	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
		<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i>

REDACTEURS	VERIFICATEURS	APPROBATEUR	DESTINATAIRES
Offianan André TOURE	Franck REMOUE Thomas KESTEMAN Géorgia DAMIEN	Participants au projet PALEVALUT	Infirmiers et paramédicaux de la POS n°9 ; BLOOD- SAMPLING
Date : 19/08/2013	Date : 26/08/2013	Date : 04/10/2016	

**Objet :** La procédure définit la réalisation et l'interprétation du test de diagnostic rapide (TDR) des infections plasmodiales paludisme, qui permet de porter un diagnostic de paludisme.

**Application :** Le document est élaboré pour le personnel chargé de la réalisation du TDR ou de sa supervision

**Documents associés :**

- POS n°5 ; PREVALENCE : Prévalence du paludisme, des interventions de contrôle et de leurs facteurs associés
- POS n°6 ; EFFECTIVENESS-INFECTION : Efficacité des mesures de lutte antipaludique sur les infections plasmodiales
- POS n°7 ; EFFECTIVENESS-MORBIDITY : Efficacité des mesures de lutte antipaludique sur la morbidité non compliquée
- POS n°9 ; BLOOD-SAMPLING : Prélèvements sanguins pour analyses biologiques


**Annexe : 2**

- **Annexe 1 :** Mode d'emploi générique de TDR (OMS/USAID/TDR/FIND/URC)
- **Annexe 2 :** Interprétation générique des résultats de TDR

### Historique des modifications :

Date	Version	Nature de la modification
19/08/2013	1	Création de la POS
26/08/2013	2	Correction par les vérificateurs
07/11/2013	3	Validation et Intégration dans BLOOD-SAMPLING
04/10/2016	4	Prise en compte des remarques après la mise en œuvre de la POS (Madagascar, Bénin, Cameroun et Côte d'Ivoire) et insertion des propositions faites lors de l'atelier WP4 (3 au 7 octobre 2016, Paris)
27/10/2016	5	Remise en forme selon modèle défini
01/11/2017	6	Validation C. Rogier




	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i>		Version : 6 Date : 01/11/2017

## Sommaire :

1. Introduction .....	3
2. Objectifs .....	4
3. Responsabilités .....	4
4. Matériels .....	4
5. Méthodes.....	5
5.1 Procédure à suivre.....	5
5.2 Points d’attention à respecter.....	6
5.3 Pratiques à proscrire.....	6
6. Références .....	7
Annexe 1 : Mode d’emploi générique de TDR (OMS/USAID/TDR/FIND/URC) .....	8
Annexe 2 : Interprétation générique des résultats de TDR .....	9



	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <b><i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i></b>		Version : 6 Date : 01/11/2017

## 1. Introduction

Une erreur de diagnostic du paludisme peut augmenter le risque de morbidité et de mortalité. L'accès à une détection rapide, sensible et spécifique des infections plasmodiales responsables du paludisme joue un rôle important à cet égard et contribue à la promotion d'un usage plus rationnel des médicaments qui sont de plus en plus coûteux dans la plupart des zones d'endémie. Les tests de diagnostic rapide (TDR) permettent de fournir un diagnostic rapide, sensible et spécifique des infections à *Plasmodium* pour toutes les populations à risque y compris celles qui n'ont pas accès à des services de microscopie de qualité.


Les TDR du paludisme détectent les antigènes spécifiques (antigène cible) produits et sécrétés par les plasmodiums responsables du paludisme humain. Ces antigènes sont présents dans le sang des personnes infectées, que l'infection soit actuelle ou récente. Le TDR signale leur présence par un changement de couleur sur une bandelette de nitrocellulose. Certains de ces tests ne peuvent détecter qu'une seule espèce (*Plasmodium falciparum*), habituellement en repérant la protéine riche en histidine (HRP2) ou la lactate-déshydrogénase (pLDH) spécifique de ce parasite. D'autres détectent une ou plusieurs des trois autres espèces de parasites du paludisme qui infectent l'Homme, en décelant d'autres antigènes.

Les TDR se trouvent couramment sous trois formats. La forme la plus simple est celle d'une *bandelette* qui doit être placée au contact du sang et d'une solution tampon. La bandelette de nitrocellulose est souvent placée dans une *cassette* en plastique ou sur une *carte* en carton.

Mode de fonctionnement des TDR :

- Un anticorps marqué par un colorant, spécifique de l'antigène cible, est présent à l'extrémité inférieure (« départ ») de la bandelette de nitrocellulose ou dans un puits fourni avec la bandelette. Un autre anticorps, également spécifique de l'antigène cible, est lié à la bandelette sur une fine ligne (ligne test) et un anticorps spécifique de l'anticorps marqué ou l'antigène cible, est lié au niveau d'une autre fine ligne (ligne témoin).
- L'extrémité inférieure de la bandelette est mise en contact avec le sang et la solution tampon qui sont alors mélangés avec l'anticorps marqué. Le mélange migre alors le long de la bandelette par capillarité.
- Si l'antigène cible est présent, il se lie à l'anticorps marqué et l'ensemble est capturé et concentré sur la ligne test qui devient alors visible à l'œil nu. Si le mélange migre jusqu'à la ligne témoin, le surplus d'anticorps marqué est capturé et concentré sur cette ligne qui devient alors visible à l'œil nu.



	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i>		Version : 6 Date : 01/11/2017

## 2. Objectifs

Cette POS donne les directives pour la réalisation des TDR et l'interprétation des résultats afin de guider le praticien dans la prise en charge rapide et spécifique du paludisme et aux épidémiologistes de disposer d'un diagnostic d'infection plasmodiale. Cette POS est utilisée au cours des études épidémiologiques (POS n°5 PREVALENCE ; POS n°6 EFFECTIVENESS-INFECTION ; POS n°7 EFFECTIVENESS-MORBIDITY) et dépend de prélèvements de sang décrits dans la POS n°9 BLOOD-SAMPLING.


## 3. Responsabilités

La réalisation des TDR est placée sous la responsabilité des Infirmiers ou du personnel paramédical formé à cet effet, souvent opérateurs de la POS n°9 BLOOD-SAMPLING, et supervisée par les responsables des études épidémiologiques.

## 4. Matériels

- TDR des infections plasmodiales reconnus comme étant appropriés selon les scores établis par le programme OMS/FIND/CDC/TDR et selon les recommandations nationales du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), du pays concerné par l'étude.
- Dispositifs (e.g. cassettes emballées individuellement), solution tampon, poire jetable ou pipette capillaire et notice (fournis par le fabricant dans le kit TDR).
- Gants à usage unique
- Marqueur indélébile à pointe fine ou étiquettes individuelles
- Container de biosécurité destiné à recevoir le matériel de ponction ou de collecte de sang usagé (considéré comme potentiellement infecté)
- Chronomètre ou minuteur (e.g. disponible sur une montre, un smartphone ou un minuteur)




	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i>		Version : 6 Date : 01/11/2017

## 5. Méthodes

### 5.1 Procédure à suivre

1. Veiller à la protection vaccinale des opérateurs (e.g. contre l'hépatite B), à leur formation technique en matière de biosécurité (i.e. considérer que le sang manipulé et les déchets de ces manipulations sont potentiellement infectieux) et à leur supervision dans ce domaine
2. Former le personnel en charge de mettre en œuvre la POS à la procédure de mise en œuvre du TDR, ou valider ses acquis dans ce domaine.
3. Disposer de tout le matériel nécessaire pour effectuer le TDR et vérifier la date d'expiration du kit TDR.
4. Ouvrir le kit, disposer son contenu sur le plan de travail (tampon, pipette ou tube capillaire, Lancette, alcool, et test TDR) et vérifier que le dessiccateur (i.e. dispositif permettant de déshydrater l'intérieur de l'emballage du kit) n'est pas humide et ne colle pas ; dans le cas contraire, jeter le kit ou le TDR.
5. Lire attentivement les recommandations inscrites sur la notice du fabricant pour la procédure à suivre.
6. Noter la date et le numéro d'identification (ID) de l'individu/patient sur la cassette à l'aide d'un marqueur à pointe fine ou en collant une étiquette d'identification.
7. Mettre des gants de protection
8. Prélèvement selon la POS n°9 BLOOD-SAMPLING
9. Recueillir la quantité requise de sang (généralement environ 5 µl) à l'aide d'une pipette capillaire ou poire jetable (fourni par le fabricant).
10. Déposer le sang dans le puits approprié de la cassette (dans notre exemple, le puits «A»). Jeter la pipette/poire dans le container de biosécurité
11. Mettre la quantité requise de tampon (trois à cinq gouttes, selon le fabricant) dans le puits approprié de la cassette (dans notre exemple, le puits «A»)
12. Attendre le temps indiqué dans la notice du fabricant (dans notre exemple, 15 minutes) après addition du tampon (temps nécessaire à la migration complète du sang mélangé au tampon et à l'anticorps marqué).



	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <b>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</b>		Version : 6 Date : 01/11/2017

13. Effectuer la lecture exactement au moment venu, sans attendre plus longtemps, ni lire avant ce moment (cela implique d'utiliser un chronomètre ; voir annexe 2) :
  - a. Des lignes colorées sont présentes dans la fenêtre de la ligne test (T) et de la fenêtre de contrôle (C, pour la ligne témoin) : le test est positif, signe d'une infection plasmodiale (même si l'intensité colorimétrique de la ligne dans la fenêtre T est faible).
  - b. Aucune ligne colorée n'est apparue dans la fenêtre T et une ligne colorée est présente dans la fenêtre C : le test est négatif (*i.e.* pas de signe d'infection plasmodiale)
  - c. Aucune ligne colorée n'est apparue dans la fenêtre C, quel que soit la présence ou non, d'une ligne colorée dans la fenêtre T : le résultat n'est pas interprétable. Le test doit être refait.
14. Retirer et jeter les gants.
15. Enregistrer le résultat dans le registre de l'enquêteur/Infirmier/paramédical du projet, et/ou le carnet du patient/individu, et/ou le registre des agents de santé/structure sanitaire
16. Jeter la cassette dans la poubelle de déchets non pointus/tranchants ou la conserver pour études ultérieures.


## 5.2 Points d'attention à respecter

- **Suivre scrupuleusement les instructions du fabricant** pour réaliser le test (notice incluse dans le kit TDR).
- **Lire les résultats exactement au moment prescrit**, ni avant, ni après (*i.e.* utiliser un chronomètre ou un minuteur précis).
- Conserver le contenant du kit hermétiquement fermé à une température comprise entre +4°C et +37°C. **Ne pas congeler.**
- Identifier les prélèvements (ID individuel au marqueur indélébile)
- Suivre les directives standards de biosécurité relatives à la manipulation et à l'élimination des matières potentiellement infectieuses.
- Porter des équipements/vêtements de protection (gants, blouse) pour la collecte et la manipulation des échantillons.

## 5.3 Pratiques à proscrire

- Réutiliser un dispositif ou une lancette/vaccinostyle usagé.



	<b>Procédure Opératoire Standard n°10</b>	<b>DIAG-RAPID</b>
<b>Détection des infections plasmodiales par test de diagnostic rapide (TDR)</b> <b><i>Detection of Plasmodium infection by rapid diagnostic test (RDT)</i></b>		Version : 6 Date : 01/11/2017

- Utiliser un TDR dont la date de péremption est dépassée.
- Utiliser un TDR dont les conditions de stockage n'ont pas été conformes aux recommandations du fabricant (en termes de température notamment) ou dont l'emballage est détérioré.
- Utiliser un TDR dont l'emballage hermétique a été ouvert depuis plus de 5 minutes (les kits sont habituellement très sensibles à l'humidité).
- Utiliser des mélanges de réactifs (tampons) provenant de kits différents (*i.e.* lots, modèles ou fabricants différents).
- Utiliser un TDR sur la cassette duquel des lignes colorées sont visibles avant l'ajout du sang ou du tampon.
- Utiliser du sang coagulé pour réaliser le test.
- Lire les résultats du test avant le délai prescrit ou au-delà du délai prescrit.

## 6. Références

- OMS. Accès universel aux tests diagnostiques du paludisme : manuel pratique. Genève: OMS 2012. (ISBN 978 92 4 250209 1)
- WHO. Good Practices for selecting and procuring rapid diagnostic tests for malaria. Genève: World Health Organization 2011. (ISBN 9789241501125)
- WHO. Malaria rapid diagnostic test performance: results of WHO product testing of malaria RDTs: round 4. Genève: World Health Organization 2012. (ISBN 978 92 4 150472 0)
- OMS. L'utilisation des tests diagnostiques rapides du paludisme. Genève: OMS 2004. (ISBN 92 9061 188 X, NLM Classification: **WC 750**)
- WHO, The Use of Malaria Rapid Diagnostic Tests. 2nd issue 2006, Manila: World Health Organization – Regional Office for the Western Pacific. <http://www.wpro.who.int/sites/rdt>.
- WHO. Malaria rapid diagnostic tests: making rapid diagnosis work. 2006, <http://www.wpro.who.int/sites/rdt/>.





## Annexe 1 : Mode d'emploi générique de TDR (OMS/USAID/TDR/FIND/URC)

### Comment effectuer le test diagnostique rapide du paludisme

Modifié aux fins de formation à l'utilisation du test générique de détection de *P. falciparum* pour diagnostiquer le paludisme à *P. falciparum*

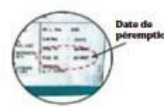













Rassembler :

- Un **NOUVEAU** sachet de test **non ouvert**
- Un **NOUVEAU** tampon imbibé d'alcool **non ouvert**
- Une **NOUVELLE** lancette **non ouverte**
- Une **NOUVELLE** paire de gants à jet
- Une solution tampon
- Une montre ou un minuteur




**LISEZ CES INSTRUCTIONS ATTENTIVEMENT AVANT DE COMMENCER**

- Vérifiez la date de péremption sur le sachet du test.
 
- Enfilez les gants. Enfilez une nouvelle paire de gants pour chaque patient.
 
- Ouvrez le sachet du test et retirez :
  - Le test
  - Le tube capillaire
  - Le desiccant
- Inscrivez le nom du patient sur le test.
 
- Prenez fermement le 4<sup>e</sup> doigt de la main gauche du patient. Désinfectez le doigt au moyen du tampon imbibé d'alcool. Laissez sécher le doigt avant de piquer.
 
- Sortez la lancette de son sachet. Piquez le doigt du patient pour obtenir une goutte de sang.
 
- Jetez la lancette dans la boîte à aiguilles immédiatement après avoir piqué le doigt. **Ne posez pas la lancette avant de la jeter.**

- Utilisez le tube capillaire pour recueillir la goutte de sang.
 
- Utilisez le tube capillaire pour mettre la goutte de sang dans l'alcôve carrée marquée « A ».
 
- Jetez le tube capillaire dans la boîte à aiguilles.
 
- Ajoutez la solution tampon dans l'alcôve ronde marquée « B ».
 

Comptez le nombre exact de gouttes.
- Attendez **15 minutes** après avoir ajouté la solution tampon.
 
- Lisez les résultats du test. (REMARQUE : Pour lire le test, vous devez attendre **15 minutes** après avoir ajouté la solution tampon. Sinon, vous risquez d'obtenir de FAUX résultats.)


**POSITIF**

Une ligne rouge dans la fenêtre « C » ET une ligne rouge dans la fenêtre « T » signifient que le patient EST EFFECTIVEMENT ATTEINT de paludisme à *P. falciparum*.



*P. falciparum*


Le test est POSITIF même si la ligne rouge dans la fenêtre « T » est peu visible.



*P. falciparum* (peu visible « »)

**NEGATIF**


Une ligne rouge dans la fenêtre « C » et PAS DE LIGNE dans la fenêtre « T » signifient que le patient N'EST PAS ATTEINT de paludisme à *P. falciparum*.



Négatif

**RESULTAT INVALIDE**



PAS DE LIGNE dans la fenêtre « C » et une ou aucune ligne dans la fenêtre « T » signifient que le test est invalide.



Recommencez le test avec un nouveau matériel si aucune ligne de contrôle n'apparaît.

Si aucune ligne n'apparaît dans la fenêtre « C », recommencez le test en utilisant un **NOUVEAU test dans son sachet fermé** et une **NOUVELLE lancette dans son sachet fermé**.

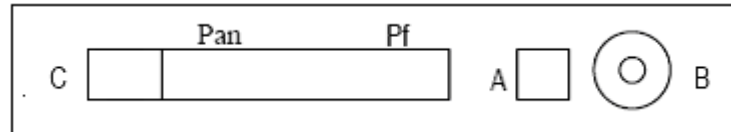
**REMARQUE :** Chaque test ne peut être utilisé **QU'UNE SEULE FOIS**. N'essayez pas d'employer le test plus d'une fois.



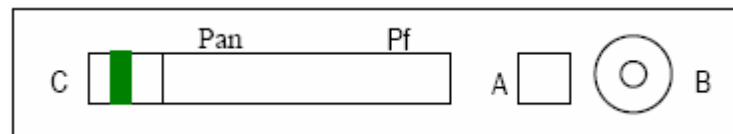
## Annexe 2 : Interprétation générique des résultats de TDR

### 1. Aucun trait dans la fenêtre de contrôle C : résultat ininterprétable



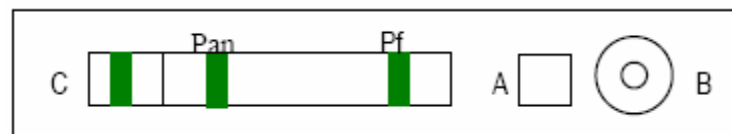
Le test n'est pas interprétable si aucune bande n'apparaît ou si la fenêtre de contrôle ne contient aucun trait. Refaire le test avec un nouveau dispositif en veillant à suivre scrupuleusement la procédure de test.

### 2. Résultat négatif pour le paludisme : pas de signe d'infection plasmodiale



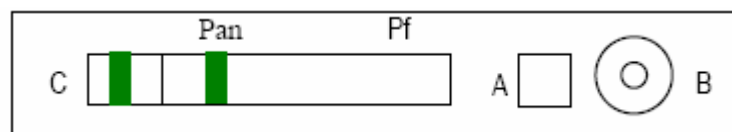
Une seule bande apparaît dans la fenêtre de contrôle (C). Aucune bande dans la fenêtre de test.

### 3. Résultat positif pour une infection à *Plasmodium falciparum* ou une infection associant *P. falciparum* à un autre plasmodium (infection mixte) :



En plus de la bande de contrôle dans la fenêtre C, deux bandes apparaissent dans les zones « Pf » et « Pan » de la fenêtre de test (T).

### 4. Résultat positif pour une ou des infection(s) à *Plasmodium* autre(s) que *P. falciparum* :



En plus de la bande de contrôle dans la fenêtre C, une bande apparaît dans la zone « Pan » mais pas dans la zone « Pf » de la fenêtre de test (T).