

## Dix-septième Conférence Technique

### DE LA TECHNIQUE DU *QUANTITATIVE BUFFY COAT* SELON LES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE.

J.-L. FREZIL\*

#### PRÉSENTATION

La technique du *quantitative buffy coat* (QBC)(1,2), proposée par la firme Becton Dickinson Diagnostics, repose sur le principe de la concentration des parasites par centrifugation du sang dans un tube à hématocrite dont les parois sont recouvertes d'acridine orange et d'oxalate de potassium. L'examen porte sur un volume de 55 à 65 microlitres de sang récolté à la pulpe du doigt. Une fois le prélèvement effectué, le tube est scellé à une extrémité tandis qu'un flotteur cylindrique est introduit à l'autre extrémité.

Une centrifugation à 12'000 tours par minute pendant 5 minutes sépare les éléments figurés du sang en fonction de leur densité, formant ainsi des bandes distinctes.

Comme le flotteur occupe environ 90% de la lumière du tube, la zone comprenant le haut de la bande des globules rouges et la bande des globules blancs, c'est-à-dire la zone où se concentrent les parasites, est élargie d'environ 10 fois.

Après centrifugation, le tube est placé sur un porte tube spécial et examiné en microscopie à fluorescence pour recherche des parasites.

Ce procédé initialement prévu pour la recherche des plasmodies, puisque les hématies parasitées sont moins denses que la normale et se concentrent juste en dessous des leucocytes, a pu également être testé sur les trypanosomes. Son principe se rapproche en effet de la méthode de Woo (HCT) qui permet la recherche de parasites, après centrifugation en tube capillaire, dans la couche des éléments blancs située à l'interface sang-plasma, directement à travers la paroi du tube.

L'application de cette technique a ensuite été étendue à d'autres parasitoses telles que babésioses et filarioses.

#### INTÉRÊT DE LA MÉTHODE

A notre connaissance, cette nouvelle technique a été effectivement essayée et évaluée sur plusieurs parasites avec apparemment un intérêt particulier pour le paludisme.

##### Filarioses

Freedman & Berry (3) mènent au Brésil en 1992 une étude sur 119 volontaires, dont 41 s'avèreront porteurs de microfilaries de *Wuchereria bancrofti* : ils constatent que la goutte épaisse donne des résultats comparables au QBC mais que le QBC présente tout de même l'intérêt de donner des résultats plus rapidement que la goutte épaisse, à condition naturellement de disposer de l'équipement spécialisé.

Badwen & al. (4), à l'hôpital de la base navale de Guantanamo, Cuba, s'avèrent très satisfaits de cette méthode rapide permettant à une équipe de deux personnes de préparer 25 QBC par heure. Ils précisent en outre que cette technique permet le diagnostic différentiel de *Wuchereria bancrofti* et de *Mansonella ozzardi* en fonction des mouvements, de la coloration et de la position des parasites dans le tube.

##### Babésioses

Morzaria & al. (5) concluent à la supériorité du QBC sur les étalements de sang colorés pour le diagnostic de *Babesia bigemina*.

##### Plasmodies

Les évaluations de la technique sur ce parasite sont évidemment les plus nombreuses, mais ce sont aussi celles qui ont lancé une polémique sur l'intérêt de la méthode.

\*ORSTOM, BP 5045, 34032 Montpellier Cédex.



Moody & al. (6), sur 462 cas diagnostiqués à l'Hospital for Tropical Diseases de Londres, pensent que cette technique représente un progrès certain en matière de diagnostic, même pour les faibles parasitémies. Mais ils ajoutent que sous sa forme actuelle ce test trouve essentiellement sa place dans des laboratoires sophistiqués, l'examen de la goutte épaisse restant la méthode de choix pour le diagnostic à titre individuel.

Baird & al. (7) évaluent la méthode dans les conditions de terrain en Indonésie avec des résultats nettement en défaveur du QBC contre la goutte épaisse, tant en sensibilité qu'en spécificité. Cette note provoque une réponse outrée de J.-B. Péronne (8), de Becton Dickinson Diagnostics, qui accuse tout simplement Baird et ses collègues de ne pas avoir suivi la procédure correcte d'application du QBC et de manquer de connaissances de base ... sur le microscope optique et la théorie de la centrifugation. Une autre correspondance de Lecamus et Raphenon (9) s'étonne des résultats de Baird & al. et affirme au contraire que la sensibilité du QBC est la meilleure à l'heure actuelle et peut descendre jusqu'à 1 parasite pour 10 µl de sang.

Enfin, une note de Petersen & Marbiah en 1994 (10) au sujet d'une enquête en Sierra Leone, reprend les arguments de Baird et conclut que compte tenu de sa faible sensibilité et de son prix de revient, le QBC est certainement une méthode utilisable dans les pays développés, mais en supplément d'autres méthodes comme la goutte épaisse qui reste la pierre angulaire du diagnostic du paludisme.

Ajoutons au débat la note de Bawden & al. (11) qui présente le QBC comme une excellente méthode de terrain ... surtout lorsque les techniciens sont inexpérimentés dans la lecture de la goutte épaisse! pour terminer cette revue polémique sur le thème QBC/plasmodies, signalons le travail de Guérin & al. (12) qui utilisent le QBC dans une enquête au Zaïre pour évaluer la chloroquinorésistance avec un réel succès puisqu'après l'administration de chloroquine le parasite est retrouvé dans 38% des cas par la goutte épaisse contre 45% des cas par QBC, sur un échantillon de 815 sujets.

### Trypanosomes

Lévine & al. (2) indiquent dès 1989 que des études préliminaires utilisant des rats expérimentalement infectés par *Trypanosoma brucei rhodesiense* montrent

qu'un seul parasite par tube (soit 110 µl de sang) peut être détecté.

Bailey et Smith (13), en mai 1991, dans la zone à *Trypanosoma brucei rhodesiense* de Busoga (Ouganda) reconnaissent la facilité de mise en œuvre de la méthode QBC, bien qu'elle ne s'avère supérieure en sensibilité ni à la méthode de Woo, ni à la goutte épaisse. Dans les zones à *Trypanosoma brucei gambiense* de Moyo et Adjumani (Nord Ouganda), une étude comparative effectuée sur des CATT positifs au sang et au sérum montre une légère supériorité du QBC sur la goutte épaisse (30 contre 28) et un mauvais score de la méthode de Woo (11 positifs). Les auteurs mettent en exergue la simplicité du QBC qui n'exige pas en outre de personnel très spécialisé, mais s'étonnent des résultats exceptionnels de la goutte épaisse dans la zone à *Trypanosoma brucei gambiense*. Ils notent que la présence occasionnelle d'*Achanthocheilonema perstans* n'est nullement gênante pour la recherche des trypanosomes.

Dans une étude comparative effectuée en Côte d'Ivoire en 1994, Truc & al. (14) notent que, par rapport aux autres techniques évaluées (CATT, PG, HCT, MAECT, TBF et KIVI), le QBC a l'avantage indéniable d'exprimer clairement un résultat en moins de 10 minutes sur le terrain et semble aussi efficace que la minicolonne. L'investissement de départ est élevé, mais l'équipement peut durer longtemps. Le prix des capillaires spéciaux n'est pas très supérieur à ceux utilisés dans la méthode de Woo qui, paradoxalement, s'avère moins intéressante que la goutte épaisse. Le KIVI apparaît comme une technique fiable, mais présente l'inconvénient d'une lecture retardée à 30 jours.

### COMMENTAIRE

Cette revue bibliographique montre que le QBC est une méthode qui a certainement sa place dans la panoplie des outils diagnostiques, mais il est difficilement concevable de préconiser son utilisation massive dans des régions où le coût de la santé représente une charge quasi-insurmontable pour les états? Et ceci d'autant plus qu'en matière de filarioses elle ne semble pas supérieure à la goutte épaisse. De même, dans le diagnostic du paludisme, elle donne des résultats prêtant à controverse, qui plaident en faveur du maintien de la goutte épaisse.

Il semblerait en fait que les performances de cette technique soient meilleures en matière de trypanosomiase mais les distorsions élevées avec la HTC dans les travaux cités interpellent car le principe de base est identique dans les deux méthodes ce qui laisse une part importante au microscopiste dans la qualité des résultats. Il serait certainement intéressant que l'évaluation de cette méthode soit reprise dans d'autres zones.

En l'état actuel des connaissances, il semblerait que la méthode QBC soit surtout à préconiser dans le cadre d'équipes ne disposant pas de microscopistes très performants. Il faut toutefois regretter que d'excellentes méthodes économiques comme la triple centrifugation du sang, voire la goutte épaisse, soient progressivement abandonnées au profit de techniques dont l'intérêt reste à démontrer.

### COÛT DE LA TECHNIQUE QBC

L'équipement comprenant l'adaptateur pour microscope, la centrifugeuse de paillasse et le plan de travail coûte 35 000 FF HT. Le kit QBC de 100 tubes (malaria) coûte 2500 FF HT, soit 25 FF le tube.

### BIBLIOGRAPHIE

- 1 Anonyme, 1990: A powerful new weapon in the assault on malaria. Prospectus Becton Dickinson Tropical Disease Diagnostics.
- 2 Badwen M., Slaten D., Malone J., 1994: QBC®: rapid filaria diagnoses from blood *Mansonella ozzardi* and *Wuchereria bancrofti*. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 88: 66.
- 3 Badwen M., Malone J., Slaten D., 1994: QBC® malaria diagnosis: easily learned and effectively applied in a temporary military field laboratory. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 88: 302.
- 4 Bailey J.W., Smith D.H., 1992: The use of the acridine orange QBC® technique in the diagnosis of african trypanosomiasis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 630.
- 5 Baird J.K., Purnomo, Jones T.R., 1992: Diagnosis of malaria in the field by fluorescence microscopy of QBC® capillary tubes. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 3-5.
- 6 Freedman D.O., Berry R.S., 1992: Rapid diagnosis of bancroftian filariasis by acridine orange staining of centrifuged parasites. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 47, 6: 787-793.
- 7 Garin B., Salun J.J., Peyron F., Vigier J.-P., Busangu I., Perrone J.B., 1992: Rapide in vivo detection of chloroquino-resistance by the quantitative buffy coat malaria diagnosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 47, 4: 446-449.
- 8 Lecamus J.L., Raphenon G., 1992: Diagnosis of malaria in the field by fluorescence microscopy using QBC® capillary tubes. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 460.
- 9 Levine R.A., Wardlaw S.C., Patton C.L., 1989: detection of haematoparasites using Quantitative Buffy Coat analysis tubes. *Parasitol. Today*, 5, 4: 132-133.
- 10 Moody A.H., Hunt-Cooke A., Chiodini P.L., 1990: Experience with the Becton Dickinson QBC II® centrifugal haematology analyser for hemoparasites. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 84: 872.
- 11 Morzaria S., Katende J., Kairo A., Nene V., Musoke A., 1992: New method for the diagnosis of *Babesia bigemini* infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87, suppl. 3, 201-205.
- 12 Perrone J.B., 1992: Proper requirement for the QBC malaria test. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 86: 224.
- 13 Petersen E., Marbiah N.T., 1994: QBC® and thick blood films for malaria diagnosis under field conditions. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 88: 416-417.
- 14 Truc P., Bailey J.W., Doua F., Laveissière C., Godfrey D.G., 1994: A comparizon of parasitological methods for the diagnosis of gambian trypanosomiasis in an area of low endemicity in Côte d'Ivoire. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, 88: 419-421.