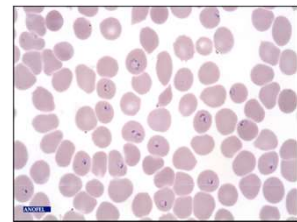


Apport de la PCR LAMP au diagnostic du paludisme en zone non endémique : Etude rétrospective descriptive des cas de paludisme diagnostiqué au CHU de Lille



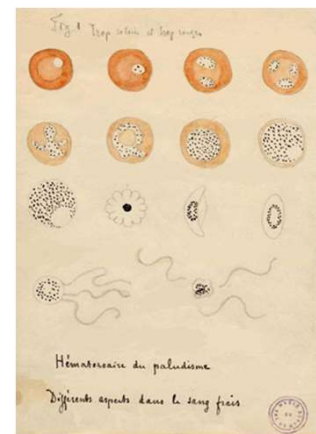
Présenté le 27-10-2020 par
Dr Christian BOGNE

Capacité de médecine tropicale 2019-2020

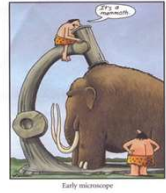


PLAN

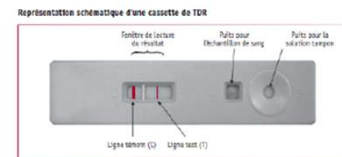
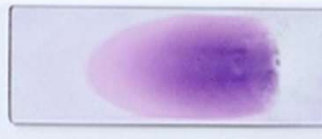
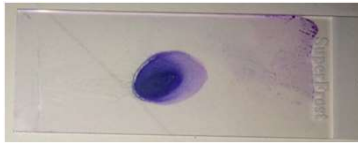
- Généralités données épidémiologiques et diagnostiques
- Objectifs de l'étude
- Matériels et méthodes
- Résultats
- Discussion
- Conclusion



Généralités (1)



- Le paludisme est l'une des principales causes de maladie infectieuse chez les voyageurs de retour d'un séjour en zone tropicale.
- Pour le diagnostic biologique, la microscopie optique combinant le frottis/la goutte épaisse (F/GE) et le Test de Diagnostic Rapide (TDR) sont recommandés en routine.

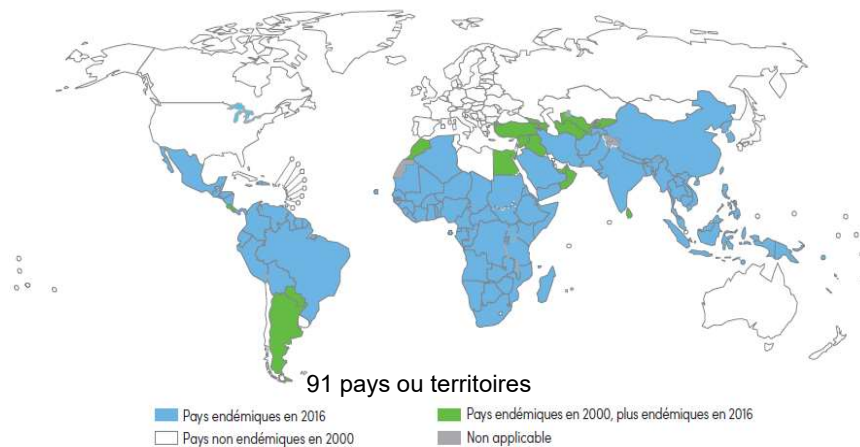


- Les difficultés diagnostiques reposent essentiellement sur la faible parasitémie et le manque de professionnels expérimentés.

Données épidémiologiques mondiales

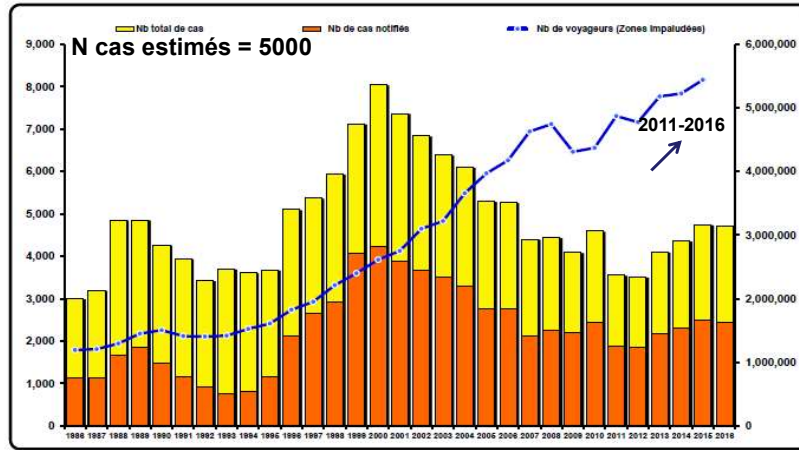
- 3,2 milliards de personnes exposées 212 millions de cas et 429 000 décès par an

Diminution de la mortalité de 37% depuis 2000





Le paludisme d'importation en France métropolitaine



Rapport CNR 2017



Le paludisme d'importation en France métropolitaine

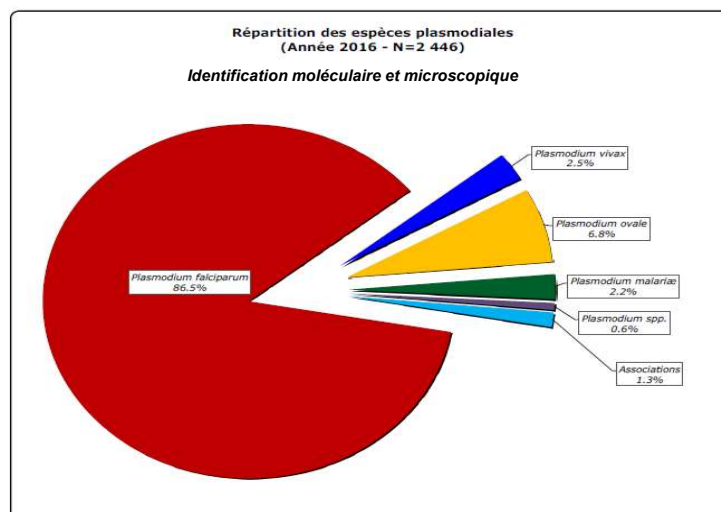


Figure 14. Distribution cas de Paludisme d'importation par espèces, France métropolitaine, 2016, n = 2446

Rapport CNR 2017

Généralités (2)



- La PCR LAMP malaria Illumigene® utilisée dans notre étude est un test de diagnostic développé par la société Meridian Bioscience.
- Ce test utilise la technologie LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) pour amplifier l'ADN et détecter la présence du Plasmodium.
- Son apport essentiel réside dans son **excellente valeur prédictive négative** (98%).
- la technique:

Avantages

- ✓ Simple d'utilisation
- ✓ Grande sensibilité analytique (2 parasites/ μ L)
- ✓ Résultat en 50 minutes pour un coût nettement moins élevé que la PCR en temps réel



Inconvénients

- ✓ Absence d'identification
- ✓ Pas de quantification du genre plasmodial
- ✓ Pas de parasitémie
- ✓ Intérêt limité dans le suivi des patients

Objectifs de l'étude



➤ Objectif Principal :

Comparaison des performances diagnostiques de la PCR LAMP malaria Illumigene® aux méthodes microscopiques et au diagnostic d'espèce par la biologie moléculaire.

➤ Objectifs secondaires :

- identification des présentations cliniques des cas de PCR LAMP positives.
- appréciation rétrospective des stratégies thérapeutiques initiées notamment lorsque la PCR LAMP était positive et les méthodes microscopiques négatives.

Matériels et méthodes



- Etude observationnelle monocentrique, descriptive et rétrospective incluant les cas de suspicion de paludisme au CHU de Lille entre janvier 2016 et décembre 2019.
- **Tous les Patients** suspects d'accès palustre ont bénéficié d'une recherche initiale par **frottis sanguin/goutte épaisse + TDR (PALUTOP+4)**
- Critère d'inclusion:
 - tout patient présentant une PCR Illumigene® MALARIA LAMP positive.
- Conditions préalable à la réalisation de la PCR Lamp :
 - essentiellement réalisée pour toute présomption importante d'accès palustre avec frottis négatif et goutte épaisse négative sur le prélèvement à l'entrée.

Résultats (1)

- **1254 demandes** de recherche de paludisme dont **121 positifs**.
- **159 tests** réalisés par PCR LAMP, dont **8** étaient positifs.
- Epidémiologie :
 - Huit patients inclus dont 5 hommes et 3 femmes
 - Agés de 16 à 62 ans.
 - **Retour d'Afrique** uniquement dont les pays de provenance sont les suivants : Cameroun, Mali, Côte-d'Ivoire, Ghana et Guinée-Conakry.

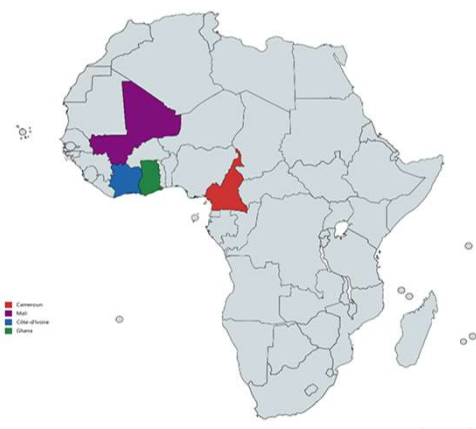


Tableau 2 : Signes de gravité du paludisme : critères OMS 2000

Défaillance neurologique	Obnubilation, confusion, somnolence, coma (score de Glasgow < 11)
Défaillance respiratoire	Sans ventilation mécanique : PaO ₂ < 60 mmHg ou SPO ₂ < 90% en air ambiant ou fréquence respiratoire > 32/min - Avec ventilation mécanique ou ventilation non invasive : PaO ₂ /FI _{O₂} < 300 mmHg
Défaillance circulatoire	PAS* < 80 mmHg avec signes périphériques Drogues vaso-actives Signes périphériques d'insuffisance circulatoire
Convulsions répétées	Au moins 2/24h
Hémorragie	Définition purement clinique
Ictère	Clinique ou bilirubine totale > 50 μmol/L
Hémoglobinurie microscopique	Rare
Anémie profonde	Hémoglobine < 7 g/dl, hémocrite < 20%
Hypoglycémie	Glycémie < 2,2 mmol/L
Hyperlactémie	Toute valeur > normale
Hyperparasitémie	> 4%, notamment chez le non immun
Insuffisance rénale	Créatininémie > 265 μmol/L ou urée sanguine > 17 mmol/L et diurèse < 400 ml/24 malgré réhydratation

Présentation clinique des patients inclus

- Un patient a présenté un **neuropaludisme** marqué par un épisode de crise tonico-clonique suivi d'un coma.
- Symptomatologie clinique ayant motivé l'entrée aux urgences.

	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8	Total
Douleurs abdominales	✓		✓		✓				3
Fièvre	✓	✓	✓			✓	✓		5
Céphalées			✓				✓		2
Frissons			✓	✓				✓	3
Diarrhées		✓	✓		✓	✓			4
Arthralgies							✓		1
Courbatures		✓							1
Malaise Vagale				✓					1
Ictère									0
Convulsions et coma								✓	1

Résultats (2)

- La biologie

- Le CNR a permis d'identifier **3 cas** d'infection à *P. falciparum*, **3 cas** à *P. malariae* et **1 cas** de *P. ovale*.
- Un échantillon de sang n'a pas été envoyé au CNR.
- **Pas d'argument biologique en faveur d'un paludisme grave**: pas d'hyperlactatémie, pas d'acidose métabolique, pas d'anémie profonde, pas d'hypoglycémie ou une parasitémie supérieure à 4 %.

	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8	Total
Thrombopénie			✓			✓	✓		3
Hypercréatininémie					✓	✓			2
Syndrome inflammatoire	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	7
Anémie	✓					✓	✓	✓	4

Résultats (3)

- Comparaison des performances diagnostiques de la PCR LAMP aux méthodes microscopiques et à l'identification d'espèce par la biologie moléculaire.

	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8
Frottis Sanguin		<i>P. vivax</i> (parasitémie inférieure à 0,01%) faux positif				<i>P. falciparum</i> (parasitémie inférieure à 0,01%)		
Goutte Epaisse		faux positif au <i>P. vivax</i>				✓		
TDR Palutop+4								✓
PCR LAMP	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Résultats du CNR : PCR sp	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. malariae</i>	Pas d'envoi d'échantillon au CNR	<i>P. ovale</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>

Traitements de première intention prescrits



	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8
Résultats du CNR : PCR sp	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. malariae</i>	Pas d'envoi d'échantillon au CNR	<i>P. ovale</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>
Traitement prescrit en première intention	Eurartésim	Chloroquine	Eurartésim	Eurartésim	Eurartésim	Eurartésim	Eurartésim	Artésunate /Eurartésim

Primaquine dans un second temps

Première situation clinique accès palustre à *P. falciparum*



- Récurrence chez un patient malien entré aux urgences en 2018 pour douleurs abdominales intenses et fièvre.
- Biologie:
 - CRP à 250mg/L, Hb à 11,5 g/dl, les sérologies VIH, VHC, VHB, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae étaient négatives, l'électrophorèse de l'hémoglobine a confirmé le diagnostic de drépanocytose homozygote SS.
 - F/GE négatifs mais le TDR retrouvait une faible bande d'antigène plasmodial circulant (*P. falciparum*).
 - présence d'ADN de Plasmodium à la PCR LAMP.
 - le prélèvement adressé au CNR permet l'identification d'un *P. falciparum*.

Deuxième situation clinique accès palustre à *P. malariae*



- Accès palustre à *P. malariae* chez un homme âgé de 19 ans ayant séjourné 4 semaines en Côte d'Ivoire pendant le mois de juillet 2018, hospitalisé pour fièvre et céphalées.
- Biologie:
 - CRP à 59mg/l, une thrombopénie à 100.000 plaquettes/mm³, la ponction lombaire est normale, les sérologies des hépatites, de la syphilis et des arboviroses sont revenues négatives.
 - F/GE sont initialement rendus négatifs.
 - au TDR, la bande d'antigène retrouvée était faussement positive pour *P. vivax*.
 - présence d'ADN de Plasmodium à la PCR LAMP.
 - le prélèvement adressé au CNR permet l'identification d'un *P. malariae*

Discussion (1)

- Plusieurs études soulignent l'intérêt de la PCR LAMP comme test de diagnostic de première intention dans les régions non endémiques:
 - étude allemande rapporte un cas de suspicion de paludisme après un séjour en Afrique de l'ouest[29].
 - TDR, F/GE sont restés négatifs à trois reprises.
 - la PCR LAMP était positive pour plasmodium spp (identification d'un *P. ovale* en biologie moléculaire).
 - étude prospective menée au CHU de Toulouse incluant des patients revenant essentiellement d'Afrique[30].
 - sensibilité supérieure de la PCR LAMP seule (97,3%).
 - sensibilité au diagnostic du paludisme monte à 100% quand la technique était associée à la microscopie et au TDR.

Discussion (2)

- Les situations cliniques de notre étude démontrent l'apport de cette technique au diagnostic du paludisme:
 - pour un accès simple ou un paludisme grave.
 - quelque soit la situation (primo-invasion ou reviviscence palustre).
- La synthèse de la SPILF en juin 2017 a positionné la PCR LAMP comme technique pouvant être utilisée en première intention [12].
- L'éventuelle utilisation de cette technique comme test diagnostique principal, nécessite des enquêtes prospectives plus importantes.

Conclusion



- La **PCR LAMP** est une technique **simple, rapide** et très **sensible** (cas positifs confirmés par le CNR).
- Intérêt dans les situations de forte présomption clinique avec des parasitémies très faibles voire indétectables en microscopie.
- Méthode pouvant être recommandé dans le cadre de **l'urgence d'une garde polyvalente**
- **Un traitement précoce** se justifie si la **PCR LAMP est positive**.
- **L'identification d'espèce** est **indispensable** pour éviter les accès de reviviscence retrouvés chez *P. ovale* ou *P. vivax*.
- Le coût peut être un frein à l'utilisation en routine de la PCR LAMP.

Merci pour votre attention

