



THE CYSCOPE®: A LED FLUORESCENCE MICROSCOPE REVEALS A VERY HIGH PREVALENCE OF PREGNANCY-ASSOCIATED MALARIA (PAM) IN DOUALA

Humphrey Gah Asaah¹, Leopold Gustave Lehman², Christian Ngouadjio NGuetse¹, Jeannette Youte Mbeumo³, Charles Felix Bilong Bilong¹.

¹Université de Yaoundé I, Yaoundé-Cameroun

²Université de Douala, Douala-Cameroun,

³Hôpital Laquintinie de Douala, Douala-Cameroun.

PLAN

- **INTRODUCTION**
- **MÉTHODOLOGIE**
- **RÉSULTATS ET DISCUSSION**
- **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

INTRODUCTION

RISQUE D'INFECTION PENDANT LA GROSSESSE

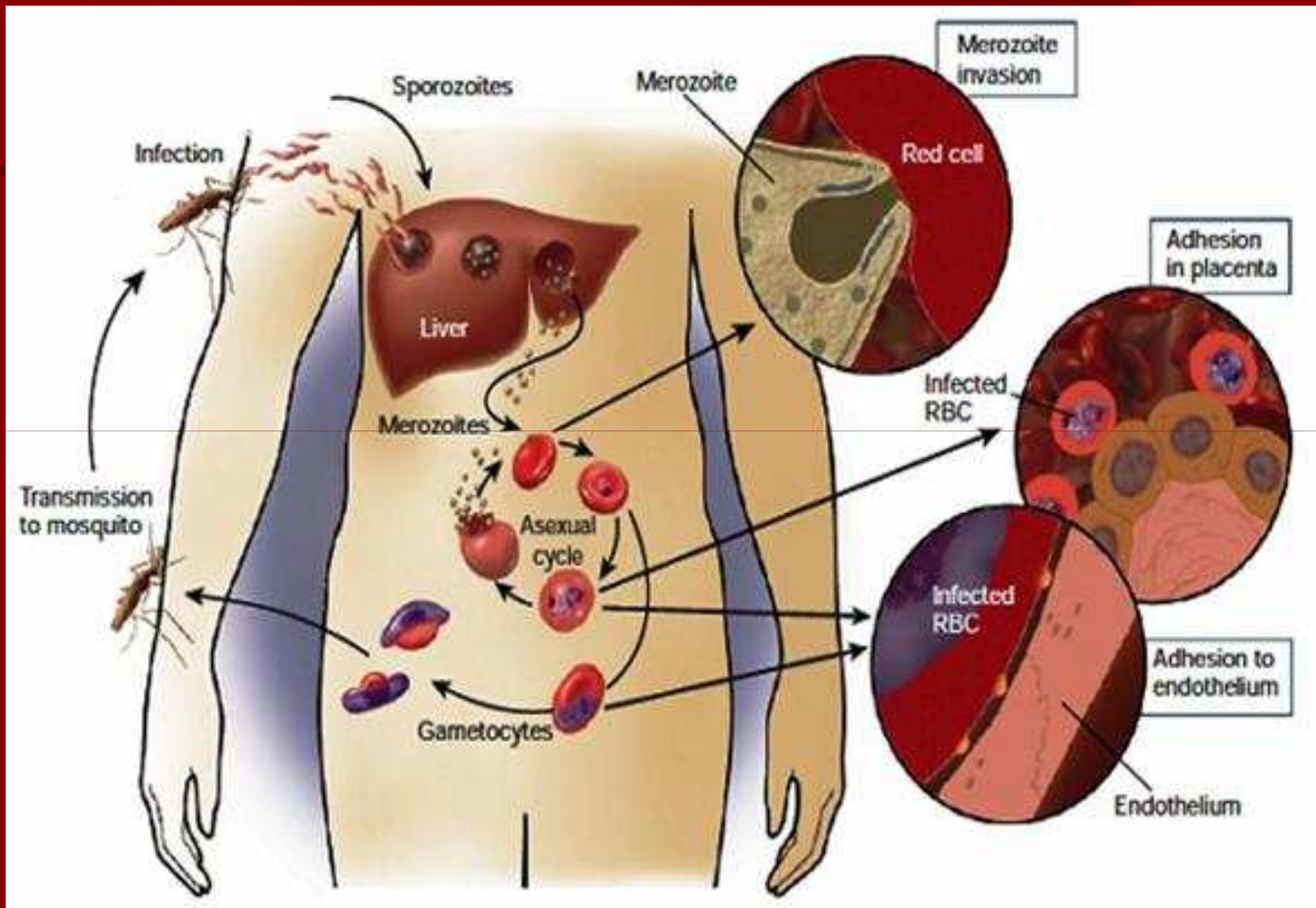
Le Paludisme:

Mortalité Mondiale: Environ 3 millions / an

- **Zone d'endémie: Afrique Sub-Saharienne**
- **Femmes enceintes & enfants < 5 ans, plus vulnérables**
- **Plus de 25 millions de femmes enceintes à risque /an**
- ***Plasmodium falciparum* & *Anopheles gambiae* prédominant**

(Steketee *et al.*, 2001; WHO, 2007).

CYCLE DE DEVELOPPEMENT DU PARASITE



(Miller et al., 2002).

COMPLICATIONS DU PALU PENDANT LA GROSSESSE

- **Anémie**
- **Avortement**
- **Mort in-utero du foetus**
- **Accouchement prématuré**
- **Retard de croissance foetale**
- **Infection du Foetus (paludisme congénital)**

CONTROLE DU PALU ASSOCIÉ A LA GROSSESSE

RECOMMANDATIONS DE L'OMS:

1. Prendre ≥ 2 doses de SP pendant les trimestres 2 & 3 (TPI)
2. Dormir Régulièrement sous Moustiquaire Imprégnée (MI)
3. Traiter efficacement les cas détectés

(WHO, 2004; WHO, 2007; Achang-Kimbi *et al.*, 2009; Takem *et al.*, 2009)

Diagnostic du palu pendant la grossesse

- **Diagnostic Prompt & fiable important pour une prise en charge rapide**
- **Diagnostic de Routine= GE (Microscopie Ordinaire)**
- **Plusieurs limites: la détection des parasites dépend de leur densité**
- **Les GR infectés adhèrent dans le placenta => Parasites rares ou absents dans le sang périphérique**
- **Haut risque de faux négatifs**
(Brabin, 1983; McKenzie *et al.*, 2003; McGready *et al.*, 2004)

OBJECTIFS

➤ Objectifs

Principal:

Comparer les performances du PRMT (fluorescence) et la GE au Giemsa pour le diagnostic du PAG et le Palu congénital

Spécifiques:

Déterminer

- ❖ **Le % des femmes enceintes qui reçoivent le TPI et utilisent les moustiquaires imprégnés d'insecticides**
- ❖ **La Prévalence des parasites dans**
 - **Le sang Maternel Périphérique & Placentaire**
 - **Le sang du cordon ombilical des nouveaux-nés**

MÉTHODOLOGIE

PÉRIODE ET SITE

- **Octobre 2009 à Mai 2010**
- **Hôpital Laquintinie – Douala**
- **Maternité Saint Paul, District de Nylon - Douala**

PARTICIPANTS

INCLU = 278 femmes avec des accouchements
singletons et leur Bébés
consentement éclairé au préalable

CARACTERISTIQUES

AGES: 16 – 45 ans;

NOMBRE DE GROSSESSE (G):

G=1: 27.3%; G=2: 21.6%; G≥3: 51.2%

**% avec une faible immunité (G1 +G2) approx. = %
avec une immunité bien développée**

COLLECTION DES ÉCHANTILLONS SANGUINS ET DONNÉES

Après l'accouchement du bébé & la délivrance

❖ **LE SANG PERIPHERIQUE MATERNEL**

(d'une veine périphérique)

❖ **LE SANG PLACENTAIRE MATERNEL**

(coté maternel du placenta)

❖ **LE SANG DU CORDON OMBILICAL**

Sang collecté dans des tubes à EDTA

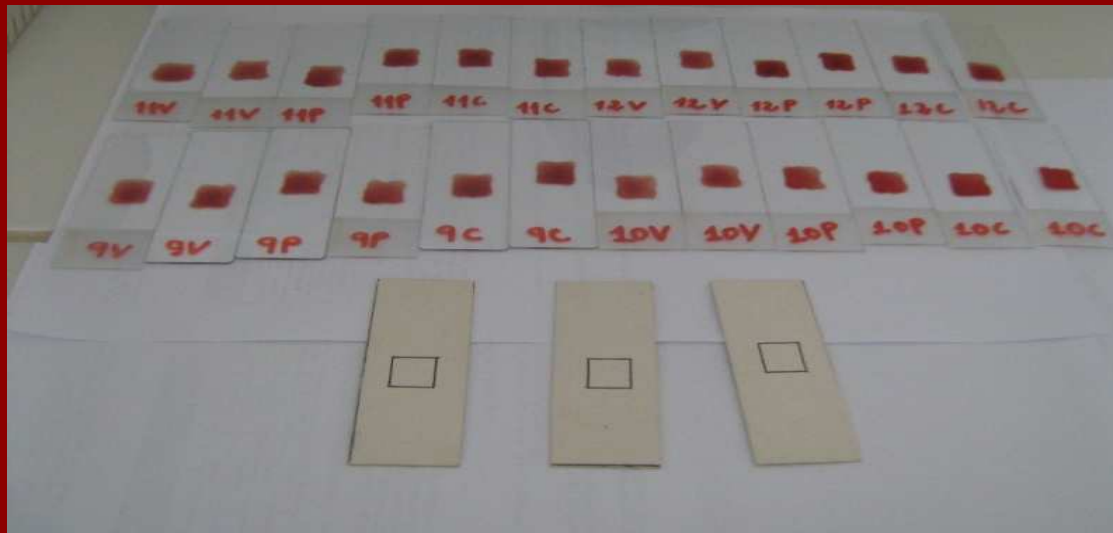
DONNEES COMPLÉMENTAIRES

- **Questionnaires**
- **Carnets de consultations**
- **Fiches des résultats des examens au laboratoire**

SCREENING POUR LA PRÉSENCE DES PARASITES

Pour chaque échantillon sanguin

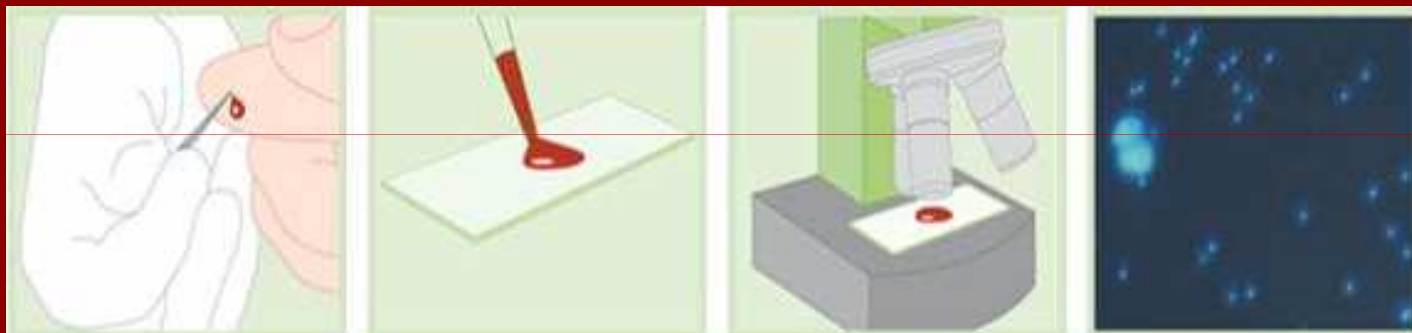
- 1) Une Goutte épaisse au Giemsa était préparée
 - 10 microlitres de sang étalé sur une surface prédéfinie (11mm x 12mm)
 - Observé sous un microscope ordinaire (x100)



Unstained thick blood films and templates (Erez and Pearl 1932)

SCREENING POUR LA PRÉSENCE DES PARASITES

2) Une goutte épaisse préparée avec le PRMT & observée sur CyScope® comme décrit par le fabricant



| Step 1 | Step 2 | Step 3 | Step 4 |
|--|---|--|--|
| Take a drop of blood from a finger prick | Put the drop of blood onto the Partec Malaria Test Slide [delivered-ready prepared, already containing the necessary reagents dried-in for long and safe storage] | Cover the slide with a cover glass and directly analyse the slide with the Partec CyScope® | Picture shot from analysis with "Partec Rapid Malaria Test": Malaria parasites [small bright spots] besides two human white blood cells. |

(Operating Manual: malaria detection with Partec CyScope® Malaria and PRMT)

QUANTIFICATION DES PARASITES

Par la Goutte épaisse au Giemsa

N°. des Parasites dans 100 champs
(huile à immersion)

X 4 =

N°. des parasites par microlitre de sang total

(Erez and Pearl 1932)

QUANTIFICATION DES PARASITES

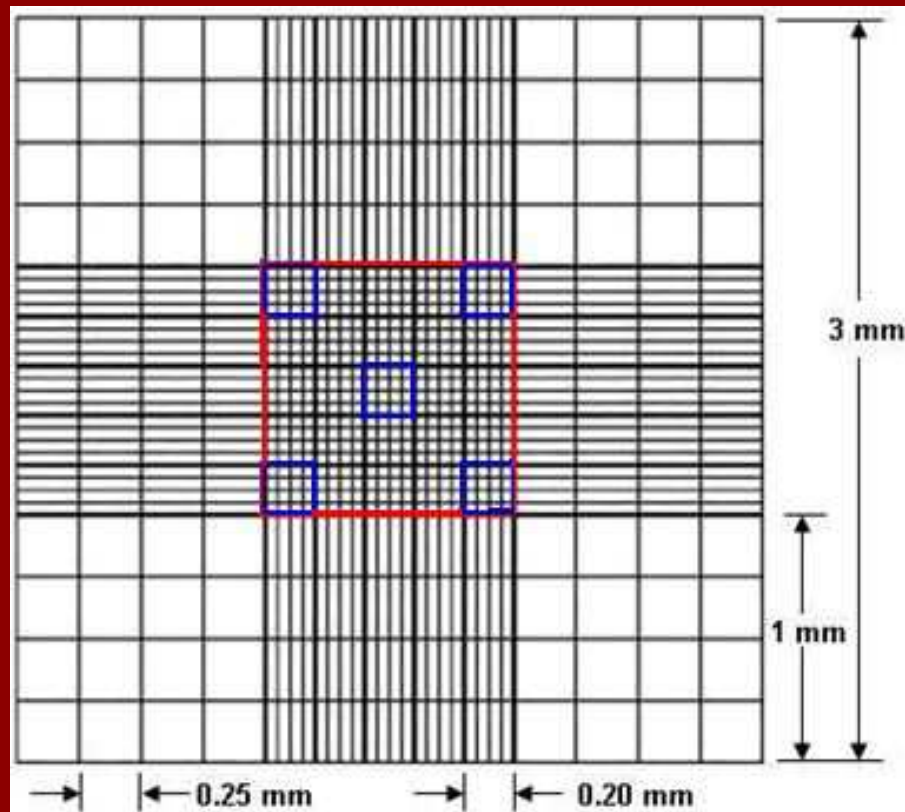
Par le PRMT sur CyScope®

- **Sang total dilué avec de l'eau physiologique
(Sang/Saline = 1/10 ou 1/5)**
- **Sang Dilué (50µL) coloré sur lame de PRMT**
- **Sang coloré (10µL) introduire dans l' haemocytomètre
de type Neubauer improved**
- **Observé sous un CyScope® avec
la lumière UV & et la lumière blanche simultanément**

QUANTIFICATION DES PARASITES

Par le PRMT sur CyScope®

Parasites comptés dans les carrés en bleu ou carré rouge, soit dans tous les 9 grands carrés



Densité Parasitaire (p/ μ l)

= N°. des parasites comptés

X Facteur de Volume

X Facteur de Dilution

PERFORMANCES DES TESTS

N°. Des cas + & - obtenus pour chaque test ont été remplis dans des tableaux de contingence

❖ Utilisé pour déterminer

- Sensibilité**
- Spécificité**
- Valeur Prédictive Positive**
- Valeur Prédictive Négative**
- Concordance**

Tests statistiques: Chi-² (Pearson; McNemar)

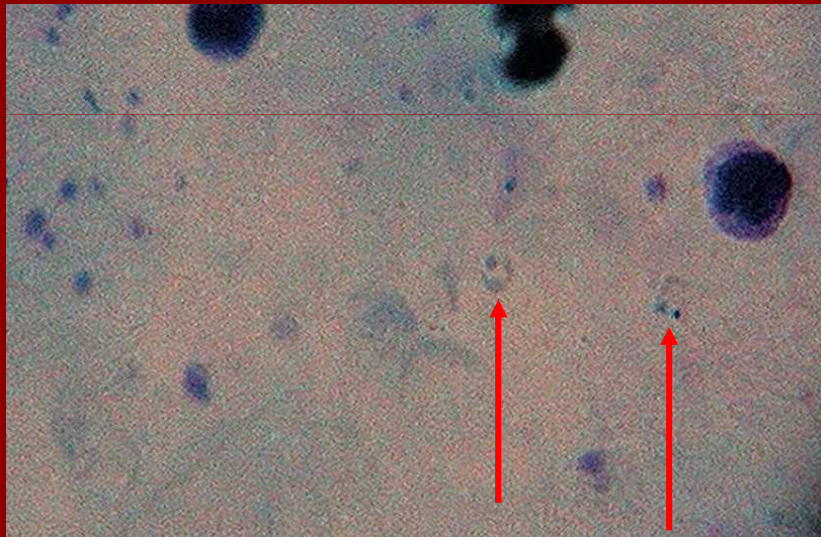
RESULTATS ET DISCUSSION

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Parasites identifiés:

Par le technique de GE au Giemsa

Trophozoïtes, schizontes



(a)



(b)

(a) Trophozoites (flèche rouge) (b) Schizontes (flèche bleu)

RESULTATS ET DISCUSSION

Observation par la technique du PRMT sur CyScope®



(a)



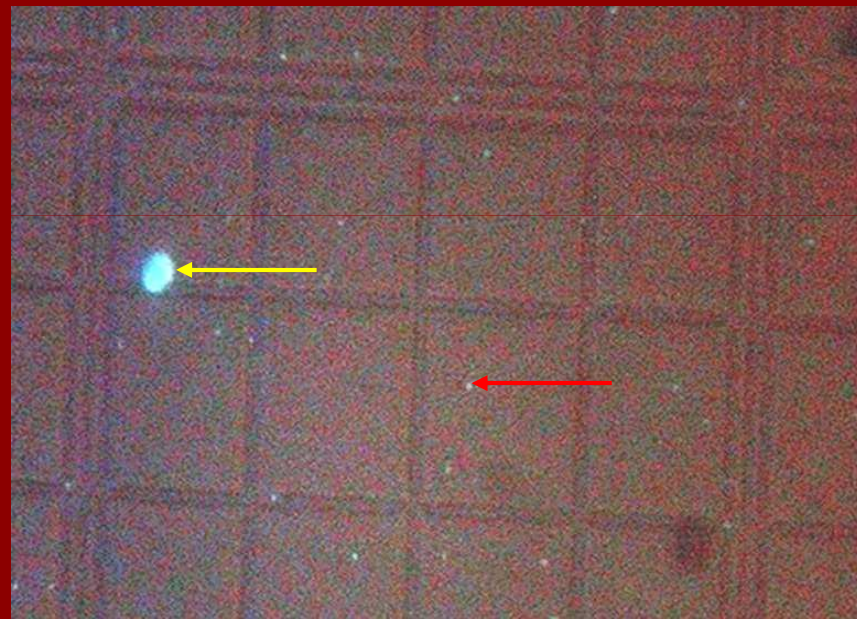
(b)

(a) Positif: Parasites (flèche rouge) et GB (flèche jaune)

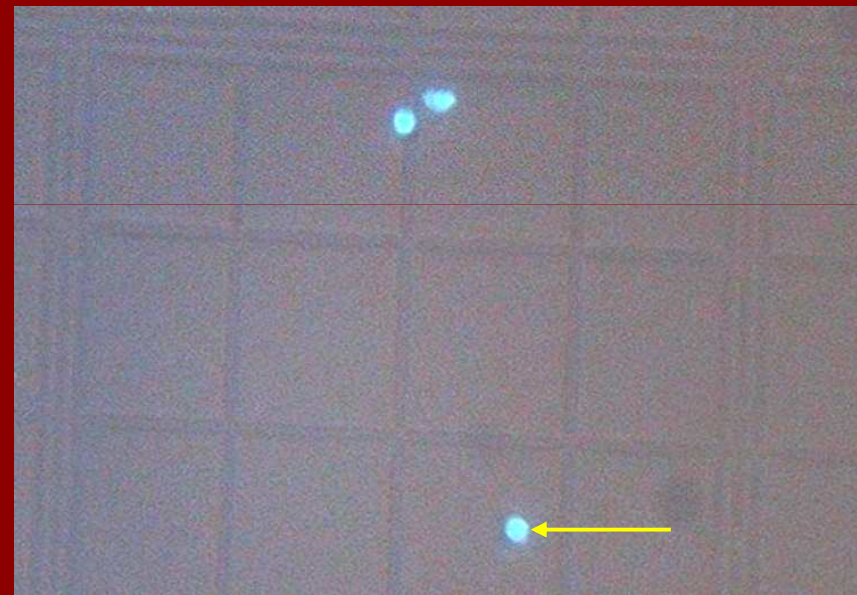
(b) Négatif: Seuls les Globules blancs (flèche jaune) sont vus

RESULTATS ET DISCUSSION

Par le PRMT & Neubauer improved haemocytometer



(a)

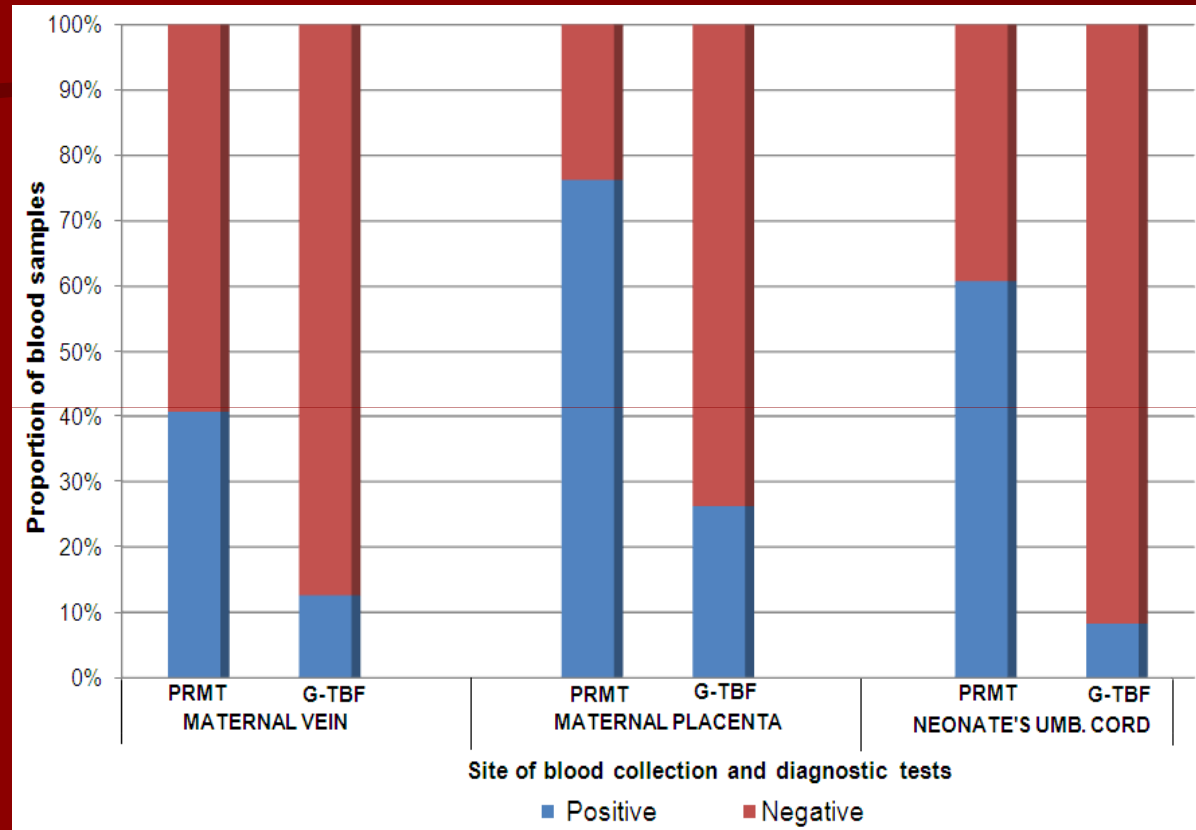


(b)

Counting chambers (a) with parasites (red arrow) & WBC (yellow arrow) (b) With WBCs only (yellow arrow)

RESULTATS ET DISCUSSION

Prévalence des parasites par site de prélèvement & par tests



PARASITÉMIES

Veine périphérique

PRMT=40.6%

G-TBF= 12.6%.

Placenta maternel

PRMT=76.3%

G-TBF= 26.3%.

Cordon ombilical

PRMT=60.8%

G-TBF= 8.3%.

Certaines études ont trouvé des prévalences élevées dans le cordon ombilical (Kenya: *Tobian et al., 2000*; Cameroun *Xi et al., 2003*; *Akum et al, 2005*; review: *Uneke, 2007*).

RESULTATS ET DISCUSSION

DENSITÉS PARASITAIRES

(Moyenne & Médiane (p/ μ l); Écart-type):

Sang périphérique maternel: **Moy.** **Méd.** **S**

| | | | |
|-------|---------|------|---------|
| PRMT | (960.62 | 1000 | 977.49) |
| G-TBF | (98.14 | 44 | 165.02) |

Sang placentaire maternel:

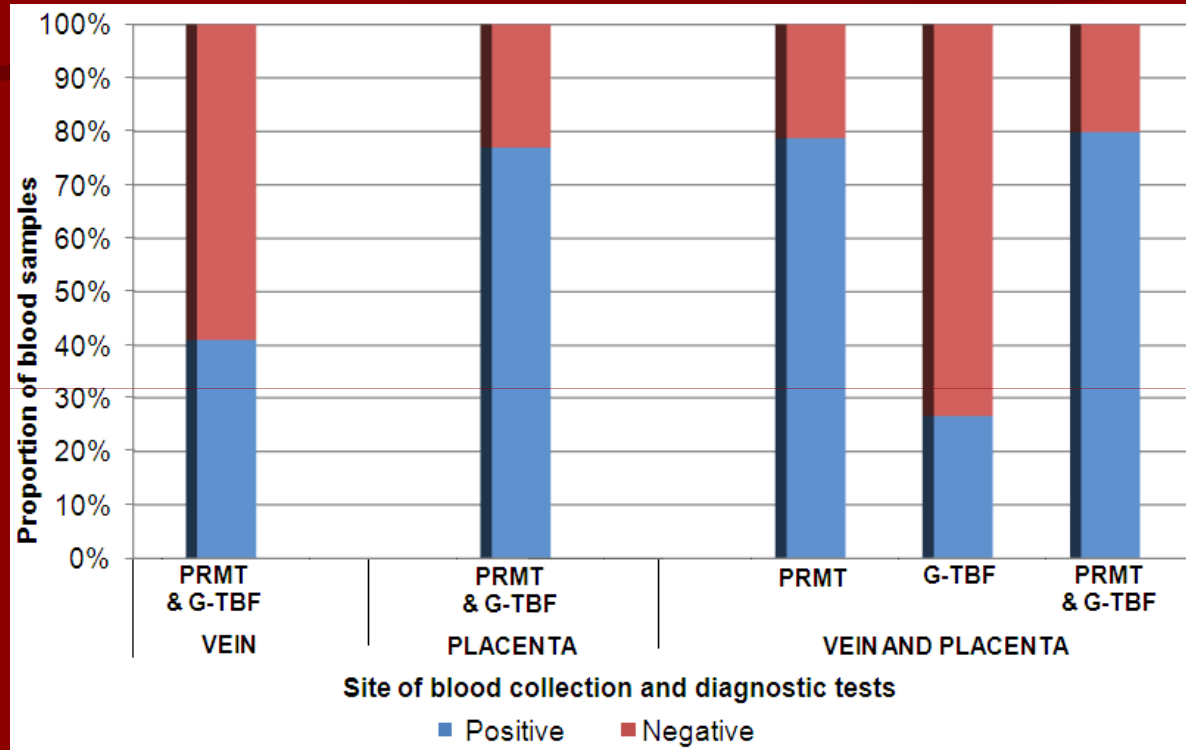
| | | | |
|-------|---------|------|---------|
| PRMT | (1354 | 1000 | 8308) |
| G-TBF | (134.13 | 36 | 292.69) |

Sang du cordon ombilical:

| | | | |
|-------|---------|------|---------|
| PRMT | (960.62 | 1000 | 977.49) |
| G-TBF | (98.14 | 44 | 165.02) |

RESULTATS ET DISCUSSION

Prévalence totale du paludisme maternel



PARASITÉMIES

Périphérique

PRMT & GE = 41%

Placentaire

PRMT & GE = 76.8%

Périphérique & Placentaire

PRMT = 78.8%

GE = 26.6%

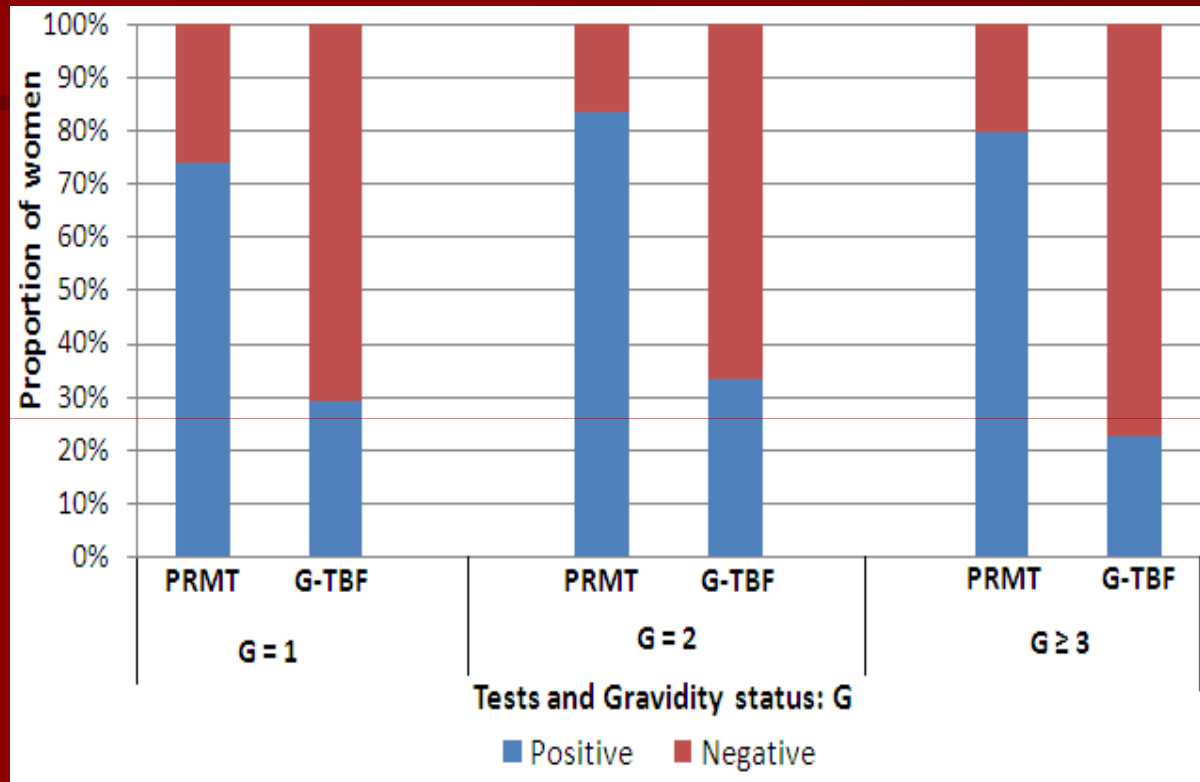
PRMT & GE

= 79.9%

Prévalence élevée du paludisme maternel: résultats semblables obtenus au Cameroun (Yaounde, Centre: **PCR= 82.4%**, **LM = 27.5%**; Mutengene SW: **Histology= 60.5%**, **LM=25.5%**) (Walker-Abbey *et al.*, 2005; Achang-kimbi *et al.*, 2009).

RESULTATS ET DISCUSSION

Prévalence du paludisme maternel par Gravidité: G



Proportions Positives

G = 1

PRMT = 73.7%

GE = 28.9%

G = 2

PRMT = 83.3%

GE = 33.3%

G ≥ 3

PRMT = 79.8%

GE = 22.5%

Par PRMT: Pas de différence significative; **Par GE:** différence significative, prévalence plus élevée chez G=1 et G = 2 ($p < 0,05$; $\chi^2 = 2.8082$)

Difference car peu des femmes (35.3%) dormait sous les MI, bien que > 90% ont pris le SP (SP diminue la parasitémie (Parise *et al.*, 1998; Achang-kimbi *et al.*, 2009))

RESULTATS ET DISCUSSION

PERFORMANCE DES TESTS

1. DÉTECTION DES PARASITES DANS LE SANG PÉRIPHÉRIQUE

| | PRMT (REF: = GE) | GE au Giemsa (REF: = PRMT) |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Sensibilité | 97.1% | 30.1% |
| Spécificité | 67.5% | 99.4% |
| Valeur prédictive positive | 30.1% | 97.1% |
| Valeur prédictive négative | 99.4% | 67.5% |
| Concordance | 71.2% | 71.2% |

Le PRMT sur CyScope était significativement plus sensible que la GE
($p < 0.05$; $\chi^2 = 75.0781$)

RESULTATS ET DISCUSSION

PERFORMANCE DES TESTS

2. DÉTECTION DES PARASITES DANS LE SANG PLACENTAIRE

| | PRMT (REF: = GE) | GE au Giemsa (Ref: = PRMT) |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Sensibilité | 97.3% | 33.5% |
| Spécificité | 31.2% | 97% |
| Valeur prédictive positive | 33.5% | 97.3% |
| Valeur prédictive négative | 97% | 31.2% |
| Concordance | 48.6% | 48.6% |

Le PRMT sur CyScope était significativement plus sensible que la GE
($p < 0.05$; $\chi^2 = 134.1416$)

RESULTATS ET DISCUSSION

PERFORMANCE DES TESTS

3. DÉTECTION DU PALUDISME MATERNEL UTILISANT LE SANG PÉRIPHÉRIQUE UNIQUEMENT

Femmes infectées (périphérique et /ou placentaire): **N = 222**

| | | GE au Giemsa | | |
|------|---------|-------------------|---------|--------------------|
| | | Positif | Négatif | Total |
| PRMT | Positif | 34 | 79 | 113 (50.9%) |
| | Négatif | 1 | 0 | 1 |
| | Total | 35 (15.8%) | 79 | 114 (51.4%) |

Le PRMT sur CyScope était significativement plus sensible que la GE
($p < 0.05$; $\chi^2 = 75.0781$)

RESULTATS ET DISCUSSION

PERFORMANCE DES TESTS

4. DÉTECTION DES PARASITES DANS LE SANG DU CORDON OMBILICAL

| | PRMT (REF: = GE) | GE au Giemsa (REF: = PRMT) |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Sensibilité | 100% | 13.6% |
| Spécificité | 42.7% | 0% |
| Valeur prédictive positive | 13.6% | 100% |
| Valeur prédictive négative | 0% | 42% |
| Concordance | 47.5% | 47.5% |

Le PRMT sur CyScope était significativement plus sensible que la GE
($p < 0.05$; $\chi^2 = 145.0017$)

RESULTATS ET DISCUSSION

Deux études menées récemment en Afrique Sub-Saharienne ont également trouvé:

- **Que le PRMT a une sensibilité élevée &**
- **concordance élevée avec la GE au Giemsa**
(Nkrumah *et al.*, 2010; Hassan *et al.*, 2010).

**Ils ont inclu uniquement les patients symptomatiques
=> Parasitémies élevées => détection facile par les 2 tests**

**L'étude présente a inclu principalement les individus
asymptomatiques**

- > 90% ont pris SP pour IPT => Parasitémies faibles,**
=> plusieurs cas n'ont pas été détectés par la GE.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- **PAG & Paludisme congénital restent élevés à Douala**
- **Il faut plus d'effort pour contrôler le PAG.**
- **Densités parasitaires sont généralement faibles**
- => La GE au Giemsa ne détecte pas plusieurs cas**
- **Le PRMT sur Cyscope est un outil fiable pour le diagnostic du paludisme**
- **=> L'utilisation conjointe avec la microscopie ordinaire pourra améliorer le diagnostic du paludisme, Surtout en cas de faibles densités parasitaires**

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

- **Comparer le PRMT sur CyScope avec d'autres tests sensibles (ex. PCR)**
- **Contribuer à améliorer la compréhension, le diagnostic et le contrôle du PAG et le paludisme congénital**

REMERCIEMENTS

- **Administrations de**
 - **L'Hôpital Laquintinie- Douala**
 - **La Maternité Saint Paul, District de Nylon - Douala**
- **Infirmiers-accoucheurs et Médécins qui ont contribué à la réussite de cette étude**
- **Femmes qui ont participé**

**MERCI POUR
VOTRE AIMABLE
ATTENTION**
