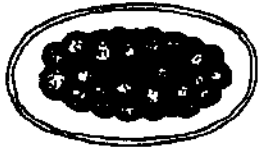
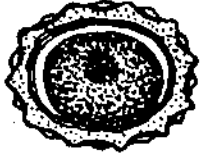
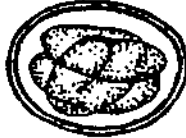
Tous les schémas des œufs et des larves ont été établis à partir des dessins originaux de Frédéric Mahé, que nous remercions.

		Taille (en microns)	Coque	Contenu
<i>Nematodius</i> sp.		150 - 250 x 70 - 120	assez épaisse claire pôles étroits	morula à blastomères volumineux et peu nombreux, emplissant incomplètement la coque
<i>Paramphistomum</i> sp.		115 - 175 x 60 - 100	mince jaune - verdâtre clair 1 opercule	masse cellulaire emplissant totalement la coque
<i>Fasciola hepatica</i>		130 - 150 x 70 - 80	mince jaune soufre 1 opercule	masse cellulaire peu distincte, emplissant totalement la coque
<i>Toxocara vitulorum</i>	Bovins 	75 - 95 x 60 - 75	épaisse surface irrégulière brune	1 cellule
<i>Bunostomum</i> sp.		110 - 130 x 40 - 55	mince pôles larges	morula à blastomères peu nombreux
<i>Trichostrongylus axei</i> & <i>Oesophagostomum</i> sp.		70 - 100 x 40 - 50	mince pôles assez étroits	morula à blastomères nombreux emplissant incomplètement la coque
<i>Trichuris</i> sp.		70 - 80 x 30 - 40	épaisse brun-jaunâtre 2 bouchons polaires réfringents	1 cellule

La coprologie chez les Ruminants (I)

		Dimensions (en microns)	coque	contenu
<i>Moniezia expansa</i>		55 - 65	épaisse complexe, un appareil piriforme	embryon hexacanthé
<i>Strongyloides papillosus</i>		40 - 60 x 20 - 25	mince	embryon
<i>Dicrocoelium lanceolatum</i>		40 x 25	épaisse brun noirâtre, operculée souvent asymétrique	miracidium avec 2 taches sombres et une couronne d'épines
<i>Ookystes coccidiens</i>		15 - 50 x 13 - 30	généralement mince parfois une calotte polaire (petits Rum.) parfois un micropyle	1 cellule globuleuse
<i>Dictyocaulus viviparus</i>	 Bovins	300 - 360	queue courte, assez pointue nombreuses granulations intestinales brunâtres,	
<i>Dictyocaulus filaria</i>	 Petits Rum.	550 - 580	queue courte, en pointe mousse, un bouton céphalique nombreuses granulations intestinales brunâtres,	
<i>Protostrongylus</i> sp.	 Petits Rum.	315 - 400	pas de granulations, un appendice caudal sinueux,	
<i>Muellerius</i> sp.	 Petits Rum.	250 - 300	pas de granulations, un appendice caudal sinueux et un éperon subterminal,	

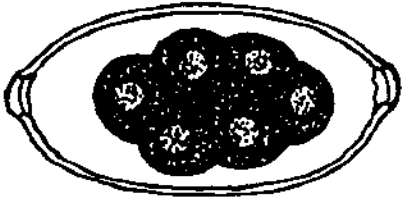
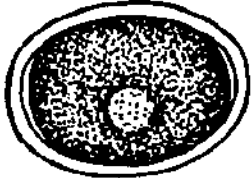
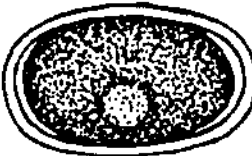
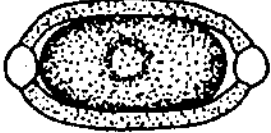
La coprologie chez les Ruminants (II)

		Dimensions (en microns)	Coque	Contenu
<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>		70 - 110 x 40 - 65	quadruple granuleuse	embryon avec épines polaires
<i>Strongles digestifs</i>		70 - 80 x 35 - 40	mince	morula emplissant incomplètement la coque
<i>Ascaris suum</i>		50 - 75 x 40 - 50	épaisse mamelonnée brun jaunâtre	1 cellule
<i>Strongles respiratoires</i>		45 - 60 x 40	assez mince, finement irrégulière	embryon
<i>Trichuris trichiura</i>		50 - 60 x 20 - 25	épaisse, brune, 2 bouchons polaires	1 cellule
<i>Strongyloides ransomi</i>		50 x 30	mince	embryon
<i>Spinures</i>		20 - 40 x 15 - 20		embryon

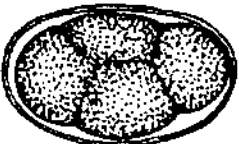
La coprologie chez le Porc

On peut en outre observer chez le Porc :

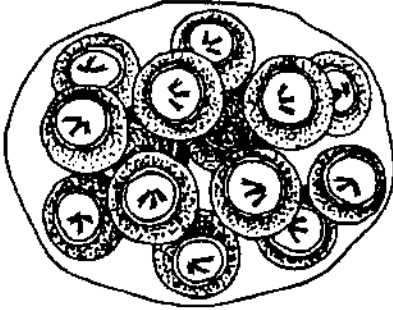
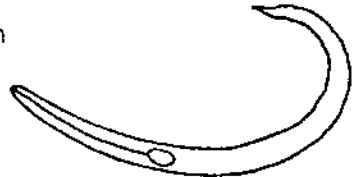
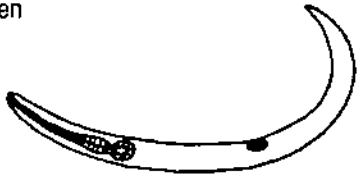
des trophozoïtes (40 - 80 x 30 - 60 µm) et des kystes (50 - 60 µm) de *Balantidium coli*,
des ookystes (20 - 30 x 15 - 20 µm) d'*Isoospora suis* (porcelets) et d'*Eimeria deblickei* (porcs adultes).

		Dimensions (en microns)	Coque	Contenu
<i>Syngamus trachea</i>		70 - 100 x 45	2 bouchons polaires	morula
<i>Ascaridia galli</i>		75 - 90 x 45 - 55	épaisse, côtés convexes	1 cellule
<i>Heterakis gallinarum</i>		65 - 80 x 35 - 45	assez épaisse, côtés rectilignes	1 cellule
<i>Capillaria</i>		50 - 65 x 20 - 30	jaunâtre, 2 bouchons polaires	1 cellule
<i>Tetrameres</i> sp.		50 - 55 x 25 - 30	épaisse, en forme de citron	embryon
<i>Acuaria</i> sp.		35 - 45 x 20 - 25	épaisse	embryon
<i>Ookystes coccidiens</i>		12 - 40 x 10 - 30	généralement mince	1 cellule globuleuse n'emplissant pas la coque

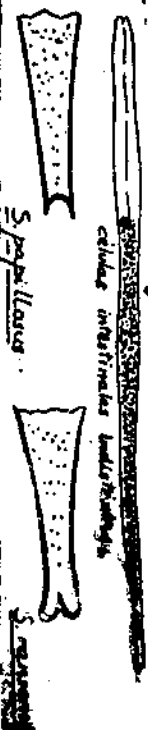
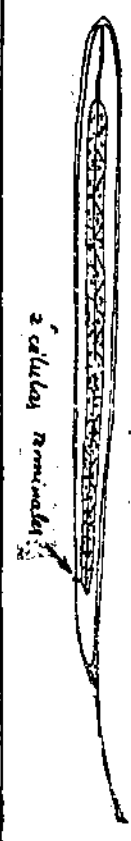
La coprologie chez le Poulet

		Dimensions (en microns)	Coque	Contenu
<i>Linguatula</i>	chien 	90 x 70	lisse (dans une vésicule au moment de la ponte)	embryon avec 4 appendices
<i>Toxocara</i> sp.		70 - 90 x 60 - 75	épaisse, ponctuée en dé à coudre, brune	1 cellule grosse et sombre
<i>Toxascaris leonina</i>		70 - 90 x 60 - 75	assez mince, lisse, claire	1 cellule moyenne et claire
<i>Ankylostomes</i>		<i>Ankylostoma</i> : 55 - 65 x 40 <i>Uncinaria</i> : 65 - 80 x 45	mince, pôles larges	morula à blastomères peu nombreux
<i>Trichuris vulpis</i>	chien 	70 - 90 x 40	épaisse, brune, 2 bouchons polaires	1 cellule
<i>Spirocerca lupi</i>	chien 	30 - 35 x 10 - 15	épaisse	embryon
<i>Isospora</i> sp.		10 - 40 x 8 - 35	mince	1 cellule (ou 2, après début de sporulation) (ookyste)
<i>Sarco- cystis</i> sp.		12 - 20 x 7 - 16	mince	4 sporozoïtes + 1 reliquat (sporocyste)
<i>Giardia</i> sp.		8 - 12 x 7 - 10	mince	4 noyaux + éléments filamenteux

La coprologie chez les Carnivores (I)

		Dimensions (en microns)	Aspect
<i>Dipylidium caninum</i>			œufs contenant chacun un embryon hexacanthé et groupés par 3 à 30 dans des capsules ovifères (à l'intérieur des segments ovigères)
Taenidés		30 - 50	œufs avec un embryon hexacanthé et une coque à stries rayonnantes, isolés (à l'intérieur des segments ovigères)
<i>Angiostrongylus vasorum</i>	chien 	340 - 400 x 14 - 16	œsophage cylindroïde, queue ondulée avec pointe subterminale
<i>Filaroides osleri</i>	chien 	350 - 380	œsophage peu visible, queue ondulée
<i>Strongylides stercoralis</i>	chien 	280-310 x 15-18	œsophage avec appareil valvulaire, une ébauche génitale, queue simple
<i>Aelurostrongylus abstrusus</i>	chat 	360	œsophage cylindroïde, queue ondulée avec pointe subterminale

La coprologie chez les Carnivores (II)

GENERO	VAINA	Tamaño larva	Longitud cola larva	Longitud cola vaina		Células intestinales		
				Total	Porción distal	Nº	Forma	Terminación
<i>Strongyloides papillosus</i>	NO	520-650x 14-18 µm	75-95 µm	•	•	INDISTINTAS		•
								 3 papillosus
<i>Bunostomum</i> sp.	SI	515-675x 18-22 µm	65-80 µm	130-160 µm	65-80 µm	ASPECTO GRANULOSO		•
								 16 células
<i>Nematodirus</i> sp.	SI	900-1500x 26-30 µm	40-80 µm	300-450 µm	250-400 µm	8 irregularmente pentagonales		1
								 16 células
<i>Cooperia</i> sp.	SI	720-980x 18-24 µm	60-80 µm	100-180 µm	40-80 µm	16 triangulares		1
								 16 células
<i>Trichostrongylus</i> sp.	SI	620-780x 18-24 µm	50-80 µm	70-110 µm	20-40 µm	16		1
								 16 células
<i>Ostertagia</i> sp.	SI	700-900x 20-26 µm	65-85 µm	100-170 µm	30-70 µm	16 pentagonales aplanados o triangulares		1 ó 2
								 16 células
<i>Haemonchus contortus</i>	SI	600-780x 20-25 µm	55-75 µm	160-150 µm	50-86 µm	16 triangulares	2 desiguales y alargadas	
								 2 desiguales y alargadas
<i>Chabertia ovina</i>	SI	720-880x 25-30 µm	60-80 µm	170-210 µm	90-150 µm	32 pentagonales o rectangulares		2
								 2 células terminales
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	SI	750-1100x 25-30 µm	60-100 µm	200-280 µm	125-210 µm	32 irregularmente pentagonales		2
								 2 células terminales