

Paludisme

1-Agent pathogène

Protozoaire : *Plasmodium*

Nombre d'espèces : cinq / pathologie humaine : *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*

Plasmodium falciparum : le plus répandu, résistant aux antipaludiques et responsable des formes cliniques potentiellement mortelles.

2- Cycle de *Plasmodium falciparum*

- ❑ 2 hôtes
- ❑ Inoculation des **sporozoïtes** à son hôte humain/ le moustique Anopheles femelle infestée par le paludisme
- ❑ Les sporozoïtes infestent les **cellules hépatiques**
- ❑ Les sporozoïtes se transforment en **schizontes** adultes qui se rompent et libèrent des **mérozoïtes**

Cette réplication initiale dans le foie est appelé **le cycle exo-érythrocytaire**

- ❖ Les mérozoïtes infestent les globules rouges
- ❖ Le parasite se multiplie alors de façon asexuée (le cycle dit **érythrocytaire**)
- ❖ Les mérozoïtes se développent en **trophozoïtes** annulaires. Certains se transforment en **schizontes** qui se rompent et libèrent des **mérozoïtes**.

Certains trophozoïtes se différencient en **gamétocytes**.

3. Clinique

- ❖ **Phase d'incubation silencieuse** : dure 1 semaine à quelques mois (cycle hépatique et premiers cycles érythrocytaires)
- ❖ **Phase d'invasion** : syndrome pseudo-grippal avec fièvre progressive et continue, myalgies, céphalées, courbatures, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, hépatomégalie
- ❖ **Phase d'état** : excès de fièvre intermittents, en principe rythmés par l'éclatement synchronisé des schizontes

L'apparition **d'une fièvre brutale, continue**, souvent accompagnée d'un **malaise général** avec **myalgies, céphalées**, et parfois **troubles digestifs**. + **Troubles de la conscience, Convulsions, Troubles du tonus** + **Signes neurologiques** associés à d'autres manifestations viscérales : **les reins, les poumons** (risque d'œdème pulmonaire), le foie ... une défaillance multiviscérale.

Le neuropaludisme est mortel en deux ou trois jours.

4. Diagnostic biologique

I. Diagnostic microscopique classique : frottis, goutte épaisse

1. Technique du frottis sanguin

2. Technique de la goutte épaisse

3. Etapes successives du diagnostic parasitologique

➤ Reconnaissance de l'hématozoaire par

- sa situation intraérythrocytaire (pour toutes les espèces, à tous les stades de leur évolution) ;

- les caractères généraux de la forme plasmodiale :

le cytoplasme très basophile (exception avec le gamétoocyte mâle souvent lilas ou rose),

le noyau : azurophile (rouge rubis ou grenat) - unique ou fragmenté,

les inclusions pigmentaires provenant du catabolisme de l'hémoglobine, l'hémozoïne ou pigment noir, de forme et d'abondance croissantes au cours de l'évolution du *Plasmodium*, non visible dans les trophozoïtes jeunes (sauf chez *Pl. malariae*), au max. dans les gamétoocytes.

➤ Détermination du stade évolutif du parasite

L'aspect du parasite varie en effet avec **l'espèce en cause** et avec son **stade d'évolution**.

Formes asexuées :

- **Trophozoïtes** : ce sont les formes les plus jeunes, mobiles, forme annulaire pour toutes les espèces. Aspect de bague à châton : anneau bleu, châton rouge, partie interne incolore (vésicule nutritive). Ces formes très jeunes sont sensiblement identiques pour toutes les espèces.
- **Schizontes** : formes parasitaires débutant au moment où la chromatine commence à se diviser. En vieillissant les schizontes perdent leur mobilité, augmentent de taille et subissent des divisions nucléaires. A maturité ils prennent la forme de rosaces.
- **Rosaces** : la rosace occupe la totalité de l'hématie parasitée. Les noyaux sont rejetés à la périphérie, le pigment parasite est ramassé en amas central. A maturité complète, l'hématie éclate et libère un nombre variable de mérozoïtes.
- **Mérozoïtes**. Ils sont de forme ovale ou arrondie ; ils possèdent un cytoplasme bleu et une masse de chromatine rouge ou violette après coloration (= noyau).

Formes sexuées (gamétocytes) :

Formes rondes ou ovalaires remplissant presque entièrement l'hématie. Ils se rencontrent plus tardivement que les formes asexuées. Leur diagnostic est important pour l'épidémiologie et la prophylaxie du paludisme.

- **Microgamétocytes (mâles)** : cytoplasme pâle, lilas ou rose. Les noyaux de *Pl.vivax*, *Pl. malariae* et *Pl. ovale*, sont en masses granuleuses colorées en rouge par le Giemsa.
- **Macrogamétocytes (femelles)** : cytoplasme bleu sombre. *Pl. vivax*, *Pl. ovale* et *Pl. malariae* : noyau dense, coloré en rouge par le Giemsa.

➤ Identification de l'espèce en cause

- Le **frottis mince** permet de mettre en évidence tous les **détails morphologiques du parasite** et de **l'hématie parasitée**.
- La **goutte épaisse** permet un **enrichissement important en parasites**, mais la lecture est plus difficile. Les parasites apparaissent plus petits, leurs couleurs sont plus vives, les contours sont moins réguliers ; les parasites sont libérés des hématies et donc fragilisés.

4. Diagnostique d'espèce

Plasmodium falciparum

✚ Frottis minces

Dans le **sang périphérique**, on ne trouve habituellement que **des trophozoïtes** de forme annulaire (le développement se poursuivant ensuite dans les capillaires profonds) **et des gamétocytes**.

- ✓ **Trophozoïtes jeunes** : aspect typique de bague à chignon, de petite taille, anneau très mince, taille 1/3 à 1/5 de l'hématie.

On observe souvent des formes à **2 noyaux pour un seul anneau** et **plusieurs parasites** dans une même hématie.

Après traitement on trouve souvent ces formes en périphérie de l'hématie, et dans certains cas le noyau rouge semble sortir de l'hématie.

- ✓ **Trophozoïtes plus âgés** : l'anneau bleu foncé du cytoplasme est plus élargi dans la partie opposée au noyau.

Les gamétocytes sont présents plus tardivement ou après traitement. Ils sont très typiques dans cette espèce : forme de croissant ou de banane, mais toujours intraérythrocytaire ; ils remplissent l'hématie dont il est souvent difficile de voir le contour.

- ❖ **Microgamétocyte** : cytoplasme lilas ou rose, forme trapue, extrémité arrondie, forme de banane - noyau coloré en rouge allongé - présence de grains de pigment noir assez dispersés dans le cytoplasme.
- ❖ **Macrogamétocyte** : cytoplasme bleu intense, forme plus élancée, en croissant. Noyau rouge condensé entouré de nombreux grains de pigment.

Aspect des hématies parasitées. Toutes les hématies, quel que soit leur âge, peuvent être parasitées. Elles sont de taille et d'aspect normaux, normochromes, parfois bleutées, avec un contour crénelé.

Aspect général du frottis.

Au cours des accès simples, le frottis est monotone constitué uniquement de trophozoïtes avec un polyparasitisme fréquent des hématies.

Lors des accès pernicieux, on constate un envahissement important des hématies par les trophozoïtes et souvent la présence de schizontes et de rosaces qui passent dans le sang périphérique. Les rosaces renferment de nombreux mérozoïtes (8 à 32), en général de 16 à 24. L'hématie garde une taille normale. Le problème de l'identification des accès pernicieux est particulièrement important, en raison de la sanction thérapeutique immédiate qu'elle doit entraîner. Il s'agit là de la seule mais **vraie urgence parasitologique**.

Pour *Plasmodium falciparum* il est indispensable de préciser l'intensité de l'infestation en calculant systématiquement le pourcentage d'hématies parasitées, ceci étant un des éléments de la prise en charge et du suivi du patient.

Goutte épaisse

Elle présente un intérêt dans les faibles infestations. C'est alors le *Plasmodium* le plus facile à reconnaître. On retrouve souvent **l'anneau complet du trophozoïte**, ou une partie seulement en raison de sa dislocation au moment de la technique (aspect en ailes d'oiseau, en point d'interrogation ou d'exclamation). Les trophozoïtes âgés conservent mieux leur cytologie, on retrouve l'anneau bleu et le noyau rouge. **Les gamétocytes sont en général intacts** et sont donc facilement reconnaissables.

II. Techniques indirectes de diagnostic

1. Sérologie

La technique la plus couramment utilisée est celle de **l'immunofluorescence indirecte en utilisant comme support des hématies parasitées**.

- ❖ Nécessite des réactifs (antiglobulines humaines...) + un microscope plus coûteux.
- ❖ Ne peut répondre à l'urgence du diagnostic :
 - le temps passé est long
 - un résultat négatif ne peut exclure un accès palustre.

La sérologie est surtout utilisée au plan épidémiologique et pour le diagnostic de certaines formes cliniques (paludisme viscéral évolutif), au cours duquel le taux d'anticorps est très élevé.

2. Recherche d'antigènes : tests de dépistage rapide TDR

Plusieurs **kits** sont commercialisés. Des **anticorps monoclonaux** dirigés contre ces enzymes sont fixés sur une bandelette de nitrocellulose ; après la mise en contact avec le sang, la présence de l'antigène est visualisée par action d'un deuxième anticorps révélateur.

La réponse est rapide (moins de 15 min), visuelle sous forme d'un trait sur la bandelette et elle ne nécessite pas de compétence particulière.

Actuellement, l'utilisation de ces tests tend à se généraliser mais comme **examen complémentaire en cas de doute diagnostique ou de traitement antipaludique préalable**.

3. Détection d'acides nucléiques spécifiques (P.C.R.)

- Technique la plus sensible mais qui
- Ne peut en aucun cas répondre au diagnostic d'urgence.
- Elle est très coûteuse, nécessite un équipement et une compétence très particuliers.
- Elle permet une différenciation de souches et on la réserve essentiellement à **l'étude des mutations** et des **gènes impliqués dans la résistance**.
- Les techniques de biologie moléculaire sont devenues indispensables au plan fondamental mais non utilisables pour le diagnostic biologique d'accès palustre. Elles pourraient éventuellement être utiles pour le contrôle des donneurs de sang.