

NOTES ET INFORMATIONS

Acido-alcool-résistance de divers œufs de Schistosomes Modification de la technique de Brygoo, Capron et Randriamalala

Dans un but diagnostique, nous avons eu l'occasion de pratiquer la coloration de Brygoo, Capron et Randriamalala et avons pu apprécier la qualité et la fidélité des résultats obtenus, en particulier en ce qui concerne les schistosomiasés. Des préparations de la collection E. Brumpt et du matériel personnel nous ont permis de confirmer leurs observations et de tester un certain nombre de souches d'origine animale.

Dès le début de ce travail, nous avons été gênés dans l'utilisation de la technique originelle par le séchage à l'air, qui altérait très profondément la structure cellulaire des tissus. Une déshydratation brutale à l'alcool absolu n'a pas donné plus de satisfaction, la coloration au vert de méthyle étant trop instable pour persister d'une façon suffisamment intense dans ces conditions.

Nous proposons donc une modification de technique, visant à permettre, par un mordantage préalable, une déshydratation par l'alcool et un montage au baume du Canada. Dans ces conditions, la structure histopathologique est préservée et les lames peuvent être conservées avec une coloration stable.

L'acide phosphomolybdique en solution aqueuse à 1 % s'est avéré un mordant efficace ; il respecte de plus l'affinité tinctoriale sélective pour le vert de méthyle de la coque de certains œufs déjà testés.

En conséquence, voici la coloration telle que nous la proposons :

Après déparaffinage et passage aux alcools :

- 1° éliminer l'acide picrique des préparations fixées au Bouin dans l'alcool à 70° saturé de carbonate de lithium pendant cinq minutes environ ;
- 2° laver rapidement ;
- 3° acidifier par l'acide chlorhydrique décimormal pendant une minute ;
- 4° laver ;
- 5° colorer par la fuchsine phéniquée à froid pendant 30 minutes ;
- 6° décolorer jusqu'à teinte rose pâle par l'alcool chlorhydrique à 1 % ;
- 7° laver ;
- 8° mordancer à l'acide phosphomolybdique en solution aqueuse à 1 % pendant cinq minutes ;
- 9° colorer sans laver par le bleu de méthyle en solution aqueuse saturée pendant 30 secondes à 2 minutes selon la fraîcheur de la solution, en surveillant la progression de la coloration ;
- 10° rincer à l'eau ;

- 11° différencier dans l'eau acétifiée à 1 % pendant 5 minutes ;
 12° rincer dans l'alcool absolu acétifié à 1 pour mille ;
 13° terminer la déshydratation à l'alcool absolu, passer aux bains de toluène et monter au baume du Canada.

Résultats.

Cette coloration permet de diviser les œufs de Schistosomes en plusieurs catégories selon que la coque conserve ou ne conserve pas la teinte rouge de la fuchsine, prend ou ne prend pas le bleu de méthyle.

La teinte rouge ou rose vif de la coque des œufs acido-alcoolo-résistants tranche nettement sur le fond bleu turquoise des tissus environnants. Le miracidium et la membrane ovulaire se colorent en bleu. La différenciation à l'eau acétifiée permet de rectifier dans une certaine mesure une éventuelle surcoloration. Lorsque la coque des œufs ne se colore que par le bleu de méthyle, elle se détache en bleu outremer sur les tissus environnants bleu turquoise. Il ne s'agit pas là d'une opposition tincoriale suffisamment nette pour permettre un repérage immédiat au faible grossissement, mais, dans les cas douteux, cette particularité peut aider au diagnostic. C'est à la suite de cette constatation que nous avons préféré au vert le bleu de méthyle.

La coque des œufs qui ne se colorent pas par le bleu apparaît en un liseré jaune anhiste et d'épaisseur variable selon l'espèce envisagée.

Applications.

Avec cette méthode, nous avons obtenu les mêmes résultats qu'avec la technique originelle dans les cas suivants :

Schistosoma haematobium, Bilharz 1852 :

cancer bilharzien de la vessie (collection E. Brumpt),

Schistosoma mansoni, Sambon 1907 :

foie et intestin de souris (souche américaine et souche africaine du Libéria).

Schistosoma japonicum, Katsurada 1904 :

foie et intestin de souris (souche chinoise du Chekiang *).

cancer du foie et intestin humains (souche japonaise de Chiba, collection E. Brumpt).

organes de souris infectées par cette même souche.

Schistosoma bovis (Sonsino 1876) :

préparations de la collection E. Brumpt.

Par ailleurs, nous avons testé la coloration des œufs des espèces suivantes, sur des préparations provenant toutes de la collection E. Brumpt :

Schistosoma spindalis, Montgomery 1905 :

foie de chèvre.

Schistosoma indicum, Montgomery 1906 :

intestin de chien (œufs rares).

* Souche entretenue au laboratoire, don du P^r Vogel, que nous tenons à remercier ici.

Schistosoma nasalis Rao 1934 :

granulome nasal d'une vache de Ceylan.

Trichobilharzia ocellata (La Vallette 1854) :

foie et intestin de canard.

Bilharziella polonica (Kowalewski 1895) :

intestins de canard.

Si, aux résultats des auteurs précités, nous adjoignons les nôtres, nous pouvons établir le tableau ci-dessous :

	Fuchsine	Bleu
<i>Schistosoma haematobium</i>	—	+
<i>Schistosoma japonicum</i>	+	—
<i>Schistosoma mansoni</i>	+	—
<i>Schistosoma bovis</i>	—	+
<i>Schistosoma mattheei</i>	—	+
<i>Schistosoma spindalis</i>	—	+
<i>Schistosoma indicum</i>	—	+
<i>Schistosoma nasalis</i>	+	—*
<i>Trichobilharzia ocellata</i>	—	+
<i>Bilharziella polonica</i>	+	—

* La coque de *Schistosoma nasalis* apparaît comme une mince lamelle jaune soulignée en dedans par la membrane ovulaire et en dehors par une fine couche également colorées en bleu. Cette structure lamellaire de la coque n'a malheureusement pas pu être retrouvée dans la coloration à la fuchsine de Ziehl sur les quelques œufs observés ; des incidences de coupe plus favorables permettraient peut-être d'approfondir ce problème. Signalons à ce propos que, dans l'un de leurs articles (2), les promoteurs de la technique ont noté un phénomène comparable dans la coque de l'œuf d'*Enterobius vermicularis*.

Conclusions et Résumé.

Ces résultats confirment l'intérêt de la technique de Brygoo, Capron et Randriamalala dans l'étude des affinités tinctoriales des œufs de Schistosomes.

Ceux-ci peuvent être divisés en deux groupes selon l'acido-alcool-résistance de leur coque et son aptitude à fixer le bleu de méthyle, ce qui confirmerait les conclusions auxquelles Schwetz et coll. (1951) étaient arrivés en se basant sur la morphologie tant des adultes que des œufs des Schistosomes africains de Mammifères. Si l'on élimine, en effet, les parasites aviaires examinés, et qui, d'ailleurs, n'appartiennent pas au genre *Schistosoma*, on peut constater que les deux groupes obtenus correspondent à ceux de Schwetz : les œufs acido-alcool-résistants possèdent un éperon latéral et appartiennent à des espèces chez la femelle desquelles les organes génitaux sont situés dans la moitié antérieure du corps. Les œufs qui ne conservent pas la coloration par la fuchsine possèdent un éperon terminal et appar-

tiennent à des espèces chez la femelle desquelles l'ovaire se situe dans la moitié postérieure du corps.

Les quelques modifications apportées améliorent le résultat final : les coupes ainsi préparées, correctement colorées, sont utilisables pour l'étude histopathologique des tissus parasités.

Cette technique a été appliquée à l'étude des œufs de quatre espèces de Schistosomes déjà testés par la technique originelle et à celle de cinq autres espèces d'origine animale.

Jean-Jacques ROUSSET, René HOUIN et Alice BUTTNER.

Bibliographie

1. BRYGOO (E.-R.) (1961). — Substance alcoolo-acido-résistante de la coque de l'œuf de quelques Schistosomes. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, XXIX, 81-82.
2. BRYGOO (E.-R.), CAPRON (A.) et RANDRIAMALALA (1959). — Sur quelques méthodes de coloration sélective des coques d'œufs d'Helminthes parasites de l'homme. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, LII (5), 655-664.
3. BRYGOO (E.-R.) et RANDRIAMALALA (J.-Ch.) (1959). — Différence de colorabilité au Ziehl entre les œufs de *Schistosoma mansoni* et ceux de *Schistosoma haematobium*. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, LII (1), 26-27.
4. CAPRON (A.) et BRYGOO (E.-R.) (1959). — Sur la constitution des œufs d'Helminthes. I. Présence et formation d'une substance acido-alcoolo-résistante de la coque. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, LII (5), 574-577.
5. CAPRON (A.) et BRYGOO (E.-R.) (1960). — Mise en évidence de la formation de la substance acido-alcoolo-résistante de la coque de l'œuf de *Schistosoma mansoni*. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, XXVIII, 153-154.
6. SCHWETZ (J.), BAUMANN (H.) et FORT (M.) (1951). — Recherches sur *Schistosoma rodhaini*, Brumpt, 1931, (1^{re} étude). *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, XXVI (4), 323-406.

Institut de Parasitologie, Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Prof. L.-Ch. BRUMPT)