

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**RECHERCHE DES PRINCIPAUX PARASITES AU NIVEAU DES CARCASSES
EQUINES DANS LES ABATTOIRS D'EL HARRACH-ALGER**

Présenté par Mlle MERROUCHE NESRINE

Soutenu le 04 juillet 2011

Le jury :

- . Président** Mlle AISSI. M professeur
- . Promoteur** Mr HARHOURA. K Maitre assistant classe A
- . Examineur** Mlle OUSLIMANI. S Maitre assistante classe B
- . Examineur** Mme SAHRAOUI. L Maitre assistante classe B

Année universitaire : 2010/2011

الملخص:

يمكن لبعض الطفيليات مثل *Toxoplasma* و *Sarcocystis* و *Trichinella* أن تكون انتقالية للإنسان و تشكل خطر على المستهلك. ارتكزت دراستنا على البحث عن هذه الطفيليات على عشرة جثث للخيل على مستوى مذابح الحراش و في مخبر علم الطفيليات – الفطريات للمدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر .

على الرغم من عدم ملاحظة أي شيء بالعين المجردة إلا أن الهضم الإنزيمي للحجاب الحاجز و الماضغة ، و الفحص المجهرى بينا وجود Bradyzoites ل *Sarcocystis* في جثتين على 10 .

أما تحليل البراز فظهر وجود بيض *Strongylus* ، *Cyathostum* و *Parascaris equorum* .

الكلمات الرئيسية : الحجاب الحاجز ، الماضغة ، البراز ، الخيل ، Bradyzoites ل *Sarcocystis* ، بيض *Strongylus* ، *Cyathostum* و *Parascaris equorum* .

RESUME :

Certaines parasitoses telles la Trichinellose, la Sarcosporidiose et la Toxoplasmosis peuvent être zoonotiques et présenter un danger pour le consommateur.

Notre étude a consisté en la recherche de ces parasitoses sur dix carcasses de chevaux au niveau des abattoirs d'El Harrach et au niveau du laboratoire de parasitologie - mycologie de l'ENSV-Alger.

Même si aucune lésion macroscopique n'a été observée au niveau des diaphragmes et masséters, l'étude microscopique par digestion enzymatique a révélé la présence des bradyzoïtes de *sarcocystis* sur deux carcasses.

L'analyse des fécès de chevaux a montré la présence d'œufs de *Strongylus*, *Cyathostum* et de *Parascaris equorum*.

Mots clés : diaphragme, masséter, fécès, chevaux, bradyzoïtes de *Sarcocystis*, œufs de *Strongylus*, *Cyathostum* et *Parascaris equorum*.

SUMMARY :

Some parasites such as Trichinellosis, Sarcosporidiosis and Toxoplasmosis can be zoonotic and pose a danger to the consumer.

Our study consisted of looking for these parasites out of ten carcasses of horses at the slaughterhouses of El-Harrach, and in the laboratory of Parasitology-Mycology of ENSV-Algiers.

Although no gross lesions were observed in diaphragm and masseter, enzymatic digestion and microscopic study revealed bradyzoïtes of *Sarcocystis* in two carcasses.

The analysis of stools of horses showed the presence of eggs *Strongylus*, *Cyathostum* and *Parascaris equorum*.

Keywords: diaphragm, masseter, horses, bradyzoïtes of *Sarcocystis*, eggs *Strongylus*, *Cyathostum* and *Parascaris equorum*.

REMERCIEMENTS

Je remercie Mr HARHOURA qui a su me guider, qui a toujours été disponible, et qui a fait que je mène à bien ce travail.

Sincères remerciements

Je remercie Mlle AISSI qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire de fin d'étude.

Hommages respectueux

Je remercie également Mlle OUSLIMANI et Mme SAHRAOUI qui nous ont fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury de mémoire de fin d'étude.

Hommages respectueux

DEDICACES

A mes parents que j'aime plus que tout, que dieu vous garde

A mon grand frère Samir qui a toujours été là pour moi

A ma meilleure amie Rafiaa pour toutes ces années d'amitié

A mon futur mari Mehdi j'aurais aimé que tu sois là

A mes beaux parents

A mon adorable nièce LINA

A Houda j'aurais aimé te connaître plutôt

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
DEDICACES	3
I. INTRODUCTION	6
II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	9
II.1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	10
II.2. ETUDE DES PARASITES	12
II.2.1. Cycles évolutifs.....	12
II.2.2. Morphologie.....	15
II.3. SOURCE D'INFESTATION ET MODE DE TRANSMISSION	16
II.3.1. Source d'infestation	16
II.3.2. Mode de transmission	16
II.4. CLINIQUE (symptômes)	18
II.5. LESIONS	19
II.6. DIAGNOSTIC.....	19
III. PARTIE EXPERIMENTALE	21
III.1. MATERIEL ET METHODES.....	22
III.1.1. Matériel.....	22
III.1.2. Methodes	23
a. Technique de flottaison	23
b. Digestion enzymatique des muscles	24
III.2. RESULTATS	27
III.3. DISCUSSION.....	30
III.4. CONCLUSION.....	31
BIBLIOGRAPHIE.....	32

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure 1 : cycle évolutif de la sarcosporidiose.....	Page 12
Figure 2 : cycle évolutif de la toxoplasmose.....	Page 13
Figure 3 : cycle évolutif de la trichinellose.....	Page 14
Figure 4 : morphologie bradyzoïtes des <i>Sarcocystis</i>	Page 15
Figure 5 : morphologie de toxoplasma	Page 15
Figure 6 : <i>Ttrichinella spiralis</i> adultes et larve 1 musculaire (Soulé et al, 1991)	Page 15
Tableau 1 : épidémies de trichinelloses humaines liées à la consommation de viande de cheval en France et en Italie de 1998 à 2000.....	Page 11
Tableau 2 : résultats de la digestion enzymatique du diaphragme et du Masséter.....	Page 27
Tableau 3 : résultats de l'analyse des fèces par flottaison.....	Page 29

I. INTRODUCTION

La Sarcosporidiose, la Toxoplasmose et la Trichinellose sont des parasitoses musculaires à caractère zoonotique.

La Sarcosporidiose ou Sarcocystose est une maladie parasitaire déterminée par le parasitisme de coccidies kystogènes appartenant au genre *Sarcocystis*, dont la reproduction sexuée s'accomplit dans le tractus intestinal de l'hôte définitif et dont l'évolution se termine sous forme de kystes bradyzoïtes à localisation musculaire, chez leur hôte intermédiaire (toutes les espèces d'animaux de boucherie dont le cheval). (Jacques Euzby, 1997)

La Toxoplasmose est une zoonose très importante car elle peut être transmise par la mère au fœtus humain avec des conséquences pouvant s'avérer très graves. Le chat a longtemps été considéré comme le principal suspect à l'origine de cette maladie. Pourtant, les humains peuvent attraper la maladie de plusieurs façons, telle la consommation de viande insuffisamment cuite comme la viande de cheval. Cette maladie est causée par le protozoaire *Toxoplasma gondii*, parasite à cycle de transmission complexe mais seul le chat et les félidés sauvages en sont les hôtes définitifs ; c'est-à-dire qu'ils sont les seuls à pouvoir contaminer l'environnement avec leur excréments lors de leur infection. Tous les autres animaux à sang chaud étant des hôtes intermédiaires. Ils sont donc porteurs de ce parasite qui se loge dans leurs tissus sous forme de kystes. Ils peuvent donc contaminer que les prédateurs qui les consomment. (www.multimania.fr)

La Trichinellose ou trichinose est une zoonose helminthique, non contagieuse, due à la pénétration et au développement dans l'organisme de nombreuses espèces animales dont le cheval, de petits nématodes appartenant au genre *Trichinella* et qui se transmet chez l'homme et l'animal par ingestion de viandes infestées crues ou mal cuites. (S.PINCHON, 2001)

Les viandes trichinées sont constituées des muscles striés, abats et issues (soit la totalité de la carcasse) d'animaux de boucherie appartenant essentiellement aux espèces porcine et équine contenant des vers parasites du genre *Trichinella*. Les lésions musculaires provoquées par ce parasite sont appelées « kystes trichiniens ». (S. PINCHON, 2001)

L'ingestion de ces viandes peut provoquer une maladie grave au consommateur, parfois mortelle ou responsable de séquelles invalidantes, souvent sévères. Cette zoonose est l'une des maladies parasitaires les plus répandues dans le monde. Elle est présente en Europe (plus particulièrement en France et en Italie), en Asie et aux Etats-Unis. (S. PINCHON, 2001)

Depuis 1976, en France et en Italie plusieurs centaines de cas humains dus à la consommation de viande de cheval ont été diagnostiqués. (S. PINCHON, 2001).

Qu'en est il en Algérie ou le cheval est consommé et où le nombre de sanglier même non connu est très important?

Après avoir brièvement rappelé les caractères des principaux parasites musculaires, les symptômes et les lésions, notre présent travail consiste en leur recherche au niveau des carcasses chevalines aux abattoirs d'EL HARRACH.

II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

La Sarcosporidiose est de distribution mondiale pour les espèces de sarcosporidies dont l'être humain est l'hôte final. Elle est régionale pour d'autres espèces en fonction de l'hôte final (uniquement en Amérique pour *S.neurona* avec opossum comme hôte final. (www.bvet.admin.ch).

La Toxoplasmose est cosmopolite. Sa prévalence varie selon l'environnement et les habitudes alimentaires. Celle-ci est faible dans les zones où le climat est chaud et sec et dans les pays où la viande est consommée bien cuite (www.sante.univ-nantes.fr).

La Trichinellose est de distribution cosmopolite, particulièrement bien implantée en Europe. En effet, c'est la zoonose parasitaire la plus importante en Roumanie, en Serbie, en Croatie et un certain nombre de nouveaux états membres de l'union européenne.

C'est une maladie cosmopolite, mais chaque espèce de *Trichinella* est caractérisée par une distribution géographique :

- ***Trichinella spiralis*** : distribution cosmopolite, bien implantée en Europe. (Stéphanie PINCHON, 2001)
- ***Trichinella britovi*** : agent étiologique de la trichinellose dans l'Union Européenne, présente aussi en Asie (Japon), en Suisse et en Afrique du sud. Elle a été identifiée, la première fois, en Pologne. (S. PINCHON, 2001)
- ***Trichinella nativa*** : agent étiologique de la trichinellose en Finlande et en Suède ; mais avant tout en région arctique (Canada, nord de la Russie, Alaska...). (S. PINCHON, 2001)
- ***Trichinella nelsoni*** : principalement distribuée en Afrique tropicale, aussi présente en Europe de l'Est (Bulgarie) et en Suisse. (S. PINCHON, 2001)
- ***Trichinella pseudospiralis*** : elle est présente en Amérique du nord, et en Europe. (S. PINCHON, 2001)

Les porcs domestiques et sauvages sont les habituels hôtes intermédiaires dans le cycle de la trichinellose humaine. Ce qui explique l'absence des pays musulmans et juifs dans les ouvrages, mais reste que le porc sauvage (sanglier) existe dans ces pays, et que le cheval qui est consommé peut transmettre cette maladie.

Tableau 1 : épidémies de Trichinelloses humaines liées à la consommation de viande de cheval en France et en Italie de 1998 à 2000. (www.inra.fr par Pascal Boireau)

Année	Origine géographique	Nombre de cas	Origine du cheval	Espèce de <i>Trichinella</i>
1975	Italie	89	Europe de l'Est	<i>T.britovi</i>
1975	France	125	Pologne	ND
1984	Italie	13	Europe de l'Est	ND
1985	France	431	USA	<i>T.murrelli</i>
1985	France	642	Pologne	<i>T.spiralis</i>
1986	Italie	>300	Yougoslavie ou Pologne	<i>T.britovi</i>
1990	Italie	>500		<i>T.spiralis</i>
1991	France	21	USA	ND
1993	France	538	Canada	<i>T.spiralis</i>
1994	France	7	Mexique	<i>T.spiralis</i>
1998	France	128	Yougoslavie	<i>T.spiralis</i>
1998	France	407	Yougoslavie	<i>T.spiralis</i>
1998	Italie	92	Pologne	<i>T.spiralis</i>
2000	Italie	36	Pologne ou Roumanie	<i>T.spiralis</i>

II.2. ETUDE DES PARASITES

II.2.1. CYCLES EVOLUTIFS

Sarcosporidiose :

Le *Sarcocystis* (parasite protozoaire) nécessite 02 hôtes pour élaborer son cycle : un hôte intermédiaire (herbivore) qui s'infecte en consommant des végétaux ou de l'eau souillée par les déjections des hôtes définitifs (carnivores domestiques), chez lequel il réalise un cycle dans les muscles et éventuellement dans le système nerveux (on parlera de Sarcosporidiose musculaire et nerveuse) et un hôte définitif où il va terminer son cycle et former des ookystes sporulés infestants. Il existe de très nombreuses espèces de sarcocystes exprimées souvent en binômes associant les noms des hôtes intermédiaires (HI) et hôtes définitifs (HD). Exemple : *S. Equicanis* (HI le cheval et HD le chien). (www.colombophiliefr.com).

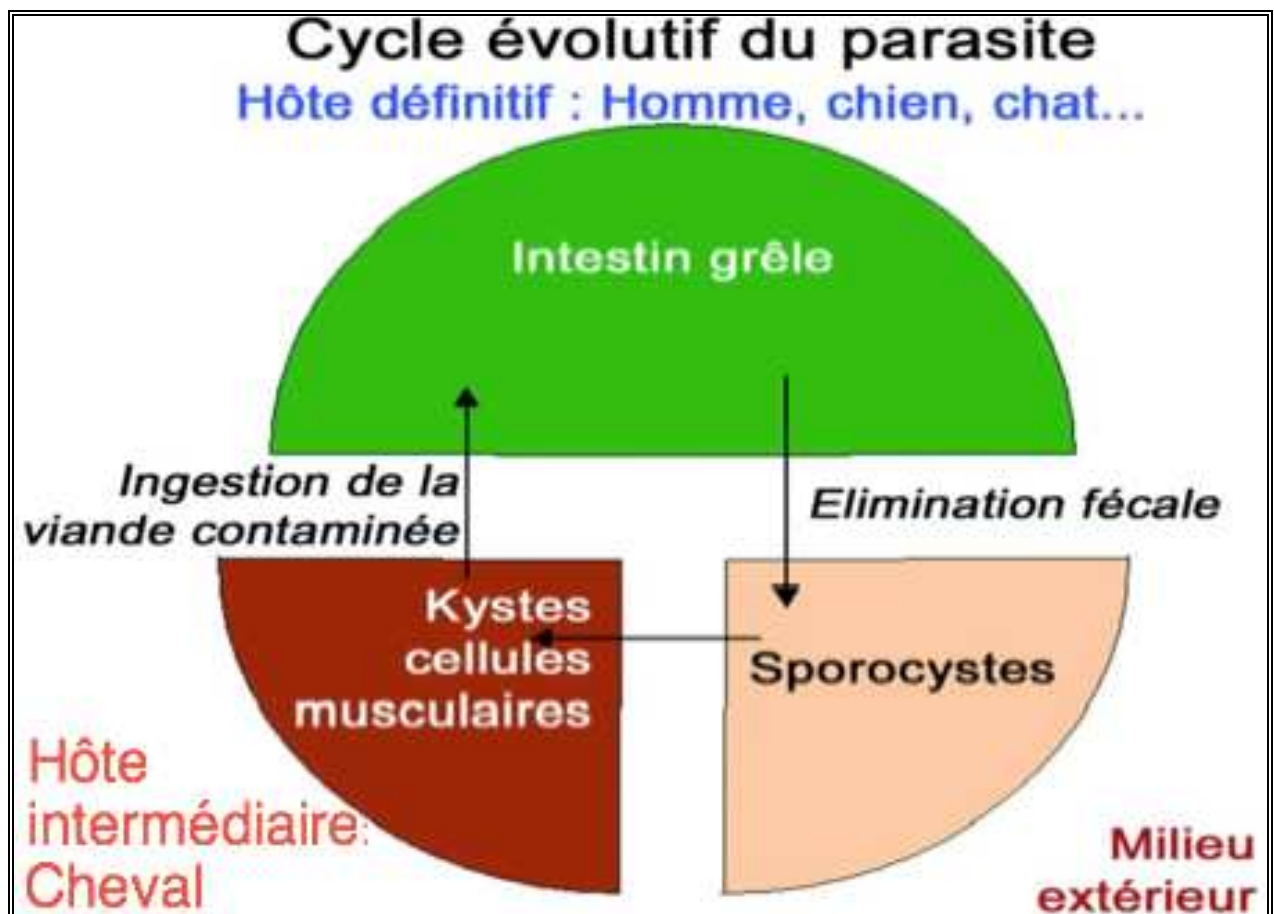


Figure 1 : cycle évolutif de la Sarcosporidiose

Toxoplasmose :

Le cycle incomplet fait intervenir uniquement des hôtes intermédiaires (omnivores ou carnivores) qui se contaminent par ingestion de kystes contenus dans la chaire consommée. Les kystes libèrent les toxoplasmes qui se multiplient et vont à leur tour donner des kystes intratissulaires.

Le cycle complet se déroule chez l'hôte intermédiaire puis chez l'hôte définitif, le chat. Ce dernier, s'infeste par carnivorisme. Les formes végétatives libérées se reproduisent par multiplication sexuée dans son intestin, aboutissant à la formation d'oocystes. Ces derniers seront rejetés dans le milieu extérieur avec ces fèces qui contaminent l'herbe et même l'eau de boisson. (M.-P.BRENIER-PINCHART et H.PELLOUX, 2003)

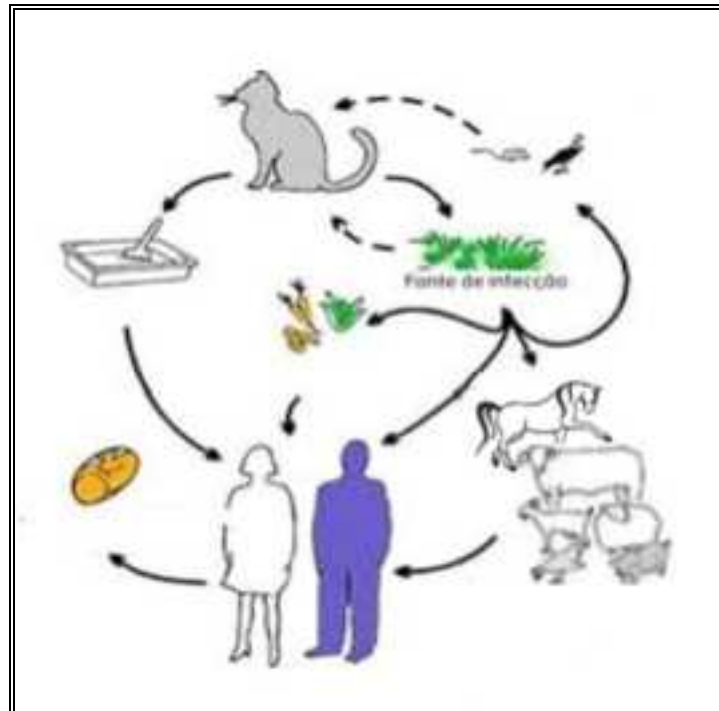


Figure 2 : cycle évolutif de la Toxoplasmose

Trichinellose :

Le cycle parasitaire est simple puisque tous les stades se retrouvent chez un même hôte (parasite à cycle auto hétéroxène). Tous les hôtes sont considérés à la fois comme hôtes définitifs (reproduction sexuée des parasites dans leur tube digestif) et hôtes intermédiaire (formes infestantes dispersées dans la musculature). Cependant, il peut arriver de retrouver des formes libres dans le milieu extérieur (S. PINCHON, 2001).

Il y'a donc 02 phases : Une phase intestinale où l'adulte est dans l'intestin et libère des L1 et une phase musculaire où il ya installation des L1.

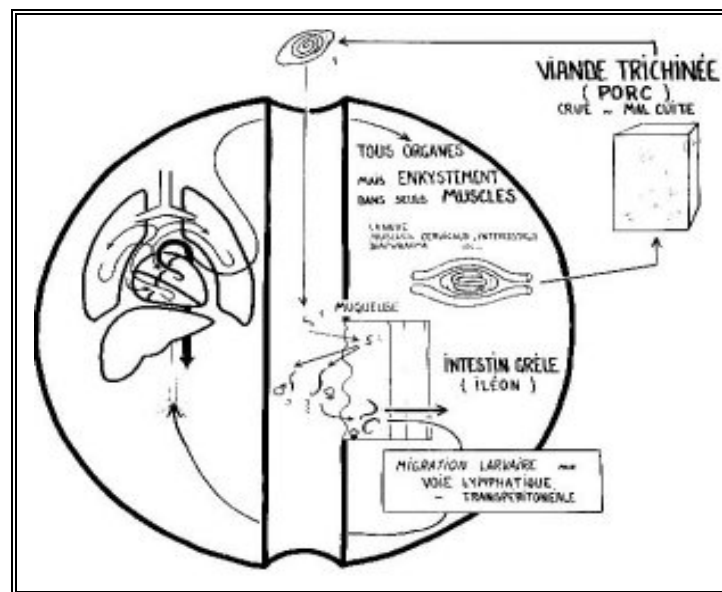


Figure 3 : cycle évolutif de la Trichinellose

II.2.2. MORPHOLOGIE

Sarcosporidiose :

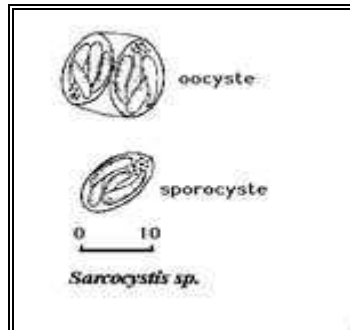


Figure 4 : bradyzoïtes de *Sarcocystis*

Toxoplasmose :

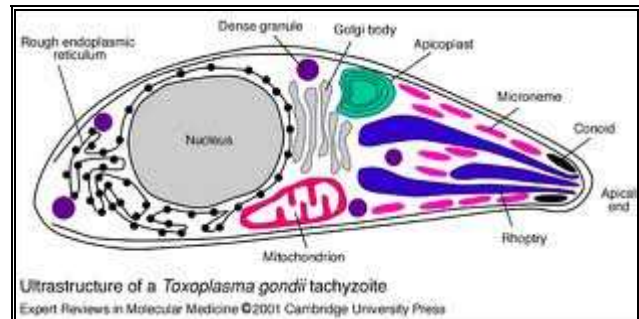


Figure 5 : *Toxoplasma*

Trichinella :

La trichine est l'un des plus petits nématodes, à peine visible à l'œil nu. Le mâle mesure de 1 à 2 mm et la femelle de 3 à 4 mm.

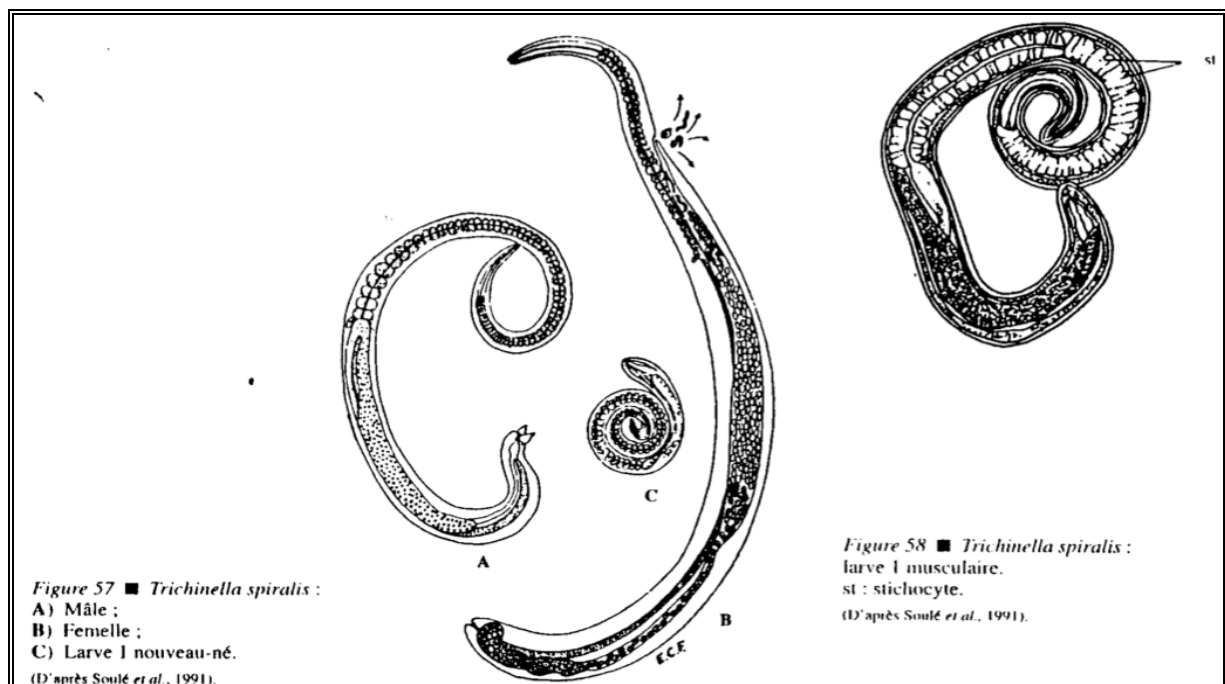


Figure 6 : *Trichinella spiralis* adultes et larve1 musculaire (Soulé et al, 1991)

II.3. SOURCE D'INFESTATION ET MODE DE TRANSMISSION

II.3.1. SOURCE D'INFESTATION

Sarcosporidiose :

L'hôte définitif forme les ookystes sporulés infestants qu'il élimine dans ses déjections. Les herbivores se contaminent par consommation d'aliment ou d'eau souillée par ces derniers (cycle musculaire). Leur viande est ensuite source de contamination.

Toxoplasmose :

Au cours du développement du parasite, trois formes s'avèrent infectieuses pour toutes les espèces animales : le tachyzoïte, le bradyzoïte et l'ookyste sporulé. (Zoonoses parasitaires, Alain Villeneuve)

Trichinellose :

La phase de résistance du cycle étant la période où la larve est enkystée dans les muscles de l'hôte. Tout animal infesté pourra devenir une source de parasite. La consommation de cette viande parasitée est à l'origine d'infestation des omnivores et des carnivores.

II.3.2. MODE DE TRANSMISSION

Sarcosporidiose :

Le parasite utilise la relation de proie à prédateur pour se transmettre. Le prédateur contamine l'herbe ou des aliments ingérés par la proie avec ses excréments porteurs de sporokystes et le parasite est transmis de la proie au prédateur par carnivorisme. (A. Villeneuve, 2003)

Toxoplasmose :

La transmission se fait par ingestion d'ookystes sporulés ou de bradyzoïtes dans les aliments, par passage de tachyzoïtes de la mère à l'enfant par le lait. Les félidés sont les seules espèces produisant les ookystes qui contaminent l'environnement. (A. Villeneuve, 2003)

Trichinellose :

Voie classique :

La voie classique est la consommation de tissu parasité contenant des kystes infestants. Dans la nature les animaux sauvages s'infestent soit en dévorant une proie qu'ils viennent de capturer, soit en consommant une charogne puisque les larves des trichines peuvent résister plusieurs semaines à la putréfaction. Chez les animaux domestiques tels que les porcs, la contamination est due soit à la consommation d'un rat ou autre rongeur infesté, soit à un régime composé d'abats et de déchets de viande saisis aux abattoirs et non stérilisés. (S.PINCHON, 2001)

Transmission fécale :

La transmission fécale est possible du fait que les larves peuvent rester vivantes plusieurs jours dans les selles. Chez les animaux réceptifs, une partie des larves ingérées est directement éliminée sans avoir eu le temps de se développer et de se fixer. (S.PINCHON, 2001)

Caudophagie :

L'habitude qu'ont les porcs de se mordiller la queue permet la transmission des larves des trichines. Les kystes trichineux se localisant dans les muscles squelettiques. On en retrouve aussi dans les muscles de la queue. (S.PINCHON, 2001)

Transmission in utéro et post-natale :

En théorie la taille de la trichine lui permet de passer le filtre placentaire et d'infester le fœtus. Ce mode de transmission est exceptionnel. De même, la transmission post-natale par l'allaitement est possible mais encore plus exceptionnelle. (S.PINCHON, 2001)

Transmission par les arthropodes :

Deux types d'arthropodes peuvent jouer un rôle dans cette transmission : ce sont les arthropodes nécrophages et les coprophages.

- les arthropodes **nécrophages** : ces arthropodes se nourrissent de cadavres comprenant des larves de trichines. Si l'arthropode est lui-même mangé quelques jours suivant son repas il sera à l'origine de l'infestation de son mangeur.

- Les arthropodes **coprophages** : comme exemple, les bousiers qui se nourrissent de déjections d'animaux parasités peuvent héberger les larves de trichines quelques jours dans leur tube digestif et peuvent ainsi contaminer des insectivores, mais aussi, accidentellement, des herbivores qui ingèrent l'insecte en même temps qu'une bouchée de végétal. (S.PINCHON, 2001)

II.4. CLINIQUE (SYMPTOMES)

Sarcosporidiose :

La Sarcocystose intestinale est généralement subclinique tant chez l'être humain que chez l'animal. On peut observer des nausées, des douleurs abdominales, de la diarrhée, qui récidivent après environ 15 jours, ce qui coïncide avec la période d'élimination maximale des sporocystes dans les matières fécales. La Sarcocystose musculaire est le plus souvent asymptomatique. Dans quelques cas, on peut observer des faiblesses musculaires, une myosite, une périartérite ainsi que des tuméfactions sous-cutanées. Les autres espèces de sarcosporidies causent, à peu d'exceptions près, des infections asymptomatiques ou à symptômes faibles, (*S. cruzi*, par exemple peut provoquer des avortements et des maladies du SNC chez les bovins; *S. neurona* peut causer des neuropathies létales chez le cheval) (www.bvet.admin.ch)

Toxoplasmose :

Très rare chez les équidés, elle est le plus souvent sous formes inapparentes. (www.cheval.kalianxis.com)

Il est encore plus rare d'observer :

- Avortement en fin de gestation
- Rétention fœtale et momification
- Lésions graves du nouveau-né
- Troubles nerveux (encéphalite, atteinte oculaire)

Trichinellose :

En cas d'ingestion d'une faible quantité de larve (<à 100), l'infection est asymptomatique.

Si le cheval ingère une quantité > à 1000 larves, on aura : diarrhée, douleurs intestinales plus ou moins intenses et une myosite. (cheval.kalianxis.com)

Alors que chez l'homme :

Les symptômes peuvent être divisés en deux catégories : ceux qui sont provoqués par les vers situés dans l'intestin et ceux qui sont provoqués par leur dissémination dans d'autres organes.

Les premiers symptômes sont digestifs : douleurs abdominales, nausées, diarrhées, vomissements. La fièvre est élevée. Surviennent ensuite des myalgies (douleurs musculaires), des maux de têtes, un œdème du visage et un prurit (démangeaisons). (wikipedia)

II.5. LESIONS

A l'abattoir, les lésions de Toxoplasmose et de Trichinellose sont indépistables macroscopiquement. (A. Gonthier, 2006)

En revanche, lors de Sarcosporidiose et en cas de forte infestation, on observe une modification de la musculature visible à l'œil nu (viande blanche aqueuse). (www.bvet.admin.ch)

Les lésions de la Trichinellose sont microscopiques et intracellulaires car la larve pénètre dans une fibre musculaire pour former un kyste de 400 à 700µm sur 250 à 300µm. Le kyste ressemble à un citron avec une capsule relativement épaisse, des globules polaires et 1,2 ou 3 larves enroulées à l'intérieur. (A. Gonthier, 2006)

II.6. DIAGNOSTIC

Diagnostic de la Sarcosporidiose :

Tout le tissu musculaire strié est touché, préférentiellement la langue, les masséters, le cœur, l'œsophage, le diaphragme et les muscles abdominaux internes. On utilise la technique de

digestion pepsique en milieu chlorhydrique (HCl). (voir page 22 pour la technique de digestion enzymatique)

Diagnostic de la Toxoplasmose :

La prévention de l'infestation humaine de la Toxoplasmose pourrait passer par une recherche en laboratoire sur les carcasses des animaux abattus. C'est difficile et onéreux à mettre en place et cela ne supprime pas le problème d'infestation par les ookystes du milieu extérieur (fruits et légumes). (A. Gonthier, 2006)

Diagnostic de la Trichinellose :

Sur chaque carcasse on prélève un échantillon de 50g de muscle soit de la langue, du diaphragme, ou des muscles masticateurs. On utilise la technique de digestion pepsique en milieu chlorhydrique pour réaliser la digestion des éléments musculaires et de la paroi des kystes trichineux. Il reste alors les larves qu'on pourra, après centrifugation, observer au microscope. Cette technique est 10 fois plus sensible que l'examen microscopique direct. (A. Gonthier, 2006).

III. PARTIE EXPERIMENTALE

III.1. MATERIEL ET METHODES

III.1.1. MATERIEL

Aux abattoirs :

- Couteau
- Gants
- Boîtes
- Bottes
- Glacière
- Echantillons musculaires : 10 échantillons de diaphragmes et 10 échantillons de masséters.
- Echantillons de fèces (3 échantillons)

Au laboratoire :

Pour la technique de flottaison :

- Mortiers
- Béchers
- Passoires
- Spatules
- Tubes
- Lames
- Lamelles
- Microscope optique

Pour la technique de digestion enzymatique :

- Mortiers
- Ciseaux
- Broyeur
- Spatules
- Passoires
- Béchers
- Pipette graduée
- Eprouvette graduée 10ml
- Tubes coniques en plastique graduées de 50ml
- Agitateur magnétique
- Fiole Erlenmeyer 500ml
- Verres à pieds
- Centrifugeuse
- Pipettes pasteur
- Lames
- Lamelles
- Microscope optique

III.1.2. METHODES

A. TECHNIQUE DE FLOTTAISON

- A partir de chaque échantillon de fèces (400grs) prélevé au niveau des abattoirs,
- L'échantillon est mis dans un mortier.
- On y ajoute une solution dense de NaCl (densité=1,2) tout en écrasant le mélange.

- Le mélange est passé à travers une passoire.
- Le filtrat est récolté dans un bécher.
- Le jus est versé dans les tubes jusqu'à formation de ménisques.
- Des lamelles sont déposées sur les tubes pendant 20 minutes.
- La lame est observée sous microscope optique (X40 à X100).

B. DIGESTION ENZYMATIQUE DES MUSCLES

Le principe de cette technique est de reconstituer un suc digestif artificiel (HCl, eau, sel, pepsine) et de réunir les facteurs favorisant la digestion. En effet, selon Koolman et Roehm (2005), l'acide chlorhydrique joue un rôle important dans la digestion, en créant d'une part un pH optimale (pH : 1-3) qui permet l'activation de la pepsine (enzyme protéolytique) et d'autre part une dénaturation des protéines, facilitant ainsi l'action de la pepsine.

Pour la digestion pepsique des 10 échantillons, nous avons utilisé une méthode modifiée de Seneviratna et al. (1975), cités par Latif et al. (1999), que nous avons adaptée aux moyens dont nous disposions dans le laboratoire de parasitologie mycologie de l'E.N.S.V-Alger.

1) Préparation des solutions :

Préparation du PBS (pH 7,2) :

La préparation du PBS est basée sur la norme (NF-V08-055) à laquelle nous avons apporté une légère modification. Dans 1000ml d'eau distillée, 8,98g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot (2\text{H}_2\text{O})$, 2,71g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot (2\text{H}_2\text{O})$, et 8,5g de NaCl, sont dissouts, sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique (YELLOW LINE[®]) avec un aimant. Le pH de la solution est ensuite ajustée à 7,2 grâce à un pH mètre (HANNA[®]) préalablement étalonné avec deux solutions tampons (pH : 4,01 et pH : 9,18). Le tampon PBS est ensuite stérilisé à l'autoclave à 130°C pendant 1heure.

Préparation du HCl à 25% :

La solution d'HCl à 25% a été préparée à partir d'une solution mère d'HCl à 36% du commerce. En vue de préparer un volume de 10ml de HCl à 25%, nécessaire à l'élaboration d'une solution de digestion, 7ml d'une solution concentrée d'HCl à 36% ont été pipetés au

moyen d'une pipette graduée en verre de 10ml, dans un petit bûcher, et complété à 10ml d'eau distillée.

Préparation de la solution de digestion :

Dans une fiole Erlenmeyer contenant 500ml d'eau distillée, 2,5g de NaCl, 3,5ml d'HCl à 25% et 1,3g de pepsine (10000U/g, RIEDEL-DE HAËN AG SEELZE- HANNOVER) sont mélangés et le tout bien homogénéisé. 500ml d'une solution de digestion permettent d'analyser 10 échantillons.

2) Préparation des échantillons :

Tous les échantillons de masseter et de diaphragmes sont soigneusement examinés pour rechercher la présence d'éventuels kystes macroscopiques de *Sarcocystis*. A l'aide de ciseaux, le maximum de graisse est excisé et enlevé, ainsi que l'aponévrose et le tissu conjonctif qui peuvent gêner la digestion et par conséquent l'action de la pepsine et faciliter par la même le broyage. L'aponévrose qui recouvre le muscle du diaphragme est arrachée, pour ne laisser finalement apparaître que les muscles. Cette étape doit être effectuée la veille, étant donné le temps important nécessaire à la réalisation de la digestion enzymatique et la coloration.

3) Pesée et broyage des échantillons :

Les échantillons pesés (20g environ) sont découpés en petit morceaux dans des mortiers (pour faciliter le broyage) puis broyés à l'aide d'un broyeur de laboratoire (JANKE & KUNKEL®) jusqu'à l'obtention d'une sorte de purée de viande. Le bras mécanique du broyeur est nettoyé et rincé après chaque utilisation.

4) Mélange du broyat avec la solution de digestion et incubation :

Dans des petits bûchers, 50ml de solution de digestion sont mélangés avec 20g de muscle broyé, le tout est bien homogénéisé à l'aide d'une spatule. Ce mélange est versé dans des tubes coniques gradués, en plastique (FALCON® 50ml). Ces tubes sont ensuite placés sur un agitateur

magnétique à tube (JOUAN[®]) et incubés à 40°C dans une étuve (JOUAN[®]) pendant 30mn sous agitation magnétique constante.

5) Filtration des échantillons :

Le digestat de chaque échantillon est ensuite filtré dans des verres à pied à travers les mailles d'un passe-thé sur lequel 2 couches de gaze sont déposées, pour éliminer les gros débris musculaires, puis laissé s'égoutter pendant quelques minutes.

6) Centrifugation des échantillons :

Les échantillons sont centrifugés dans du PBS (pH : 7,2) selon la méthode modifiée d'Eckert et al. (1995) qui permet, de stopper rapidement la digestion et de rétablir le pH physiologique.

Le filtrat de chaque échantillon est remué pour éviter la formation d'un sédiment puis versé dans 4 tubes à centrifugation (NALGENE[®] 10ml). La $\frac{1}{2}$ du tube est remplie avec le liquide du digestat, complétée avec un $\frac{1}{4}$ du volume du tube en PBS (pH : 7,2). Les tubes sont fermés avec des bouchons en caoutchouc. Une centrifugation (SIGMA[®] 6 x 15ml) à 3000rpm pendant 5mn est réalisée. Les 4 culots obtenus sont récupérés après avoir jeté le surnageant. Les culots sont rassemblés dans un seul tube et repris dans du PBS. Une centrifugation est à nouveau effectuée à 3000rpm pendant 5mn. Un culot final est obtenu pour chaque échantillon.

7) Examen des lames :

À l'aide d'une pipette Pasteur, 1 goutte du culot est mélangée dans 02 gouttes de PBS entre lame et lamelle (18 x 18mm). La préparation est observée au microscope optique (LEICA[®] DMLS) au grossissement (X 400).

Un échantillon est considéré positif lorsque des bradyzoïtes de *Sarcocystis* (en forme de banane) sont observés.

III.2. RESULTATS

Par faute de temps, nous nous sommes limités à 10 échantillons soit 1 à 2 échantillons par semaine (Pour chaque échantillon un morceau de Diaphragme et de Masséter par cheval), donnant les résultats suivants :

Pour les échantillons de viande : sur les 10 chevaux prélevés (diaphragme et masséter), 02 se sont avérés positifs par la présence de bradyzoïtes de *Sarcocystis* (tableau 2)

Tableau 2 : résultats de la digestion enzymatique du diaphragme et du Masséter

Semaines	Numéro d'échantillon	Diaphragme	Masséter
Semaine n°1	Carcasse 1	Négatif	Négatif
	Carcasse 2	Négatif	Négatif
Semaine n°2	Carcasse 3	Négatif	Positif : bradyzoïtes de <i>Sarcocystis</i>
	Carcasse 4	Positif : bradyzoïtes de <i>Sarcocystis</i>	Positif : bradyzoïtes de <i>Sarcocystis</i>
Semaine n°3	Carcasse 5	Négatif	Négatif
	Carcasse 6	Négatif	Négatif
Semaine n°4	Carcasse 7	Négatif	Négatif
	Carcasse 8	Négatif	Négatif
Semaine n°5	Carcasse 9	Négatif	Négatif
	Carcasse 10	Négatif	Négatif

Sur les 10 échantillons, deux seulement sont positifs. Des bradyzoïtes de *Sarcocystis* en forme de banane ont été retrouvés au niveau du masséter pour l'échantillon 3 et au niveau du diaphragme et du masséter pour l'échantillon 4. (Photo N°1, N° 2, N°3 et N°4).

Aucune larve de trichine n'a été retrouvée.



Photo N°1 : bradyzoïtes de *Sarcocystis* X100
(Masséter échantillon n°3) (Photo personnelle)



Photo N°2 : bradyzoïtes de *Sarcocystis* X100
(Diaphragme échantillon n°4) (Photo personnelle)



Photo N°3 : bradyzoïtes de *Sarcocystis* X100
(Masséter échantillon n°4) (Photo personnelle)



Photo N°4 : bradyzoïtes de *Sarcocystis* X100
après coloration Giemsa (Photo personnelle)

Pour les échantillons de fèces : sur les 03 échantillons de selles, seuls des œufs de *Strongylus*, *Cyathostum* et de *Parascaris equorum* ont été isolé dans deux selles sur trois, l'échantillon n°3 s'est avéré négatif. (tableau3)

Tableau 3 : résultats de l'analyse des fèces par flottaison.

Numéro d'échantillon	Résultats
Échantillon 1	• Oeufs de <i>Strongylus</i> • <i>Cyathostum</i>
Échantillon 2	Négatif
Échantillon 3	• <i>Parascaris equorum</i> • <i>Cyathostum</i>

Les résultats se sont avérés négatifs pour la Trichinellose au niveau musculaire. Des fèces ont été analysées par flottaison pour essayer de retrouver des vers adultes sachant que le cycle passe par l'intestin. Des œufs de *Strongylus*, *Cyathostum* et *Parascaris equorum* ont été retrouvés (Photo N°5, N°6 et N°7)



Photo N°5 : œufs de *Strongylus* X100
(Fèces échantillon n°1) (Photo personnelle)



Photo N°6 : *Cyathostum* X100 (Photo personnelle)



Photo N°7 : *Parascaris equorum* X100
(Fèces échantillon3)(Photo personnelle)

III.3. DISCUSSION

Même si aucune lésion macroscopique n'a été observée au niveau des muscles (masséters et diaphragmes) nous ne pouvons pas dire que les chevaux abattus dans nos abattoirs sont indemnes de Trichinellose et /ou Sarcosporidiose.

Seule une étude sur des dizaines voir des centaines de carcasses peut nous renseigner sur le taux d'infestation de cette espèce animale et de là, comparer la prévalence à celle observée à travers le monde.

Néanmoins l'analyse microscopique par digestion enzymatique des échantillons de masséters et de diaphragmes nous a montré que deux chevaux sur dix renfermaient des bradyzoïtes du genre *Sarcocystis*. Malheureusement, nous n'avons pas pu pousser notre investigation pour connaître à quelles espèces de Sarcosporidies appartiennent ces bradyzoïtes. En effet, les chevaux peuvent être atteints de Sarcosporidiose zoonotique, ce qui serait dangereux pour l'homme s'il venait à consommer la viande crue ou insuffisamment cuite.

III.4. CONCLUSION

Le temps imparti pour notre étude et surtout le faible nombre de chevaux abattus (1 à 2 par semaine) au niveau des abattoirs d'EL Harrach, ne nous ont permis de réaliser une étude que sur dix chevaux.

Même si nous n'avons pas pu observer des lésions macroscopiques de Trichinellose et de Sarcosporidiose, nos résultats de laboratoire nous incitent à les rechercher systématiquement au niveau des abattoirs. En effet, les vétérinaires inspecteurs des abattoirs n'effectuent pas la recherche systématique de ces parasitoses.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- M-P.BRENIER-PINCHART et H.PELLOUX

Corpus médical-Faculté de Médecine de Grenoble

La toxoplasmose, 2003 (document PDF)
- 2- J.EUZEBY

Les parasites des viandes : épidémiologie, physiopathologie, incidences zoonosiques

Edition Médicales Internationales, 1997
- 3- J.FOSSE

Risques parasitaires, 2010 (document PDF)
- 4- A.GARBER

La toxoplasmose, 2006 (document PDF)
- 5- A.GONTHIER

QSA- Motifs de saisie des animaux de boucherie, 2006
- 6- A.GUIBE

Contribution à l'étude des viandes trichinées : trichinose transmise par la viande de cheval

Thèse de doctorat de l'ENV ALFORT, 1986
- 7- P-C.LEFEVRE, J.BLANCOU et R.CHERMETT

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail Europe et régions chaudes

Editions TEC&DOC, 2003
- 8- S.PINCHON

Les viandes trichinées : description et analyse du risque pour le consommateur

Thèse pour le diplôme d'état de DOCTEUR VETERINAIRE, 2001

9- A.VILLENEUVE

Les zoonoses parasitaires

Les presses de l'université de Montréal, 2003

10- Document de l'université virtuelle francophone

Trichinellose, 2008-2009

11- Office Vétérinaire Fédéral Suisse OVF

Sarcosporidiose, 2010 (document PDF)

12- Rapport d'un comité OMS d'experts avec la participation de la FAO

Zoonoses parasitaires, Genève 1979

13- www.bvet.admin.ch (consulté en Février 2011)

14- www.cheval.kalianxis.com (consulté en Mars 2011)

15- www.membres.multimania.fr/robertserge/toxoplasmose.htm (consulté en Avril 2011)

16- www.familleegger.blogspot.com (consulté en Février 2011)

17- www.adpco21.com/maladies-zoonoses.html#trichinose (consulté en Février 2011)

18- www.fr.wikipedia.org/wiki/Trichinose#Historique (consulté en Janvier 2011)

19- www.inra.fr/sante_animale/content/search (consulté en Février 2011)

20- www.colombophiliefr.com/Dossiers/telechargt.htm#ch_veto (consulté en Mai 2011)