

SOCIETES CORRESPONDANTES

Nouveaux outils diagnostiques en pédiatrie tropicale.

Réunion commune du Groupe de pédiatrie tropicale de la Société française de pédiatrie.

Jeudi 23 janvier 1997, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris.

Organisateurs : J. Badoual & B. Lagardère

Qu'attendre des sérologies parasitaires ?

M. Danis

Service de parasitologie-mycologie, CHU Pitié - Salpêtrière, Paris

L'immunodiagnostic parasitaire reste en 1997 un outil de diagnostic important pour certaines affections chez l'enfant comme chez l'adulte, mais dans les dernières années, les nouveautés ne sont ni nombreuses ni révolutionnaires. La progression des immunodépressions iatrogènes ou acquises a plutôt contribué à dévaloriser les performances des sérologies.

Deux axes de mise au point ou d'amélioration des techniques sérologiques ont été abordés : le premier concerne la détection classique des anticorps, avec le recours fréquent à deux techniques complémentaires, l'une sensible, l'autre spécifique. Le Western Blot ou immunempreinte constitue un progrès pour certaines affections (leishmaniose, cysticercose, toxoplasmose peut-être). Le second concerne la détection d'antigènes circulants pour lesquels les recherches sont multiples mais les applications opérationnelles en routine peu nombreuses : en dehors des antigènes fongiques (cryptocoques depuis longtemps, *Aspergillus* et *Candida* plus récemment), rien n'est véritablement au point en parasitologie.

L'outil immunologique fait l'objet de développement dans un autre domaine, non sérologique, du diagnostic biologique : celui de l'immunomarquage pour la détection spécifique de parasites dans les prélèvements divers (selles, LBA, LCR...) grâce à

des anticorps monoclonaux marqués par des fluorochromes : l'amibiase, la giardiase peuvent peut-être bénéficier de telles techniques lorsque l'on ne dispose pas de personnel entraîné au diagnostic parasitologique direct habituel, mais les avancées les plus probantes ont surtout porté sur le diagnostic des pneumocystoses, cryptosporidiose et toxoplasmose de l'immunodéprimé.

Au total, les méthodes d'immunodiagnostic, en parasitologie mycologie, tropicale ou non, restent des outils indispensables pour préciser une étiologie lorsque la clinique est trompeuse et le diagnostic direct impossible ou trop agressif pour le patient : rappelons que c'est le cas pour l'amibiase hépatique, les échinococcoses et les cysticercoses, les larva migrans viscérales, la toxoplasmose ; les trichinoses, bilharzioses et distomatoses en phase d'invasion ; les trypanosomoses et les leishmanioses viscérales souvent pauciparasitaires ; le paludisme viscéral évolutif, les poumons éosinophiles filariens et autres filarioses occultes. En mycologie, c'est dans la cryptococcose et l'histoplasmose que l'immunodiagnostic rend le plus de service.

Utilisation de la PCR dans le diagnostic des maladies parasitaires tropicales

J. Dupouy-Camet

Laboratoires de parasitologie-mycologie
CHU Cochin, 27, rue du Fbrg St-Jacques, 75014 PARIS

Le principe de la PCR a été décrit il y a une dizaine d'année et les premières applications à la parasitologie remontent aux années 90. Les premières applications

concernèrent surtout des parasites dont le diagnostic microscopique était délicat (car peu nombreux dans les prélèvements pathologiques) ou dont l'isolement par des cultures ou l'inoculation à l'animal était difficile ou le délai de réponse trop long. Ceci est le cas pour la toxoplasmose, la leishmaniose, la maladie de Chagas.

Dans le cadre de la toxoplasmose, la PCR peut remplacer avantageusement la culture cellulaire et l'inoculation à l'animal dans le diagnostic de la toxoplasmose congénitale (PCR du liquide amniotique) et dans le diagnostic de toxoplasmoses disséminées aiguës ou évoluant à bas bruit car décapitées par une prophylaxie chez des patients sidéens (PCR du sang).

La PCR est également très utile dans le diagnostic de la trypanosomose humaine américaine chez laquelle les parasitémiées sont très faibles et de mise en évidence difficile par des techniques classiques (goutte épaisse, inoculation à l'animal, xénodiagnostic).

Enfin, pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale, la PCR permet une recherche de parasites dans le sang de meilleure sensibilité que la recherche du parasite sur moelle osseuse.

En revanche, l'utilisation de la PCR pour le diagnostic d'autres parasitoses paraît discutable. Cette technique peut néanmoins être utilisée avec profit pour des études expérimentales (cinétiques de parasitémiées...). Dans le cas du paludisme, si la PCR rivalise en sensibilité et spécificité avec le frottis-goutte épaisse, son utilisation en routine se heurte à un coût trop élevé ; la PCR peut cependant servir à détecter des gènes de chimiorésistance et

le polymorphisme d'isolats parasitaires. Dans le cas de l'amibiase, la PCR peut être utilisée pour différencier les isolats pathogènes des isolats non pathogènes d'*Entamoeba histolytica*.

Bibliographie :

J. Weiss - DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1995, 8, 113 - 130.

Le diagnostic de la dengue et des arboviroses

A. Chippaux

Société de Pathologie exotique - Paris

Généralités

La dengue

C'est une arbovirose, un peu particulière pour au moins deux raisons.

- Elle est actuellement la plus importante en termes de santé publique, certainement en ce qui concerne la morbidité et peut-être aussi quant au nombre absolu de décès qu'elle engendre. En effet, on admet actuellement qu'il y a chaque année dans le monde entier environ 80 millions de cas et plusieurs milliers de décès, surtout chez les enfants.

- Bien que des cycles sauvages de dengue impliquant le singe aient été reconnus en Malaisie et surtout en Afrique de l'Ouest, la grande majorité des infections humaines ont lieu en milieu urbain avec l'être humain comme unique hôte vertébré sensible. La dengue n'est donc pas une zoonose franche comme la fièvre jaune ou l'encéphalite japonaise par exemple.

- On pourrait ajouter qu'on peut la rencontrer, au moins potentiellement, dans tous les continents, alors que la plupart des arbovirus sont géographiquement limités à une région plus ou moins étendue.

Les arboviroses

Le concept d'arbovirose est lui-même relativement original. En effet, les arbovirus constituent un vaste ensemble, virologiquement très hétérogène, aux propriétés épidémiologiques communes. Avant 1940, on connaissait 15 arbovirus pour la plupart pathogènes pour l'animal, et quelques-uns pour l'être humain. Actuellement, on en recense environ 500, appartenant à une douzaine de familles de virus différents.

L'OMS a proposé cette définition : virus principalement entretenus dans la nature par transmission biologique entre

des hôtes vertébrés, par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages. Chez ceux-ci, les arbovirus se multiplient et sont transmis par morsure ou piqûre de l'arthropode porteur du virus à des vertébrés réceptifs chez lesquels ils provoquent une virémie.

Environ 150 arbovirus ont une importance médicale plus ou moins grande en médecine humaine ou vétérinaire, alors que d'autres n'ont aucun caractère pathogène.

Les manifestations cliniques

Elles sont elles-mêmes extrêmement variées.

On décrit trois principaux syndromes :

- Polyalgies fébriles, avec ou sans érythème, et parfois adénopathie,
- Fièvres hémorragiques,
- Méningo-encéphalites

Des atteintes systémiques peuvent compliquer le tableau : hépatiques, rénales, cardiaques.

Un même virus peut provoquer plusieurs types de syndromes ; ceux-ci sont parfois imbriqués, les manifestations hémorragiques, ou méningo-encéphaliques pouvant apparaître d'emblée ou secondairement, après une phase d'amélioration clinique. Inversement, des arbovirus différents sont responsables de tableaux cliniques identiques.

Diagnostic des arboviroses

Ce que nous savons des caractères virologiques, des facteurs épidémiologiques et des manifestations cliniques explique la grande complexité du diagnostic d'une arbovirose si on ne dispose pas d'indices précis, épidémiologiques et cliniques.

Diagnostic d'orientation

L'anamnèse, les notions épidémiologiques recueillies et l'examen clinique permettent un diagnostic d'orientation, de préférence étayé par un examen sérologique, trop souvent le seul moyen possible à mettre en oeuvre ; encore faut-il disposer d'un laboratoire spécialisé car les antigènes ne sont pas commercialisés. On est aidé par l'existence de réactions croisées, exclusivement à l'intérieur du genre. Il faudra donc recourir à des "batteries" d'antigènes testant les différents arbovirus que l'on sait circuler dans la région considérée. Le laboratoire utilise donc

des batteries différentes selon les régions considérées.

A l'inverse, certains arbovirus ne disposent pas d'antigènes décelables par les techniques couramment utilisées en laboratoire. Celles-ci sont essentiellement l'inhibition d'hémagglutination (IHA) et l'ELISA (qui permet de distinguer IgM et IgG), l'immunofluorescence dans certains cas. La distinction entre IgM et IgG est indispensable car les IgM disparaissent assez rapidement alors que les IgG se maintiennent très longtemps.

La réaction de séro-neutralisation, plus compliquée, plus coûteuse et pratiquement impossible à réaliser en grande série est réservée à des cas exceptionnels et à l'identification d'un virus isolé. Cette réaction n'a d'ailleurs qu'une valeur relative car les anticorps neutralisants persistent souvent la vie entière.

En principe, deux sérums sont nécessaires pour évaluer l'apparition ou l'augmentation significative du titre des anticorps spécifiques (cinétique des anticorps). Le premier sérum sera prélevé le plus tôt possible au début de la maladie, avant l'apparition des anticorps ; la présence de ceux-ci signalerait alors une infection antérieure par le même virus ou un virus du même groupe sérologique.

Diagnostic de certitude

Il repose sur l'isolement et l'identification du virus. Deux facteurs en limitent la réalisation :

- La virémie est précoce (elle apparaît parfois avant le début des signes cliniques) et brève (un à deux jours), le virus est fragile aux conditions thermiques ; il faut donc disposer d'une bonne logistique et avoir des réflexes très rapides ;

- Les arbovirus sont isolés sur des systèmes variés. Aucun n'est universel et, pour améliorer les chances de réussite, il faut en utiliser plusieurs : souriceaux nouveau-nés, cellules de lignée continue, de préférence de moustiques, mais aussi de vertébrés (singes, hamsters), éventuellement moustiques d'élevage inoculés par voie intra-thoracique. Si on réussit l'isolement, il faut alors disposer de la batterie de virus de référence (ou de sérums de référence) pertinents pour assurer l'identification. Cela prend du temps et le coût est élevé.

Actuellement, on dispose dans certains cas privilégiés de l'amplification génomique liée à l'hybridation génomique (PCR). On peut aussi recourir à la détec-

tion des antigènes viraux, réalisable directement à la phase de virémie sans amplification. Ces techniques offrent les mêmes avantages de certitude virologique que l'isolement. Mais elles ne peuvent démontrer que l'infection par un virus précis et ne sont accessibles qu'à des laboratoires très spécialisés. La PCR a en outre l'avantage de ne pas être gênée par la thermosensibilité du virus ni par la brièveté de la virémie. Mais c'est une technique délicate à réaliser et coûteuse et on ne dispose de sondes que pour quelques virus seulement. La détection des antigènes viraux est rapide (1 h environ) et permet la détection d'immuno-complexes AG-IgM mais, comme l'isolement, elle est soumise aux contraintes de thermo-sensibilité relative et de présence de virémie.

Diagnostic de la dengue

Les virus de la dengue sont des *Flavivirus* (famille des *Flaviviridae*) voisins du virus amaril dont ils partagent certains vecteurs (*Aedes aegypti*). Ils comprennent 4 types antigéniquement très proches, mais distincts.

Classiquement, ils provoquent un syndrome fébrile algo-éruptif bénin. L'incubation dure 4 à 6 jours, le début est brutal avec fièvre à 39°-40°C, des céphalées, des arthralgies et myalgies disséminées, des douleurs abdominales, souvent des vomissements. Après une rémission brève et inconstante au 3ème - 4ème jour, on peut observer une reprise de la fièvre et des douleurs, souvent accompagnée d'une éruption fugace. La guérison survient habituellement au bout d'une huitaine de jours mais la convalescence est marquée par une très longue asthénie.

Connue depuis plus de 2 siècles en Asie et en Amérique, la dengue était considérée comme une maladie bénigne, rançon quasi-obligatoire du nouvel arrivant sous les tropiques, avec parfois des manifestations hémorragiques chez les expatriés, mais exceptionnelle dans la population native. Au début des années 50, on a observé chez les enfants, en Asie du sud-est, des épidémies de dengue hémorragique, avec des formes de plus en plus virulentes et la dengue est devenue dans cette région une des causes majeures de morbidité et de mortalité infantiles, en général dans un état de choc ; en l'absence de traitement (symptomatique), la létalité dépasse 15 % et peut atteindre 50 %.

Le diagnostic suit la même démarche que dans le cas des autres arbovirus : diagnostic sérologique d'orientation et diagnostic de certitude par l'isolement. L'isolement du virus est nécessaire pour préciser le type en cause, ce qui est indis-

pensable pour les études épidémiologiques. La PCR n'est pas utilisée en routine courante mais les laboratoires de référence disposent de sondes oligonucléotidiques spécifiques pour la réaliser.

Les méthodes de diagnostic du paludisme

F. Gay

Service de parasitologie - mycologie, CHU Pitié - Salpêtrière - Paris

Depuis la première observation faite par Alphonse LAVERAN en 1880, à l'état frais entre lame et lamelle, du mouvement des hématis sous l'effet de l'agitation de gamètes mâles de *Plasmodium vivax*, les méthodes de recherche, d'identification et de quantification des hématozoaires ont progressé et tout particulièrement ces dernières années.

Les différentes méthodes diagnostiques utilisées en infectiologie trouvent également leur application pour le paludisme : recherche directe des plasmodies par microscopie à lumière blanche après coloration (Giemsa), utilisation de fluorochromes pour une observation par fluorescence directe (QBC[®], Frottis Acridine Orange), détection d'antigènes spécifiques par immuno-capture (Parasight[®]), amplification génomique spécifique de genre ou d'espèce. Les sérologies spécifiques de genre (IFI) ou d'espèce (Co-électrosynérèse) constituent des méthodes de diagnostic indirect apportant des informations d'une autre nature.

Plusieurs critères d'évaluation sont à prendre en compte afin, d'une part de caractériser une technique de diagnostic du paludisme, d'autre part d'établir un algorithme d'utilisation de ces techniques qui soit adapté au contexte diagnostique. Les paramètres de validité intrinsèque que sont la sensibilité et la spécificité sont bien entendu incontournables. Ils supposent d'avoir établi une technique étalon de référence, étape qui peut nécessiter une étude de sensibilité absolue permettant de déterminer les seuils de détection pour chacune des techniques utilisées. Les paramètres de validité prédictive (Valeurs Prédictives Positive et Négative) font intervenir le contexte diagnostique (dépistage, diagnostic, type de population, niveau de risque) ; ils seront les seuls pris en compte par l'utilisateur qu'est le clinicien. Le potentiel discriminant entre espèces plasmodiales constitue un critère déterminant pour la prise en charge des patients ainsi que la capacité à quantifier la charge parasitaire. En effet, la

parasitémie au moment du diagnostic peut intervenir dans le choix de la prise en charge, tout comme son évolution sous traitement constitue l'un des critères majeurs d'appréciation de l'efficacité. Le caractère urgent qui doit présider à la démarche diagnostique devant une suspicion d'accès palustre rend essentiel le délai d'obtention des résultats qui représente un critère primordial d'appréciation. Enfin, à chaque contexte revient de juger du rapport coût-efficacité qui fait intervenir l'amortissement de l'équipement, les dépenses en consommables et le temps-personne utilisé.

D'autres paramètres biologiques peuvent contribuer au diagnostic comme la thrombopénie, l'hypertriglycéridémie et l'hypocholestérolémie en renforçant la présomption du paludisme.

Le sérodiagnostic trouve aujourd'hui essentiellement deux applications :

- sa contribution au diagnostic de paludisme viscéral évolutif,
- son rôle dans le dépistage en transfusion sanguine,
- et accessoirement sa possibilité d'orienter un diagnostic rétrospectif.

En matière de dépistage de masse (type sécurité transfusionnelle), l'amplification génomique ou réaction de polymérisation en chaîne (PCR) devrait à terme remplacer de façon plus rationnelle la détection d'anticorps circulants qui n'est actuellement qu'un pis-aller.

L'immunocapture d'antigène spécifique sur bandelette telle que proposée par le Parasight[®], qui n'a pas à ce jour reçu l'agrément, ne s'applique qu'à *P. falciparum* et présente une sensibilité moindre que celles de la goutte épaisse et du QBC qui ont été utilisés comme comparateurs. Son utilisation en auto-diagnostic ne pourrait concerner qu'une catégorie limitée de voyageurs. Son intérêt majeur réside dans l'affranchissement de tout ce qui fait la difficulté d'un diagnostic microscopique : équipement entretenu et personnel qualifié.

Restent trois techniques usuellement pratiquées dans le cadre du diagnostic direct. Ce sont le frottis sanguin mince (FS), la goutte épaisse (GE) et le QBC Malaria Test[®] (QBC) dont les avantages et les inconvénients les rendent complémentaires :

- La " reine " pour le diagnostic d'espèce reste le FS qui conserve l'intégrité à la fois du parasite et de l'hématie parasitée permettant de réunir l'ensemble des critères différenciant les espèces. En revanche, sa

sensibilité souvent insuffisante (environ 160 parasites/mm³) nécessite de disposer de l'une ou l'autre des deux autres techniques.

- La "compétition" entre la GE et le QBC porte sur la sensibilité, la rapidité, le coût et le niveau de perfectionnement de l'opérateur. Selon certaines études, la GE est légèrement plus sensible que le QBC, selon d'autres cet avantage est inversé. Elles détectent de l'ordre de 5 à 10 parasites/mm³. Le coût sensiblement plus élevé du QBC (10 à 20 FF pour le tube et l'amortissement du complément d'équipement) peut être compensé par une réduction importante du temps de réalisation et de lecture, ainsi que par le faible apprentissage nécessaire.

L'acridine orange, fluorochrome utilisé par le QBC, peut également être appliqué à un frottis mince. Cette technique du Frottis Acridine Orange (FAO) conjugue la plupart des avantages du FS (coût négligeable, vitesse de réalisation) et ceux du QBC (sensibilité élevée, lecture rapide, apprentissage réduit).

Certains résultats demandent une interprétation particulière :

- La présence de formes matures (schizontes, corps en rosace) de *P. falciparum* est plutôt de mauvais pronostic, parfois annonciateur d'une évolution vers la gravité.
- Dans le cadre du suivi parasitologique sous traitement, l'apparition de gamétocytes signe une souffrance des parasites et donc l'annonce de la guérison du patient.
- Il serait parfois utile de connaître le niveau de sensibilité de la souche plasmodiale en cause vis à vis des antipaludiques usuels afin de guider la thérapeutique. Si les contraintes techniques ne permettent pas de disposer de résultats immédiats qui puissent contribuer au choix du traitement de première intention, en revanche, ces résultats pouvant être disponibles au troisième jour peuvent intervenir dans l'éventuel traitement de deuxième intention.

Nouveaux parasites digestifs chez l'enfant immunocompétent en zone tropicale

J. Carrière, A. Datry & M. Danis

Service de parasitologie - mycologie, CHU Pitié - Salpêtrière - Paris

Les diarrhées infantiles sont communes en zone tropicale. Les agents infectieux responsables sont des protozoaires classiques : *Entamoeba histolytica*,

Giardia intestinalis et *Isospora belli* ou plus récemment décrits : *Cryptosporidium* sp., les microsporidies et *Cyclospora* sp.

Cryptosporidium sp., cosmopolite, a une prévalence plus élevée dans les pays en voie de développement (5 à 20 %) que dans les pays industrialisés (1 à 3 %), en particulier chez les enfants de moins de 2 ans, en milieu urbain pendant les saisons chaudes et humides.

La contamination est orofécale et l'enfant s'infeste en ingérant des oocystes sporulés de 4 à 6 µm de diamètre. La clinique se résume à une gastro-entérite, le plus souvent résolutive spontanément en 10 à 15 jours.

Le diagnostic biologique repose sur la visualisation des oocystes dans les prélèvements (selles, bile, liquide bronchiolo-alvéolaire) par des techniques spécifiques surtout colorimétriques, voire immunologiques. Les thérapeutiques sont peu opérantes et seule la paromomycine a montré une efficacité partielle en réduisant de façon significative la diarrhée sans tarir l'excrétion des oocystes.

Les microsporidies, protistes intracellulaires stricts, se rencontrent chez des hôtes multiples : protozoaires, invertébrés (insectes, crustacés) et vertébrés (poissons, mammifères). Deux genres ont un tropisme digestif chez l'homme : *Enterocytozoon* (*E. bienewisi*) et *Encephalitozoon* (*E. intestinalis*). Le cycle comporte une phase proliférante (mérogonie) et une phase disséminative (sporogonie). Les spores, formes de résistance et de dissémination, sont libérées dans les fèces.

La clinique est voisine de celle de la cryptosporidiose ; le mode de contamination n'est pas encore élucidé mais probablement identique à celui des coccidioses.

La pathologie est surtout décrite chez les patients immunodéprimés, en particulier chez les patients infectés par le VIH et à un stade avancé de leur infection ; les adultes immunocompétents semblent moins concernés et les cas décrits coïncident avec un voyage en zone tropicale. La prévalence chez l'enfant immunocompétent n'est pas clairement évaluée.

La recherche des spores est effectuée principalement dans les fèces mais aussi, dans les urines, le jetage nasal, le lavage bronchiolo-alvéolaire pour *E. intestinalis*. Des techniques de colorations spécifiques sont indispensables pour la mise en évidence des spores. La coloration trichromique objective des spores ovoïdes colorées en rose avec une vacuole

excentrée constante. Les spores d'*E. bienewisi* mesurent 0,9 à 1/1,3 à 1,5 µm ; celles d'*E. intestinalis* 1 à 1,3/2,3 à 2,6 µm. Le fluorochrome, UVITEX 2B, spécifique de la chitine, composant de la paroi sporale, permet de repérer aisément les spores par fluorescence.

Les techniques de PCR ont supplanté la microscopie électronique et permettent un diagnostic d'espèce précis.

L'albendazole s'est révélée active sur *E. intestinalis* et la fumagilline serait plus efficace sur *E. bienewisi*. Les nouvelles molécules antirétrovirales, les antiprotéases, permettraient une élimination de ces parasites en restaurant l'immunité.

Des épidémies de diarrhée avec présence dans les selles d'éléments ovoïdes non identifiés ont été signalées en Amérique du Sud et au Népal entre 1985 et 1990. Elles ont été attribuées initialement à des champignons, à des algues bleues en raison de leur autofluorescence, à des grandes cryptosporidies ou à des formes de *Blastocystis hominis*. ORTEGA (1993) a montré qu'elles sont dues à une nouvelle coccidie appartenant au genre *Cyclospora* : *C. cayetanensis*. *Cyclospora* sp. est présent dans de nombreuses régions tropicales (hormis l'Afrique) et dans les pays occidentaux. Les études de prévalence montrent des pourcentages de 2 à 18 % en milieu tropical (Pérou, Népal et Haïti) contre 0,1 à 0,5 dans les pays développés (E.U ou G.B) avec un important facteur saisonnier. La contamination serait essentiellement hydrique probablement précoce, dans la petite enfance en zone d'endémie.

Sur le plan clinique, le syndrome diarrhéique (3 à 10 selles par jour sans glaire ni sang), est assorti de crampes abdominales, de nausées, d'anorexie et de perte de poids (parfois > à 5 %) pendant 1 à 3 semaines chez l'immunocompétent.

Le diagnostic biologique est basé sur la détection dans les matières fécales d'oocystes de *Cyclospora* sp (8 à 10 µm de diamètre) par des techniques de concentration standard ou par des techniques de coloration comme le Ziehl-Neelsen modifié ; ils apparaissent autofluorescents sous UV (filtre d'excitation à 360 nm).

Le triméthoprime-sulfaméthoxazole (Cotrimoxazole®) est le médicament de choix dans le traitement de la cyclospore.

Le diagnostic actuel des leishmanioses viscérales

Piarroux R.

MCU-PH, Hôpital Jean Minjoz, Besançon

La leishmaniose viscérale est provoquée par des protozoaires flagellés du genre *Leishmania* : *L. infantum* (dans le pourtour méditerranéen, en Chine et en Afrique), *L. donovani* (principalement dans le nord de la péninsule indienne et en Afrique de l'est) et *L. chagasi* (en Amérique latine). Les cas diagnostiqués en France sont soit importés (principalement d'Afrique du Nord) soit contractés dans les foyers endémiques du sud-est du pays. Ils correspondent à deux populations pour lesquelles les tableaux cliniques et la démarche diagnostique doivent être différenciés : les jeunes enfants qui ne présentent pas en règle de pathologie immunodépressive et les adultes, généralement immunodéprimés (essentiellement les patients infectés par le VIH et les greffés).

Diagnostic clinique

Le diagnostic de cette affection est d'abord orienté par la clinique, la description effectuée depuis longtemps par Giraud et coll. reste valable pour la grande majorité des cas pédiatriques : " elle touche préférentiellement l'enfant d'âge préscolaire, avec un maximum entre un et trois ans. La manifestation initiale est un état fébrile : fièvre élevée et prolongée, fièvre irrégulière survenant par accès pluri-quotidiens, mais sans périodicité de type palustre. Cette " fièvre folle " peut évoluer vers des périodes de rémission partielle, sans disparaître totalement. Peu à peu se constitue, chez cet enfant fébrile, une splénomégalie qui va devenir la plus grosse des rates infantiles, débordant parfois vers la fosse iliaque droite.

L'hémogramme confirme l'importance de l'anémie, que la pâleur de plus en plus marquée de l'enfant, avait fait évoquer. A cette anémie, en règle normochrome, s'associe une leuconéutropénie et parfois une thrombopénie. Il existe un syndrome inflammatoire biologique, avec forte élévation du taux des gammaglobulines. D'autres signes cliniques peuvent être notés tels que des adénopathies, une hépatomégalie, un subictère ou un purpura thrombopénique.

Cependant il faut aussi savoir évoquer le diagnostic devant des tableaux cliniques plus trompeurs, surtout si l'on a affaire à des adultes ou à des patients immunodéprimés : certains signes peuvent manquer, d'autres peuvent orienter vers une fausse piste. Ainsi sur 47 cas de co-infection leishmaniose-sida, PETERS et coll. notaient l'absence de fièvre, de splénomégalie ou de pancytopenie dans 13 %, 16 % et 24 % des cas respectivement. D'un autre côté, de nombreuses formes cliniques atypiques ont été décrites : digestives (diarrhée avec ou sans malabsorption, oesophagite, gastrite), cutanées plus ou moins diffuses, pulmonaires ou pleuro-pulmonaires, hépatiques, laryngées voire même asymptomatiques.

Stratégie diagnostique

Chez l'enfant " immunocompétent " (ce terme n'étant qu'une approximation de la réalité), la stratégie diagnostique repose sur la recherche directe de leishmanies et sur les examens sérologiques. La recherche directe de leishmanies se fait classiquement à partir d'un prélèvement de moelle osseuse. Cette technique n'est cependant pas dénuée d'inconvénients : le prélèvement est douloureux, la lecture du frottis après coloration de May Grunwald Giemsa est délicate et manque de sensibilité. La culture des leishmanies est plus sensible mais nécessite un temps

assez long (une semaine à un mois), difficilement compatible avec les exigences du diagnostic clinique. Elle permet néanmoins d'isoler la souche et donc de tester sa sensibilité aux antimonies. Chez le sujet immunocompétent, la sérologie est à la fois sensible et spécifique lorsque l'on utilise des techniques performantes. Elle apporte ainsi des renseignements fiables qui permettent de détecter les cas non diagnostiqués par le prélèvement de moelle. Le diagnostic d'une leishmaniose chez le sujet immunocompétent repose donc sur le myélogramme, la myéloculture et la sérologie.

Les sujets immunodéprimés posent plus de problèmes diagnostiques. Pratiquement la moitié d'entre eux ne présentent pas d'anticorps détectables au moment du diagnostic. De plus, ils font des rechutes fréquentes qui ne s'accompagnent que rarement d'un rebond sérologique. Il est difficile d'effectuer chez ces sujets des prélèvements de moelle itératifs pourtant nécessaires pour améliorer la sensibilité de l'examen ou pour surveiller l'apparition d'une éventuelle rechute. C'est pourquoi, un effort a été mené pour mettre au point des techniques de détection à la fois sensibles et rapides comme celles reposant sur l'amplification spécifique d'un fragment de génome par PCR. Plus récemment, une autre approche a été développée. Elle consiste à effectuer la recherche de parasite à partir de prélèvements sanguins périphériques. L'utilisation d'une technique de concentration suivie d'un examen direct, d'une culture et d'une PCR permet maintenant d'obtenir, à partir d'une simple prise de sang, un diagnostic au moins aussi sensible qu'avec un prélèvement de moelle. Le diagnostic biologique de la leishmaniose du sujet immunodéprimé est donc plus difficile que chez le patient immunocompétent, mais les techniques modernes apportent maintenant d'incontestables progrès.