

LE DIAGNOSTIC (PARTIE II)

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.

Doudou Sow :

Bonjour à toutes et à tous, aujourd'hui suite et fin du cours sur le diagnostic biologique du paludisme.

Nous avons vu dans la première partie les techniques microscopiques, qui restent des références en matière de diagnostic biologique. Attachons nous maintenant à la révolution apportée par les TDR en zone rurale endémique, où la microscopie n'est pas accessible et nous finirons par les techniques de biologie moléculaire.

Depuis un peu plus d'une dizaine d'années la généralisation des tests rapides en zone endémique a permis de sauver des millions de vies humaines et de rationaliser l'utilisation des traitements antipaludiques, notamment les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisine. Cela a radicalement modifié l'approche thérapeutique du paludisme: on peut même parler d'une véritable révolution.

Aussi simple à utiliser qu'un test de grossesse, facile à conserver, utilisable par tous, ce test consiste à détecter certains constituants spécifiques du parasite. Le principe est le suivant : on fait réagir un prélèvement sanguin avec un anticorps révélateur mono ou polyclonal selon le test utilisé. Il est ainsi possible d'identifier une ou plusieurs espèces de parasites.

Le résultat est rapide, moins de 15 minutes, visuel sous forme d'un trait sur la bandelette et ne nécessite pas de compétence particulière pour le lire. Ces tests ne nécessitent pas d'électricité et peuvent être utilisés dans les villages y compris dans un contexte familial.

Une fois utilisées les bandelettes sont faciles à stocker ce qui est intéressant car cela permet d'effectuer des tests moléculaires a posteriori, notamment à des fins de surveillance épidémiologique.

Le mode opératoire est extrêmement simple: on prélève une goutte de sang qu'on dépose sur la bandelette du test et à laquelle on ajoute le réactif, puis on laisse agir 10 à 15 minutes et on visualise le résultat.

Le stockage facile, l'utilisation est facile, la lecture est immédiate et à portée de tous. C'est un outil de diagnostic parfaitement adapté au contexte endémique. Il est toutefois recommandé de les stocker à l'abri de l'humidité et de la lumière. Les TDR sont subventionnés par Roll Back Malaria, ils sont gratuits pour les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. Alors que la goutte épaisse et le frottis mince sont payants.

La sensibilité des TDR est moins importante que la goutte épaisse mais est équivalente au frottis mince. Parmi les inconvénients il faut préciser que dans le cas

d'une faible parasitémie, ou dans le cas d'une perte de matériel génétique chez le parasite, comme une délétion chromosomique, le test ne sera pas positif et on risque de passer à côté d'un cas de paludisme.

Enfin sachez qu'il existe aussi le QBC Malaria Test, technique de moins en moins utilisée en routine pour le diagnostic du paludisme. Aussi sensible que la goutte épaisse, elle reste très couteuse mais a l'avantage d'être utilisable pour détecter d'autres parasites présents dans le sang, tels que les microfilaries, les trypanosomes responsables de la maladie du sommeil, ou bien les babésias.

Nous avons vu les techniques standards, notamment la microscopie et la révolution apportée par les TDR. Regardons maintenant ce qu'il en est du côté de la biologie moléculaire.

Les techniques de biologie moléculaire permettent d'identifier le parasite grâce à son empreinte génétique, son ADN ou son ARN. On utilise principalement la PCR, polymérase chain reaction. C'est la technique la plus sensible et la plus spécifique. C'est à dire qu'elle permet de déterminer avec certitude l'espèce parasitaire exactement comme on le fait aujourd'hui lors d'enquêtes policières et criminelles... je vous rappelle que le parasite responsable du paludisme reste à ce jour le plus grand criminel de la planète !

En zone endémique il est l'outil d'évaluation et de monitoring épidémiologique le plus performant, dans ce cas on parle d'épidémiologie moléculaire. C'est une nouvelle ère qui s'ouvre à nous... En zone non endémique, comme par exemple en Europe, il est l'outil de référence pour le diagnostic au quotidien.

Dans les deux cas cette technique permet d'identifier les parasites mutants, résistants aux médicaments. Pour information sachez que cet outil est également utilisé sur le moustique dans le cadre de la surveillance de la résistance aux insecticides, insecticides que l'on retrouve dans la lutte anti-vectorielle.

On extrait une infime quantité d'ADN du parasite. On l'amplifie, c'est à dire qu'on le multiplie exponentiellement grâce à une enzyme. Cela permet de le visualiser facilement. Cette opération est réalisable à partir de gouttes de sang séchées sur papier buvard, des tests de diagnostics rapides, mais aussi d'anciennes gouttes épaisses ou de frottis minces.

Les résultats sont très précis et très complets. De façon sensible, jusqu'à 0,5 parasites / μ l de sang et spécifique, on identifie l'espèce plasmodiale et son niveau de sensibilité aux médicaments. Cette technique permet de différencier très facilement des parasites très semblables à la microscopie, comme par exemple, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium knowlesi*. En zone endémique c'est très efficace pour discriminer les formes de trophozoïtes de *Plasmodium falciparum*, de *Plasmodium vivax*, et de *Plasmodium ovale*. Cette distinction moléculaire est importante pour traiter les formes dormantes hépatiques dites hypnozoïtes de *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale*.

Les techniques de biologie moléculaire permettent également de diagnostiquer les co-infections parasitaires.

Cet outil très performant nécessite un plateau technique couteux, du personnel compétent et demeure chronophage, 2 à 3 heures de temps. Mais on voit apparaître une démocratisation de cette technologie avec des appareils tropicalisés et transportables sur le terrain.

Il existe une variante de technique PCR appelée LAMP ne demandant pas d'équipement sophistiqué. En 30 minutes, il est possible de détecter 0,2 à 2 parasites/ μ l grâce à cette technique.

Voilà pour les techniques de biologie moléculaire. Il existe aussi des techniques sérologiques indirectes ; on ne recherche pas le parasite mais les réactions immunitaires de l'hôte contre le parasite. En fait on va chercher les "cicatrices", c'est à dire les traces laissées par le paludisme même dans les cas où le parasite n'est plus présent. En zone d'endémie, ces techniques sérologiques ont un intérêt pour la surveillance épidémiologique et la recherche vaccinale. En zone non endémique, comme par exemple en Europe, la détection des anticorps a un intérêt diagnostic notamment pour assurer la sécurité des transfusions sanguines.

De plus en plus se développent de nouvelles techniques, notamment les techniques de micro array qui permettent de mettre en évidence une réaction biologique plus globale de l'hôte. Un tournant majeur vers l'avenir... A suivre !

Pour conclure, j'insiste et je vous rappelle qu'en cas de signes cliniques évoquant un cas de paludisme il faut impérativement se donner les moyens de poser un diagnostic biologique.

Le gold standard en la matière reste l'analyse microscopique: la goutte épaisse et le frottis mince.

Pour les zones rurales et l'auto-test le test de diagnostic rapide est la référence.

Les outils de biologie moléculaires sont les plus sensibles et les plus informatifs. Ils sont également les plus adaptés avec la sérologie pour le suivi épidémiologique.

Merci pour votre attention, le prochain épisode sera consacré aux traitements du paludisme.