

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE (partie I)

Dr Doudou Sow

Le paludisme est l'une des premières causes de fièvre en zones d'endémie, c'est une véritable urgence médicale parasitaire, touchant en particulier les enfants de moins de 5 ans, les femmes enceintes mais aussi toutes les personnes voyageant dans ces zones là. Il est indispensable d'établir un diagnostic biologique rapide pour une prise en charge rapide. Pour animer ce cours sur le diagnostic biologique du paludisme; le Docteur Doudou Sow de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Dr Doudou Sow :

Bonjour à toutes et à tous, Qu'entendons nous par diagnostic biologique du paludisme ? Il s'agit d'identifier chez un patient ce tueur de masse qu'est le Plasmodium, parasite que vous connaissez bien maintenant. A partir d'un prélèvement sanguin, on peut identifier le parasite de manière directe, en l'observant visuellement au microscope ou en identifiant son ADN. On peut aussi l'identifier par la mise en évidence de ses antigènes dans le sang du patient. Le choix entre ces différentes techniques d'identification du *Plasmodium* se fait en fonction du contexte sur le terrain. La technique de référence, recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé, est la microscopie. Elle permet l'identification directe, la quantification et la détermination de l'espèce plasmodiale, via la goutte épaisse et le frottis mince. En zone rurale où l'absence de plateau technique, de personnel qualifié, et parfois même d'électricité ne permet pas l'utilisation de la microscopie on utilise une technique d'identification innovante, le test de diagnostic rapide, dit TDR, qui fonctionne un peu comme un test de grossesse. Enfin on utilise aussi des techniques dites moléculaires comme la PCR : polymérase chain reaction. Ces techniques de pointes, basées sur la génétique permettent d'identifier très précisément le parasite et ses caractéristiques. Voilà pour les principales techniques. Sachez qu'il y a également d'autres techniques comme le QBC Malaria Test ,quantitative buffy coat, et des méthodes sérologiques de détection des anticorps. L'enjeu étant toujours de se donner les moyens d'identification du parasite chez un patient quels que soient les conditions du terrain, car une infection plasmodiale est toujours une urgence médicale. Il est donc aujourd'hui inacceptable de passer à côté d'un cas de paludisme compte tenu de la disponibilité des différentes techniques de diagnostic biologique à notre disposition. Le diagnostic biologique va permettre de confirmer ou d'infirmer une infection plasmodiale chez un patient, voici les signes cliniques qui doivent déclencher le diagnostic.

En premier lieu la fièvre, les céphalées ou maux de tête, des troubles digestifs; nausées, vomissements, la diarrhée chez l'enfant, la fatigue, une pâleur anormale et de façon exceptionnelle des troubles neuropsychiatriques, comme par exemple des propos incohérents. La confirmation biologique est urgente pour les populations à risque que sont : - les enfants de moins de 5 ans - les femmes enceintes - les voyageurs en zone endémique, les habitants des villes africaines y compris les africains de la diaspora. Devant les signes cliniques chacun doit être réactif, ne jamais attendre et toujours poser le diagnostic biologique : car comme vous allez le voir les outils de diagnostic existent, ils sont fiables, accessibles et peu chers. Je vous en ai parlé, la technique de référence, ou gold standard, est la microscopie. Elle permet de reconnaître le parasite, de préciser son stade évolutif, d'identifier l'espèce et d'indiquer la parasitémie. Deux techniques majeures existent : La goutte épaisse et le frottis mince. La réalisation d'une goutte épaisse consiste à déposer une goutte de sang recueillie par piqûre au bout du doigt, au lobe de l'oreille ou au talon chez le nouveau-né, sur une lame porte objet bien évidemment nettoyée . On

effectue un mouvement en spirale à l'aide d'une autre lame sur une surface d'environ un cm² afin de favoriser la défibrination c'est à dire d'éviter la coagulation du sang. Une fois la goutte séchée, on la recouvre d'eau, distillée ou du robinet, ce qui a pour effet d'éclater les globules rouges. C'est le processus de déshémoglobination. Ensuite on colore la goutte avec une solution de Giemsa diluée à 10%. Ce colorant fait apparaître le noyau du parasite en rouge et le cytoplasme en bleu. L'examen se fait au microscope optique, en grossissant 1000 fois le parasite. La réalisation d'un frottis mince est l'étalement monocellulaire d'une goutte de sang, environ 2 microlitres. A la différence de la goutte épaisse, le frottis mince permet d'observer le parasite à l'intérieur du globule rouge resté intact et coloré au Giemsa dilué à 10%. L'identification des stades et de l'espèce parasitaire se fait au grossissement x1000. La lecture de la goutte épaisse permet de voir les leucocytes ou globules blancs, les amas de plaquettes, des artéfacts, comme des grains de colorants, des poussières, des spores, des micro organismes et surtout le parasite. La parasitémie est exprimée en nombre de parasites par microlitre de sang et se fait en comptant les formes asexuées du parasite rapportées au nombre de leucocytes sur la lame. Quant au frottis mince, il permet le diagnostic d'espèces en tenant compte des modifications morphotinctoriales, c'est à dire de forme et de couleur des globules rouges restés intacts. Il permet d'identifier les différents stades du parasite que sont les trophozoites, les shizontes et les gamétocytes des espèces plasmodiales telles que *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale*. La goutte épaisse permet de détecter une parasitémie supérieure à 10 parasites par microlitre de sang, là où le frottis mince ne détecte que 100 parasites par microlitre et est donc 10 fois moins sensible que la goutte épaisse. Pour identifier *Plasmodium falciparum*, qui est la plus dangereuse, on utilise cette technique. Dans ce cas là on est toujours en urgence médicale et il est impératif de traiter au plus vite le patient infecté.

Pour ces deux techniques il est nécessaire de disposer d'un laboratoire avec des techniciens formés et expérimentés qui soient en mesure de reconnaître visuellement les différents stades du parasite et d'en déterminer l'espèce. En général elles sont réalisées en même temps sur la même lame pour bénéficier de la complémentarité de chacune des deux techniques. Dans les zones où la goutte épaisse et le frottis mince ne sont pas réalisables, ce qui est la majorité des cas dans les zones endémiques rurales, la révolution du diagnostic biologique vient des tests de diagnostic rapide, ou TDR. Ce que nous verrons dans la deuxième partie.

Merci de votre attention et à très bientôt.