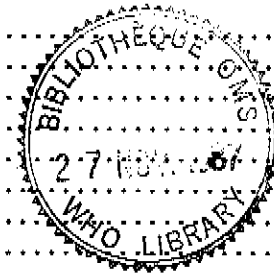




TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC DES PARASITOSEs INTEsTINALES
APPLICABLES PAR LES SERVICES DE SOINS DE SANTE PRIMAIRES (USP)¹

Table des matièrès

	<u>Pages</u>
1. INTRODUCTION	2
2. DIAGNOSTIC DES PRINCIPALES PARASITOSEs INTEsTINALES AUX DIFFERENTS NIVEAUX DU SYSTEME DES SOINS DE SANTE PRIMAIRES	2
3. TECHNIQUES SIMPLES DE DIAGNOSTIC	3
3.1 Etalement mince direct	4
3.2 Etalement épais sous cellophane	4
3.3 Techniques applicables aux larves d'helminthes	4
3.4 Technique simple de sédimentation	5
3.5 Techniques de concentration	5
3.6 Coloration permanente au trichrome	5
3.7 Autres techniques simples	5
3.8 Conservation des échantillons	6
4. TECHNIQUES DE LABORATOIRE POUR UNE ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE	6
4.1 Généralités	6
4.2 Technique de l'étalement direct et technique de Kato-Katz	6
4.3 Valeur des examens quantitatifs	7
4.4 Préparation d'un examen de laboratoire	8
5. RECOMMANDATIONS CONCERNANT LA POURSUITE DE LA RECHERCHE ET LES ACTIVITES FUTURES	9
6. BIBLIOGRAPHIE	9
 <u>ANNEXES :</u>	
1. Diagnostic des parasitoses intestinales aux différents niveaux des SSP	11
2. Technique d'examen de l'étalement fécal épais sous cellophane	12



¹ Le présent document fait partie d'une série (PDP/85.1 à 85.5) établie par le Programme OMS des maladies parasitaires qui vise à fournir des informations à jour sur les aspects techniques de la lutte contre les parasitoses intestinales. Ces documents seront révisés à la lumière des progrès techniques et de l'expérience acquise par les programmes de lutte nationaux. Les observations et demandes de renseignements doivent être adressées au Directeur du Programme des Maladies parasitaires, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27 (Suisse).

This document is not issued to the general public, and all rights are reserved by the World Health Organization (WHO). The document may not be reviewed, abstracted, quoted, reproduced or translated, in part or in whole, without the prior written permission of WHO. No part of this document may be stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means - electronic, mechanical or other without the prior written permission of WHO.

The views expressed in documents by named authors are solely the responsibility of those authors.

Ce document n'est pas destiné à être distribué au grand public et tous les droits y afférents sont réservés par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). Il ne peut être commenté, résumé, cité, reproduit ou traduit, partiellement ou en totalité, sans une autorisation préalable écrite de l'OMS. Aucune partie ne doit être chargée dans un système de recherche documentaire ou diffusée sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit - électronique, mécanique, ou autre - sans une autorisation préalable écrite de l'OMS.

Les opinions exprimées dans les documents par des auteurs cités nommément n'engagent que lesdits auteurs.

1. INTRODUCTION

La mise au point de techniques simples de diagnostic et leur mise à la disposition des personnels participant au système de prestation des soins de santé primaires constitue une des principales activités du Programme des maladies parasitaires et une contribution essentielle à la réalisation de l'objectif de la santé pour tous d'ici l'an 2000. La présente note passe brièvement en revue les techniques simples dont on dispose pour le diagnostic microscopique des parasitoses intestinales humaines, afin d'aider les responsables des soins de santé primaires à choisir les épreuves et les méthodes les plus appropriées en fonction des circonstances.

La plupart de ces techniques datent du début du siècle (étalement direct, flottation sur saumure, concentration acide-éther). Quelques nouvelles méthodes ont été mises au point dans les années 50 pour faciliter la réalisation des programmes nationaux de lutte (coloration au trichrome, étalement épais sous cellophane, coproculture des larves d'helminthes). Plusieurs améliorations pratiques ont été apportées à ces techniques, mais de façon générale on peut dire qu'il n'y a eu aucune invention originale au cours des dernières décennies.

Le fait que la plupart des parasitoses intestinales ne puissent être diagnostiquées que par examen microscopique des selles limite considérablement l'apparition de nouvelles techniques et leur application dans le cadre des soins de santé primaires. D'autre part, les techniques indirectes de diagnostic (immunologiques ou biochimiques) sont coûteuses et exigent des moyens analytiques perfectionnés (c'est le cas par exemple de la recherche de l'antigène d'E. histolytica dans les selles).

La mise au point de techniques simples de diagnostic est soumise à d'autres contraintes : 1) il est impossible d'appliquer une méthode unique pour reconnaître des entités biologiques aussi diverses que les trophozoïtes et les kystes de protozoaires, ou les oeufs et les larves d'helminthes; on doit utiliser pour cela des critères morphologiques totalement différents (par exemple la structure des noyaux d'Entamoeba, la taille, la forme et le contenu des oeufs d'helminthes, etc.) et l'identification des protozoaires fait généralement appel à des méthodes complexes de fixation et de coloration; 2) une technique d'application quasi universelle pour le diagnostic des infections communes peut être inadaptée au diagnostic d'infections rares (par exemple la strongyloïdose ou l'opisthorchiase); 3) l'examen de différents parasites (Enterobius, T. saginata, etc.) à différents stades de leur cycle biologique doit se faire sur des matériaux différents (proglottis, prélèvement anal sur écouvillon, etc.).

Quelques règles générales relatives au diagnostic des parasitoses intestinales méritent d'être mentionnées. Dans un laboratoire médical, les selles sont les matériaux les plus désagréables à examiner et les manipulations doivent donc être réduites au minimum; il faut aussi tenir compte des risques d'exposition aux bactéries et aux virus à transmission fécale. De plus, les selles sont extrêmement hétérogènes, un réexamen est fréquemment nécessaire et les analyses quantitatives les plus délicates ne sont pas toujours reproductibles. On utilise fréquemment une classification clinique semi-quantitative des infections qui comporte trois catégories d'intensité croissante généralement qualifiées respectivement de légère, modérée et forte. Le temps passé à la préparation des échantillons et le temps nécessaire à leur examen sont inversement proportionnels (ainsi, un étalement direct est facile à préparer mais difficile à examiner; la méthode de flottation au sulfate de zinc est complexe mais les lames sont faciles à examiner). Etant donné que la précision des examens coproscopiques dépend en grande partie de la qualification du personnel et du respect scrupuleux du mode opératoire, une formation poussée, des services de référence adéquats et un contrôle de qualité périodique sont indispensables pour maintenir au niveau voulu la qualité du diagnostic effectué dans les laboratoires périphériques.

2. DIAGNOSTIC DES PRINCIPALES PARASIToses INTESTINALES AUX DIFFERENTS NIVEAUX DU SYSTEME DE SOINS DE SANTE PRIMAIRES

Certaines parasitoses intestinales peuvent être diagnostiquées macroscopiquement par les agents de santé communautaires ou par des personnes qui ont un minimum de connaissances en

matière de santé. Le parasite plus facile à reconnaître est Ascaris, qui est éliminé dans les selles ou par la bouche; toute élimination d'Ascaris doit être suivie d'un traitement car d'autres vers de la même espèce peuvent être présents, notamment des préadultes et des mâles qui ne peuvent être reconnus à l'examen coproscopique. Le diagnostic macroscopique de la téniasse à T. saginata et de l'entérobiase est aussi relativement facile.

La présence de signes et symptômes caractéristiques peut faire soupçonner certaines parasitoses intestinales. Par exemple, à l'examen des selles, une personne expérimentée peut soupçonner une amibiase (selles dysentériques; sang et bandes de mucus à la surface des selles chez les individus atteints de diarrhée permanente) ou une giardiasse (selles molles, gris-jaunâtre, mousseuses et malodorantes). Dans les régions où l'amibiase symptomatique est fréquente, on peut avoir recours à une épreuve chimiothérapeutique (avec une nitro-imidazole) dans les cas suspects; s'il est impossible de pratiquer un examen microscopique individuel des selles, il est maintenant plus facile de traiter un cas suspect d'amibiase que d'en faire le diagnostic au niveau des soins de santé primaires.

Une forte infestation ankylostomienne se manifeste généralement par de l'anémie qui peut être reconnue par un agent de santé. Dans les régions où les cas d'infestation intense (notamment par Ancylostoma duodenale) sont fréquents, et où il n'est pas possible de procéder à un examen microscopique individuel, il est justifié d'instaurer à l'échelon du système de soins de santé primaires un traitement standard à l'aide d'anthelminthiques et de préparations contenant du fer. Ce traitement sera appliqué aux individus anémiés chez lesquels d'autres causes d'anémie (paludisme, hémorragie, etc.) ne sont pas évidentes.

En d'autres mots, dans les régions où l'amibiase et l'ankylostomiase sont endémiques, une enquête épidémiologique peut jusqu'à un certain point remplacer le diagnostic microscopique chez les individus, si celui-ci n'est pas possible.

L'équipe chargée d'une enquête épidémiologique doit avoir reçu une formation de base en épidémiologie et connaître les techniques de diagnostic parasitologique en laboratoire. Dans l'organigramme du système de soins de santé primaires, l'équipe se situera un peu au-dessus du premier échelon d'orientation-recours (hôpital local); elle pourra être basée dans un établissement de santé publique régional ou même dans un centre d'enseignement universitaire ou professionnel (école d'infirmières ou d'agents de santé, etc.). Une enquête épidémiologique a pour but a) de recueillir des données (à partir des examens pratiqués dans la communauté et auprès des dispensaires et des hôpitaux ruraux); b) d'analyser ces données (compte tenu de la prévalence et de la distribution des infections ainsi que de leur impact sur la santé publique); c) d'élaborer un système de réponse (organisation d'un traitement à base communautaire qui peut être un traitement de masse, sélectif ou ciblé; justification de la mise en oeuvre de "tests chimiothérapeutiques"; incitation à améliorer les conditions sanitaires; dispositions visant à interrompre la transmission par l'eau ou la nourriture contaminée, etc.).

Les laboratoires parasitologiques spécialisés des organismes de santé publique ou des établissements universitaires maintiendront de bonnes relations de travail avec les laboratoires médicaux généraux de la région, à l'égard desquels ils serviront de centres de référence, de contrôle de qualité et de formation.

Il est probable que seuls les hôpitaux de district et certains hôpitaux périphériques pourront effectuer en routine le diagnostic microscopique de toutes les parasitoses intestinales. Certains hôpitaux et centres de santé périphériques pourront utiliser des techniques simples de parasitologie pour diagnostiquer la plupart des infections communes à condition qu'ils disposent d'un microscope et des services d'un assistant de laboratoire formé à ces techniques (OMS, 1979) (annexe 1).

3. TECHNIQUES SIMPLES DE DIAGNOSTIC

Des techniques de base simples ont été choisies en tenant compte des possibilités d'utilisation pratique par les services de soins de santé primaires, mais ce critère ne doit pas empêcher de les adapter ou de les modifier en fonction des conditions locales si ces changements

sont justifiés. Les techniques proposées sont décrites en détail dans les manuels OMS et CDC (OMS, 1982; Melvin & Brooke, 1982).

3.1 Étalement mince direct

Un étalement mince direct est simple à préparer et n'exige qu'un équipement minimal. Il convient à l'identification des trophozoïtes hématophages d'E. histolytica, des kystes d'amibes et de Giardia et des oeufs et larves d'helminthes (si le nombre d'oeufs ou de larves est supérieur à 1000 par gramme de selles). L'examen d'un étalement direct n'est pas facile et l'identification de la plupart des trophozoïtes et kystes de protozoaires, ainsi que celle de certains oeufs et larves d'helminthes, exige une bonne connaissance des critères de diagnostic morphologique et une habileté qui ne peut être acquise que par l'expérience.

On préparera deux étalements : l'un dans la solution physiologique et l'autre avec un colorant temporaire. Le premier, préparé avec des matières fécales fraîches et/ou du mucus convient particulièrement à la recherche des trophozoïtes hématophages d'E. histolytica. Il est aussi utile pour rechercher la présence de kystes de Giardia lamblia (sous fort grossissement, par exemple 400 x) et de certains oeufs d'helminthes, par exemple les oeufs d'Ascaris, de Trichuris, d'ankylostomes et, à condition qu'ils soient nombreux, des oeufs de la douve du foie.

Il existe de nombreuses méthodes pour colorer temporairement les étalements directs. La solution d'iode (Dobell & O'Connor, 1921) révèle la présence de glycogène et sert à déterminer la structure de base et le nombre des noyaux dans les kystes amibiens, mais elle a tendance à déformer les trophozoïtes. La solution tamponnée de bleu de méthylène (Nair, 1953) colore bien les noyaux de trophozoïtes d'E. histolytica. La solution de MIF (merthiolate-iode-formaldéhyde) (Sapero & Lawless, 1953) convient pour les trophozoïtes et les kystes de protozoaires. Le noir de chlorazol E (Kohn, 1960) colore la chromatine des trophozoïtes et des kystes de protozoaires presque aussi bien que l'hématoxyline.

Il est recommandé de luter les montages humides avec un mélange de paraffine et de vaseline (1:1) pour éviter la dessiccation et permettre un réexamen après quelques heures.

3.2 Étalement épais sous cellophane

La méthode originale de KATO pour la préparation des étalements épais sous cellophane (Kato & Miura, 1954) est une technique simple et peu coûteuse. La variante quantitative de KATO-KATZ (Katz et al., 1972) demande quelques précautions pour être exécutée correctement, mais les étalements sont plus faciles à examiner ou à réexaminer après quelques jours ou même quelques mois. La préparation des étalements épais sous cellophane n'exige qu'un équipement très simple que l'on peut se procurer soit sous forme de trousse, soit en vrac (annexe 2). Ces étalements sont utiles pour le diagnostic des infections causées par Ascaris, Trichuris, les ankylostomes (s'ils sont examinés dans les quelques heures qui suivent), Taenia et la douve du foie. Des techniciens habiles peuvent même identifier les kystes de Giardia, ainsi que les ookystes et les sporokystes de Sarcocystis ou Isospora. C'est une des meilleures techniques pour la numération des oeufs, qui est importante aussi bien pour les études épidémiologiques que pour le traitement des individus (distinction entre les infestations légères, modérées et fortes dues aux ankylostomes et à Trichuris).

3.3 Techniques d'isolement des larves d'helminthes

Pour isoler les larves d'helminthes dans les selles, le meilleur moyen consiste à faire une coproculture ou à utiliser un appareil de Baermann.

Pour les coprocultures, on peut se servir de boîtes de Pétri (Brumpt, 1949), de tubes à essai (Harada & Mori, 1955), de tubes de polyéthylène (Sasa et al., 1965), ou de boîtes de matière plastique (Dancescu, 1968). La préparation d'une coproculture est simple et peu coûteuse, mais les cultures doivent être conservées de sept à dix jours pour laisser aux larves filariformes d'ankylostomes le temps de se développer (pour les larves de Strongyloides, il suffit de quelques jours). Cette technique permet de différencier les larves filariformes de Strongyloides, Ancylostoma, Necator et Trichostrongylus (OMS, Série de Rapports techniques, N° 666).

Pour appliquer la technique de Baermann (1917), on n'a pas nécessairement besoin d'un tamis, d'un entonnoir ou d'un tube de caoutchouc fermé par une pince. La recherche des larves de Strongyloides dans les selles peut se faire simplement en immergeant l'échantillon sur un tamis dans un verre ordinaire rempli de solution physiologique tiède (modification de Lumbreras, 1962). Au bout de 30 minutes, les larves de Strongyloides peuvent être recueillies au fond du verre et examinées sous faible grossissement (100 x). Cette technique est également utile pour rechercher les trophozoïtes de Balantidium coli.

3.4 Technique simple de sédimentation

La technique de sédimentation est peu coûteuse et facile à mettre en oeuvre, mais elle prend du temps (la décantation des matières fécales mélangées à l'eau doit être répétée de trois à sept fois, toutes les 10 à 20 min). L'examen du dépôt, après élimination de la plus grande partie des débris, est également facile. La technique convient bien à la recherche de tous les oeufs d'helminthes (notamment les plus lourds, comme les oeufs non fécondés d'Ascaris et de Fasciola) et des larves d'helminthes, ainsi que de certains kystes de protozoaires (Giardia, Entamoeba). On peut facilement conserver le dépôt avec un mélange de solution physiologique et de formol ou une solution de MIF, le transporter et le réexaminer après quelques mois.

3.5 Techniques de concentration

Parmi les diverses techniques de concentration, la flottation au sulfate de zinc (Faust et al., 1938) et la sédimentation formol-éther (Ritchie, 1948) ou acide-éther (Telemann, 1908) sont les plus fréquemment utilisées.

Une version modifiée de la flottation au sulfate de zinc comporte une sédimentation dans l'eau et une flottation dans une solution à 33 % de $Zn SO_4$, à l'aide d'une centrifugeuse. Ce procédé laborieux permet d'obtenir un mince film constitué d'oeufs et de larves d'helminthes (à l'exception des oeufs de douve et des oeufs d'Ascaris non fécondés, qui sont plus lourds), ainsi que de kystes de protozoaires. Lorsqu'on ne dispose pas d'une centrifugeuse, on peut pratiquer la flottation dans une saumure saturée (Willis, 1921), mais cette méthode ne convient que pour les oeufs d'helminthes légers (oeufs d'Ascaris fécondés, Trichuris, ankylostomes, Hymenolepis et Taenia).

Les techniques de concentration acide-éther et formol-éther facilitent la dissolution des particules de matières grasses et albumineuses présentes dans les selles, ce qui permet d'obtenir un dépôt concentré et relativement limpide. Les deux techniques sont laborieuses et exigent une centrifugation. L'acide ou le formol peuvent être remplacés par une solution de MIF (Blagg et al., 1955). Ces techniques sont très utiles pour examiner des échantillons conservés dans le MIF ou le formol.

3.6 Coloration permanente au trichrome

Les techniques de coloration à l'hématoxyline ferrique sont celles qui conviennent le mieux à l'identification des protozoaires intestinaux, mais comme elles demandent beaucoup d'habileté pour la préparation et l'examen des échantillons, elles sont généralement réservées aux laboratoires spécialisés en protozoologie. La coloration des amibes et des kystes par la méthode standard au trichrome (Wheatley, 1951) ne présente pas de difficultés. Un technicien peut examiner les préparations relativement facilement et il n'est pas nécessaire d'avoir recours à un parasitologue. Cette méthode convient bien aux échantillons conservés avec le PVA.

3.7 Autres techniques simples

Un moyen simple pour rechercher les oeufs d'Enterobius ou de T. saginata consiste à faire un prélèvement anal avec un morceau de ruban adhésif (Melvin & Brooke, 1982).

La recherche des vers adultes d'Enterobius, de Trichuris et d'ankylostomes, ou des scolex et proglottis de Taenia, ainsi que des douves intestinales à la suite d'un traitement, peut être facilitée par une simple coloration ou par la sédimentation répétée des matières fécales mélangées avec de l'eau.

3.8 Conservation des échantillons

Lorsqu'un examen parasitologique doit être exécuté par un laboratoire de référence spécialisé, les échantillons (selles, culots de sédimentation, dépôts résultant de la concentration, proglottis de cestodes) doivent être conservés en vue du transport.

L'alcool polyvinylique (PVA) est le meilleur fixateur pour les échantillons de matières fécales destinés à un examen protozoologique, qu'il s'agisse de petits flacons ou de préparations entre lames et lamelles. Les échantillons ainsi préservés peuvent être facilement colorés à l'hématoxyline ou au trichrome.

Les selles destinées à la recherche des helminthes doivent être conservées dans une solution de formol à 10 % (certains conseillent une solution à 5 % si l'on doit également rechercher des kystes de protozoaires). La solution de MIF, qui contient environ 5 % de formol, peut servir à fixer à la fois les oeufs d'helminthes et les kystes de protozoaires. La technique de concentration au formol-éther peut s'appliquer aux échantillons conservés soit dans le formol, soit dans le MIF.

Les matières fécales et le liquide fixateur doivent être mélangés dans la proportion de 1:3.

Les helminthes adultes doivent être fixés avec une solution de formol à 5 %; pour les proglottis de cestodes ou les nématodes (lorsqu'on prévoit de les conserver plus longtemps), il est préférable d'utiliser un mélange d'alcool à 70 % et de glycérine (10:1).

4. TECHNIQUES DE LABORATOIRE POUR UNE ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE

4.1 Généralités

Les examens de laboratoire peuvent avoir trois principaux objectifs : a) la recherche, b) une enquête épidémiologique et c) le diagnostic clinique (qui n'entre pas dans le cadre du présent document).

En ce qui concerne la recherche de terrain, le matériel et les méthodes d'examen devront être choisis soigneusement, en fonction des objectifs de l'étude. Il est également essentiel de bien choisir la population à examiner (voir le document PDP/85.4). Si la recherche doit porter sur toutes les parasitoses intestinales, il faudra avoir recours à tout un ensemble de méthodes (par exemple, étalement direct, technique de Kato-Katz, concentration par sédimentation et/ou flottation, coloration au trichrome, coproculture de larves de nématodes). Par contre, si l'étude est limitée à une infection donnée, par exemple l'ascaridiase, on choisira une méthode unique très spécifique, sensible et pratique, comme la technique de Kato-Katz. Les examens devront être effectués par un personnel qualifié, sous la surveillance directe d'un parasitologue, et avec la plus grande précision possible; par exemple, dans la technique de Kato-Katz, on comptera tous les oeufs d'Ascaris. En général, la recherche prend beaucoup de temps et coûte cher.

Dans une enquête épidémiologique qui porte généralement sur des populations plus importantes, il faut trouver un compromis entre le degré de précision désiré et l'objectif pratique recherché. Les techniques employées doivent être simples, peu coûteuses, mais adaptées au but de l'étude. Par exemple, pour une enquête sur l'ankylostomiase, on peut très bien utiliser la technique de Kato-Katz complétée par une coproculture sur 10 % des échantillons positifs. L'application combinée de la technique de l'étalement mince direct et de la technique de Kato-Katz est particulièrement utile dans une enquête générale sur les parasitoses intestinales.

4.2 Technique de l'étalement direct et technique de Kato-Katz : avantages et limites

Avantages. La technique de l'étalement mince direct et celle de Kato-Katz sont à la fois simples et peu coûteuses. Appliquées conjointement, elles permettent de détecter les principales infections à protozoaires et à helminthes et elles sont utiles pour estimer la charge parasitaire (Ascaris, ankylostomes, Trichuris) et pour évaluer l'efficacité des mesures de

lutte. De plus, la technique de Kato-Katz donne des résultats comparables entre les différents membres d'une équipe de laboratoire, entre différentes équipes et entre différentes régions d'endémie; elle facilite aussi le contrôle de la qualité et permet le réexamen des lames après une plus longue période sans nécessiter de fixation supplémentaire.

Limites. L'étalement mince direct peut n'être d'aucune utilité pour l'identification des trophozoïtes de protozoaires si l'échantillon de selles n'est pas frais, ce qui est le cas dans beaucoup d'enquêtes épidémiologiques (c'est la raison pour laquelle on peut omettre l'examen d'un étalement mince dans la solution physiologique si l'échantillon de selles a été conservé pendant plus de 30 minutes sans avoir été fixé).

Dans la technique de Kato-Katz, les oeufs délicats d'ankylostomes et d'Hymenolepis disparaissent rapidement (15-120 min) au cours du processus de clarification. Il est suggéré de vérifier le moment où les oeufs d'ankylostomes ou d'Hymenolepis deviennent invisibles ou impossibles à identifier (en examinant toutes les 15 minutes les premiers étalements positifs conservés dans les conditions particulières locales) et d'examiner tous les autres étalements bien avant le moment critique. Lorsque l'infestation est massive, on peut observer des oeufs d'ankylostomes et d'Hymenolepis lors de l'examen de l'étalement mince.

4.3 Valeur des examens quantitatifs

Dans une enquête épidémiologique portant sur certaines helminthiases, il est utile de procéder à un examen quantitatif pour déterminer l'intensité de l'infestation et la morbidité correspondante et pour évaluer l'efficacité des mesures de lutte.

La méthode la plus objective pour mesurer l'intensité des infestations à nématodes consiste à compter le nombre de vers expulsés par le malade après un traitement efficace, mais cela ne se pratique généralement qu'à des fins de recherche.

L'examen d'un étalement direct préparé à partir d'environ 2 mg de selles ne peut guère donner de résultats quantitatifs valables : chaque oeuf en plus ou en moins dans l'étalement correspond à une différence de 500 oeufs par gramme. Toutefois, cette technique permet de distinguer facilement les infestations légères des infestations massives. La technique de Kato-Katz, dans laquelle on utilise 41,7 mg de selles est théoriquement 21 fois plus précise. Plusieurs facteurs relatifs à l'hôte ou au parasite peuvent avoir une incidence sur le nombre réel d'oeufs par gramme. Toutefois, le but pratique d'une enquête n'est pas de compter les oeufs avec précision, mais de classer les infestations par catégorie d'intensité, par exemple : intensité légère, modérée ou forte.

Une forte infestation peut être accompagnée de morbidité dans les formes suivantes d'helminthiases :

- ascariadiase (dégradation de l'état nutritionnel, fréquence des occlusions intestinales, mais sans autres complications chirurgicales);
- ankylostomiase (anémie ankylostomienne);
- trichocéphalose (trichocéphalose intense chez l'enfant);
- hyménolépiase (infection symptomatique).

La charge parasitaire qui risque le plus d'entraîner une morbidité dépend beaucoup de l'âge, du sexe, de l'état nutritionnel et des infections concomitantes. Pour les ankylostomiascs, le nombre critique de vers, au-delà duquel apparaît une anémie, varie dans de larges limites d'une région à l'autre et doit être estimé localement.

A l'heure actuelle, les limites entre une infestation légère et une infestation modérée, de même qu'entre une infestation modérée et une infestation forte ne peuvent être qu'arbitraires et doivent être établies en consultation avec les cliniciens locaux.

Dans le cas de l'ascariadiase, l'infestation est qualifiée de légère si des oeufs non fécondés sont présents; dans certains programmes de lutte, on a utilisé le rapport U entre le

nombre de lames portant des oeufs non fécondés et le nombre total de lames positives pour évaluer l'intensité de l'infestation. Tant que l'on n'aura pas procédé à des études plus quantitatives sur les occlusions intestinales et la dégradation de l'état nutritionnel provoquées par Ascaris, la distinction entre les infestations modérées et les infestations fortes restera arbitraire.

4.4 Préparation d'un examen de laboratoire

Pour préparer un examen de laboratoire simple dans le cadre d'une enquête, il faut d'abord répondre aux questions suivantes :

i) Qu'attend-on de l'examen de laboratoire ?

- Objectifs (voir PDP/85.1).

ii) Comment procéder ?

- Matériel (voir PDP/85.4);
- Méthode (voir ci-dessus);
- Coopération avec d'autres programmes (voir PDP/85.1 et 85.3).

iii) Qui peut s'en charger ?

- Cadres locaux disponibles (y compris un centre de référence);
- Nécessité d'un système local de formation et de contrôle de qualité;
- Obligation de faire appel à un consultant à la fois pour l'enquête et pour la formation.

iv) Quels sont les besoins en matière d'équipement et de fournitures ?

- Microscopes;
- Nécessaires divers, produits chimiques, verrerie (voir annexe 2);
- Moyens de transport;
- Médicaments contre les parasitoses intestinales diagnostiquées.

v) Quel sera le coût de l'opération ?

- Coût financier direct;
- Main d'oeuvre;
- Assistance extérieure éventuelle (voir PDP/85.1 et 85.3).

vi) Comment organiser le programme d'examens ?

- Préparation des moyens de laboratoire;
- Collecte des échantillons de selles;
- Conservation des échantillons, si nécessaire;
- Examens de laboratoire;
- Compte rendu des résultats;
- Nettoyage du laboratoire et du matériel.

vii) Comment exploiter les résultats ?

- Assurer le traitement des personnes qui en ont besoin;

- Décider des activités à entreprendre au niveau communautaire (amélioration de l'assainissement, éducation sanitaire, chimiothérapie axée sur la communauté);
- Décider des activités à entreprendre au niveau de la région/du district (interventions anti-épidémiques, mesures générales de lutte);
- Exploiter les résultats pour appuyer d'autres grands programmes de santé (voir PDP/85.1 et 85.3);
- Publier les résultats.

5. RECOMMANDATIONS CONCERNANT LA POURSUITE DE LA RECHERCHE ET LES ACTIVITES FUTURES

i) Il est indispensable de poursuivre la mise au point de techniques simples, peu coûteuses et plus efficaces pour le diagnostic des parasitoses intestinales (coloration des amibes, recherche des antigènes dans les selles, etc.).

ii) L'application efficace des techniques existantes par les services de soins de santé primaires suppose l'existence d'un réseau de laboratoires (ou d'instituts) de référence en parasitologie participant activement à la surveillance, à la formation, à la fourniture de services de référence et au contrôle de la qualité.

iii) Bien que la plupart des activités liées à la lutte contre les parasitoses intestinales puissent s'exercer dans le cadre du système de soins de santé primaires, des programmes de lutte à structure verticale conserveront peut-être leur utilité dans les situations d'épidémies ou dans les régions à forte endémicité.

6. BIBLIOGRAPHIE

- Baermann, G. (1917) Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomun (Nematoden) Larven in Erdproben. Mededeel. Geneesk. Lab. Weltevreden, Feestbundel, Batavia, pp. 41-47
- Blagg, W., Schloegel, E. L., Mansour, N. S. & Khalaf, G. I. (1955) A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 4, 23-28
- Brumpt, E. Précis de Parasitologie (1949), Paris, Masson et Cie, Ed., Vol. 1, pp. 882-916
- Dancescu, P. (1968) Investigations on the intensity of the infection in a strongyloidiasis focus : the coal culture method. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 62, 4, 490-495
- Dobell, C. & O'Connor, F. W. (1921) Intestinal protozoa of man. William Wood, New York
- Faust, E. C., D'Antoni, J. S., Odom, V., Miller, M. J., Peres, C., Wawitz, W., Thomen, L. F., Tobie, J. E. & Walker, J. H. (1938) A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 18, 169-183
- Harada, Y. & Mori, O. (1955) A new method for culturing hookworm. Yonago acta medica, 1, 177-179
- Kato, K. & Miura, M. (1954). Comparative examinations. Japanese Journal of Parasitology. (en japonais), 3, 25
- Katz, N., Chaves, A. & Pellegrino, J. (1972) A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 14, 397-400
- Kohn, J. (1960) A one stage permanent staining method for fecal protozoa. Dapim Refuim Med. Quart. Israel, 19 (2/3), 160-161

- Lumbreras, H. (1963) Strongyloidosis : I. Evaluacion de la "Tecnica de Baermann modificada en copa" en el estudio de la strongyloidosis. Revista Medica Peruana, Vol. 32, 334, 119-133
- Melvin, D. M. & Brooke, M. M. (1982) Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites. US HHS Publication (CDC) N° 82.8282
- Nair, C. P. (1953) Rapid staining of intestinal amoebae on wet mounts. Nature, 172, 1051
- Ritchie, L. S. (1948) An ether sedimentation technique for routine stool examinations. Bulletin of the US Army Medical Department, 8, 326
- Sapero, J. J. & Lawless, D. K. (1953) The "MIF" stain-preservation technique for the identification of intestinal protozoa. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2, 613-619
- Sasa, M., Mitsui, G., Harinasuta, C. & Vajrasthira, S. (1965) A polyethylene-tube culture method for diagnosis of parasitic infections by hookworms and related nematodes. Japanese Journal of Experimental Medicine, 35, 4, 277-289
- Telemann, W. (1908) Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces. Dtsch. Med. Wochenschr., 34, 1510-1511
- Wheatley, W. B. (1951) A rapid staining procedure for intestinal amoebae and flagellates. American Journal of Clinical Pathology, 21, 990-991
- Willis, H. H. (1921) A simple levitation method for the detection of hookworm ova. Medical Journal Australia, 8, 375-376
- Organisation mondiale de la Santé (1979) Laboratory services at Primary Health Care Level. Document informel (LAB/79.1)
- Organisation mondiale de la Santé (1982) Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical
- Organisation mondiale de la Santé (1982) Infections intestinales à protozoaires et à helminthes. Rapport d'un Groupe scientifique de l'OMS, Genève. Série de Rapports techniques, 666, Genève
- Organisation mondiale de la Santé (1985) Stratégie générale de lutte contre les parasitoses intestinales dans le cadre des soins de santé primaires (PDP/85.1)
- Organisation mondiale de la Santé (1985) Planification, mise en oeuvre, surveillance continue et évaluation des programmes de lutte contre les parasitoses intestinales (PDP/85.3)
- Organisation mondiale de la Santé (1985) Méthodes de surveillance et d'enquête concernant les parasitoses intestinales (PDP/85.4)

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC POSSIBLES AUX DIFFERENTS ECHELONS DES SSP

DIAGNOSTIC OU ACTIVITES LIEES AU DIAGNOSTIC

<p>NIVEAU (ET PERSONNES RESPONSABLES)</p>	<p>DOMICILE (mère/père, enfants plus âgés, parents) COMMUNAUTAIRE (agent de santé communautaire)</p>	<p>Reconnaissance des vers et des signes visibles Examen microscopique simple pour la recherche des parasitoses intestinales</p>	<p>Diagnostic macroscopique de l'ascaridiase Comme ci-dessus plus - diagnostic macroscopique d'entérobiose et de téniaise, observation de certains signes d'ami- biase, de giardiase et d'ankylostomiase. Comme ci-dessus plus - étalement épais (technique simple de Kato) et autres techniques microscopiques simples (étalement direct, coproculture de Harada-Mori, méthode de Baermann modifiée) pour les kystes de Giardia et les trophozoïtes hématophages d'E. histolytica ainsi que pour les principales infections helminthiques comme l'ascaridiase, la trichocéphalose, l'ankylostomiase et la strongyloïdose. Conservation des échantillons de selles en vue de leur examen ultérieur dans un laboratoire de parasitologie.</p>
<p>NIVEAU LOCAL - centre de santé, dispensaire (assistant médical, infirmière, assistant de laboratoire)</p>	<p>PREMIER NIVEAU D'ORIENTATION-RECOURS - hôpital rural ou de district (médecin, technicien de laboratoire)</p>	<p>Examen microscopique de base pour la recherche des parasitoses intestinales</p>	<p>Comme ci-dessus, plus - techniques microscopiques plus complexes (sédimentation simple, sédimentation au sulfate de zinc et/ou au formol-éther, coloration au trichrome) pour les principales infections intestinales à protozoaires et à helminthes.</p>
<p>- bureau de santé de district (médecin spécialiste de la santé publique, technicien de laboratoire)</p>	<p>Enquête parasitologique dans les communautés</p>	<p>Techniques simples de diagnostic au niveau communautaire.</p>	<p>Enquête communautaire sur les parasitoses intestinales (prévalence, intensité des infections, distribution par âge, importance pour la santé publique). Formation en parasitologie.</p>
<p>INSTITUTIONS REGIONALES DE SANTE PUBLIQUE (épidémiologiste, parasitologue, enseignants des écoles professionnelles de santé publique, infirmières, etc.)</p>	<p>Comme ci-dessus</p>	<p>Laboratoire complet de parasitologie et services épidémiologiques</p>	<p>Surveillance au niveau national. Transfert des techniques et des stratégies modernes de diagnostic aux SSP. Services de référence et de contrôle de la qualité pour les laboratoires périphériques. Formation en parasitologie.</p>
<p>CENTRE(S) NATIONAL(AUX) DE REFERENCE EN PARASITOLOGIE DANS UNE FACULTE DE MEDECINE OU UN INSTITUT DE SANTE PUBLIQUE</p>			

TECHNIQUE D'EXAMEN DES ÉTALEMENTS FÉCAUX ÉPAIS SOUS CELLOPHANE (KATO) POUR
LE DIAGNOSTIC DE LA SCHISTOSOMIASE INTESTINALE ET DES
INFECTIONS GASTRO-INTESTINALES À HELMINTHES

Photographie 1

Il existe différents types de matériels. On voit ici la spatule et le gabarit de plastique ainsi que l'écran de nylon qui font partie d'une trousse de Kato-Katz que l'on trouve dans le commerce. Les deux premiers articles et les lames de microscope peuvent être réutilisés. Le tamis de nylon ne sert qu'une fois. On peut commander un certain nombre de trousse à la fois, de façon à disposer de gabarits standards réutilisables.

Photographie 2

Les tamis de nylon et le cellophane peuvent être achetés en vrac. Le cellophane, qui se présente en rouleaux, doit être coupé en sections de 20 à 30 mm qu'on place dans un flacon à large ouverture et à fond plat contenant une solution de glycérine à 50 % (ou plus) colorée avec du vert malachite ou du bleu de méthylène (100 ml d'eau, 100 ml de glycérine, 1 ml de solution aqueuse de vert malachite ou de bleu de méthylène à 3 %).

Photographie 3

Le mode opératoire est le même, quel que soit le matériel utilisé. On fait passer l'échantillon de selles à travers le tamis grâce à la spatule, de façon à séparer les matières fécales des gros débris.

Photographie 4

Les matières tamisées sont déposées dans l'ouverture du gabarit qui est placé à plat, au centre d'une lame à microscope. L'ouverture du gabarit est complètement remplie avec l'échantillon dont la surface est ensuite arasée au niveau des bords du gabarit. Le gabarit présenté ici contient 41,7 mg de selles. On multiplie le nombre d'œufs observés par 24 pour obtenir le nombre d'œufs par gramme de selles.

Photographie 5

Le carré de cellophane, qui doit avoir trempé dans la glycérine pendant au moins 24 heures, est placé sur l'échantillon.

Photographie 6

La lame est retournée sur une plaque de verre ou sur une autre lame et l'échantillon immédiatement étalé de façon régulière sous le cellophane. On voit ici une lame correctement préparée. On peut ajouter une goutte supplémentaire de glycérine sur le cellophane et lisser les bords de celui-ci de façon à assurer la conservation de la lame. Si des bulles d'air se forment sous le cellophane, en cours de conservation, on peut les éliminer en ajoutant une ou deux gouttes de glycérine sur le cellophane et en laissant reposer une nuit. Les étalements épais sous cellophane peuvent être préparés sur le terrain, conservés dans des boîtes à lames pour microscopie et expédiés sur de grandes distances, ce qui permet au besoin de les examiner dans un laboratoire central après plusieurs jours ou même plusieurs semaines.

Photographie 7

Les œufs d'*Ascaris* (à gauche) et de *Trichuris* (à droite) sont toujours visibles. Les œufs d'ankylostomes (non représentés) ne sont visibles que pendant 30 minutes après la préparation.

Photographie 8

Le moment idéal pour observer les œufs de *S. mansoni*, *S. intercalatum* ou *S. japonicum* se situe 24 heures après la préparation. Si les lames sont placées en plein soleil, elles s'éclaircissent rapidement et il n'est pas toujours nécessaire d'attendre 24 heures.

Le principal reproche que la majorité des techniciens font à la technique de l'étalement épais est l'impossibilité de distinguer les oeufs d'helminthes dans certains échantillons de selles dures (patients constipés). Dans un tel cas, procéder comme suit :

1. Préparer les lames par la méthode habituelle, mais attendre 24 ou 48 heures avant de compter les oeufs. La préparation peut s'éclaircir lentement.
2. Préparer deux autres échantillons sur une grande lame pour microscope (2 x 3 pouces); employer un carré de cellophane légèrement plus grand (35 x 35 mm) et appuyer très fort pour aplatir l'échantillon le plus possible.
3. Lorsqu'on utilise une grande lame, il est possible de ramollir l'échantillon avec du soluté salin physiologique ou de la glycérine avant d'appliquer le cellophane, de façon à faciliter l'écrasement.

Fournisseurs

1. Cellophane mouillable

1.1 Description : N° 124PD, épaisseur 33 microns, poids approximatif 50 g/m²
Fournisseur en vrac : E. I. Dupont de Nemours Plastic Products and Resins Department,
Wilmington, Delaware 19898, Etats-Unis d'Amérique

1.2 Description : Rhône Poulenc 500 P 601
Fournisseur en vrac : Rhône Poulenc SA, France

Fournisseur du produit conditionné en rouleaux de 50 mètres x 22 mm :

1.2.1 (pour 1.2 ci-dessus) Société normande de Coupage (en lots de 1000 rouleaux seulement)
72, rue des Chênaux
Ymare, 76520 Boos, France

2. Tamis

2.1 Tamis en acier inoxydable

Article : 105 mesh, stainless steel, bolting cloth
Fournisseur : W. S. Tyler, Inc.
8200 Tyler Boulevard
Mentor, OH 44040, Etats-Unis d'Amérique

2.2 Tamis de nylon

Article : TI250, HD 16243 A
Fournisseur : L'Union Gazes à Bluter SA, place de la Liberté, BP 2,
42360 Panissières, France

3. Trousse complète contenant tout le matériel nécessaire

3.1 Japanese Association of Parasite Control c/o Hokenkaikan
1-1 Ichigaya-Sadohara
Shinjuku-ku, Tokyo, Japon (contient des gabarits en carton)

3.2 OVO-FEC kits (Kato-Katz) pour 100 ou 500 examens
Boehringer Mannheim Bioquímica
Rua Nair 170, Olaria,
CEP 21021 Rio de Janeiro, RJ, Brésil (contient des gabarits réutilisables en plastique)

(Note : Les solutions de vert malachite dans la glycérine contenues dans ces troussees peuvent être défectueuses. Il est recommandé de préparer une solution fraîche de vert malachite ou de bleu méthylène dans la glycérine.)

BIBLIOGRAPHIE

- Komiya, Y. & Kobayashi, A. (1966) Evaluation of Kato's thick smear technique with a cellophane cover for helminth eggs in faeces. Japanese Journal of Medicine, Science and Biology, 19, 59-64
- Katz, N., Chaves, A. & Pellegrino, J. (1972) A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 14, 397-400
- Peters, P. A. et al. (1980) Quick Kato smear for field quantification of Schistosoma mansoni eggs. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 29, 217-219
- Atelier OMS. Quantitative aspects of the epidemiology of S. japonicum infection in a rural community of Luzon, Philippines. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 58(4), 629-638 (1980)

Pour plus de renseignements, prière de s'adresser au Chef de l'unité Schistosomiase et autres Distomatoses, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27, Suisse.

