

TECHNIQUES DE LABORATOIRE POUR L'ETUDE DE LA FILARIOSE

COLLECTION DE FILAIRES DE LA COMMISSION

DU PACIFIQUE SUD

LIBRARY
Secretariat of the Pacific Community

La conférence d'experts sur la Filariose et l'Elephantiasis réunie à Tahiti du 21 Août au 1er Septembre 1951 sous les auspices de la Commission du Pacifique Sud a recommandé entre autres:

- la création par la Commission du Pacifique Sud d'une collection de filaires (vers adultes et stades embryonnaires) humaines et animales ainsi que de pièces et de préparations anatomo-pathologiques se rapportant à la filariose (recommandation 1) ;
- l'uniformisation des méthodes utilisées pour l'étude de la filariose (recommandation 51).

A. C O L L E C T I O N

Pour la création de cette collection la Conférence demande à tous les chercheurs du Pacifique d'adresser à la Commission du Pacifique Sud (Section Santé, Noumea, Nouvelle-Calédonie) des spécimens (adultes, microfilaires, différents stades larvaires chez les vecteurs) de filaires humaines et animales ainsi que des pièces anatomo-pathologiques en provenance de leur région. Leur étude par des spécialistes qualifiés sera faite par l'intermédiaire de la Commission. Les résultats de ces examens, communiqués à tous les chercheurs intéressés, leur fourniront des informations de valeur. Il est recommandé, chaque fois que cela sera possible, d'adresser en même temps que les vers adultes des frottis de sang (ou de derme) pour l'étude des microfilaires provenant du même sujet et si possible des renseignements sur la périodicité des microfilaires collectées.

SPC Library

 44351
 Bibliothèque CPS

B. Dans le but d'uniformiser les méthodes de recherche, la Conférence recommande les techniques suivantes :

I. RECOLTE ET PRESERVATION DES SPECIMENS POUR COLLECTION.

1° Les microfilaires.

- a) Il est recommandé de faire pour chaque cas une goutte épaisse et un frottis de sang, sur une seule lame ou sur des lames différentes.
- b) La méthode de coloration rapide de Giemsa, telle qu'elle est utilisée pour les parasites du paludisme, est recommandée. Les frottis de sang devront être colorés aussitôt que possible après leur dessiccation complète.

2° Les vers adultes.

- a) Les techniques suivantes sont recommandées pour la collecte des vers adultes à partir des tissus obtenus par biopsie ou autopsie :
 - (i) Dilacérer le tissu, lorsque c'est possible, ou le découper en bandes de 1-2 centimètres d'épaisseur.
 - (ii) Le faire macérer dans du sérum physiologique à la température ordinaire (20-25°), et changer le liquide, toutes les 2 ou 3 heures si possible, prélever les vers qui se sont libérés du tissu. Continuer pendant 8-10 heures.
 - (iii) Filtrer le résidu dans un tamis fin en vue de collecter les vers et les fragments de vers.
- b) Les vers adultes sont bien fixés par l'alcool éthylique chaud à 70% et peuvent être conservés dans l'alcool à 70%

auquel a été ajouté de la glycérine (environ 2%). Avant l'expédition, les flacons contenant les vers devront être remplis complètement avec de l'alcool à 70%, et scellés en plongeant les bouchons dans de la paraffine en fusion ou de la celloidine.

3°) Les pièces anatomiques peuvent être fixées et expédiées dans du sérum physiologique, formolé à 10 %.

4°) Les préparations anatomo-pathologiques montées sur lames devront être faites suivant les techniques courantes.

5°) Renseignements.

a) Tous les spécimens devront être accompagnés par les renseignements minimum suivants fixés à chaque lame ou récipient expédiés:

(i) nom du territoire (ou) institution;

(ii) nom de la personne ayant pratiqué le prélèvement;

(iii) date du prélèvement;

(iv) un numéro d'ordre;

b) Des feuilles de renseignements donnant des informations plus détaillées devront être jointes aux spécimens et devront mentionner :

(i) une répétition des renseignements inscrits sur l'étiquette;

(ii) une liste des spécimens envoyés provenant d'un même sujet ;

(iii) une identification du sujet, par l'âge, le sexe, la race;

- (iv) un résumé de l'observation clinique ;
- (v) l'heure (heure locale) ou le prélèvement a été effectué;
- (vi) l'historique du traitement antifilarien ou de toute autre chimiothérapie utilisée au cours de l'année précédente;
- (vii) les méthodes utilisées pour la préparation du spécimen si ce ne sont pas celles recommandées;
- (viii) s'il s'agit de vers adultes ou de pièces anatomo-pathologiques, le point de prélèvement et le mode (biopsie ou autopsie); s'il s'agit d'une autopsie le temps écoulé depuis le décès est important ;
- (ix) si des microfilaires sont expédiées sous forme de frottis de sang, il faudra indiquer si le sang est d'origine veineuse ou périphérique et le point ou le prélèvement a été effectué.

II. ETUDES SUR LA PERIODICITE.

En vue d'uniformiser autant qu'il est possible les études sur la périodicité des microfilaires de Wuchereria, les méthodes suivantes sont recommandées :

- (i) trois frottis seront faits, d'une quantité mesurée de 20 mm³ chacun, prélevés sur chaque sujet à chaque examen;
- (ii) les frottis seront effectués toutes les 2 heures pendant une période d'au moins 24 heures ;
- (iii) l'heure du prélèvement sera notée suivant le système international de 00.00 à 24.00 heures (heure locale) ;

- (iv) les échantillons de sang périphérique seront prélevés au niveau d'un doigt ;
- (v) les renseignements devront comporter :
 - a) le lieu géographique précis de la résidence du sujet dans la région ;
 - b) l'âge, le sexe, la race du sujet;
 - c) le lieu d'origine et tout renseignement particulier sur les déplacements du sujet ;
 - d) si le sujet est étranger à la région où il est étudié, la durée de son séjour dans cette région.

III. METHODES ET NOTATIONS EN ENTOMOLOGIE.

- 1) Après avoir envisagé les possibilités d'étude de la densité culicidienne : enquêtes entomologiques basées sur le nombre de larves de moustique, sur le nombre de moustiques capturés à la recherche d'un repas de sang ou sur le nombre des moustiques capturés dans des abris, la conférence a décidé de ne faire aucune recommandation officielle en ce qui concerne les méthodes à utiliser. La méthode devra toujours être décrite.
- 2) Notations.
 - a) Indépendamment des méthodes utilisées, l'incidence de l'infection chez le moustique devra être rapportée à la densité culicidienne.
 - b) Les vers découverts chez des moustiques donnés devront être identifiés, classés en fonction des régions du corps où ils ont été trouvés et de leur stade de développement.

IV. RECHERCHE DES MICROFILAIRES AU LABORATOIRE.

- a) La recherche des microfilaires chez l'homme peut être pratiquée en examinant le sang ou tout autre liquide suspect de contenir de la lymphe ou du chyle. Le sang veineux ou capillaire peut être examiné; pour le sang veineux la méthode de Knott (1) est recommandée. Celle-ci a probablement l'avantage de permettre la mise en évidence d'infestations légères.
- b) Le sang capillaire prélevé à l'oreille ou au doigt peut servir à l'examen direct pour la recherche des microfilaries mobiles, ou pour préparer des gouttes épaisses à partir desquels des numérations exactes pourront être effectuées. Vingt mm³ de sang sont étalés sous forme d'un cercle de 1,5 cm de diamètre et séchés avant coloration par le Giemsa. Dans la filariose périodique pratiquer les frottis entre 2200 et 0200 heures, (heure locale), dans les régions où la périodicité n'est pas clairement précisée le sang devra être prélevé entre 1400 et 1800 heures (heure locale). Les résultats obtenus par les examens de gouttes épaisses devront être exprimés en fonction du nombre de microfilaries par 20 mm³, ou par multiple de ce volume.

V. ENQUETES.

- a) Bien que la méthode de Knott de recherche des microfilaries fournissent des résultats comparables à ceux de la goutte épaisse de 20 mm³, elle ne donne pas de résultats

(1) Recherche des microfilaires dans le culot de centrifugation de 1cm³ de sang veineux hémolysé dans 10 cm³ d'eau distillée.

quantitatifs. C'est pourquoi, au cours des enquêtes, les numérations exactes des microfilaires devront être effectuées sur des gouttes épaisses de 20 mm³ de sang ou d'un multiple de ce volume, prélevées au niveau du doigt.

L'espèce de Wuchereria rencontrée devra être notée.

- b) Dans de telles enquêtes, l'âge et le sexe devront être mentionnés. Des groupes d'âge de 5 en 5 ans sont conseillés: 0-4, 5-9, 10-14, 15-19, 20-24, 25-29, etc., et ainsi de suite.

VI. UNIFORMISATION DES TESTS INTRADERMIQUES.

En raison de la facilité que l'on a de se procurer des Dirofilaria immitis, l'antigène préparé à partir de ce ver sera employé dans la plupart des tests intradermiques, bien que d'autres antigènes filariens soient susceptibles de fournir d'aussi bons résultats.

a) Standardisation de l'antigène

Les faits montrent que pour le moment l'antigène extrait du ver entier peut être utilisé pour pratiquer des tests intradermiques, l'extraction fractionnée n'ayant pu encore fournir d'extrait de plus grande spécificité. Actuellement, il ne semble pas que l'activité de l'antigène soit en relation avec son titre en azote. C'est pourquoi il est recommandé d'apprécier l'activité de l'antigène en le mettant en présence d'un sérum fortement positif et en utilisant la réaction de fixation du complément ou une réaction de floculation.

Il est recommandé d'utiliser habituellement pour les tests cutanés une dilution à 1/8000 dans du sérum physiologique,

les faits semblent indiquer que cette dilution fournit un pourcentage plus élevé de réactions positives chez les sujets sensibilisés et qu'elle donne peu de réactions non spécifiques.

b) Technique d'application

Il est recommandé de pratiquer une injection de 0,01 cm³ de la dilution correcte d'antigène, le traumatisme mécanique produit par l'injection d'une quantité plus importante peut, chez certains sujets à réaction négative, déterminer une réaction non spécifique.

Une dose égale d'une dilution identique de sérum de chien pourra être utilisée comme contrôle. Si on le désire, un contrôle complémentaire peut être pratiqué avec une dose identique de sérum physiologique.

Les solutions d'antigène et de liquide de contrôle seront injectées au même avant-bras afin d'éliminer les différences possibles de réactivité des diverses régions du corps.

c) Uniformisation des méthodes de lecture

Au cours des enquêtes les lectures devraient être effectuées 20 minutes après l'injection. Si le test est utilisé pour le diagnostic, une lecture supplémentaire peut être faite après 24 heures, car des réactions tardives se produisent dans un petit nombre de cas.

La réaction sera considérée comme positive lorsque le diamètre de la papule produite par l'injection de l'antigène dépassera de 3 mm celui du contrôle. La présence de pseudopodes peut être considérée comme une preuve supplémentaire de positivité.

Pour les études comparatives il est conseillé de faire des calques à l'encre sur du papier transparent ou de la cellophane des papules initiales et de comparer les dimensions après 20 minutes.

146

TABLEAU INDIQUANT LE NOMBRE DE MICROFILAIRES
DES DIFFERENTES PRELEVEMENTS POUR LES OBSERVATIONS
A. B. C.

Saigon -

Heures	A				B				C			
	Par 20 mm ³			Total	Par 20 mm ³			Total	Par 20 mm ³			Total
0730	31.	33.	38	102	0.	0.	1.	1	0.	0.	0.	0
0930	6	5	7	18	0	1	2	3	0	0	0	0
1130	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0
1330	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
1530	2	1	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0
1730	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	1	1
1930	8	9	13	30	9	3	2	14	0	0	0	0
2130	134	138	127	399	95	70	73	238	54	24	6	84
2330	206	80	78	364	101	156	43	300	9	24	18	51
0130	209	256	264	729	238	183	146	567	22	9	0	31
0330	199	88	75	362	90	70	48	208	3	6	2	11
0530	74	63	43	180	45	90	40	175	7	29	19	55
0730	47	34	12	93	11	5	3	19	1	2	4	7
0930	10	15	8	33	0	0	0	0	0	0	0	0
1130	1	2	0	3	0	1	0	1	0	0	0	0
1330	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
1530	2	3	3	8	0	1	0	1	0	0	0	0
1730	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0

Reçu le 4/3/52

Brygoo