 Hôpitaux de Toulouse	1- PARASITOLOGIE	Date de création 7/03/2013 PVAL.METH.PARA.0 2
Pôle de BIOLOGIE	RAPPORT DE VALIDATION DU M.G.G POUR LE DIAGNOSTIC DU PALUDISME	Version : 3 indice : 4
Service Parasitologie-Mycologie Rangueil		Page : 1/6

**EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :
RECHERCHE DE *PLASMODIUM* PAR TECHNIQUE
DE CONCENTRATION –COLORATION A L'ACRIDINE ORANGE
TECHNIQUE QUALITATIVE PORTEE A**

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte/Mesurande :	Recherche de la présence de <i>Plasmodium</i> sans diagnostic d'espèce
Principe de la Mesure :	Concentration –Coloration à l'acridine orange par lecture d'une fluorescence
Méthode de mesure :	<p><u>Fluorescence :</u> Présence ou absence de Plasmodium : La lecture se fait à l'objectif X 60 à immersion avec 2 à 3 gouttes d'huile à immersion. Sur un fond sombre, le noyau des trophozoïtes apparaît en vert La couleur du cytoplasme varie du vert au rouge, parfois mise en évidence de gamétocytes (cf photo Annexe 1). <u>Lumière Blanche :</u> mise en évidence des pigments malariques</p>
Marquage CE (Oui/Non)	OUI
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	Non

MISE EN OEUVRE	
Opérateurs (Habilitation) :	Technicien(ne)s Secteur Morphologie Internes en Biologie
Procédure de validation :	PPR.GEN.49
Procédure de gestion de la portée flexible :	PPR.GEN.71
Période d'évaluation :	2008
Date de mise en service :	Antérieur à la demande d'accréditation
Autorisation par :	PR VALENTIN

REDACTION et VERIFICATION 2013-03-05	VALIDATION 2013-03-05	APPROBATION 2013-03-05
VALENTIN Alexis	ROQUES Christine	BERRY Antoine

MAITRISE DES RISQUES

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
PRE ANALYTIQUE 13		
Type d'échantillon primaire	Tube EDTA (3)	Catalogue des Analyses du Pôle de Biologie du CHU de TOULOUSE http://chu-toulouse.manuelprelevement.fr (avec consignes de prélèvement + Consignes de prélèvement pour les prélèvements réalisés en interne (PENR.HAB.INT.06)
Consignes particulières	Délai d'acheminement < 1h (3)	Respect par le prescripteur du délai d'acheminement par appel du 801 tous les jours
Renseignements cliniques	Zone géographique (1) Prophylaxie (2) Hyperthermie (3) Anémie/ Trombopénie (3)	Demander les renseignements par téléphone Faire des rappels par notes de services au personnel soignant
ANALYTIQUE 23		
Habilitation 8		
Prétraitement de l'échantillon	Centrifugation	Centrifugeuse spécifique du QBC
Main d'œuvre (habilitation du personnel) :	Habilitation + qualification à la lecture Détermination de l'espèce (3)	PPR.GEN.62+ PENR.HAB.INT.03 , 04, 05, 09, 10 + PENR.HAB.TEC.PARA03,02 PMOP.PARA.PALU.01
Conditions ambiantes requises 0		
Matériels et réactifs 17		
Réactifs	Huile à immersion(3)	Doit être de bonne qualité
Equipements :	Microscope à Fluorescence avec PARALENS (3)	Nettoyage quotidien en fin de journée des objectifs Révision tous les ans
	Support de tube Paraviewer (3)	Nettoyage après chaque utilisation
	Microtubes spécifiques Cassables avec bouchons d'occlusion des tubes (3)	Vérification de leur intégrité
	Pince (2) Centrifugeuse (3)	Maintenance annuelle
Méthode 3		
	Microtubes à remplir	Faire attention à bien remplir le microtube et lire à l'interface lympho érythrocytaire
POST ANALYTIQUE 3		
	Délai de rendu <2h après le prélèvement	Validation par Biologiste ou interne (en garde) en Urgence

Indice de criticité : 1 faible /2 moyen/3 fort

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Limites du test :

- ce test permet la détection **du genre** *Plasmodium*. L'identification à l'**espèce** nécessite la réalisation d'un frottis mince.
- une concentration très faible en parasites peut entraîner un test faussement négatif.

CONTAMINATION

Inter échantillon pour les paramètres sensibles :	NA
Inter réactif si nécessaire :	NA
Vérification bibliographique :	NA
Vérification sur site :	NA

COMPARAISON DE METHODES

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire :	Méthodes PALUTOP4®, PCR et MGG
Nombre de mesures :	33 échantillons
Descriptif de l'échantillon étudié :	QBC à partir de tube EDTA de patients pour le diagnostic de paludisme
Méthode d'exploitation des résultats	Etude de concordance : présence ou absence de <i>plasmodium</i>
Résultats et interprétations des discordances :	Présence ou absence de Parasite (Annexe2): Discordance de 3% vis-à-vis de la PCR s'expliquant par le traitement du patient avant le test Discordance de 3% vis-à-vis du PALUTOP4® car <i>Plasmodium vivax</i> Pas de discordance entre M.G.G et QBC

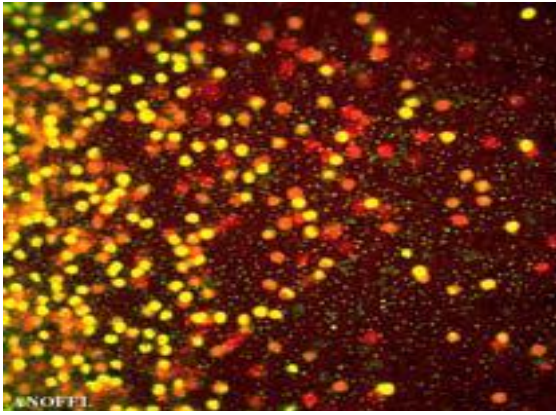
CONCLUSION : Bonne spécificité et sensibilité de la technique QBC qui permet un diagnostic en urgence *du genre plasmodium* mais en aucun cas de l'espèce
Il est effectué en particulier la nuit par les internes car sa négativité exclut la lecture en Urgence du MGG en garde.

BIBLIOGRAPHIE

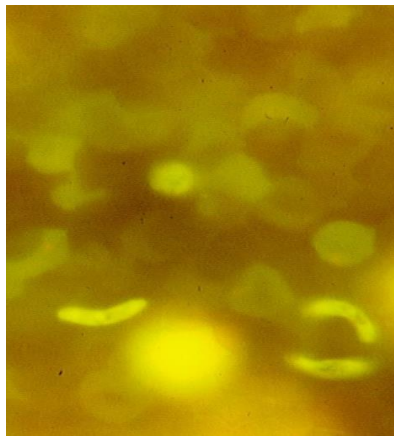
Med Trop (Mars. 1999; 59(3):276-8: Diagnostic test to identify human Plasmodium species by the quantitative buffy coat test
Secardin Y, Le Bras J

Annexe 1 : photos

Trophozoïtes



Gamétocytes



Annexe 2 : Présence ou absence de Parasite

N° Dossier	Coloration MGG		PALUTOP4		QBC		PCR	
	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
7302-185		*				*		*
7302-153	*		*		*		*	
7300-24		*				*		*
7298-89		*				*		*
7298-50		*				*		*
7297-10		*				*		*
7296-71		*				*		*
7296-33		*			*	*	*	*
7296-12		*				*		*
7295-28	*			*	*	*	*	*
7295-27		*		*		*		*
7292-106	*		*		*		*	
7292-89	*				*		*	
7292-75	*				*		*	
7292-74		*				*		*
7292-69		*				*		*
7292-68		*				*		*
7290-72		*				*		*
7289-52		*				*		*
7285-103	*				*		*	
7285-99		*				*		*
7285-1		*				*		*
7284-5	*		*		*		*	
7283-41		*				*		*
7282-105	*		*		*		*	
7282-87		*				*		*
7282-7	*				*		*	
7281-20		*				*		*
7281-21		*				*		*
7279-11	*		*		*		*	
7278-8		*				*		*
7277-61		*				*		*
7277-5		*				*		*

Discordance de 3% vis-à-vis de la PCR car patient traité avant test
Discordance de 3 % Vis-à-vis du PALUTOP car *Plasmodium vivax*
Pas de discordance entre MGG et QBC

Annexe 3 Arbre décisionnel

ARBRE DÉCISIONNEL

