

LA LEISHMANIOSE MÉDITERRANÉENNE DUE À *LEISHMANIA INFANTUM* MISE AU POINT - INTÉRÊTS DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE: IT-LEISH®* ET ID-PAGIA LEISHMANIASIS®*

P. MARTY, P. DELAUNAY, C. FISSORE, Y. LE FICHOX

* ID-PAGIA Leishmaniasis® and IT-Leish®: Diamed AG, Cressier sur Morat, Suisse

Med Trop 2007 ; 67 : 79-85

RÉSUMÉ • Les auteurs proposent une mise au point sur la leishmaniose méditerranéenne due à *Leishmania infantum* chez l'homme et son réservoir le chien. Ils insistent sur le diagnostic biologique de la leishmaniose viscérale méditerranéenne (LVM) chez l'homme. Ils complètent cet article par l'étude de deux tests rapides pour le diagnostic des leishmanioses humaines en les comparant à l'immunofluorescence indirecte et au Western blot. Ils démontrent, toutes populations confondues (patients immunodéprimés ou non), une sensibilité variant de 54 % à 97 % selon le test utilisé, une spécificité à 97 %, une valeur prédictive positive variant de 75 % à 89 % et une valeur prédictive négative autour de 95 % pour les deux tests. Pour le diagnostic des leishmanioses cutanées, la positivité de ces tests dans un cas sur 2 permet de souligner l'utilité de la valeur prédictive d'un résultat positif.

MOTS-CLÉS • Leishmaniose - *Leishmania infantum* - Diagnostic - Sérologie test rapide - Antigène rK39.

MEDITERRANEAN LEISHMANIASIS CAUSED BY *LEISHMANIA INFANTUM*. UPDATE ON THE UTILITY OF THE IT-LEISH® AND ID-PAGIA® LEISHMANIASIS TESTS

ABSTRACT • The purpose of this article is to update information about Mediterranean leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in man and about the canine reservoir. Special emphasis is placed on laboratory diagnosis tests for Mediterranean visceral leishmaniasis (MVL) in humans. In addition two rapid diagnostic tests for human leishmaniasis are compared based on indirect immunofluorescence and Western blot. Findings show that the overall sensitivity of the two tests in immunocompetent and immunodepressed patients ranged from 54% to 97%, a specificity of 97 %, with positive predictive value ranging from 75 % to 97 % and a negative predictive value of around 95%. For diagnosis of cutaneous leishmaniasis, positivity of these tests in one case out of 2 underscores the predictive value of a positive test.

KEY WORDS • Leishmaniasis - *Leishmania infantum* - Diagnosis - Rapid diagnostic test - rK39 antigen.

Protozoaires flagellés affectant de nombreuses espèces de mammifères domestiques et sauvages, les *Leishmania* se transmettent par la piqûre d'un petit diptère vecteur : le phlébotome femelle. Les leishmanioses humaines sont présentes dans 88 pays avec une incidence annuelle de 2 millions de cas. La population à risque est estimée à 350 millions et la prévalence est de 12 millions (1-3). Les leishmanioses humaines sont dues à une vingtaine d'espèces du genre

Leishmania. Parmi celles-ci seulement trois sont présentes dans les régions méditerranéennes : *Leishmania major* et *L. tropica* agents de formes cutanées et *Leishmania infantum* responsable de formes viscérales mais aussi cutanées.

LES LEISHMANIOSES DUES À *LEISHMANIA INFANTUM* : MISE AU POINT

Le parasite responsable des leishmanioses contractées dans le Sud de l'Europe occidentale, est dans tous les cas *Leishmania infantum* (identifié pour la première fois par Charles Nicolle en 1908 à l'Institut Pasteur de Tunis). Ceci peut être affirmé grâce à la caractérisation biochimique des souches par électrophorèse des isoenzymes, base de la taxonomie moderne des *Leishmania* (4). La leishmaniose humaine due à *L. infantum* s'observe de façon sporadique sur tout le pourtour du bassin méditerranéen. Les cas humains, principalement viscéraux, sont originaires des foyers de leishmaniose canine. C'est une zoonose. La principale victime de

• Travail du Service de parasitologie-mycologie (P.M., Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier; P.D., Praticien Hospitalier; Y.L.F., Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Chef de service,), CHU de Nice et Equipe de Recherche sur les Leishmanioses, Faculté de Médecine de Nice, du Laboratoire de Biologie (C.F., Chef de service), Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco.

• Correspondance : P. MARTY, Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Hôpital de l'Archet, BP 3079 06202 Nice Cédex 3 • Fax : 04 92 03 62 58

• Courriel : marty.p@chu-nice.fr

• Article sollicité.

Leishmania infantum est le chien domestique qui est aussi le réservoir en hébergeant les leishmanies dans le derme. Dans le Sud de l'Europe, *Leishmania infantum* a été isolé chez le rat noir, le chat et le renard mais le rôle de ces animaux dans l'épidémiologie de cette zoonose n'a pas été totalement expliqué (5-7). Le Midi de la France constitue un territoire d'enzootie canine du niveau de la mer jusqu'à 800 m d'altitude où se développent en période estivale les phlébotomes vecteurs dont l'activité est vespéro-nocturne. Dans les Alpes-Maritimes, il s'agit de *Phlebotomus perniciosus* en zone péri-urbaine et *Phlebotomus ariasi* en zone rurale (8).

Le parasite se trouve dans les cellules mononucléées de l'hôte vertébré sous forme amastigote. Il est prélevé lors du repas sanguin du phlébotome puis est transformé en forme promastigote dans le tube digestif de l'insecte avant d'être inoculé à un nouvel hôte. *Leishmania infantum* est un parasite opportuniste (9). Des formes inapparentes avec portage asymptomatique ont été mises en évidence chez des donneurs de sang qui habitent les foyers d'endémie (10). Récemment, des toxicomanes par voie intraveineuse ont été signalés comme réservoirs potentiels de *Leishmania infantum* (11, 12). En fait, chez un homme contaminé, plusieurs facteurs de risque interviendraient, de façon isolée ou concomitante, pour le développement de la maladie : prédisposition génétique, immunodépression acquise ou iatrogène, quantité de parasites inoculée, virulence de la souche...

LA LEISHMANIOSE CANINE

Il est extrêmement difficile de recenser de façon exhaustive le nombre de chiens malades de leishmaniose sur un territoire. On peut tout simplement dire que le nombre de cas augmente mais le nombre de chiens aussi... Par contre, ces dernières années plusieurs faits ont été soulignés :

- le dépistage sérologique par les techniques classiques (IFI, ELISA), au cours d'enquêtes prospectives en zones d'enzootie, révèle qu'un chien séropositif sur deux est asymptomatique. Il n'y a pas de différence significative selon l'âge, le sexe ou la race (13);

- la mise au point de techniques sérologiques plus sensibles comme le Western blot (14) permet de différencier des profils de chiens malades, de chiens porteurs asymptomatiques ou contacts et de chiens sains;

- l'intérêt de la PCR pour identifier les chiens porteurs asymptomatiques a été démontré en particulier par des auteurs marseillais; chez des chiens asymptomatiques et séro-négatifs en ELISA, vivant en zone d'enzootie, ils détectent de l'ADN de *Leishmania infantum* dans la peau et/ou la conjonctive oculaire de 80% des individus (15);

- après piqûre de phlébotomes infestés deux types d'évolution de l'infection seraient possibles chez les chiens (16). Les chiens A développent la maladie après une période plus ou moins longue de séropositivité. Les chiens B sont des asymptomatiques séropositifs qui guérissent spontanément et négativent leur sérologie. Les chiens A participeraient à la transmission, les chiens B ne joueraient aucun rôle épidémiologique; des résultats d'études en cours seraient en faveur

d'une susceptibilité génétique de certains chiens (et non pas de race de chiens) au développement de la maladie. Pour réduire la transmission on pourrait envisager de ne pas faire se reproduire les chiens susceptibles...;

- les chiens séropositifs asymptomatiques infectent des phlébotomes d'élevage (17);

- chez les chiens, l'institution d'une chimiothérapie, avant la saison des phlébotomes réduirait la transmission (18), tout comme le port de colliers imprégnés de deltaméthrine pendant toute la saison de transmission (19).

LA LEISHMANIOSE HUMAINE

La leishmaniose cutanée due à *Leishmania infantum*, lésion la plus souvent unique et localisée au point de piqûre du phlébotome, est rarement diagnostiquée puisqu'elle guérit en général spontanément. De plus chez le sujet immunocompétent, il n'a jamais été décrit de viscéralisation secondaire (20).

Dans la Leishmaniose viscérale méditerranéenne (LVM) classique de l'enfant de moins de 3 ans on observe une triade clinique plus ou moins prononcée. On note une fièvre irrégulière, persistante plusieurs semaines, une pâleur « vieille cire » témoin clinique de l'anémie, une splénomégalie homogène, parfois associée à une hépatomégalie. Dans les LVM de l'adulte, de plus en plus fréquentes (environ 2/3 des cas) cette triade est moins constante. Dans la moitié de ces cas on retrouve une immunodépression permanente : co-infections avec le VIH ou thérapeutique immunosuppressive (21).

Le nombre de cas de LVM autochtones observés en France peut être estimé à une quarantaine par an. Curieusement cette maladie, mortelle si non traitée, ne fait pas l'objet d'une déclaration obligatoire. Des études rapportent des cas cumulés dans différentes régions : 123 cas en Cévennes de 1933 à 1994 (22), 152 cas dans les Alpes-Maritimes de 1975 à 2000 (21, 23). Les incidences annuelles moyennes (cas pour 100 000 habitants) sont en augmentation comme le montrent les résultats des Cévennes : de 0,04 (1933-1972) à 0,24 (1973-1993) ou des Alpes-Maritimes : de 0,23 (1975-1985) à 0,6 (1986-1996).

Jusqu'à la fin des années 1970, la LVM dans le Sud de l'Europe était majoritaire chez le petit enfant de 1 à 3 ans ce qui est toujours vrai dans le Maghreb où 90 % des cas sont pédiatriques réalisant le classique kala-azar méditerranéen infantile (24). Des cas, de plus en plus nombreux, sont observés chez des sujets adultes immunodéprimés ou non. Depuis les années 80, la LVM est devenue une maladie émergente dans le Sud-Ouest de l'Europe (Portugal, Espagne, France, Italie) où près de 1500 cas de co-infections VIH-Leishmania ont été rapportés. Il s'agit en général de formes multiviscérales disséminées répondant mal à la thérapeutique. La LVM due à *Leishmania infantum* s'est imposée comme une maladie opportuniste de primo-infection ou de réactivation (25). Chez les malades co-infectés par le VIH des souches habituellement dermatotropes peuvent se viscéraliser (26, 27).

DIAGNOSTIC LA LVM DUE À LEISHMANIA INFANTUM

Les prélèvements

- *Prélèvement de sang périphérique*

Dans un premier temps un prélèvement de sang périphérique peut suffire pour faire le diagnostic. Deux tubes seront prélevés, l'un sans anticoagulant est destiné à obtenir du sérum ; une très forte présomption diagnostique reposant sur la positivité de la sérologie. L'autre tube contiendra un anticoagulant, de préférence du citrate de Na. Il est destiné à la recherche des formes amastigotes par leucocytocentrifugation (LCC), à la culture du sang sur milieu spécial et à la biologie moléculaire.

- *Prélèvement de moelle osseuse*

Classiquement, le diagnostic de certitude nécessitera un prélèvement de moelle osseuse pratiqué au niveau du sternum chez l'adulte et de la crête iliaque chez l'enfant. Il est conseillé de conserver la moelle dans un tube contenant du citrate de Na permettant la réalisation différée des frottis, de la mise en culture et de la PCR.

- *Prélèvements divers*

Des biopsies digestives ou cutanées ainsi que des lavages broncho-alvéolaires sont à l'origine d'un diagnostic fortuit ou de localisations inhabituelles chez 30% des malades séropositifs pour le VIH (28). Dans tous les cas, ces prélèvements ne devront pas être fixés mais conservés dans une petite quantité de sérum physiologique pour éviter la dessiccation.

Le diagnostic biologique

- *Diagnostic non spécifique*

Les signes biologiques d'orientation sont une tricytopenie plus ou moins prononcée associant anémie, leucopenie et thrombopénie avec un syndrome inflammatoire: vitesse de sédimentation globulaire très accélérée, hyperprotidémie et hypergammaglobulinémie polyclonale.

- *Diagnostic spécifique indirect*

Il est sérologique. La technique de référence reste l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur promastigotes de culture. Le seuil de positivité varie du 1/100 au 1/160. Des réactions croisées, à l'origine de faux positifs, sont observées avec les trypanosomoses et le paludisme ainsi qu'avec les maladies de système (29). L'IFI est de plus en plus supplantée par les techniques ELISA automatisées dont la spécificité et la sensibilité varient beaucoup selon les antigènes utilisés. Le DAT (test d'agglutination directe de promastigotes formolés) qui est peu coûteux et qui ne nécessite pas de matériel sophistiqué est de plus en plus utilisé sur le terrain tout comme les tests rapides immunochromatographiques (dipstick) utilisant des bandelettes sensibilisées par une protéine antigénique recombinante (30-33). Parmi les techniques de terrain, un test recherchant une antigénurie est en cours de développement (34, 35). L'immunoempreinte ou Western blot (WB), très sen-

sible et très spécifique, permettant de différencier des profils de sujets malades et de porteurs asymptomatiques est un test de confirmation réservé à des laboratoires spécialisés (36, 37, 38)

- *Diagnostic spécifique direct*

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence des formes amastigotes au microscope. Le frottis médullaire est coloré au May-Grünwald-Giemsa. Pour le sang périphérique, une leucocytocentrifugation avec concentration (39) est réalisée avec toutefois plus de chance de visualiser des formes amastigotes si le malade est particulièrement immunodéprimé. Au microscope, les parasites se présentent sous formes amastigotes en position typiquement intramacrophagique mais plus souvent extracellulaire. Leur petite taille (2 à 5µm) et l'appariement d'un noyau rond ou ovalaire, pourpre et d'un kinétoplaste punctiforme ou bacilliforme, pourpre plus foncé, est typique. La mise en culture sur des milieux spéciaux (NNN, milieu de Schneider) permet d'obtenir des formes promastigotes mobiles avec un flagelle antérieur (10 à 25µm) en général en moins de 7 jours. C'est la culture qui permettra le diagnostic spécifique par la caractérisation biochimique des isolats.

La détection et l'amplification de l'ADN parasitaire par PCR sur la moelle osseuse, sur le sang ou même sur le sérum (40) contribuent au diagnostic. Son intérêt réside aussi dans le suivi thérapeutique et la détection des rechutes chez l'immunodéprimé (41, 42).

L'interprétation des résultats biologiques

Devant un tableau bioclinique évocateur, la positivité de la sérologie permet une très forte présomption. Quelques réactions croisées responsables de faux positifs existent mais l'obtention du profil spécifique en immuno-empreinte permet de lever le doute. Les faux négatifs sérologiques ne sont observés que chez les malades très immunodéprimés. Par contre, chez ceux-ci il est aisé de mettre en évidence des parasites dans le sang périphérique. Le diagnostic de LVM, très fortement suspecté par la positivité de la sérologie spécifique, est confirmé par la mise en évidence du parasite (ou de son ADN) dans le sang périphérique ou dans la moelle osseuse. La culture de ces prélèvements sur des milieux spéciaux permettra, par caractérisation biochimique, le diagnostic spécifique.

De grands progrès ont été réalisés dans le domaine de la thérapeutique. Les antimoniés pentavalents (Glucantime®, Pentostam®) en injection intramusculaire pendant 28 jours sont supplantés par l'amphotéricine B sous forme liposomale (AmBisome®). Celle-ci, de coût élevé, est plus confortable pour le patient. En fait, la guérison est obtenue après 5 perfusions quotidiennes à 4 mg/kg et une perfusion supplémentaire au 10^e jour à la même posologie (43). Enfin, chez les sujets co-infectés par le VIH, l'efficacité du traitement dépendrait en grande partie de la restauration de l'immunité (44, 45).

**PLACE DES TESTS RAPIDES IT-LEISH® ET ID-PAGIA
LEISHMANIASIS® DANS LE DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE
DUE À *L. infantum***

Matériels et méthodes

• *Patients et sérums*

Au Centre hospitalier universitaire de Nice, 268 sérums ont été issus de la sérothèque du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, provenant de :

- 87 individus contacts vivant dans les foyers de leishmaniose du département des Alpes-Maritimes (sujets présentant une intradermoréaction à la leishmanine positive et/ou un Western blot positif dans le sérum avec détection d'anticorps anti 14 et/ ou 18 kDa);

- 100 individus non contacts vivant dans les foyers de leishmaniose du département du Alpes-Maritimes (sujets présentant une intradermoréaction à la leishmanine négative et/ou un Western blot négatif);

- 34 malades séronégatifs pour le VIH présentant une LVM due à *L. infantum* prélevés au moment du primo-diagnostic (mise en évidence de formes amastigotes dans la moelle osseuse et/ou le sang périphérique);

- 28 malades séropositifs pour le VIH présentant une LVM due à *L. infantum* prélevés au moment du primo-diagnostic (mise en évidence de formes amastigotes dans la moelle osseuse et/ou le sang périphérique);

- 19 malades présentant une LC due à *L. infantum*, *L. major* ou *L. guyanensis* prélevés au moment du primo-diagnostic (mise en évidence de formes amastigotes dans la peau).

• *ID-PaGIA Leishmaniasis antibody test®*

Ce test est basé sur le principe de l'agglutination. Des particules de gel de haute densité sont sensibilisées avec de l'Ag rK39. Une protéine recombinante spécifique du complexe *Leishmania donovani* est mélangée avec du sérum ou du plasma de patient et centrifugé à travers le gel de filtration. Ce gel se présente en microtubes individuels sous forme d'ID-Cards (Fig. 1). Lors d'une réaction positive les particules agglutinées restent sous forme d'une ligne rouge à la surface du gel. Lors d'une réaction négative les particules non

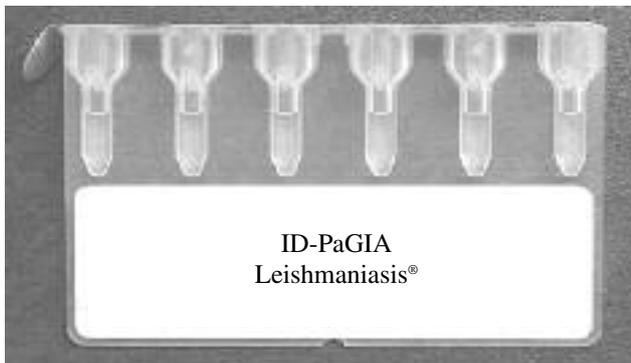


Figure 1 - ID-PaGIA Leishmaniasis®.

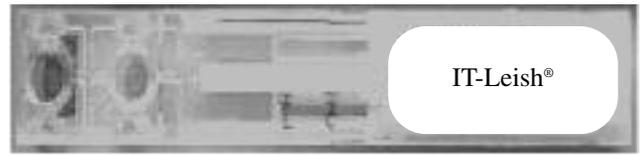


Figure 2 - IT-Leish antibody test®.

agglutinées forment un amas rouge au fond du microtube. L'analyse se déroule en 15 mn : 5 mn d'incubation à température ambiante (sérum + protéine recombinante) puis 10 mn de centrifugation.

• *IT-Leish®*

Ce test immuno-chromatographique utilise une bandelette sensibilisée par l'antigène recombinant rK39 (Fig. 2). Le sérum, le plasma ou le sang total sont déposés dans un puit contenant un conjugué standard. Les anticorps du patient captés par ce conjugué réagissent avec l'Ag rK39 présent sur la bandelette. Lors d'une réaction positive un trait noir apparaît sur la bandelette couplé à un second très noir, le contrôle de la réaction. Lors d'une réaction négative, seul le second trait noir de contrôle apparaît. L'analyse se déroule en 10-20 mn : une minute d'incubation, 5-10 minutes de migration du sérum, 5-10 minutes de lavage par migration.

Résultats et discussion

Tous les résultats sont présentés dans les tableaux I à IV. La sérologie par WB reste l'analyse la plus performante et la plus informative car elle permet de différencier le sujet séronégatif, le sujet contact asymptomatique et le patient présentant une LVM patente.

Dans la population des séronégatifs pour le VIH (Tableau II), l'IT-Leish® et l>ID-PaGIA® ont une sensibilité identique de 97 % supérieure à l'IFI (91 %). La valeur prédictive positive (VPP) de l'IT-Leish® (89 %) est supérieure à celle de l>ID-PaGIA® (75 %). Quatre études utilisent d'autres tests rapides de type dipstick sensibilisés avec le même antigène rK39 (31, 32, 33, 46). Réalisées au Népal, au Brésil et en Italie, elles donnent des résultats avec des sensibilités variant de 85 % à 100 % et des spécificités de 71 % à 100 %. Dans l'étude italienne (*L. infantum*), portant sur seulement 11 sérums de LVM au moment du diagnostic les sensibilités et spécificités sont même de 100 % (32). Dans l'étude brésilienne, portant sur 21 sérums au moment du primo-diagnostic de LV une spécificité de 82 % et une sensibilité de 85,7 % sont trouvées (31). Enfin, pour les deux études faites au Népal (*L. donovani*), dans l'une sur 139 LV, une spécificité et une sensibilité de 71 % et 97 % sont rapportées; dans la seconde étude, sur 14 patients, montre une sensibilité et une spécificité de 100 % (33, 46). A noter que dans aucune de ces 4 études, ne sont calculées les VPP et les valeurs prédictives négatives (VPN). Concernant les études réalisées avec la trousse IT-Leish®, RITMEIJER (47), chez des patients du Soudan (*L. donovani*), obtient une sensibilité de 90 % et une spécificité de 99 % et Sundar (48, 49, 50), chez des patients indiens (*L. donovani*), obtient 99 % de sensibilité et 95 % de spécificité. Ces chiffres sont tout à fait comparables aux nôtres. Pour notre étude sur l>ID-PaGIA®,

il est surprenant d'obtenir une positivité de 11 % pour le groupe des sujets contacts (Tableau I). Mais, des réactions positives de sujets en zone d'endémie peuvent aussi indiquer une infection sub-latente sans développement de la maladie ce qui peut être démontré par la positivité de la PCR ou de la culture du parasite (10, 11, 12). Par ailleurs, OTRANTO démontre la persistance des Ac détectés par l'Ag rK39 plus de 24 mois après succès thérapeutique (51).

Dans la population des séropositifs pour le VIH (Tableau III) : la sensibilité de l'IT-Leish® (54 %) est la plus faible ; celle de l>ID-PaGIA® (71 %) se situe entre celle obtenue avec le WB (64 %) et l'IFI (86 %). Nos pourcentages sont comparables à ceux de la littérature (11, 31, 52).

Malheureusement, peu d'études portent sur le diagnostic sérologique utilisant des tests rapides avec l'Ag rK39 chez des patients co-infectés par le VIH. L'intérêt de ces tests réside surtout dans les excellentes VPN à 93 et 95 %. En moins de 30 mn, un résultat négatif permet de s'orienter vers d'autres étiologies.

Dans la population des leishmanioses cutanées (Tableau IV), l'étude de ces deux tests n'a jamais été rapportée. L>ID-PaGIA® a une sensibilité plus élevée que l'IFI (52 % contre 42 %). De plus, la VPN de l'IT-Leish® et de l>ID-PaGIA® de l'ordre de 94 % permet d'exclure rapidement une étiologie leishmanienne devant une lésion cutanée évocatrice.

Tableau I - Résultats bruts de quatre tests sérologiques de la LVM chez des patients VIH et non VIH..

		IT-Leish® positif	ID-PaGIA positif	IFI positif	WB positif
Malades	LVM - VIH- n = 34	97 % n = 33	97 % n = 33	91 % n = 31	100 % n = 34
	LVM - VIH+ n = 28	54 % n = 15	71 % n = 20	87 % n = 24	100 % n = 18
	Leish cutanée n = 19	26 % n = 5	53 % n = 10	42 % n = 8	53 % profil complet n = 17
Non malades	Sujets contacts n = 87	5 % n = 4	11 % n = 10	2 % n = 2	2 % profil de malade 98 % profil de contact
	Sujets non contacts n = 100	0 % n = 0	1 % n = 1	0 % n = 0	0 % n = 0

Tableau II - Sensibilités, Spécificités, Valeurs Prédictives Positives (VPP), et Valeurs Prédictives Négatives (VPN) de quatre tests sérologiques de la LVM chez des patients non VIH.

Patients non VIH	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
IT-Leish®	97 %	98 %	89 %	94 %
ID-PaGIA®	97 %	94 %	75 %	99 %
IFI	91 %	99 %	94 %	98 %
WB	100 %	99 %	95 %	100 %

Tableau III - Sensibilités, Spécificités, Valeurs Prédictives Positives (VPP), et Valeurs Prédictives Négatives (VPN) de quatre tests sérologiques de la LVM chez des patients VIH.

Patients VIH	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
IT-Leish®	54 %	98 %	79 %	93 %
ID-PaGIA®	71 %	94 %	64 %	95 %
IFI	86 %	99 %	92 %	98 %
WB	64 %	99 %	90 %	95 %

Tableau IV - Sensibilités, Spécificités, Valeurs Prédictives Positives (VPP), et Valeurs Prédictives Négatives (VPN) de quatre tests sérologiques de Leishmanioses cutanées chez des patients non VIH.

Patients Leish cutanée	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
IT-Leish®	26 %	97 %	56 %	93 %
ID-PaGIA®	52 %	94 %	48 %	95 %
IFI	42 %	99 %	80 %	94 %
WB	94 %	99 %	89 %	99 %

Conclusion

La LVM due à *Leishmania infantum* est une maladie sporadique peu fréquente et méconnue chez l'homme dans les pays du bassin méditerranéen. La triade clinique (fièvre, pâleur et splénomégalie) et la classique tricytopenie sont inconstantes en particulier chez les malades immunodéprimés. Cette maladie bien connue des vétérinaires est parfois oubliée par les médecins praticiens. De ce fait, les tests rapides ID-PaGIA Leishmaniasis® et IT-Leish® peuvent être proposés en première ligne devant des tableaux cliniques évocateurs en raison des excellentes sensibilités, spécificités, valeurs prédictives positives et négatives obtenues dans cette étude réalisée en zone d'endémie.

RÉFÉRENCES

- 1 - DESJEUX P - Leishmaniasis : Public health aspects and control. *Clin Dermatol* 1996; **14** : 417-23.
- 2 - DEDET JP - Leishmaniasis, Leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. Encyclopédie Médico-chirurgicale (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8-506-A-10, 2001.
- 3 - DESJEUX P - The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; **95** : 239-43.
- 4 - RIOUX JA, LANOTTE G, SERRES E *et Coll* - Taxonomy of Leishmania. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Ann Parasitol Hum Comp* 1990; **65** : 111-25.
- 5 - GRADONI L, POZIO E, GRAMICCIA M *et Coll* - Leishmaniasis in Tuscany (Italy) : VII. Studies on the role of the black rat, *Rattus rattus* in the epidemiology of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; **77** : 427-31.
- 6 - OZON C, MARTY P, PRATLONG F *et Coll* - Disseminated feline leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Southern France. *Vet Parasitol* 1998; **75** : 273-7.
- 7 - CRIADO-FORNELIO A, GUTTIEREZ-GARCIA L, RODRIGUEZ-CAABEIRO F *et Coll* - A parasitological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the province of Guadalajara, Spain. *Vet Parasitol* 2000; **92** : 245-51.
- 8 - MARTY P, OZON C, RAHAL A *et Coll* - Leishmanioses dans les Alpes-Maritimes : Caractéristiques épidémiologiques actuelles. *Médecine et Armées* 1994; **22** : 29-31.
- 9 - ALBRECHT H - Leishmaniasis. New perspectives on an underappreciated opportunistic infection. *AIDS* 1998; **12** : 2225-6.
- 10 - LE FICHOUX Y, QUARANTA JF, AUFEUVRE JP *et Coll* - Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol* 1999; **37** : 1953-7.
- 11 - ALVAR J, CANAVATE C, GUTTIEREZ-SOLAR B *et Coll* - Leishmania and Human Immunodeficiency Virus Coinfection : the first ten years. *Clin Microbiol Rev* 1997; **10** : 298-319.
- 12 - CRUZ I, MORALES MA, NOGUER I *et Coll* - Leishmania in discarded syringes from intravenous drug users. *Lancet* 2002; **359** : 1124-5.
- 13 - OZON C, MARTY P, VEYSSIERE C *et Coll* - Résultats d'une enquête sur la leishmaniose canine effectuée pendant une courte période chez les vétérinaires praticiens des Alpes-Maritimes. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 1995; **30** : 199-201.
- 14 - MARY C, LAMOUREUX D, DUNAN S, QUILICI M - Western blot analysis of antibodies to *Leishmania infantum* antigens. Potential of the 14-Kd and the 16-Kd antigens for diagnosis and epidemiologic purposes. *Am J Trop Med Hyg* 1992; **47** : 764-71.
- 15 - BERRAHAL F, MARY C, ROZE M *et Coll* - Canine leishmaniasis : identification of asymptomatic carriers by Polymerase Chain Reaction and Immunoblotting. *Am J Trop Med Hyg* 1996; **55** : 273-7.
- 16 - HASIBEDER G, DYE C, CARPENTER J - Mathematical modelling and theory for estimating the basic reproduction number of canine leishmaniasis. *Parasitology* 1992; **105** : 45-53.
- 17 - MOLINA R, AMELA C, NIETO J, SAN-ANDRES M *et Coll* - Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; **88** : 491-3.
- 18 - ALVAR J, MOLINA R, SAN ANDRES M *et Coll* - Leishmaniasis : clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Ann Trop Med Parasitol* 1994; **88** : 371-8.
- 19 - KILLICK-KENDRICK R, KILLICK-KENDRICK M, FOCHEUX C *et Coll* - Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1997; **11** : 105-11.
- 20 - DEL GIUDICE P, MARTY P, LACOUR JP *et Coll* - Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. Cases reports and literature review. *Arch Dermatol* 1998; **134** : 193-8.
- 21 - MARTY P, ROSENTHAL E, PRATLONG F *et Coll* - The last quarter century (1975-2000) of human leishmaniasis in Alpes-Maritimes (France) in Proceedings of the WorldLeish 2 (Hersonissos, Crete, Greece, 2001) : 78.
- 22 - BASSENNE I, PRATLONG F, DEREURE J *et Coll* - La leishmaniose humaine en Cévennes : étude rétrospective 1933-1994. *Med Mal Infect* 1996; **26** : 1164-8.
- 23 - MARTY P, LE FICHOUX Y, PRATLONG F, GARI-TOUSSAINT M - Human visceral leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France : epidemiological characteristics for the period 1985-1992. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; **88** : 33-4.
- 24 - HARRAT Z, ADDADI K, BELKAID M, TABET-DERRAZ O - La leishmaniose viscérale en Algérie. Recensement des cas de leishmaniose viscérale. *Bull Soc Pathol Exot* 1992; **85** : 296-301.
- 25 - KUBAR J, MARTY P, LELIEVRE A, QUARANTA JF *et Coll* - Visceral leishmaniasis in HIV positive patients : primary infection, reactivation and latent infection. Impact of the CD4+ T-lymphocyte cell counts. *AIDS* 1998; **12** : 2147-53.
- 26 - GRAMICCIA M, GRADONI L, TROIANI M - Heterogeneity among zymodemes of *Leishmania infantum* from HIV-positive patients with visceral leishmaniasis in South Italy. *FEMS Microbiology Letters* 1995; **128** : 33-8.
- 27 - PRATLONG F, DEDET JP, MARTY P *et Coll* - Leishmania-Human Immunodeficiency Virus coinfection in the Mediterranean Basin : Isoenzyme characterization of 100 isolates of the *Leishmania infantum* complex. *J Inf Dis* 1995; **172** : 323-6.
- 28 - ROSENTHAL E, MARTY P, DEL GIUDICE P *et Coll* - Le Fichoux Y., Cassuto J.P. HIV and Leishmania coinfection : a review of 91 cases with focus on atypical locations of Leishmania. *Clin Infect Dis* 2000; **31** : 1093-5.
- 29 - LE FICHOUX Y., MARY C., MARTY P., KUBAR J - Diagnostic des Leishmanioses. In «DEDET JP - Les leishmanioses». Ellipses ed, Paris, 1999, 191-203.
- 30 - BERN C, JHA SN, JOSHI AB, THAKUR GD, BISTA MB - Use of the recombinant K39 dipstick test and the direct agglutination test in a setting endemic for visceral leishmaniasis in Nepal. *Am J Trop Med Hyg* 2000; **63** : 153-7.
- 31 - SCHALLIG HD, CANTO-CAVALHEIRO M, DA SILVA ES - Evaluation of the direct agglutination test and the rK39 dipstick test for the sero-diagnosis of visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; **97** : 1015-8.
- 32 - BRANDONISIO O, FUMAROLA L, MAGGI P *et Coll* - Evaluation of a rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; **21** : 461-4.

- 33 - CHAPPUIS F, RIJAL S, SINGH R *et Coll* - Prospective evaluation and comparison of the direct agglutination test and an rK39-antigen-based dipstick test for the diagnosis of suspected kala-azar in Nepal. *Trop Med Int Health* 2003 ; **8** : 277-85.
- 34 - HOMMEL M, SARKARI B, CARNEY J, CHANCE ML - Le Katex pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale humaine. *Med Trop* 2001 ; **61** : 503-5.
- 35 - RIERA C, FISA R, LOPEZ P *et Coll* - Evaluation of a latex agglutination test (KAtex) for detection of *Leishmania* antigen in urine of patients with HIV-*Leishmania* coinfection : value in diagnosis and post-treatment follow-up. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004 ; **23** : 899-904.
- 36 - MARTY P, LELIÈVRE A, QUARANTA JF *et Coll* - Use of the leishmanin skin test and Western blot analysis for epidemiological studies in visceral leishmaniasis areas : experience in a highly endemic focus in Alpes-Maritimes (France). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994 ; **88** : 658-9.
- 37 - MARTY P, LELIÈVRE A, QUARANTA JF *et Coll* - Detection by Western blot of four antigens characterizing acute visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995 ; **89** : 690-1.
- 38 - SANTOS-GOMES G, GOMES-PEREIRA S, CAMPINO L *et Coll* - Performance of immunoblotting in diagnosis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus-*Leishmania* sp.- coinfecting patients. *J Clin Microbiol* 2000 ; **38** : 175-8.
- 39 - IZRI MA, DENIAU M, BRIÈRE C *et Coll* - Leishmaniasis in AIDS patients : results of leukocytoconcentration, a fast biological method of diagnosis. *Bull OMS* 1996 ; **74** : 91-3.
- 40 - FISSORE C, DELAUNAY P, FERRUA B *et Coll* - Convenience of serum for visceral leishmaniasis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol* 2004 ; **42** : 5332-3.
- 41 - LACHAUD L, DEREURE J, CHABBERT E *et Coll* - Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-up of visceral leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. *J Clin Microbiol* 2000 ; **38** : 236-40.
- 42 - MARTIN-SANCHEZ J, PINEDA A, ANDREU-LOPEZ M *et Coll* - The high sensitivity of a PCR-ELISA in the diagnosis of cutaneous and visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*. *Ann Trop Med Parasitol* 2002 ; **96** : 669-77.
- 43 - DAVIDSON R, DI MARTINO L, GRADONI L *et Coll* - Short Course Treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B (AmBisome®). *Clin Infect Dis* 1996 ; **22** : 938-43.
- 44 - ROSENTHAL E, TEMPESTA S, DEL GIUDICE P *et Coll* - Declining incidence of visceral leishmaniasis in HIV-infected individuals in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001 ; **15** : 84-5.
- 45 - DEL GIUDICE P, MARY-KRAUSE M, PRADIER C *et Coll* - Impact of highly active antiretroviral therapy on the incidence of visceral leishmaniasis in a French cohort of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 2002 ; **186** : 1366-70.
- 46 - BERN C, JHA SN, JOSHI AB *et Coll* - Use of recombinant rK39 dipstick test and direct agglutination test in a setting endemic for visceral leishmaniasis in Nepal. *Am J Trop Med Hyg* 2000 ; **63** : 153-7.
- 47 - RITMEIJER K, MELAKU Y, MUELLER M *et Coll* - Evaluation of a new recombinant K39 rapid diagnostic test for Sudanese visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2006 ; **74** : 76-80.
- 48 - SUNDAR S, REED SG, SINGH VP *et Coll* - Rapid accurate field diagnosis of Indian visceral leishmaniasis. *Lancet* 1998 ; **351** : 563-5.
- 49 - SUNDAR S, MAURYA R, SINGH RK *et Coll* - Rapid, noninvasive diagnosis of visceral leishmaniasis in India : comparison of two immunochromatographic strip tests for detection of anti-K39 antibody. *J Clin Microbiol* 2006 ; **44** : 251-3.
- 50 - SUNDAR S, SINGH RK, MAURYA R *et Coll* - Serological diagnosis of Indian visceral leishmaniasis : direct agglutination test versus rK39 strip test. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006 ; **100** : 533-7.
- 51 - OTRANTO D, PARADIES P, SASANELLI M *et Coll* - Recombinant K39 dipstick immunochromatographic test : a new tool for the serodiagnosis of canine leishmaniasis. *J Vet Diagn Invest* 2005 ; **17** : 32-7.
- 52 - HOUGHTON RL, M PETRESCU, DR BENSON *et Coll* - A cloned antigen (recombinant K39) of *Leishmania chagasi* diagnostic for visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type 1 patients and a prognostic indicator for monitoring patients undergoing drug therapy. *J Infect Dis* 1998 ; **177** : 1339-44.