

VALEUR DU TEST «QUANTITATIVE BUFFY COAT » (QBC®) COMME METHODE DE DIAGNOSTIC MICROSCOPIQUE DU PALUDISME

par

M. COOSEMANS, E.MANGELSCHOTS & M. WERY
*Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold,
Nationalestraat 155, B-2000 ANTWERPEN I, Belgique*

Le test de diagnostic parasitologique par dépistage en fluorescence directe des parasites colorés à l'acridine orange sur prélèvement sanguin centrifugé a été récemment commercialisé sous le nom QBC® (Quantitative Buffy Coat) test par Becton Dickinson (2). Un flotteur est placé dans le tube capillaire après le prélèvement de sang au bout du doigt. La centrifugation fait migrer le flotteur au niveau du «buffy coat» et permet un étalement de celui-ci (Fig. 1). Afin d'augmenter la faisabilité de ce test, Becton Dickinson a développé un équipement adéquat : une centrifugeuse fonctionnant sur batterie (Parafuge®), un objectif à immersion 60x filtrant la lumière UV et relié par fibre optique à une source lumineuse (Paralens®). Tout microscope équipé d'objectifs à distance frontale longue peut convenir.

Après une période d'entraînement, une étude a été entreprise en milieu hospitalier à Bujumbura (Burundi). La goutte épaisse et le frottis ont été examinés pour chacun des 98 patients référés par les médecins consultants de l'hôpital. Les gouttes épaisses (GE) ont été examinées à raison de 500 champs à l'objectif 100x (env. 20 minutes). Parallèlement un tube QBC a été examiné sur quatre longueurs du flotteur pour chacun des patients. Le temps d'examen était de 2 minutes.

Les résultats sont repris au tableau 1. Un coefficient de corrélation intragroupe «Kappa» de 0,90, nous montre qu'il existe une bonne concordance entre les résultats obtenus par la goutte épaisse et ceux obtenus par la

TABLEAU 1.
Comparaison des méthodes diagnostiques QBC et goutte épaisse.

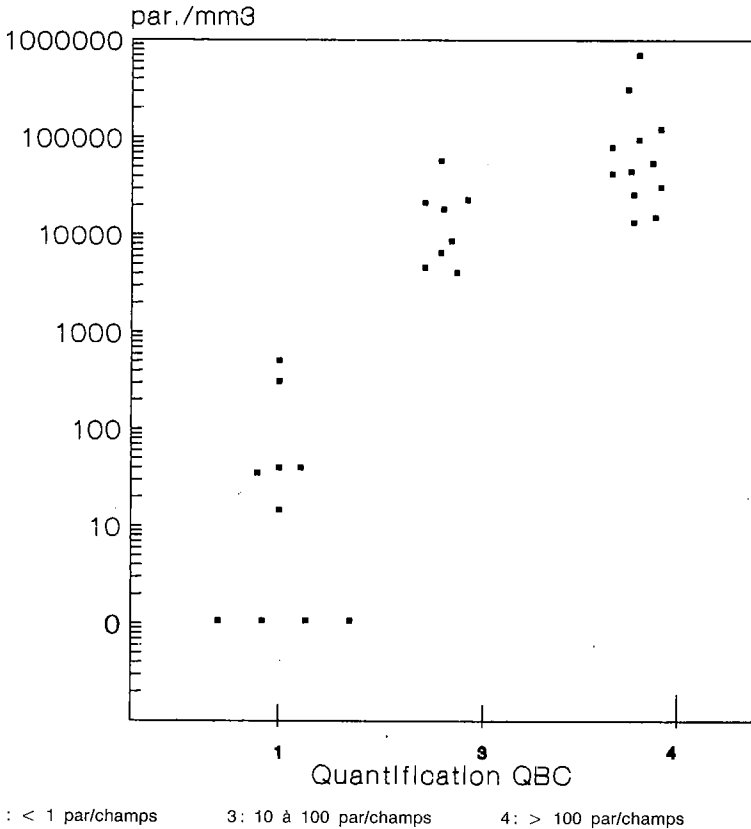
		QBC		
		+	-	
G.E.	+	27	0	27
	-	4	67	71
		31	67	98

kapa = 0.902

technique du QBC (Kappa = -1 : désaccord absolu; 0 : accord dû au hasard; 1 = accord absolu entre les tests) (1). Seulement 4 individus ont été trouvés positifs en QBC et négatifs à la GE et chez 3 d'entre eux des granules rouges, corps de Jolly ou débris de leucocytes, ont été observés dans la GE.

FIGURE 2

Répartition des résultats positifs au test QBC en fonction de la densité parasitaire déterminée à l'examen de la goutte épaisse sur base de 6.000 leucocytes par μl .



Une quantification du QBC test a été réalisée selon la méthode de Parzy *et al.* (5). La figure 2 reprend pour chaque groupe (1: < 1 parasite/champ, 2: 1 à 9 parasites/champ, 3: 10-99 parasites/champ, 4: > 100 parasites/champ) les densités parasitaires par μl , calculées dans les GE à partir du nombre de parasites par globules blancs (6.000 globules blancs par μl). Aucun individu ne pouvait être classé dans le groupe 2. Les moyennes géométriques (minimum-maximum) pour les groupes 1, 3, et 4 étaient respectivement 47 (12-360), 10.880 (3.600-49.200) et 48.880 (9.600-630.000) parasites par μl .

Dans les tubes QBC, les trophozoïtes de *P. falciparum* sont concentrés dans les érythrocytes étalés autour du flotteur. Ils sont bien visibles grâce à l'émission de lumière fluorescente par le noyau et de manière moins intense par le cytoplasme du parasite. Le cytoplasme peut également se colorer en rouge. Les gamétocytes de *P. falciparum*, observés chez 3 individus en QBC et confirmés en GE, ont été retrouvés dans la couche des globules blancs où la fluorescence des noyaux des leucocytes est intense, ce qui ne facilite pas la lecture (4). Le pigment malarien est bien visible et contraste avec la fluorescence de la chromatine nucléaire. Il en est de même pour *P. malariae*

(schizontes et trophozoïtes) où la présence du pigment malarien permet d'établir le diagnostic d'espèce (3 infections dont deux mixtes).

Une microfiliaire *Mansonella perstans* a été retrouvée dans un tube QBC, la goutte épaisse était négative. Les microfilaires peuvent être détectées par le QBC jusqu'à une densité de 50 par/ml (3).

Le principal avantage de la méthode QBC par rapport à la GE est très certainement la rapidité des manipulations et de la lecture (2, 4, 5, 6). Vu que l'on examine 60 µl de sang on peut s'attendre à une meilleure sensibilité par rapport à la GE (1, 2 µl examiné pour 500 champs). Mais l'augmentation de la sensibilité n'est pas proportionnelle à la quantité de sang examinée. De plus en zone d'endémie, l'amélioration de la sensibilité n'est pas requise, puisque de nombreux sujets sont porteurs de parasites sans être malades. Dans cette situation, la lecture de 50 champs microscopiques de la GE est largement suffisante pour faire le diagnostic. La situation est différente pour les personnes non-immunes chez qui des densités parasitaires faibles doivent être décelées.

La lecture d'un test QBC exige une bonne connaissance des images de microscopie classique et un apprentissage d'au moins deux jours. Il importe que les parasites soient formellement reconnus, car d'autres éléments peuvent également être fluorescents comme les corps de Jolly et les bactéries. Dans la présente série, des coques ont été vus à deux reprises. La quantification est plus approximative que dans la GE (4, 5), mais dans bien des cas suffisante. Après 5 à 7 jours de conservation des tubes QBC, les parasites perdent leur fluorescence et la vérification des résultats n'est donc plus possible.

Le prix d'un test n'est pas négligeable (1 à 2 US\$) mais vu la rapidité de l'analyse, ce prix est justifié là où le coût en personnel est élevé.

En conclusion, l'utilisation du test QBC pour le diagnostic du paludisme est pleinement justifiée dans les centres traitant les cas de paludisme importé (4). En zone endémique le test QBC se justifie dans des centres de référence, particulièrement pour les cas de diagnostic d'urgence et les gardes à l'hôpital, ou dans les tests de résistance médicamenteuse *in vivo*. Son utilité dans des enquêtes épidémiologiques reste à démontrer.

Remerciements. — Les auteurs remercient Becton Dickinson International pour l'équipement mis à leur disposition.

REFERENCES

1. Jenick M, Cléroux R: Epidémiologie - Principes, techniques, applications. Paris, Edisem, Maloigne, 1984, p. 36.
2. Levine RA, Wardlaw SC, Patton CL : Detection of haematoparasites using quantitative buffy coat analysis tubes. Parasitol. Today, 1989, 5, 132-134.
3. Long GW, Rickman LS, Cross JH : Rapid diagnosis of *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti* filariasis by an acridine orange/microhematocrit tube technique. J.Parasitol., 1990, 76, 278-281.
4. Moody AH, Hunt-Cooke A, Chiodini PL: Experience with the Becton Dickinson QBC II® centrifugal haematology analyser for haemoparasites. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, 84, 782.
5. Parzy D, Raphenon G, Martet G, Nicolas P, Touze JE, Baudon D, Lecamus JL : Quantitative Buffy Coat test (QBC) Test MonoFluo kit *falciparum*. Intérêt comparé dans le diagnostic rapide du paludisme. Méd. Trop., 1990, 50, 99-102.
6. Spielman A, Perrone J, Teklehaimanot A, Balcha F, Wardlaw S, Levine R : Malaria diagnosis by direct observation of centrifuged samples of blood. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1988, 39, 337-342.