

Diagnostic biologique du paludisme

Le retard au diagnostic constitue un des facteurs de risque de survenue des accès palustres graves. La mise en œuvre de techniques rapides, sensibles et spécifiques est nécessaire. Des renseignements cliniques et épidémiologiques doivent accompagner toute prescription afin d'aider le biologiste dans son interprétation. Le diagnostic conditionne l'ensemble de la stratégie thérapeutique.

© 2018 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés

Mots clés - diagnostic biologique ; frottis mince ; goutte épaisse ; paludisme PCR ; paludisme TDR

Biological diagnosis of malaria. Delay in diagnosis constitutes one of the risk factors of the occurrence of severe malaria. The implementation of rapid, sensitive and specific techniques is essential. Clinical and epidemiological information must accompany any prescriptions in order to help the biologists in their interpretation. Diagnosis determines the whole of the therapeutic strategy.

© 2018 Elsevier Masson SAS. All rights reserved

Keywords - biological diagnosis; malaria PCR; malaria RDT; thick blood smear; thin blood smear

Dans le cadre du diagnostic du paludisme, l'identification parasitaire doit s'accompagner de la recherche de signes biologiques de gravité [1] ; un bilan biologique d'orientation est donc nécessaire. Certains paramètres biologiques peuvent avoir une bonne valeur d'orientation, notamment une thrombopénie (inférieure à 150 g/L) et une anémie, qui ont une valeur prédictive positive chez un patient fébrile de retour d'un pays endémique. Les critères biologiques, décrits par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et dans les recommandations pour la pratique clinique de 2017 permettent de définir un paludisme grave d'importation [1-3]. Si la présence de *Plasmodium falciparum* est associée à au moins l'un d'entre eux, le diagnostic de paludisme grave peut être posé [1].

La quantification de la densité parasitaire est obligatoire pour *Plasmodium falciparum*, mais aussi pour les autres espèces. Pour un accès palustre à *P. vivax*, évoluant rarement vers la gravité, les critères sont les mêmes mais sans qu'il soit nécessaire de tenir compte de la parasitémie, celle-ci dépassant rarement les 2 %. Dans les infections à *P. vivax*, anémie et ictère sont fréquents, alors que l'acidose est assez rare. À l'inverse, pour un accès grave à *P. knowlesi*, le seuil de parasitémie est abaissé à 2 %, mais les atteintes rénales sont fréquentes [1].

P. falciparum est la plus dangereuse des espèces. Les techniques de diagnostic doivent impérativement permettre de la détecter en premier lieu. Le risque d'aggravation rapide d'un accès simple en neuropaludisme est très élevé. L'évaluation des actes de diagnostic biologique des infections à *Plasmodium*

proposée par la Haute Autorité de santé (HAS) ainsi que les recommandations nationales indiquent donc que les résultats doivent être rendus par le laboratoire en deux heures, 24h/24 [4]. Ce délai peut être allongé par la prise en compte de la durée d'acheminement du prélèvement sanguin (au maximum quatre heures entre le prélèvement et le rendu du résultat) [1]. Le sang périphérique doit être prélevé sur tube EDTA ou ACD (prévoir deux tubes car en cas de positivité, l'un d'entre eux sera envoyé au CNR du paludisme¹), sans attendre un frisson ou un pic thermique [1,4].

Les laboratoires disposent à l'heure actuelle de nombreuses techniques pour mettre en évidence les hématozoaires du paludisme. Les formes du parasite visibles chez l'homme étant intra-érythrocytaires, la microscopie constitue toujours la technique de référence. Mais le choix de ces techniques s'opère en fonction du terrain et du matériel dont dispose le biologiste (figure 1) [5].

Les techniques microscopiques

Les techniques microscopiques regroupent le frottis mince, les techniques de concentration et l'évaluation de la charge parasitaire (tableau 1).

Frottis mince

Le frottis mince (figure 2) est obtenu par étalement d'une goutte de sang sur lame, colorée au May Grünwald Giemsa (MGG), Wright ou Wright-Giemsa. Selon la coloration, il est possible de mettre en évidence les granulations de Shüffner (*P. vivax* et *P. ovale*), les taches de Maurer (*P. falciparum*) ou les pointillés de Ziemann (*P. malariae*) spécifiques d'espèce.

Marie-Fleur DURIEUX
Interne en médecine

Service de parasitologie-mycologie, Centre hospitalier universitaire Dupuytren, 2 avenue Martin-Luther-King, 87000 Limoges, France

Note

¹ Centre national de référence (CNR) du paludisme (accès simples) : AP-HP Hôpital Bichat-Claude-Bernard, 46 rue Henri-Huchard, 75877 Paris cedex 18 ; CNR du paludisme (accès graves) : AP-HP Hôpital Pitié-Salpêtrière, 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13.

Adresse e-mail :
mf.durieux@gmail.com
(MF Durieux).

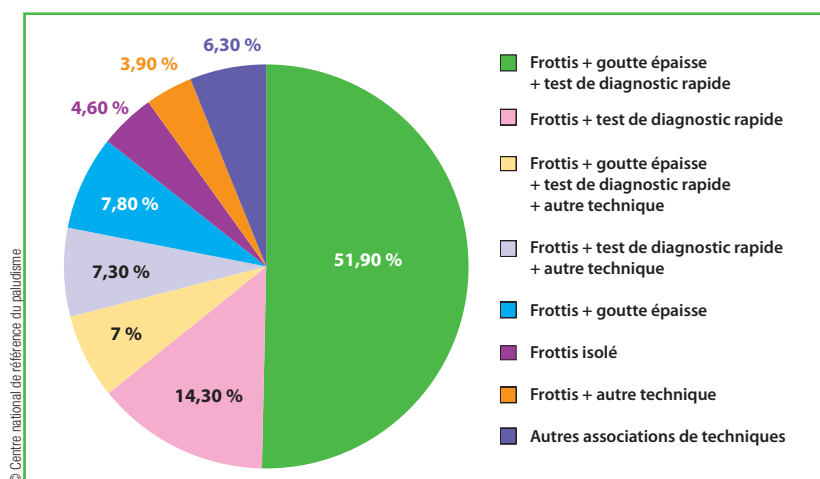


Figure 1. Méthodes de diagnostic déclarées par les laboratoires français pour l'année 2016 [5].

Il s'agit de la seule technique qui permet à la fois de détecter la présence du parasite, de calculer la charge parasitaire et de déterminer de façon aisée l'espèce de *Plasmodium*. L'identification repose alors sur la taille des hématies parasitées et les stades parasitaires (figure 3). Le seuil de détection est d'environ cent parasites par microlitre. La lecture doit comprendre au minimum 200 champs microscopiques (objectif à immersion, x 100) en raison de la fréquence de charges parasitaires faibles. Si la goutte épaisse n'est pas réalisable, le nombre de champs observés doit être porté à 800 pour arriver à une sensibilité similaire [1].

Techniques de concentration

◆ **La goutte épaisse** (figure 2) est une technique manuelle qui concentre les parasites sur une surface moins étendue que le frottis (effet de concentration), colorée au Giemsa. Cette technique est plus longue et délicate à réaliser que le frottis mince, mais elle permet d'augmenter la quantité de sang examinée, améliorant ainsi la sensibilité analytique de l'examen lorsque la parasitémie est faible. L'aspect des parasites ne permet que difficilement d'effectuer le diagnostic d'espèce par cette méthode. Cent champs microscopiques (objectif à immersion, x 100) permettent de le réaliser avec un seuil de détection d'environ dix parasites par microlitre.

◆ **Le QBC malaria test®** (*Quantitative Buffy Coat*) est une technique de concentration qui colore à l'acridine orange l'acide désoxyribonucléique (ADN) des plasmodies à partir d'une goutte de sang prélevée sur capillaire spécifique. Après centrifugation, les hématies parasitées sont concentrées au-dessus des hématies non parasitées. Les trophozoïtes apparaissent sous forme de points verts fluorescents lorsqu'ils sont observés au microscope à ultraviolets (UV). Cette technique, rapide (10-15 minutes) et simple à mettre en œuvre, présente des performances analytiques similaires à la goutte épaisse, mais ne permet pas le diagnostic d'espèce. De plus, son coût reste élevé.

Évaluation de la charge parasitaire

La charge parasitaire doit être obligatoirement calculée pour *P. falciparum* car elle participe à la définition de l'accès

Tableau 1. Comparaison des techniques de recherche du paludisme [1,4,6].

Techniques	Détection Qualitative	Diagnostic d'espèces	Quantitative	Stades parasitaires	Seuil de détection (parasites/μL)	Délai de réponse	Suivi
Frottis sanguin	Oui	Oui	Oui	Oui	100	Moins de deux heures	Oui Contrôles à J3, J7 et J28 La présence de gamétocytes ne signe pas un échec thérapeutique, ces formes non pathogènes n'étant pas la cible des antipaludiques
Goutte épaisse	Oui	Difficile	Oui	Oui	10	Moins de deux heures	
QBC malaria test®	Oui	/	/	/	10	10-15 minutes	Non recommandé
TDR PfHRP2	Oui	Oui	/	/	100	15-20 minutes	Non recommandé PfHRP2 reste présente dans le sang 28 jours après le traitement
TDR Aldolase	Oui	+/-	/	/	100	15-20 minutes	Non recommandé
TDR pLDH	Oui	+/-	/	/	100	15-20 minutes	Non recommandé Sauf si microscopie non disponible (élimination dans le sang en cinq à six jours)
LAMP	Oui	/	/	/	0,2 à 2	40 minutes	Non recommandé
PCR	Oui	Oui	/	/	1 à 0,005	Plus de deux heures	Non recommandé Reste positive jusqu'à 30 jours après traitement

LAMP : Loop Mediated isothermal Amplification ; PCR : réaction en chaîne par polymérase ; PfHRP2 : P. falciparum Histidin Rich Protein ; pLDH : lactate déshydrogénase plasmodiale ; TDR : test de diagnostic rapide.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8508314>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8508314>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)