



GROUPE SPÉCIAL MONDIAL DE LUTTE CONTRE LE CHOLÉRA

Note technique provisoire Utilisation de tests de diagnostic rapide du choléra Novembre 2016

Objectif

Fournir des lignes directrices provisoires aux ministères de la Santé et à d'autres organisations sur l'utilisation éventuelle de tests de diagnostic rapide disponibles dans le commerce pour la détection et la surveillance du choléra.

Contexte

L'approche habituelle pour le diagnostic du patient et la surveillance du choléra repose sur l'examen clinique des cas suspects de choléra, avec confirmation par culture positive sur des échantillons de selles dans les laboratoires de référence. La culture est très spécifique et est considérée comme la méthode de référence dans la plupart des pays¹. De plus, l'isolement des souches de *Vibrio cholerae* (VC) a l'avantage de permettre une analyse phénotypique des isollements bactériens pour les tests de sensibilité aux antibiotiques ainsi qu'une caractérisation génétique et moléculaire (par des techniques de sous-typage moléculaire). Toutefois, une mauvaise qualité de l'échantillonnage et un retard d'expédition pourraient affecter de façon significative l'efficacité de la culture en tant qu'outil de diagnostic principal¹. Les tests moléculaires sont devenus une alternative à la culture pour l'identification de nombreux agents pathogènes et des méthodes de PCR ont été mises au point pour l'identification des espèces *V. cholerae* et la caractérisation des sérogroupes O1 et/ou O139.

D'un point de vue de santé publique, la gestion des épidémies de choléra exige une identification immédiate en raison du potentiel de propagation de l'agent pathogène et des conséquences dévastatrices des épidémies. Toutefois, dans de nombreux pays endémiques, la capacité d'utiliser des méthodes de diagnostic fondées sur la culture - ou la PCR - est limitée par l'insuffisance ou le manque de capacités de laboratoire. Cette situation est due à des problèmes de gestion du personnel, à un manque de personnel de laboratoire qualifié et à l'absence de fournitures de laboratoire, à des problèmes de stockage et de transport des échantillons, à la notification peu fiable et à des contraintes financières globales. La confirmation par culture en particulier est rarement accessible dans les établissements de santé périphériques où la plupart des patients atteints du choléra sont présents. Ces difficultés entraînent des retards dans la détection des épidémies et la prise de mesures de contrôle qui en découlent, et conduisent à terme à des estimations peu fiables de la charge de choléra dans le monde entier².

Des tests diagnostiques rapides (TDR) pour la détection de *V. cholerae* O1 et/ou O139, les agents pathogènes responsables du choléra, ont été commercialisés comme solution alternative à la culture

ou à la PCR pour la confirmation des cas cliniquement suspects de choléra dans des situations où l'accès aux services de laboratoires appropriés est limité. Il existe plus de 20 types de TDR du choléra actuellement commercialisés, principalement axés sur la détection des antigènes O1 et O139 dans des échantillons de selles humaines à l'aide d'anticorps monoclonaux^{3,6,7,8,9}. Les TDR du choléra sont des dispositifs d'épreuve immunochromatographique – une bandelette trempée dans un tube contenant de l'échantillon, ou une cassette où l'échantillon est appliqué sur un puits d'échantillonnage. Dans les structures périphériques, ils peuvent être utilisés par du personnel formé non spécialisé, au chevet du patient dans des structures périphériques. Ils fournissent un résultat qualitatif rapide (en moins de 30 minutes) (bande colorée) qui peut être lu à l'œil nu.

Les TDR du choléra servent à identifier rapidement les cas de choléra dans une population, tout en poursuivant les efforts pour confirmer l'épidémie par culture et par PCR. L'utilisation de TDR du choléra pourrait potentiellement accroître la capacité des pays à détecter plus rapidement les cas suspects de choléra et ainsi à améliorer la surveillance du choléra^{3,4,5}.

La présente note technique provisoire vise à fournir aux ministères de la Santé et à d'autres organismes des renseignements techniques sur les TDR immunologiques du choléra et passe en revue les indications pour leur utilisation pratique sur le terrain.

Performances et limites des TDR du choléra

Les TDR du choléra appartiennent à une catégorie de dispositifs de diagnostic in vitro qui sont classés comme présentant un faible risque sur le plan réglementaire. Par conséquent, la rigueur des examens indépendants de ces dispositifs est inférieure à celle de dispositifs à risque plus élevé, même dans le cadre de la même juridiction réglementaire. Par conséquent, la qualité des dispositifs n'est pas normalisée. En outre, on a signalé des problèmes de modifications récurrentes des dispositifs, souvent assez importantes et sans notification préalable, les utilisateurs finaux n'étant ainsi pas informés des ajustements nécessaires.

En outre, seuls quelques dispositifs ont été évalués par des établissements universitaires et de recherche, indépendamment des fabricants.

Les évaluations effectuées sur les versions les plus récentes des TDR du choléra disponibles dans le commerce ont mis en évidence d'importantes variations de leurs performances en ce qui concerne :

- la sensibilité, variant de 58 à 100 % ; et
- la spécificité, qui varierait entre 60 et 100 %⁷ selon le test et le contexte, même en tenant compte des limites de la méthodologie de l'étude qui auraient pu conduire à sous-estimer la spécificité^{7,10}.

Quand utiliser les tests de diagnostic rapide du choléra ?

- Les TDR ont pour vocation d'être utilisés au niveau des soins de santé primaires à des fins de surveillance dans les centres de santé périphériques. Les TDR permettent d'accroître la spécificité du diagnostic clinique du choléra et améliorer sa valeur prédictive positive en permettant le triage des échantillons à confirmer en laboratoire.
- Les TDR du choléra peuvent être utilisés pour :

- la détection précoce des épidémies, comme outil d'alerte initiale ;
 - le suivi des épidémies ;
 - la surveillance des pics saisonniers dans des zones fortement endémiques.
- Quelle que soit la situation, les TDR du choléra ne doivent être pratiqués que sur les cas cliniquement suspects de choléra.
 - Dans les zones où aucun cas confirmé de choléra n'a été signalé récemment, si un ou plusieurs patients cliniquement suspects de choléra présentent un TDR positif, cela suffit pour lancer immédiatement une alerte de choléra, envoyer un échantillon de selles au laboratoire de référence pour confirmation et prendre des mesures de réponse (par exemple informer les autorités, mobiliser des ressources et du matériel, etc.)¹
 - Dans les zones où une épidémie est en cours, on peut utiliser les TDR positifs pour sélectionner des échantillons de selles provenant de cas suspects pour culture.
 - Les TDR ne remplacent pas la culture des selles : tout résultat positif doit être confirmé par culture ou par PCR dès que possible avant de confirmer l'alerte et de déclarer une épidémie de choléra. Les tests moléculaires par culture ou PCR permettent l'identification, mais aussi la caractérisation et le génotypage des souches en circulation, ce qui fait partie intégrante de la surveillance du choléra et est utile à des fins épidémiologiques.
 - Si tous les TDR sont négatifs, l'hypothèse du choléra peut être exclue.
 - Les TDR du choléra sont d'une utilité limitée pour le diagnostic individuel des cas suspects de choléra, car les résultats du test n'ont aucune influence sur la prise en charge immédiate du cas.

Remarques sur l'utilisation de TDR du choléra

- Un kit de test comprend généralement les dispositifs de test, emballés individuellement, le matériel nécessaire pour effectuer le test et une notice technique avec les instructions d'utilisation (en anglais, français et espagnol), spécifiques à chaque marque.
- Les utilisateurs finaux doivent se référer aux instructions d'utilisation fournies avec le kit de test par le fabricant pour organiser le stockage à long terme des TDR du choléra. La plupart des dispositifs disponibles dans le commerce n'ont pas besoin de respecter la chaîne du froid pour ce qui est du stockage et du transport. Néanmoins, la stabilité des tests n'est garantie que jusqu'à un maximum de 35 à 40 °C et la durée de conservation varie de 12 à 18 mois, selon le fabricant et le produit.
- Lors de la réalisation du test, les instructions du fabricant doivent être rigoureusement respectées, et plus particulièrement les directives sur la façon de recueillir et de stocker les échantillons.
- Au moment de l'introduction dans chaque pays, les tests doivent idéalement être évalués au niveau central au laboratoire de référence national sur un ensemble d'échantillons de

¹ Il convient de mentionner que la visualisation de la motilité typique de *V. cholerae* par examen microscopique direct de selles fraîches peut s'avérer une méthode utile de dépistage complémentaire au TDR.

patients positifs et négatifs confirmés par PCR (si disponibles) avant de pouvoir être commercialisés et utilisés. Il est recommandé de décrire l'utilisation des TDR dans des procédures opérationnelles standard spécifiques aux pays, élaborées par le laboratoire de référence régional et/ou national et en tenant compte de la langue, des réglementations nationales et du système de gestion de la qualité, etc.

- Bien que les TDR de choléra soient faciles à utiliser, des séances de formation doivent être organisées dans les structures où les tests seront introduits afin que le personnel de laboratoire et le personnel non-laboratoire comprennent les méthodes requises pour la collecte des échantillons, le stockage des kits, la façon d'effectuer le test, l'interprétation et la gestion des résultats. Il est particulièrement important de ne pas dépasser le temps de lecture recommandé (généralement de 15 à 20 minutes), car cela peut donner de faux résultats positifs. La positivité de la ligne de contrôle doit toujours être vérifiée au stade de l'interprétation des résultats (signal coloré). L'absence de signal sur la ligne de contrôle invalide le test, qui doit donc être répété.
- Les résultats obtenus à partir de selles liquides fraîches ou d'écouvillons rectaux sont plus fiables. Se référer aux instructions d'utilisation du fabricant pour décider de l'échantillon à prélever. Les échantillons doivent être recueillis et stockés dans des contenants propres sans désinfectant (les pots de chambre ne sont pas considérés comme des contenants appropriés). De faux négatifs peuvent se produire (et la sensibilité peut être amoindrie) si les échantillons sont recueillis i) dans des récipients contenant des résidus de chlore, ii) après le début de la thérapie antibiotique ou iii) en cas de mauvaises pratiques d'échantillonnage ou de manipulation de l'échantillon (par exemple, retard prolongé)¹¹.
- Les échantillons de selles destinés à la culture et/ou à la PCR doivent être stockés dans un milieu de transport tel que Cary Blair ou du papier-filtre et de la solution saline stérile¹² et maintenus à température ambiante. De même, il n'est pas recommandé de réfrigérer les échantillons de selles lorsqu'ils sont envoyés au laboratoire de référence, car les conditions de stockage à froid (moins de 5 °C) peuvent réduire considérablement les populations de VC.

Sélection des TDR du choléra

De nombreux types de TDR du choléra sont commercialisés par diverses entreprises dans le monde entier. Les utilisateurs finaux intéressés doivent vérifier les spécifications de test suivantes pour sélectionner le test le plus approprié à leur contexte et leurs exigences en matière de diagnostic :

Cible de détection : la capacité de distinguer l'antigène VC O1 du VC O139 peut être intéressante dans les zones où ces deux sérogroupes sont ou ont été signalés. Dans les autres zones, un test de détection du VC O1 suffit.

Essai de performances : les essais de performances indépendants sont la meilleure approche pour choisir un dispositif qui offre de bonnes performances ; les utilisateurs doivent se référer aux essais récents pour faire leur choix (voir les références « Essais des tests de diagnostic rapide du choléra »¹³⁻²²). Il est préférable d'utiliser des TDR dont les

performances ont été évaluées dans l'environnement où l'utilisation est prévue, c'est-à-dire les essais sur le terrain et sur la population. Les essais de performances effectués sur des souches isolées du VC plutôt que sur des spécimens fécaux doivent être interprétés avec prudence, car cette approche peut conduire à une surestimation des performances du test.

Performances minimales attendues : les TDR du choléra doivent avoir une sensibilité d'au moins 90 % et une spécificité d'au moins 85 % pour restreindre la proportion de faux positifs à un niveau acceptable.

Fabrication de TDR du choléra : Le Groupe spécial mondial de lutte contre le choléra exhorte les fabricants à continuer de mettre au point des tests qui répondent à des normes élevées de production grâce à un système de gestion de la qualité approprié, comprenant notamment des mesures de surveillance après la mise sur le marché (essais par lot, signalement de plaintes, etc.) et souligne l'importance de s'engager dans un processus de préqualification. Les partenaires et les pays intéressés sont invités à contacter l'OMS et le Groupe spécial mondial de lutte contre le choléra pour obtenir de plus amples informations, des conseils et de l'aide (GTFCCsecretariat@who.int).

Références

1. Keddy K., Sooka A., et al. Diagnosis of *Vibrio cholerae* O1 Infection in Africa. *Journal of Infectious Diseases* 2013, 208(Suppl 1): S23-31.
2. Lopez A., Macasaet L., et al. Epidemiology of Cholera in the Philippines. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2015, 9(1): e3440.
3. Mukherjee P, Ghosh S, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick kit for diagnosis of cholera emphasizes its outbreak utility. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2010,63(4): 234-8.
4. De, R., J. Ghosh, et al. The Role of *Vibrio cholerae* Genotyping in Africa. *Journal of Infectious Diseases* 2013,208(suppl 1): S32-S38.
5. Kalluri, P., A. Naheed, et al. (2006). "Evaluation of three rapid diagnostic tests for cholera: does the skill level of the technician matter? *Tropical Medicine & International Health* 2006,11(1): 49-55.
6. Boncy J., Rossignol E., et al. Performance and utility of a rapid diagnostic test for cholera: notes from Haiti. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013,76(4): 521-3.
7. Dick M., Guillem M., et al. Review of Two Decades of Cholera Diagnostics - How Far Have We Really Come? *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2012,6(10): e1845.
8. Sinha A., Sengupta S., et al. Evaluation of a rapid dipstick test for identifying cholera cases during the outbreak. *The Indian Journal of Medical Research* 2012,135(4): 523-8.
9. Ley, B., A. Khatib, et al. Evaluation of a Rapid Dipstick (Crystal VC) for the Diagnosis of Cholera in Zanzibar and a Comparison with Previous Studies. *PLoS One* 2012,7(5): e36930.
10. Page A., Alberti K., et al. Evaluation of a Rapid Test for the Diagnosis of Cholera in the Absence of a Gold Standard. *PLoS One* 2012,7(5): e37360.
11. Alam M., Hasan N., et al. Diagnostic Limitations to Accurate Diagnosis of Cholera. *Journal of Clinical Microbiology* 2010,48(11): 3918-3922.
12. Page AL, Alberti KP, et al. Use of filter paper as a transport medium for laboratory diagnosis of cholera under field conditions. *J Clin Microbiol*. Août 2011 ;49(8):3021-3.

Essais des tests de diagnostic rapide du choléra

13. Field Evaluation of Crystal VC Rapid Dipstick test for cholera during a cholera outbreak in Guinea-Bissau (Trop Med Int Health. 2009)
14. Evaluation of a rapid dipstick test for identifying cholera cases during the outbreak (IJMR, 2012)
15. Performance and utility of a rapid diagnostic test for cholera: notes from Haiti (Diagn Microbiol Infect Dis, 2013)
16. Evaluation of a rapid immunochromatographic Dipstick Kit for Diagnosis of Cholera emphasizes its

GTFCC - Surveillance

Groupe de travail sur les laboratoires

outbreak utility (Jpn. J. Infect. Dis. 2010)

17. Evaluation of a rapid dipstick (Crystal VC) for the Diagnosis of Cholera in Zanzibar and a comparison with previous studies (Plos ONE 2012)
18. Evaluation of a Rapid Test for the Diagnosis of Cholera in the Absence of Gold Standard (PLoS ONE 2012)
19. Rapid Detection of Vibrio Cholerae O1 and O139 in stool samples by one-step immunochromatographic dipstick test (Int J Biol Med Res. 2015)
20. Development and testing of monoclonal antibody-based rapid immunodiagnostic test kits for direct detection of vibrio cholerae O139 Synonym Bengal (J. Clin. Microbiol. 1995)
21. Evaluation of the monoclonal antibody -based kit Bengal SMART for rapid detection of vibrio cholerae O139 synonym Bengal in stool samples (J. Clin. Microbiol. 1995)
22. A novel kit for rapid detection of vibrio cholerae O1 (J. Clin. Microbiol. 1994)