

NOTES ET INFORMATIONS

AVANTAGES DE LA TECHNIQUE D'ERRECART POUR L'IDENTIFICATION DES *PLASMODIUM*

par E. DEI CAS *, ** E. DUTOIT *, R. Y. ABDELMALEK ** et A. VERNES * **

(*) INSERM (U. 42), rue Jules-Guesde, F 59650 Flers.

(**) Laboratoire central de l'Hôpital Dron, rue du Président Coty, F 59208 Tourcoing.

Résumé.

Errecart (1945) a proposé une modification de la technique de la goutte épaisse pour le diagnostic de la maladie de Chagas. Nous avons appliqué cette modification au paludisme des mammifères : la morphologie des parasites sanguins est bien conservée et nous permet l'identification de l'espèce, celle-ci n'étant pas souvent possible dans les gouttes épaisses ordinaires.

Summary.

Advantages of the Errecart's technique for the identification of *Plasmodium*.

Errecart (1945) proposed a modified technique for making thick films for the diagnosis of Chaga's disease. We applied his technique to the study of malaria in mammals; the morphology of the blood parasites is very well preserved and allows the identification of species which are frequently not identifiable in ordinary thick films.

La grande valeur de la goutte épaisse ordinaire (G.E.O.) est reconnue classiquement, surtout pour le diagnostic du paludisme pendant les intercrises, et pour les enquêtes épidémiologiques. Cependant, les différents auteurs lui reconnaissent tout au moins quatre inconvénients :

a) la mauvaise conservation de la morphologie des parasites (Boyd, 1949 ; Le Bras et coll., 1978) fait que la G.E.O. doit être lue par un observateur expérimenté. En fait, le cytoplasme des *Plasmodium* est rarement observable, et la coloration du noyau avec le Giemsa est souvent terne.

Accepté le 4 mai 1979.

b) la G.E.O., sauf dans le cas des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, ne permet pas le diagnostic d'espèce de *Plasmodium*, même lorsque la lecture est faite par un observateur expérimenté (Golvan, 1972).

c) la G.E.O. ne peut pas être colorée avant le séchage. Si on ne dispose pas d'une étuve à 37 °C, la coloration et la lecture doivent être ajournées pendant plusieurs heures (Golvan, 1972).

d) malgré le respect du temps de séchage et quel que soit le soin qu'on y apporte, la G.E.O. risque toujours de se décoller au cours des manipulations (Golvan, 1972).

La présente modification de la technique de la G.E.O. a été proposée par Errecart en 1945 pour faciliter le diagnostic de la maladie de Chagas (Osimani, 1977). La goutte épaisse selon Errecart (G.E.E.) a les avantages de la G.E.O., en ajoutant une bonne conservation de la morphologie des hématozoaires, les rendant plus visibles surtout pour l'observateur non expérimenté.

Nous avons cru intéressant d'appliquer cette modification de la G.E.O. au diagnostic du paludisme. Nous l'avons essayé (Pl. I) pour des cas humains à *P. falciparum*, *P. vivax*, chez des primates infectés par *P. inui*, et chez des souris infectées expérimentalement par *P. yoelii nigerensis*.

La technique ne peut pas être réalisée sur du sang prélevé sur anticoagulant : un fond bleu uniforme rendrait alors la lecture trop difficile.

Après avoir pratiqué la ponction (pulpe du doigt, pavillon auriculaire chez l'homme, face interne du talon chez le singe) il ne faut pas utiliser les premières gouttes de sang mélangées avec la solution employée pour l'aseptie locale. Les deux ou trois gouttes suivantes sont mélangées soigneusement, sur une lame bien dégraissée, avec quelques microlitres de la solution d'Errecart (formol commercial, 1 ml; acide acétique, 0,2 ml; solution de ClNa 9‰, 100 ml).

La défibrination, le séchage et la déshémoglobination sont faites comme dans la technique classique.

Si la goutte est trop épaisse, la déshémoglobination peut être difficile. Dans ce cas, on peut employer une solution d'acide acétique (0,2 à 1 %; Vaucel, 1952) au lieu de l'eau distillée.

Si la déshémoglobination a été faite avec l'eau acétifiée, plusieurs rinçages dans l'eau distillée ou dans le tampon pH 7,2 utilisé pour diluer le Giemsa, seront nécessaires pour réussir une bonne coloration de parasites.

Planche I. *Paludisme humain à Plasmodium falciparum (accès pernicieux).*
Col. Giemsa × 1250.

a : Frottis mince. La flèche signale un microgamétocyte.

b : Goutte épaisse selon Errecart. La flèche signale un microgamétocyte.

c : Goutte épaisse ordinaire.

Paludisme humain à Plasmodium vivax. Col. Giemsa × 1250.

d : Goutte épaisse selon Errecart. Schizonte (flèche).

e : Goutte épaisse ordinaire. Schizonte (flèche).

Paludisme chez le singe (Maccacus fascicularis) à Plasmodium inui. Col. Giemsa × 1000.

f et g : Goutte épaisse selon Errecart. Trophozoïtes uninuclés (flèche).

h : Goutte épaisse ordinaire. Trophozoïtes uninuclés (flèche).

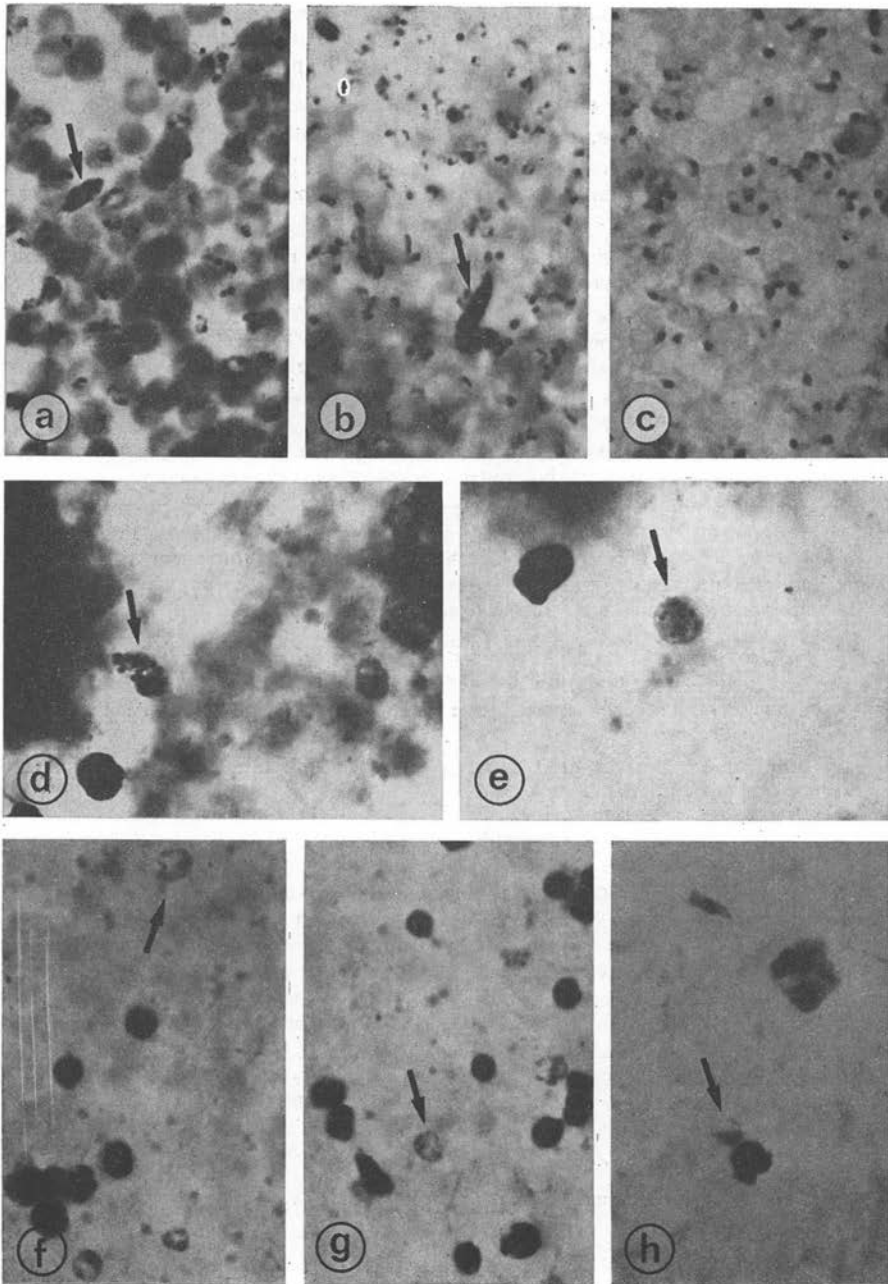


Planche I

Après fixation par l'alcool méthylique, pendant quelques minutes, les lames sont rincées à l'eau du robinet et colorées pendant 20 minutes dans une solution de Giemsa 7 % dans le tampon (1) Na₂HPO₄, 5 g/l; KH₂PO₄, 2,18 g/l; pH 7,2 (Boyd, 1949).

Les deux étapes critiques de la technique sont :

- la déshémoglobination, qui doit être la plus complète possible ;
- le rinçage après déshémoglobination lorsque celle-ci est faite à l'eau acétifiée. Si les lames ne sont pas suffisamment rincées, le Giemsa ne colorera point les hématozoaires.

Le rinçage à l'eau du robinet après fixation au méthanol, sans être « critique » est avantageux puisque le fond acquerra un ton un peu plus rose ou orangé qui permettra d'améliorer le contraste du cytoplasme bleu des hématozoaires.

La G.E.E., comparée avec les autres techniques conseillées plus récemment pour le diagnostic parasitologique du paludisme (Shute et Sodeman, 1973 ; Le Bras et coll., 1978) est beaucoup plus simple à réaliser n'exigeant pas un équipement spécial souvent onéreux.

La G.E.E. a les mêmes applications que la G.E.O. Cependant, la G.E.E. permettant l'identification spécifique des *Plasmodium*, pourrait avoir une efficacité remarquable dans les enquêtes épidémiologiques, pouvant en plus être employée avec succès pour la recherche de *Plasmodium* animaux dans un but purement zoologique ou taxonomique.

Signalons enfin que la dilution du sang par la solution d'Errecart pourrait diminuer la densité cellulaire de la goutte. En fait, nous avons constaté dans la pratique, qu'un volume de 5 à 30 microlitres de la solution d'Errecart est largement suffisant pour réussir de bonnes préparations. Il semble donc très improbable qu'un volume si minime entraîne une erreur, par dilution, significative.

Par rapport à la G.E.O., les avantages de la G.E.E. sont les suivants :

- une meilleure coloration des hématozoaires ;
- une conservation de la morphologie qui permet l'identification de l'espèce des protozoaires sanguicoles ;
- une meilleure adhérence de la goutte à la lame, le décollement étant exceptionnel.

Bibliographie

- Boyd M.-F., 1949 : *Malarialogy* (2 vol.). Saunders, London.
- Errecart M., 1945 : La investigación de *Trypanosoma cruzi* por el metodo de la gota espesa. Una nueva tecnica. *Ann. Fac. Montevideo*, 30, 527 (cité par Osimani, 1977).
- Golvan Y. J., 1972 : Techniques en parasitologie et en mycologie. *Flammarion*, Paris.
- Le Bras J., Ricour A., Savel J., Payet M., 1978 : Diagnostic cytologique du paludisme grâce à la concentration d'hématies parasitées. *Nouv. Press. Méd.*, 7, 1400-1401.
- Osimani J.-J., 1977 : Parasitologia y enfermedades parasitarias. I. Edit. Delta, Montevideo.
- Shute G. T., Sodeman T. M., 1973 : Identification of malaria parasites by fluorescence microscopy and acridine orange staining. *Bull. Org. Mond. Santé*, 55, 105-114.
- Vaucel M., 1952 : *Méd. Tropicale*, Flammarion, édit., Paris.

(1) Ce tampon peut être remplacé avec succès par l'eau « Evian ».