

3 : LV ET EXAMENS DE LABORATOIRE

3.1 Comment réaliser la microscopie en vue du diagnostic parasitologique ?

Le mieux serait que les frottis effectués sur du liquide de ponction ou des biopsies (voir chapitre 2) en provenance de centres de santé publics ou de médecins de famille soient tous examinés le jour même de leur arrivée. Si les lames doivent attendre le lendemain, les conserver dans des récipients fermés, au sec et à température ambiante.

Si les frottis sont préparés au laboratoire, il faut les sécher rapidement (par exemple en frottant le dos de la lame avec un doigt pour chauffer légèrement le verre et éliminer l'humidité) et les fixer immédiatement avec du méthanol absolu (à 100 %) pendant une minute. Le méthanol doit être conservé dans des flacons fermés hermétiquement afin d'empêcher l'absorption d'eau.

Colorer les frottis au Giemsa en suivant les explications données à l'appendice 5.

Examiner les frottis colorés au Giemsa à l'objectif à immersion (100 X). Les amastigotes de *leishmania* apparaissent comme de très petits organismes arrondis d'environ 3 μm x 5 μm à l'intérieur ou à l'extérieur des phagocytes (macrophages). Chaque amastigote contient un noyau rouge violacé, un cinétoplaste plus petit de la même couleur dans une teinte plus accentuée et un cytoplasme bleu pâle. La présence du noyau et du cinétoplaste dans ces organismes (Dia 25, 26 et 27) constitue la caractéristique particulière à rechercher pour le diagnostic de la LV.

Chez 50 % des sujets fortement immunodéprimés, comme lors d'une **co-infection** avec le VIH, il arrive de trouver des amastigotes de leishmanies dans les frottis ou les gouttes épaisses de sang périphérique.

La sensibilité de l'examen parasitologique augmente souvent en inoculant, dans des conditions d'asepsie, un milieu de culture avec le produit de ponction ou le prélèvement de: biopsie, puis en examinant ce milieu plusieurs jours plus tard. [La préparation et l'inoculation du milieu de culture sont décrits à l'appendice 41. Cette méthode a l'inconvénient de ne pas donner de résultat immédiat. En outre, si le personnel du laboratoire n'est pas qualifié pour la préparation et l'inoculation des milieux de culture par du produit de ponction ou de biopsie, il y aura un risque élevé que les cultures soient contaminées par des bactéries ou des champignons. Les leishmanies croissent généralement en culture sous la forme de promastigotes libres et flagellés, bien qu'il arrive qu'elles se multiplient en grappes d'amastigotes (Appendice 4, dia 28).

3.2 Quels sont les signes hématologiques associés à la LV ?

L'hématocrite, le dosage de l'hémoglobine (Hb), la numération des leucocytes et le dosage des protéines sériques sont les analyses hématologiques utiles pour détecter les signes de LV.

Ces analyses indiquent :

L'anémie, en particulier pour les cas graves de LV.

La diminution du nombre des leucocytes (leucopénie), la numération totale pouvant descendre à $2,0 \times 10^9/l$.

L'augmentation des protéines sériques (Dia 29).

Il arrive que la vitesse de sédimentation globulaire (VSG) soit très élevée et que le nombre réduit de plaquettes (thrombopénie) allonge le temps de coagulation.

3.3 Quels sont les tests sérologiques utiles pour diagnostiquer la LV ?

Les tests sérologiques disponibles sont la formoleucogélification (test au formol) en tube ou sur lame (utile en l'absence d'autres tests), le test d'agglutination directe (DAT), la recherche d'anticorps par immunofluorescence indirecte (IFI) et le test immunoenzymatique par compétition (ELISA ou Dot-ELISA). La description complète de ces tests figure aux appendices 6 (formoleucogélification), 7 (agglutination directe), 8 (IFI) et 9 (ELISA) (Dia 30, 31, 32 et 33).

Il est possible de réaliser la formoleucogélification et l'agglutination directe (si l'on dispose d'une source fiable et standardisée d'antigènes) dans les centres de soins de santé primaires en dehors d'un laboratoire. En revanche, IFI et ELISA nécessitent des installations de laboratoire et un équipement plus perfectionné, bien qu'un test ELISA rapide et des bandelettes réactives soient en cours de mise au point pour l'utilisation dans les centres de soins de santé primaires ou à domicile.

3.4 Quelles sont les méthodes emulovées pour suivre les patients après traitement ?

Pour les sujets qui ne présentent pas d'amélioration clinique et/ou hématologique ou font une rechute, recommencer les analyses parasitologiques pour déterminer si les leishmanies sont toujours présentes. Les patients à parasitologie positive nécessitent un traitement, éventuellement avec une modification du schéma thérapeutique ou avec un médicament de seconde intention ou une association de médicaments (voir chapitre 4).

Pour les sujets dont l'état clinique s'est bien amélioré, l'intradermoréaction positive à la leishmanine donne la confirmation de la guérison (Montenegro ; appendice 10, dia 34).

3.5 **Quel est le minimum d'équipement et de services requis pour les analyses de laboratoire ?**

Pour l'examen microscopique des frottis colorés : microscope avec un objectif à immersion (50 X ou 100 X), lames de microscope, cuves de coloration, seringues (10 ou 20 ml), aiguilles, chlorure de sodium, phosphate disodique, colorant de Giemsa. La description du reste du matériel et des équipements pour les analyses parasitologiques, hématologiques et sérologiques figure aux appendices 4 à 10.