 <p>Hôpitaux de Toulouse</p>	<p><b>1- PARASITOLOGIE</b></p>	<p>Date de création 3/07/2012 <b>PVAL.METH.PARA.03</b></p>
<p><b>Pôle de BIOLOGIE</b></p> <p>Service Parasitologie-Mycologie Rangueil</p>	<p><b>VALIDATION DE LA RECHERCHE DE PLASMODIUM PAR TECHNIQUE IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE DU PALUTOP+4®</b></p>	<p>Version : 3 indice : 1</p> <p>Page : 1/7</p>

**EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :  
TECHNIQUE QUALITATIVE PORTEE A**

**DESCRIPTION DE LA METHODE**

<b>Analyte/Mesurande :</b>	Sang total/ Mise en évidence de la protéine Pf HRP-2 spécifique de l'espèce <i>P.falciparum</i> , l'enzyme Pv LDH spécifique de l'espèce <i>P.vivax</i> et de l'enzyme pLDH commune à toutes les espèces de plasmodium.
<b>Principe de la Mesure :</b>	Détection de la présence de plasmodium et identification de l'espèce plasmodiale en cause dans le cas de paludisme à <i>P.falciparum</i> et <i>P.vivax</i> .
<b>Méthode de mesure :</b>	Méthode immuno-chromatographique sur membrane
<b>Marquage CE (Oui/Non)</b>	Oui
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe) :</b>	Non

**MISE EN OEUVRE**

<b>Opérateurs (Habilitation) :</b>	Technicien(ne)s Secteur Morphologie Internes en Biologie
<b>Procédure de validation :</b>	PPR.GEN.49
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	PPR.GEN.71
<b>Période d'évaluation :</b>	2011-2012
<b>Date de mise en service :</b>	2006
<b>Autorisation par :</b>	VALENTIN Alexis

REDACTION et VERIFICATION 2012-07-07	VALIDATION 2012-07-16	APPROBATION 2012-07-17
VALENTIN Alexis	ROQUES Christine	BERRY Antoine

<b>MAITRISE DES RISQUES</b>		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
<b>PRE ANALYTIQUE 13</b>		
Type d'échantillon primaire	Tube EDTA (3)	Catalogue des Analyses du Pôle de Biologie du CHU de TOULOUSE <a href="http://chu-toulouse.manuelprelevement.fr">http://chu-toulouse.manuelprelevement.fr</a> (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
<b>ANALYTIQUE 11</b>		
<b>Habilitation 2</b>		
Prétraitement de l'échantillon	Aucun (0)	
Main d'œuvre (habilitation du personnel) :	Habilitation + qualification à la lecture Détermination de l'espèce (2)	PPR.GEN.62+ PENR.HAB.INT.03 , 04, 05, 09, 10 + PENR.HAB.TEC.PARA03,02 PMOP.PARA.PALU.01
<b>Conditions ambiantes requises 0</b>		
<b>Matériels et réactifs 8</b>		
Réactifs	Coffret Palutop+4® ALL DIAG ref 5481(3)	Vérification des versions des fiches techniques fournisseurs Respect des conditions de conservation Vérification des dates de péremption
Equipements :	Réfrigérateurs (3)  Chronomètre (2)	-Contrôle des températures sur centrale -Etalonnage des sondes tous les 18 mois + Cartographie tous les 5ans  -Contrôle métrologique tous les ans (horloge parlante)
<b>Méthode 1</b>		
Bandelette	Validation à chaque test	Respect du temps et vérification de l'existence de la bande témoin test
<b>POST ANALYTIQUE 3</b>		
	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

PVAL.METH.PARA.03: Version :3 Indice : 1	VALIDATION DE LA RECHERCHE DE PLASMODIUM PAR TECHNIQUE IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE DU PALUTOP+4®	2/7
---------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## CONTAMINATION

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

## COMPARAISON DE METHODES

Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire :	Méthodes MGG, QBC, PCR
Nombre de mesures :	échantillons
Descriptif de l'échantillon étudié :	Sang à partir de tube EDTA de patient pour le diagnostic de paludisme
Méthode d'exploitation des résultats (études des concordances) :	Etude de concordances ; présence ou absence de <i>Plasmodium</i> et détermination de l'espèce
Résultats et interprétations des discordances :	<p style="text-align: center;"><b>Présence ou absence de Parasite (Annexe1):</b></p> <p>Sur 38 échantillons il y a 3 discordances entre le PALUTOP4® et la PCR dont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 correspondant finalement à un <i>P. vivax</i></li> <li>- 1 dossier positif uniquement en PCR due à une charge parasitaire trop faible.</li> </ul> <p>Soit au total 7.9 % de discordance entre le PALUTOP4® et la PCR</p> <p>On note également :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 discordances du PALUTOP4® avec la coloration au MGG (présence de plasmodium avec toutes les techniques sauf la coloration au MGG)</li> <li>- 1 dossier positif en PCR et en PALUTOP4® et PCR négatif en QBC et sur le frottis au MGG mais il s'agissait d'un patient en traité.</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b>Détermination de l'espèce plasmodiale (Annexe2):</b></p> <p>Au total on obtient 7.5% de discordance de la détermination de l'espèce plasmodiale entre le PALUTOP4® et la PCR :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 dossier positif pour <i>P. vivax</i> en MGG et PCR et négatif avec le PALUTOP4®</li> <li>- 1 dossier positif uniquement en PCR due à une trop faible parasitémie.</li> <li>- 1 dossier négatif en PCR et MGG, avec un PALUTOP4® positif à <i>P. falciparum</i> et <i>P. vivax</i>.</li> </ul> <p>Les 4 autres discordances ne concernent que des MGG négatifs rendus positif à <i>P. falciparum</i> en PCR et PALUTOP4®</p>
Conclusion	Bonne spécificité et sensibilité

## Commentaires éventuels Interprétations



**NEGATIF pour les quatre espèces:**  
Une seule bande mauve apparaît au niveau de la région "C".



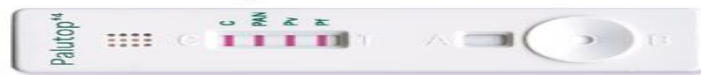
**POSITIF pour *P. falciparum*:**  
En plus de la bande contrôle, une bande mauve apparaît au niveau des régions "PF" et "Pan" respectivement.



**POSITIF pour *P. vivax*:**  
En plus de la bande contrôle, une bande mauve apparaît au niveau des régions "Pv" et "Pan" respectivement.



**POSITIF pour les autres espèces:**  
En plus de la bande contrôle, une bande mauve apparaît au niveau de la région "Pan".



**Infections mixtes:**  
En plus de la bande contrôle, une bande mauve apparaît au niveau des régions "PF", "Pv" et "Pan" respectivement.

### Limites du test

- **PALUTOP+4®** ne peut pas se substituer à l'examen microscopique et ne doit être utilisé qu'en complément.
- En cas d'infection à *P. vivax* ou *P. falciparum*, ou d'infection mixte à *P. vivax* et *P. falciparum* la bande pan est également positive empêchant ainsi la différenciation avec *P. ovale* ou *P. malariae*
- En cas de suivi de traitement et si la réactivité du test reste identique 5 à 10 jours après le traitement, il faut envisager la présence de souches résistantes au traitement
- Habituellement les bandes Pv et pan se négativent après un traitement anti-malarique approprié. Néanmoins, la nature et la durée du traitement agissent au niveau de l'élimination du parasite, le test doit être répété 5 à 10 jours après le début du traitement.
- Chez *P. falciparum* l'antigène HRP-2 n'est pas sécrété au stade gamétocyte. Par conséquent, la bande HRP-2 peut être absente chez les porteurs.
- Le taux de HRP-2 persiste jusqu'à 15 jours après le traitement. La bande pan pLDH peut être utilisée pour vérifier l'efficacité du traitement en cas d'infection à *P. falciparum*.
- Dans certains cas, la présence de la bande de HRP-2 et l'absence de la bande pan pLDH peuvent indiquer une phase post-traitement. Néanmoins, un tel profil peut aussi être rencontré dans de rares cas de paludisme non traité. Face à un tel profil, il est conseillé de retester 2 jours plus tard.
- Des absences de bandes pan ont été notées dans certaines infections à *Plasmodium ovale*.
- Des résultats négatifs peuvent être observés en cas de parasitémies inférieures au seuil de détection du test.

## CONCLUSION

Cette technique est validée et utilisée en complément de l'examen microscopique

### *Annexe 1* Présence ou absence de Parasite

N°Dossier	QBC		Coloration MGG		PALUTOP4®		PCR	
	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
1258-1416	P		P		P		P	
1276-2003	P		P		P		P	
1283-1806	P		P		P		P	
1290-1738	P		P		P		P	
1316-1212	P		P		P		P	
1320-1638	P		P		P		P	
1351-1203	P		P		P		P	
2009-1871	P		P		P		P	
2016-1962	P		P		P		P	
2061-1901	P		P		P		P	*
2073-1331	P		P		P		P	
2075-1778	P		P		P		P	*
2086-1669	P		P		P		P	
2090-1755	P		P		P		P	
2121-1948	P		P		P		P	
2139-1472	P		P		P		P	
2130-1345	P		P		P		P	
1297-1810		N		N		N		N
1306-1322		N		N		N		N
1318-1922		N		N		N		N
1335-1602		N		N		N		N
1337-1273		N		N		N		N
1350-1687		N		N		N		N
1358-1008		N		N		N		N
1364-1744		N		N		N		N
2009-1872		N		N		N		N
2009-1973		N		N		N		N
2010-1875		N		N		N		N
2118-1611		N		N		N		N
2154-1291		N		N		N		N
2121-2048		N		N		N		N
2136-1699		N		N		N		N
2143-1945	P		P			N	P	
2052-3548		N		N		N	P	
2093-1824		N		N	P			N
1273-1550	P			N	P		P	
2135-1700	P			N	P		P	
1259-1739		N		N	P		P	

## Annexe 2 Détermination de l'espèce plasmodiale

N°Dossier	Coloration MGG					PALUTOP4®				PCR					
	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.malariae</i>	Neg	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.autres</i>	Neg	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.malariae</i>	<i>Psce ADN</i>	Neg
1258-1416	P					P				NF	N	N	N	P	
1276-2003	P					P				NF	N	N	N	P	
1283-1806	P					P				NF	N	N	N	P	
1290-1738	P					P				NF	N	N	N	P	
1316-1212	P					P				NF	N	N	N	P	
1320-1638	P					P				NF	N	N	N	P	
1351-1203	P					P				NF	N	N	N	P	
2009-1871	P					P				NF	N	N	N	P	
2016-1962	P					P				NF	N	N	N	P	
2061-1901	P					P				NF	N	N	N	P	
2073-1331	P					P				NF	N	N	N	P	
2075-1778	P					P				NF	N	N	N	P	
2086-1669	P					P				NF	N	N	N	P	
2090-1755	P					P				NF	N	N	N	P	
2121-1948	P					P				NF	N	N	N	P	
2139-1472	P					P				NF	N	N	N	P	
1290-1740					Neg				Neg						Neg
1297-1810					Neg				Neg						Neg
1303-1322					Neg				Neg						Neg
1318-1922					Neg				Neg						Neg
1335-1602					Neg				Neg						Neg
1337-1273					Neg				Neg						Neg
1350-1687					Neg				Neg						Neg
1358-1008					Neg				Neg						Neg
1364-1744					Neg				Neg						Neg
2009-1872					Neg				Neg						Neg
2009-1973					Neg				Neg						Neg
2010-1875					Neg				Neg						Neg
2118-1611					Neg				Neg						Neg
2154-1291					Neg				Neg						Neg
2121-2048					Neg				Neg						Neg
2136-1699					Neg				Neg						Neg
2130-1345			P					P			N	P	N		
2143-1945		P							Neg		P				
2052-3548					Neg				Neg	N	N	N	N	P	
2093-1824					Neg	P	P								Neg
1273-1550					Neg	P				P	N	N	N	P	
2135-1700					Neg	P				NF	N	N	N	P	
1259-1739					Neg	P				NF	N	N	N	P	

La PCR étant la technique de référence, il y a 2 Faux négatifs avec PALUTOP4® 1 pour l'identification de *P.vivax* et 1 due à une trop faible charge parasitaire. On note aussi 1 faux positif par rapport à la PCR et au MGG. Au total on obtient un taux de discordance de 7,5 %  
On retrouve 3 discordances avec la technique de coloration au MGG et les deux autres techniques.

PVAL.METH.PARA.03: Version :3 Indice : 1	VALIDATION DE LA RECHERCHE DE PLASMODIUM PAR TECHNIQUE IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE DU PALUTOP+4®	6/7
---------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

### Annexe 3 : Bibliographie

1. Michael L. Wilson: Malaria Rapid Diagnostic Tests, MEDICAL MICROBIOLOGY d CID 2012:54 (1 June) d 1637
2. Ousmane A. Koita: False-Negative Rapid Diagnostic Tests for Malaria and Deletion of the Histidine-Rich Repeat Region of the hrp2 Gene, Am. J. Trop. Med. Hyg., 86(2), 2012, pp. 194–198
3. Albertini : Preliminary enquiry into the availability, price and quality of malaria rapid diagnostic tests in the private health sector of six malaria-endemic countries, Tropical Medicine and International Health doi:10.1111/j.1365-3156.2011.02904.x
4. Eyal Leshem: False-Positive *Plasmodium falciparum* Histidine-Rich Protein 2Immucapture Assay Results for Acute Schistosomiasis Caused by *Schistosoma mekongi*, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2011, p. 2331–2332 Vol. 49, No. 6

PVAL.METH.PARA.03: Version :3 Indice : 1	VALIDATION DE LA RECHERCHE DE PLASMODIUM PAR TECHNIQUE IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE DU PALUTOP+4®	7/7
---------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----