

Profil parasites intestinaux petits ruminants qPCR

Diagnostic des strongyloses gastro-intestinales chez les petits ruminants

Biovet a récemment développé des tests qPCR multiplex permettant d'identifier et de quantifier les œufs des principaux trichostrongles des petits ruminants soit *Teledorsagia spp*, *Trichostrongylus spp*, *Haemonchus contortus*, *Cooperia spp*, *Nematodirus spp* et *Bunostomum trigonoceph*. Ces tests constituent une alternative fiable, rapide, et ce à un coût concurrentiel des habituelles coproscopies.

Le parasitisme gastro-intestinal constitue un des principaux problèmes de santé chez les petits ruminants qui pâturent. Parmi les parasites les plus importants, il faut citer en particulier *Teledorsagia spp* (anc. *Ostertagia*), *Cooperia spp*, *Trichostrongylus spp* et *Nematodirus spp* qui affectent principalement les agneaux et, surtout, *Haemonchus contortus* qui affecte les sujets de tout âge.

Au cours des prochains mois, nous allons poursuivre l'optimisation de nos test PCR multiplex en temps réel (qPCR), mais nous avons décidé d'offrir dès à présent ces tests regroupés dans un profil parasites intestinaux petits ruminants qPCR.

Détection des nématodes

Le diagnostic des infestations par les nématodes gastro-intestinaux (ci-après les trichostrongles) repose notamment sur le dénombrement de leurs œufs dans les matières fécales. À cet effet, les méthodes les plus couramment utilisées sont le Wisconsin, le MacMaster et le miniFlotac dont les résultats sont exprimés en œufs/g (OPG).

Si les œufs de *Nematodirus spp* sont facilement identifiables au microscope, ceux des autres trichostrongles sont indifférenciables. Or, il est important de distinguer les œufs d'*Haemonchus contortus* de ceux des autres trichostrongles, car cette espèce peut causer des mortalités rapides en l'absence d'un traitement approprié.



Information sur le test

CODE	ÉCHANTILLON À SOUMETTRE	TRANSMISSION DES RÉSULTATS
BV0237	Quelques grammes de matières fécales fraîches	1 à 3 jours ouvrables*

* Ces analyses sont effectuées du lundi au vendredi.

Pour ce faire, des tests de fluorescence (egg autofluorescence) reposant sur l'affinité différentielle de certaines lectines pour les œufs de plusieurs espèces de trichostrongles ont été utilisés (1, 4). Un test de fluorescence pour *Haemonchus contortus* est offert depuis quelque temps par la Faculté de médecine vétérinaire de l'U. de Montréal (ci-après la FMV).

Récemment, une méthode de Next Generation Sequencing (NGS) - "nemabiome metabarcoding" - a été utilisée afin de caractériser les communautés de parasites gastro-intestinaux chez différentes espèces animales incluant les petits ruminants (2, 3, 5). La méthode "nemabiome metabarcoding" a été validée chez le mouton, mais n'est actuellement pas offerte en routine en raison de ses coûts plus élevés et des délais de réponse plus longs.

Nos tests qPCR multiplex ont été comparés à la méthode NGS (2, 3, 5) réalisée au laboratoire du professeur John

Gilleard de l'université de Calgary. Bien que le nombre d'échantillons examinés à ce jour soit relativement limité, nous avons pu constater une excellente corrélation entre nos résultats de qPCR et ceux du NGS (tableau 1).

Les résultats seront exprimés en Ct (cycle threshold) et en copies de génome par g de matières fécales (tableau 1). Les valeurs des Ct sont inversement proportionnelles aux quantités de l'organisme recherché et à chaque différence de Ct correspond une différence de facteur 2. Les valeurs de Ct et de copies génomiques ne permettent pas d'extrapoler directement les valeurs OPG. En effet, les gènes ciblés pour les différents parasites sont présents en nombres variables de copies selon les espèces. Ceci dit, les valeurs de Ct ou de copies génomiques donnent une bonne indication de l'importance de la charge parasitaire. À l'avenir, nous allons essayer d'établir la relation entre Ct, copies génomiques et le nombres d'œufs pour les différents parasites.

Tableau 1. Comparaison de différentes méthodes pour l'identification des trichostrongles chez le mouton et la chèvre

	<i>Teledorsagia spp</i>			<i>Trichostrongylus spp.</i>		<i>H. contortus</i>			
	Wisconsin	qPCR		qPCR		qPCR		qPCR	NGS
Animals	EPG	Ct	cg/g	Ct	cg/g	Ct	cg/g	%	%
Sheep-5	87	45,00	-	29,20	70	28,90	70	50,0	44,9
Sheep-1	235	45,00	-	45,00	-	45,00	-	0	0,0
Lambs-pool	498	20,40	70 000	20,50	70 000	17,50	200 000	58,9	55,7
Sheeps-pool	64	45,00	-	31,40	20	31,40	20	50,0	39,6
Goat-1	182	30,30	70	45,00	-	25,10	900	92,8	98,8
Goat-3	185	45,00	-	23,80	3 000	21,90	8 000	72,7	29,0
Goat-4	73	45,00	-	45,00	-	23,30	3 000	100	99,9
Goat-5	448	45,00	-	45,00	-	27,10	200	100	96,1
Goat-6	884	45,00	-	45,00	-	22,00	8 000	100	100,0

N'hésitez pas à nous contacter pour des informations complémentaires au besoin.

Dre Virginie Filteau, DES, M. Sc.,
Spécialiste médicale des animaux de la ferme

Christian Savard, Ph. D.,
Directeur R&D biologie moléculaire

Références

1. **Abbas I and Hildreth M.** Egg autofluorescence and options for detecting peanut agglutinin binding for the identification of *Haemonchus contortus* eggs in fecal samples. Vet Parasitol. 2019 Mar;267:69-74.
2. **Avramenko RW et al.** Exploring the Gastrointestinal "Nemabiome": Deep Amplicon Sequencing to Quantify the Species Composition of Parasitic Nematode Communities. PLoS One. 2015 Dec 2;10(12):e0143559.
3. **Borkowski EA et al.** Comparison of ITS-2 rDNA nemabiome sequencing with morphological identification to quantify gastrointestinal nematode community species composition in small ruminant feces. Vet Parasitol. 2020 Jun;282:109104.
4. **Douanne N et al.** High-throughput identification and quantification of *Haemonchus contortus* in fecal samples. Vet Parasitol. 2019 Jan;265:24-28.
5. **Redman E et al.** Validation of ITS-2 rDNA nemabiome sequencing for ovine gastrointestinal nematodes and its application to a large scale survey of UK sheep farms. Vet Parasitol. 2019 Nov;275:108933.

