



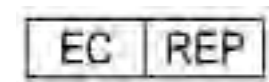
Les tests de diagnostic rapide : principes, limites et perspectives



Colloque « TDR en infectiologie tropicale »
28 Mai 2014
Société de Pathologie Exotique



Jean-Baptiste Ronat, Microbiologiste,
Monique Gueguen, Médecin Biologiste



Référents sur les techniques de laboratoire
Médecins Sans Frontières

Introduction

Le concept de test de diagnostic rapide (TDR) n'est pas récent:

- pour le diagnostic du diabète: utilisation de fourmis attirées par l'urine sucrée (Hindous, Chinois).
- Premier TDR du diabète développé par Bayer en 1940 = **Clinitest**



Introduction

Depuis 10 ans, apparition massive de technologies permettant le diagnostic des maladies infectieuses; simples, rapides et fiables:

- employés en dehors d'un laboratoire d'analyse, contextes d'urgence/épidémie, moyens réduits
- afflux massif de financements de bailleurs >> programmes de lutte contre les maladies infectieuses (MI) = développement de nouveaux tests rapides **plus** ou **moins** performants



Qu'est ce qu'un TDR?

- Dispositif médical de diagnostic in vitro (DMDIV) répondant à certains critères
- Critères « **ASSURED** » (OMS):
 - précis, simple à utiliser;
 - peu coûteux, facile à interpréter;
 - stable dans des conditions extrêmes;
 - peu ou pas de traitement de l'échantillon;
 - culturellement acceptable.
- Les TDR sont aussi appelés, en fonction du contexte d'utilisation
 - TROD: tests rapides d'orientation diagnostic
 - PST: patient self testing
 - POL: physician office lab
 - POCT: point of care testing



Qu'est ce qu'un TDR?

- Fonctionne en capturant des **analytes** sur une surface solide,
- Puis fixation de molécules à ces analytes pour permettre une détection à l'œil nu.
- "*Analyte*" = *molécules qui sont indicatives de différents états, e.g. infection, grossesse, sang ou protéines dans les urines, etc.*
- L'analyte peut être mis en évidence par une méthode directe ou indirecte
 - **Tests directs** = détection des antigènes
 - d'antigène de pathogène (HRP2 du *P. Falciparum*, Antigène HBs, etc.),
 - d'hormone (βHCG, etc.)
 - **Tests indirects** = détection des anticorps développés en réponse à une infection aiguë, chronique ou silencieuse (test sérologique Ac VIH, etc.)



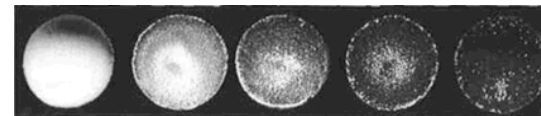
Caractéristiques techniques

Repose essentiellement sur des **techniques immunologiques**

- Méthode immunochromatographique (lateral flow)



- Méthode Flow through

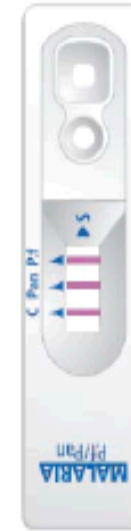


- Agglutination de particules

- Méthodes immunoenzymatiques (ELISA sur membrane)



Mais aussi des méthodes **biochimiques**

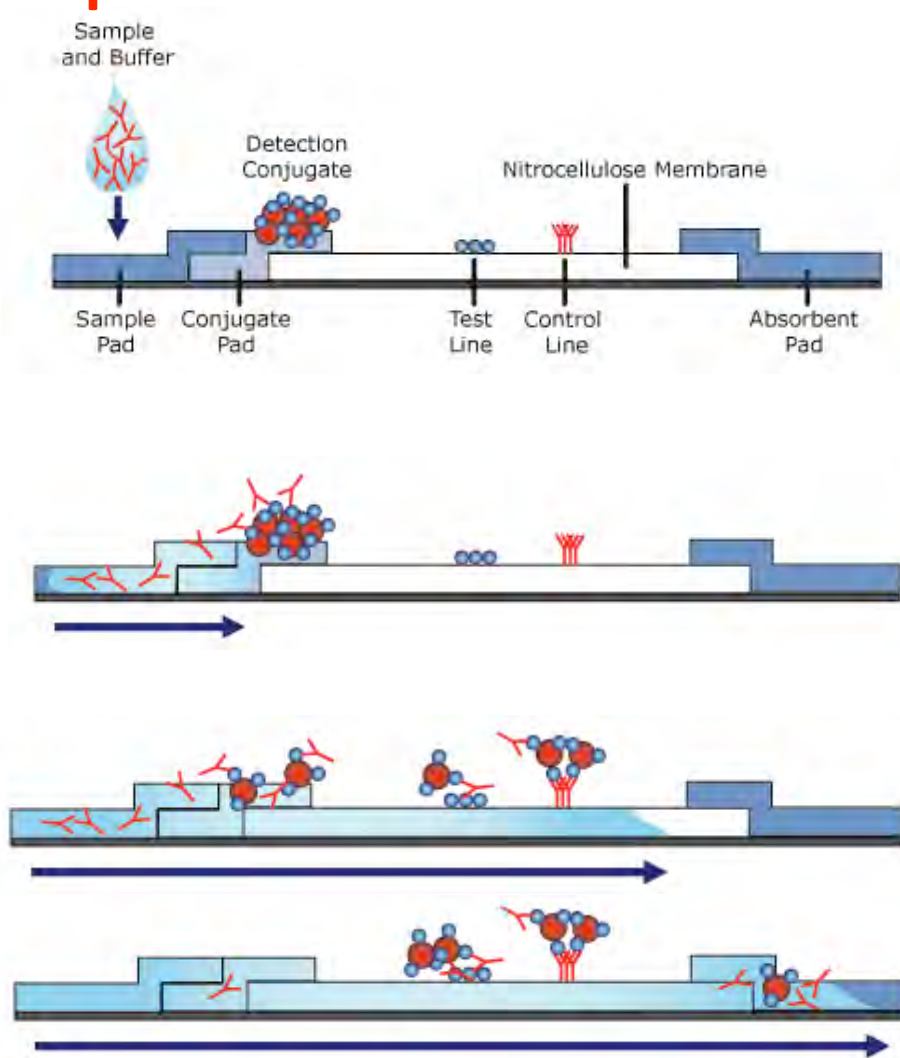


TDR immuno-chromatographiques (lateral flow)

- Format **le plus populaire**, introduit en 1980
- Détection spécifique qualitative ou semi-quantitative de nombreux antigènes, anticorps, produits d'amplification d'acides nucléiques.
- **Un ou plusieurs** analytes peuvent être testés simultanément
- Tout type d'échantillons
- Processus de fabrication maîtrisé / technologie connue
- Facilité d'utilisation
- **Coût abordable**



Principe d'un test lateral flow



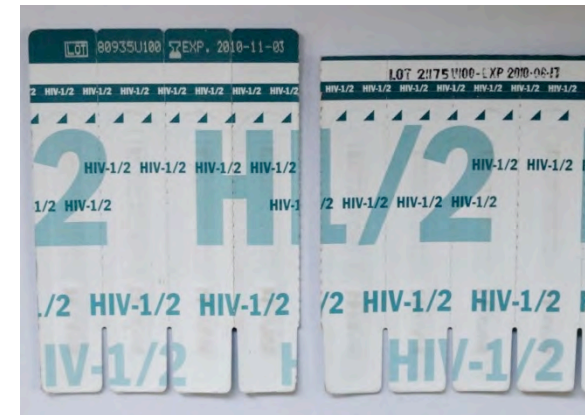
Avantages

- Facile à utiliser, formation minimale
- Rapide / résultats en **10 à 30 minutes**
- Durée de conservation jusqu'à 1 à 2 ans sans réfrigération
- Pas de matériel supplémentaire (en général); peut être effectué dans centre de santé sans laboratoire ou électricité
- Certains tests sont aussi précis que les tests de laboratoire de référence



Inconvénients

- Coût par test > tests traditionnels
- Certains ont une durée de conservation limitée
- Peuvent être moins sensibles ou moins précis que les tests de référence
- Peut engendrer **une interprétation subjective** (variation selon les lecteurs) (Moonasar and all, malaria journal, 2007, 6:74)
- Réponse principale: «**oui / non**»
- Multitude de marques, de contrefaçons
- Marché international des DMDIV mal régulé



Comment bien choisir?

- Choix des tests pour **quel objectif**:
 - Privilégier la sensibilité (maladie grave, maladie transmissible)
 - Privilégier la spécificité (investigations complémentaires dangereuses)
- Choix des tests en fonction des **conditions d'utilisation**:
 - Privilégier la robustesse et la simplicité d'utilisation ou d'interprétation
- Choix des tests en fonction **des sujets testés**:
 - Bébé né de mère séropositive
 - Détection d'une infection précoce chez un adulte



Comment bien choisir?

- En deux temps (Marquage CE, FDA, Pré-qualification OMS)
- Premier temps: **l'évaluation technique de la performance des TDR**
 - Précision (sensibilité, spécificité)
 - Performance clinique (VPP et VPN)
 - La reproductibilité des résultats
 - Acceptabilité sur le terrain (durée de conservation, le stockage)
 - Facilité d'emploi
- Deuxième temps: **la procédure d'assurance qualité**
 - Confirmer que le fabricant est en mesure de fournir en permanence le même produit, avec une qualité toujours assuré.





Classification des DMDIV Directive 98/79/EEC



Il existe quatre classes, allant de risque élevé à faible

*OC = Organisme de Certification

	Marqueurs	Risque pour un patient <i>Européen</i>	Restriction
Classe A	VIH, Hépatite B et C, groupage sanguin	Elevé	Certification par OC CE1234
Classe B	CMV, Toxoplasmose, Blood glucose	Moyen	Certification par OC CE1234
Self testing	Pregnancy, coagulation monitoring	Moyen	Certification par OC CE1234
Classe Non A non B	Maladies tropicales	faible	Auto certification CE

**Cette classification n'est pas compatible
avec les risques liés aux maladies tropicales**



CE Classification des DMDIV Council Directive 98/79/EEC

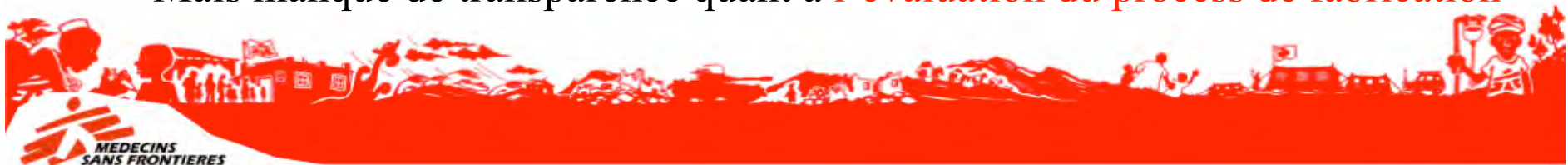


Avantage de la classe A, B et self-testing pour le consommateur :

- Chaque lot n'est mis sur le marché qu'après approbation de l'**organisme de certification (OC)**
- Echantillons testés par laboratoire externe
- Echantillons testés par le fabricant
- Assurance qualité accrue

Avantage de la classe non A non B pour le consommateur des PED:

- Traçabilité
- Mais manque de transparence quant à **l'évaluation du process de fabrication**





World Health Organization

Programme de pré-qualification de l'OMS

- Le Programme de Pré-qualification (PQ) de l'OMS sur les outils de diagnostic vise à accroître l'accès aux technologies de diagnostic abordables, de qualité garantie et qui sont appropriés pour une utilisation dans des contextes à ressources limitées.
- Il couvre: VIH / SIDA, Paludisme, L'hépatite B et C
- La liste est mise à jour avec chaque nouveau produit pré-qualifié

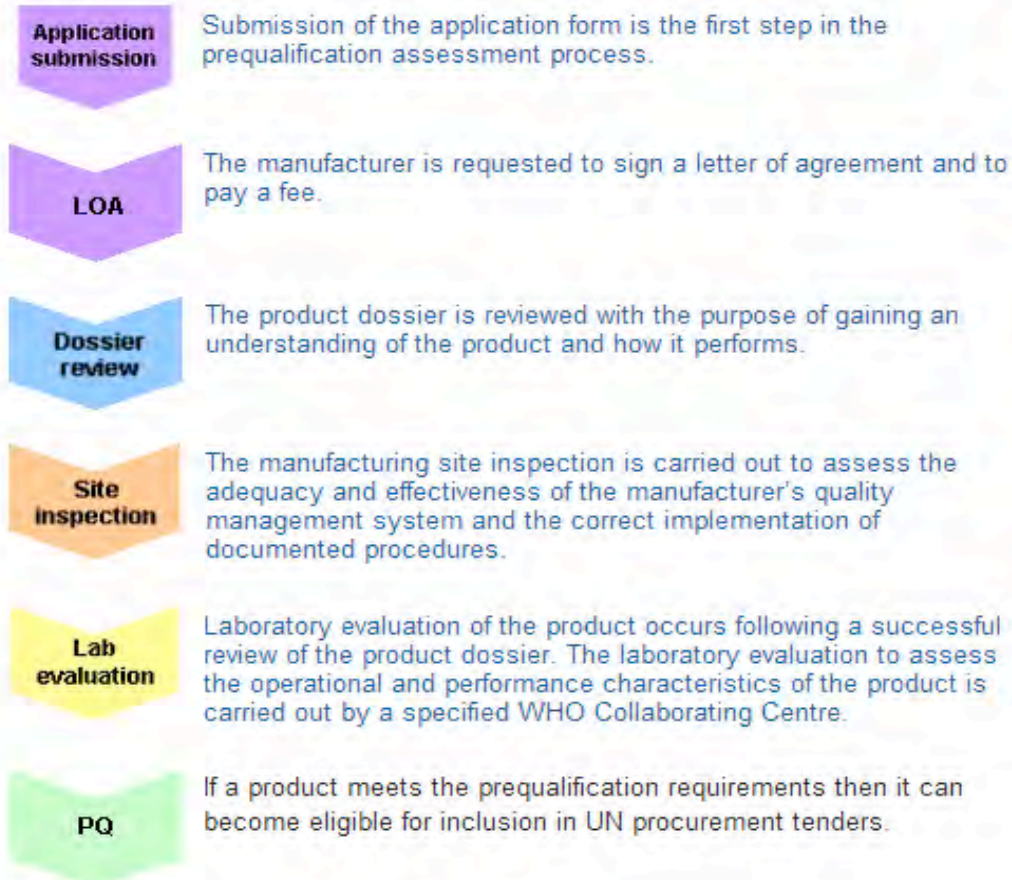
http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/120502_prequalified_products_list_v1.pdf





World Health Organization

Programme de pré-qualification de l'OMS



Performances en situation

« expérimentale »

- Evaluations internationales OMS, FIND/OMS/CDC, CE = Evaluations en laboratoire de référence
 - Panels d'échantillons (sérum ou plasma) les plus représentatifs possible
 - Panels fabriqués : parasites cultivés, échantillons dilués
 - Panels de négatifs, de positifs, d'échantillons à substances interférentes potentielles, de femmes enceintes
 - Panels de séroconversion

Limitations

- Panel de sang capillaire impossible (comparaisons sérum/plasma/sang total rares, ou sur taille échantillon très limité)
 - Panel de sang veineux non congelable
 - Lots fournis par fabricant pour l'évaluation peuvent être « choisis »
- ➔ **Réactovigilance** : rôle des autorités nationales, de la réglementation internationale

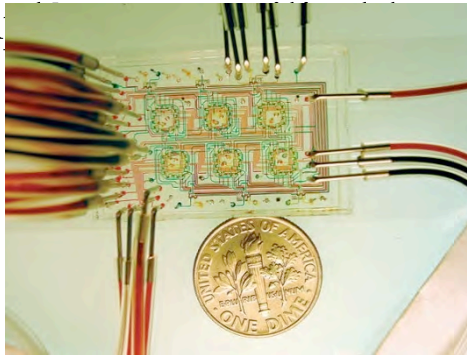


Perspectives

D'autres méthodes de diagnostic rapide, utilisant **une source électrique** et miniaturisant des techniques reconnues sont actuellement développées, telles que:

- méthodes d'amplification de l'ADN iso thermiques,
- les bio-senseurs,
- la micro-fluidique
- La résonance magnétique,
- Les nanostructures, etc

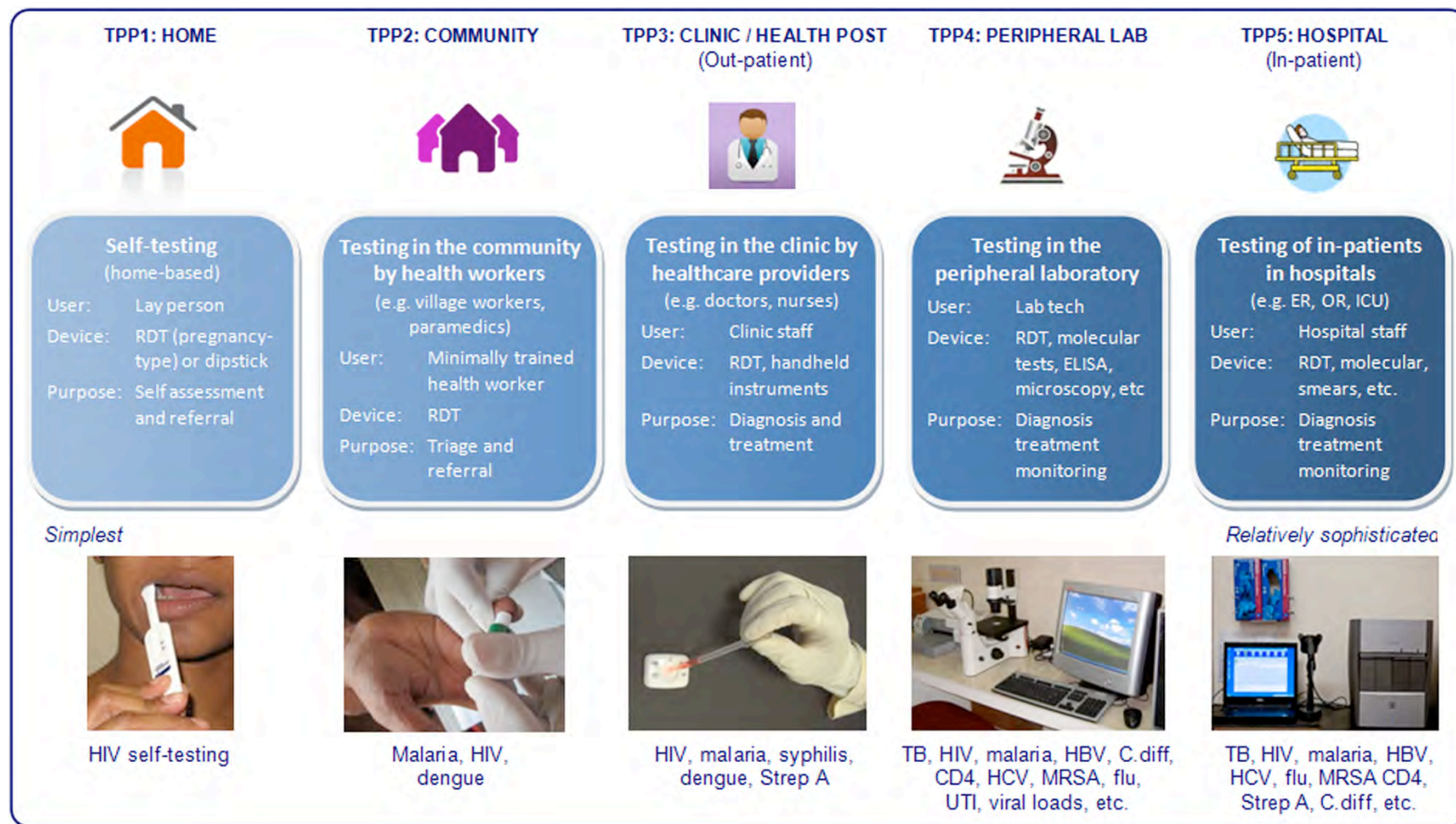
Promises à un **grand avenir** même si elles nécessitent encore un appareillage



Lab on disk©

SAMBA VL©

Perspectives



* N. Pant Pai, C. Vадnais, C. Denkinger, N. Engel, M. Pai, PLoS Med 9(9), e1001306, 2012

Conclusion

- Bien choisir le type de test = **épidémie** ou **diagnostic individuel**
- **Attention!** multitude de fabricants
- Demander les algorithmes de diagnostic auprès des services de santé du pays
- Vérifier les tests conseillés par l'OMS ou le ministère de la santé du pays concerné
- Soyez critique sur leur utilisation: **exemple de la longue négativation HRP2**
- Sécuriser l'approvisionnement et le stockage



- **Vérifier** les lots à la livraison dans le pays et en périphérie
- **Bien former et superviser** régulièrement les utilisateurs par du personnel compétent:
 - Les conseillers, les sages-femmes etc. par un laborantin rigoureux
 - Tests d'aptitude avec quelques échantillons connus
 - Vérifier les registres et le respect de l'algorithme
 - Vérifier la qualité des données transmises
- Mettre en place un système de **contrôle qualité**

Le laboratoire a été délocalisé au lit du patient

Mais les bonnes pratiques de laboratoire n'ont pas suivies



Merci

Marc Leportier
Toute les équipes de MSF
Les patients

Pour votre écoute



TDR Directs (e.g. Liste MSF)

VHB	Determine HBs Ag SD Bioline HBs	Lat Flow Lat Flow	Alere SD	S/P/ST S/P/ST	Très facile
Méningite	Pastorex meningitidis	Aglut latex	Biorad	LCR/ serum	Chauffage 100°/centrifug
Choléra	Crystal VC Cholera Smart II	Dipstick Lat flow	SPAN New Horizons	selles	Très facile Control + inclus
Malaria	HPR2/pLDH/ Combo	Lat Flow	SD AccessBio FirstResponse Advantage	ST	Très facile
Ag Crypto	Crypto LA II Cryptococcal Ag LFA	Aglut latex Lat Flow	Fumouze IMMY	Serum/LCR Serum/LCR	Dilutions, Pronase Très facile
Ag dengue	Dengue NS1 Ag	Lat Flow	SD	S/P/ST	Détection très précoce

TDR Indirects (e.g. Liste MSF)

VIH	Det HIV Unigold Stat-Pack Gold colloïdal Vikia Insti HIV	Lat Flow Lat Flow Dipstick Lat Flow Lat Flow Flow Through	Alere Trinity B Chembio KHB Biomérieux Biolytical	S/P/ST S/P/ST S/P/ST S/P/ST S/P/ST S/P/ST	1 min, 3 étapes
Hep B	Determine anti-HBs	Lat Flow	Alere	S/P/ST	
Hep C	HCV SPOT	Flow Through	Genelabs	S/P	5 étapes + préparat° réactifs
Hep E	Assure HVE IgM	Lat Flow	Genelabs	S/P/ST	3 étapes
Dengue	Dengue duo cassette IgG/IgM	Lat Flow	Pan Bio	S/P/ST	
Syphilis	Non-tréponém.	RPR aglutinat	Nb marques	S/P	Rotateur/labo
	Tréponémique	SD Syphilis Determine Syph	SD Alere	S/P/ST	Très facile



Council Directive 93/42/EEC:

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31993L0042:EN:NOT>

Council Directive 98/79/EEC (IVD):

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31998L0079:EN:NOT>

Nando website (Notified bodies):

<http://ec.europa.eu/enterprise/newapproach/nando>



World Health Organization

WHO Prequalification programme for IVD

http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/en/

http://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/120502_prequalified_products_list_v1.pdf

http://www.who.int/diagnostics_laboratory/pq_status/en/index.html

Ressources

- <http://www.rapid-diagnostics.org>
- <http://www.stard-statement.org/>
- <http://www2.wpro.who.int/sites/rdt>
- OMS: Bonnes pratiques relatives au choix et a l'achat des tests de diagnostic rapide du paludisme