

TP n°3 : Paludisme « Malaria »

OBJECTIFS :

1. Apprenez à lire un Frottis mince,
2. Savoir identifier l'espèce et stade parasitaire.

INTRODUCTION : Le paludisme, ou malaria, est une parasitose essentiellement tropicale à transmission vectorielle due à des protozoaires hématozoaires du genre *Plasmodium*, identifiée par Alphonse Laveran en 1880 (prix Nobel 1907), transmise par des moustiques femelles du genre *Anopheles*. Le paludisme reste la première endémie parasitaire mondiale. Bien qu'elle soit avant tout un problème de santé publique majeur pour les populations des zones d'endémie, cette maladie représente également une menace pour les voyageurs se rendant dans les régions impaludées.

A. Agents pathogènes

L'agent du paludisme est un protozoaire appartenant au genre *Plasmodium*, qui parasite les érythrocytes. Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales, dont cinq espèces sont habituellement retrouvées en pathologie humaine : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*

B. Vecteur

Le paludisme est transmis à l'Homme par la piqûre d'un moustique culicidé du genre *Anopheles* au moment de son repas sanguin. Seule la femelle, hémaphage, transmet la maladie.



Fig. 1. Femelle du genre *Anopheles* se gorgeant.

C. Cycle

Le cycle se déroule successivement chez l'Homme (**phase asexuée chez l'hôte intermédiaire**) et chez l'anophèle (**phase sexuée chez l'hôte définitif**).

Chez l'Homme, le cycle est lui-même divisé en deux phases de multiplication asexuée (**schizogonie ou mérogonie**) :

- la **phase hépatique**, ou préérythrocytaire (ou exoérythrocytaire), qui correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique ;
- la **phase sanguine**, ou érythrocytaire, qui correspond à la phase clinique de la maladie.

D. Diagnostic biologique direct

*Prélèvement

En zone d'endémie, le plus simple est de recueillir, sur une lame porte-objet de microscope, une ou deux gouttes de sang par piqûre au doigt (face latérale de l'annulaire), au lobe de l'oreille ou au talon (chez l'enfant) et de confectionner immédiatement les étalements (frottis mince et goutte épaisse).

*Techniques de référence

🚩 Goutte épaisse

Cette technique, très ancienne, réalise une microconcentration et reste la méthode de référence. Elle consiste à examiner quelques microlitres de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode de Giemsa.

🚩 Frottis mince

La lame est colorée selon la méthode de May Grünwald-Giemsa ou c

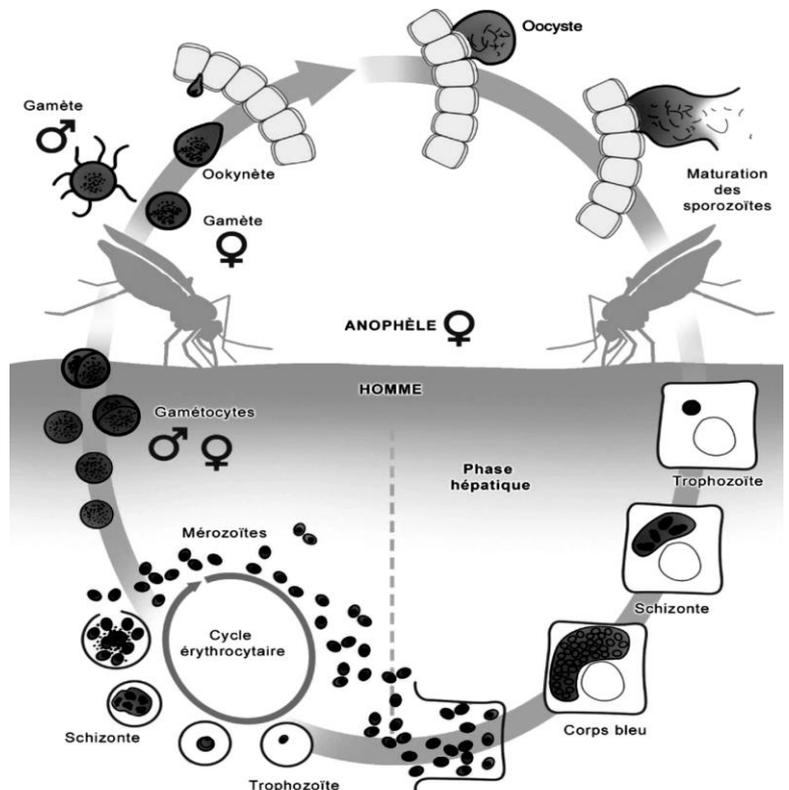


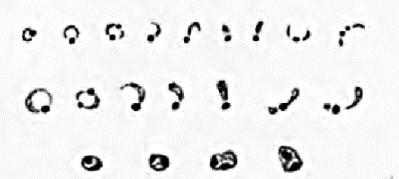
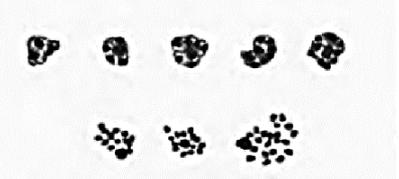
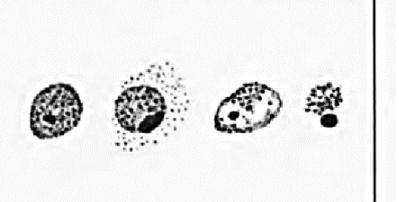
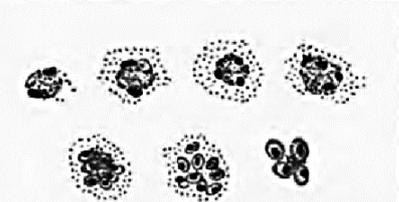
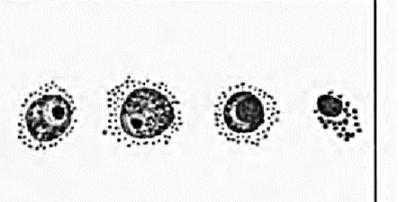
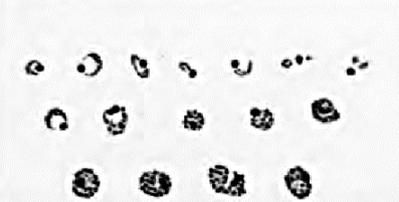
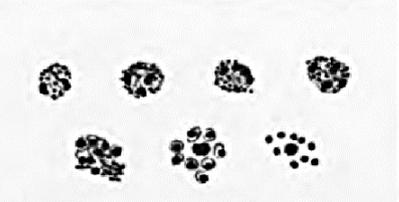
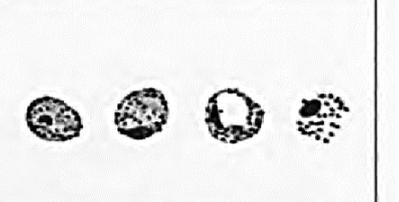
Fig. 2. Cycle évolutif de *Plasmodium*.

colorés en

Plan du TP/

- Observation et dessin d'un frottis sanguin
- y a-t-il des érythrocytes infectés par un parasite du genre *Plasmodium* ?
- si la réponse est positive :
 - quelle espèce est identifiée ?
 - quel(s) stade(s) parasitaire(s) est/sont présent(s) ? (Les gamétocytes seuls ne sont pas considérés comme responsables de la symptomatologie) ;

TAB. 1. Tableau récapitulatif des stades parasitaires et des espèces

Espèce	Stades parasitaires dans le sang périphérique		
	Trophozoïtes	Schizontes	Gamétocytes
<i>P. falciparum</i> Trophozoïtes jeunes, en croissance, et/ou gamétocytes matures généralement visibles	 <p>Taille : petits à moyens; nombre : souvent nombreux; forme : couramment formes en anneau ou en virgule; chromatine : souvent deux tâches; cytoplasme : régulier, fin à charnu; formes matures : quelque fois présentes dans le paludisme grave, compacts avec pigment en masse ou sous forme de quelques gros grains.</p>	 <p>Habituellement associés à de nombreuses formes annulaires jeunes. Taille : petits, compacts; nombre : peu nombreux, peu courants, en général dans le paludisme grave; formes matures : 12-30 mérozoïtes, voire plus, en amas compacts; pigment : une seule masse sombre.</p>	 <p>Formes immatures à extrémité en pointe peu courantes; formes matures : en forme de banane ou arrondies; chromatine : une seule tâche bien définie; pigment : dispersé, en gros grains en forme de grains de riz, avec parfois une excroissance rose. Présence fréquente de formes usées ne contenant que la chromatine et le pigment.</p>
<i>P. vivax</i> Tous stades visibles; granulations de Schüffner nettement visibles dans les « fantômes » des érythrocytes de l'hôte, surtout sur les bords du frottis	 <p>Taille : petits à grands; nombre : faible à moyen; forme : couramment anneaux ouverts ou forme irrégulière; chromatine : une tâche, parfois deux; cytoplasme : irrégulier ou fragmenté; formes matures : compactes, denses; pigment : dispersé, fin.</p>	 <p>Taille : grands; nombre : faible à moyen; formes matures : 12-24 mérozoïtes, généralement 16, en amas irréguliers; pigment : masse diffuse.</p>	 <p>Formes immatures difficiles à distinguer des trophozoïtes matures; formes matures : rondes, grandes; chromatine : une seule tâche bien définie; pigment : dispersé, fin. Présence de formes usées avec un cytoplasme rare ou absent et ne contenant que la chromatine et le pigment.</p>
<i>P. ovale</i> Tous stades visibles; granulations de Schüffner nettement visibles dans les « fantômes » des érythrocytes de l'hôte, surtout sur les bords du frottis	 <p>Taille : peuvent être plus petits que ceux de <i>P. vivax</i>; nombre : habituellement peu nombreux; forme : forme annulaire à arrondie et compacte; chromatine : une seule tâche nettement visible; cytoplasme : assez régulier et charnu; pigment : dispersé, en gros grains.</p>	 <p>Taille : voisine de <i>P. malariae</i>; nombre : peu nombreux; formes matures : 4-12 mérozoïtes, en général 8, en amas diffus; pigment : masse concentrée.</p>	 <p>Formes immatures difficiles à distinguer des trophozoïtes matures; formes matures : rondes, peuvent être plus petites que celles de <i>P. vivax</i>; chromatine : une seule tâche bien définie; pigment : dispersé, en gros grains. Présence de formes usées ne contenant que la chromatine et le pigment.</p>
<i>P. malariae</i> Tous stades visibles	 <p>Taille : petits; nombre : en général peu nombreux; forme : annulaire à arrondie et compacte; chromatine : une seule grosse tâche; cytoplasme : régulier, dense; pigment : dispersé, abondant, de nuance jaunâtre chez les formes âgées.</p>	 <p>Taille : petits, compacts; nombre : généralement peu nombreux; formes matures : 6-12 mérozoïtes, en général 8, en amas diffus; certaines formes apparemment sans cytoplasme; pigment : concentré.</p>	 <p>Formes immatures et certaines formes matures difficiles à distinguer des trophozoïtes matures; formes matures : rondes, compactes; chromatine : une seule tâche bien définie; pigment : dispersé, en gros grains, peut être réparti à la périphérie. Présence de formes usées ne contenant que la chromatine et le pigment.</p>