

PALUDISME: RISQUE RÉSIDUEL ET PROFILS BIOLOGIQUES PARTICULIERS EN TRANSFUSION SANGUINE

Congrès SFVTT – 23 novembre 2022

Sophie LE CAM



**Donnons
au sang**
*Le pouvoir
de soigner*

Le paludisme - généralités

➤ Agent du paludisme = *Plasmodium* sp

- 5 espèces : *P. falciparum*, *vivax*, *malariae*, *ovale*, *knowlesi*, transmis par les moustiques du genre Anophèle

➤ Risque de faire un accès palustre après une piqure infectante:

- *P. falciparum* : improbable au delà de 40 mois (< 1% de risques)
- *P. ovale* et *vivax* : 2 à 3 ans (hypnozoïtes hépatiques)
- *P. malariae* >10 ans

➤ Persistance plus longue de la parasitémie décrite notamment chez des sujets nés en zone d'endémie palustre

Notion de PREMUNITION = Équilibre immunologique s'établissant entre l'hôte et le parasite (« paix armée »), caractérisé par :

- une **parasitémie faible**, mais persistante – **sans symptômes**
- Une réaction immunitaire adaptée à **taux d'anticorps très faibles et fluctuants**

De façon globale, la réaction immunitaire au parasite *Plasmodium* sp n'est pas encore bien comprise et reste variable d'un individu à l'autre

Le paludisme post-transfusionnel

- Hématozoaire présent dans les hématies = transmission possible par les CGR
- PSL impliqué : les CGR (aucune description avec plasma ou plaquettes)
 - Survie du parasite > 3 semaines dans des CGR à 4°C
- Effet indésirable rare mais grave de la transfusion
- Diagnostic facile ... mais errance le plus souvent (les cliniciens n'y pensent pas en 1ere intention devant une fièvre chez un patient récemment transfusé) → risque de décès +++
- En France : 4 cas décrits depuis 2003 soit 4 cas en 20 ans
 - 3 cas à *P. Falciparum* (décès des 3 patients)
 - 1 cas à *P. Malariae* (survie du patient)

En France, le risque résiduel de PPT à l'heure actuelle est estimé à env 0,1 cas pour 1 Million d'unités transfusées (soit 1 cas tous les 4 à 5 ans)

Prévention du paludisme post-transfusionnel en France

La prévention repose sur 2 piliers (cf référentiel de sélection des donneurs EFS - MAJ mai 2016)

- **Ajournement** des donneurs de retour de zone d'endémie ou ayant présenté des signes fébriles en retour de zone d'endémie depuis **moins de 4 mois**
 - ✓ Repose sur l'identification correcte des zone d'endémie visitées : **importance de l'entretien Pre-don**
- Réalisation systématique d'une **sérologie paludisme** pour:
 - ✓ Tout donneur ayant voyagé en zone d'endémie, au 1^{er} don suivant le retour
 - ✓ Tout donneur né ou ayant vécu > 6 mois en zone d'endémie: à chaque don pendant les 3 ans suivant le retour
 - ✓ Tout donneur né ou ayant vécu > 6 mois en zone d'endémie: au 1^{er} don si retour depuis plus de 3 ans

Evolution des règles de sélection des donneurs au fil du temps au regard des risques épidémiologiques et des cas de PPT observés

Système efficace qui a permis de réduire drastiquement le nombre de PPT en France : l'occurrence est passé de 4 à 5 cas/ an de PPT en France (période 1960 – 1989) à 1 cas tous les 5 ans

La sérologie Paludisme – aspects techniques.

Différentes techniques / réactifs disponibles: **ne détectent pas exactement la même chose !**

Nom du réactif	Utilisation à l'EFS	Antigènes coâtés	Isotype(s) d'Ac détecté(s)
IFI (Falciparum-Spot IF, Biomerieux)	Avant 2006 en screening – puis technique de confirmation jusque fin 2017	P . Falciparum – parasite natif	IgG
Malaria DIAMED	De 2006 à 2012	Ag natifs P. falciparum + Ag recombinant P. vivax	IgG + IgM
Malaria EIA test (Newlabs, UK)	de 2012 à 2018	Ag recombinants de P . Falciparum et P Vivax	Ig totaux
Malaria Ab DIA.PRO	Depuis 2018	Ag recombinants représentatifs des 5 espèces Plasmodiales	Ig totaux
ELISA anti-Plasmodium EUROIMMUN			IgG

La sérologie Paludisme – performances

Etude EFS , 2017

Etude sur les 5 kits ELISA disponibles en France (2017)

Performances évaluées sur 108 échantillons de patients ayant fait un accès palustre bien documenté (fournis par le CNR Palu , Bichat)

Spécificité évaluée sur 1000 échantillons de donneurs de sang sans facteurs d'exposition

► **performances extrêmement variables!**

	Cellabs	DIA.PRO	EuroImmuno	Novalisa	Trinity	IFAT (NRC malaria)
Sensitivity	50,00%	84,2%	71,1%	63,2%	71,1%	64,8%
Specificity	99,57%	99,38%	98,60%	99,67%	98,72%	

Difficultés de la sérologie Paludisme

1. La méthode:

- ✓ Variabilités des méthodes : toutes les méthodes détectent pas la même chose
- ✓ performances imparfaites: sensibilité 90% env (au seuil défini) – les faux négatifs existent

2. Les donneurs

- ✓ Sujets à « haut risque » = sujet nés en zone d'endémie = potentielle présence d'une prémunition
- ✓ Présence d'Ac à taux faible , fluctuants → détection difficile

Les évolutions sérologiques sont donc toujours à interpréter avec précaution en prenant en compte:

- ✓ la/ les trousse(s) utilisées: changement de trousse entre 2 résultats?
- ✓ la cinétique des profils
- ✓ l'histoire du donneur (né en zone d'endémie ? notion de crise palustre ? Dates des voyages en zone d'endémie)
- ✓ la chronologie des évènements

Cas n°1

Donneur régulier. Facteurs de risque connu : un séjour de 6 mois en Afghanistan en 2004.

Ce donneur a 2 dossiers INLOG différents.

- ✓ Sur un dossier une séro palu réalisée en **2009 : négative** → dossier sur lequel un N de 2018 est prélevé – pas de Palu demandé - RAS
- ✓ Sur un autre dossier : séro palu réalisée en **1997 : positive**

Lors du don index en 2018, il y a fusion des 2 dossiers. Devant la discordance palu le labo de QBD contrôle la sérologie paludisme : **sérologie retrouvée positive** ► signalement IPD à l'HMV

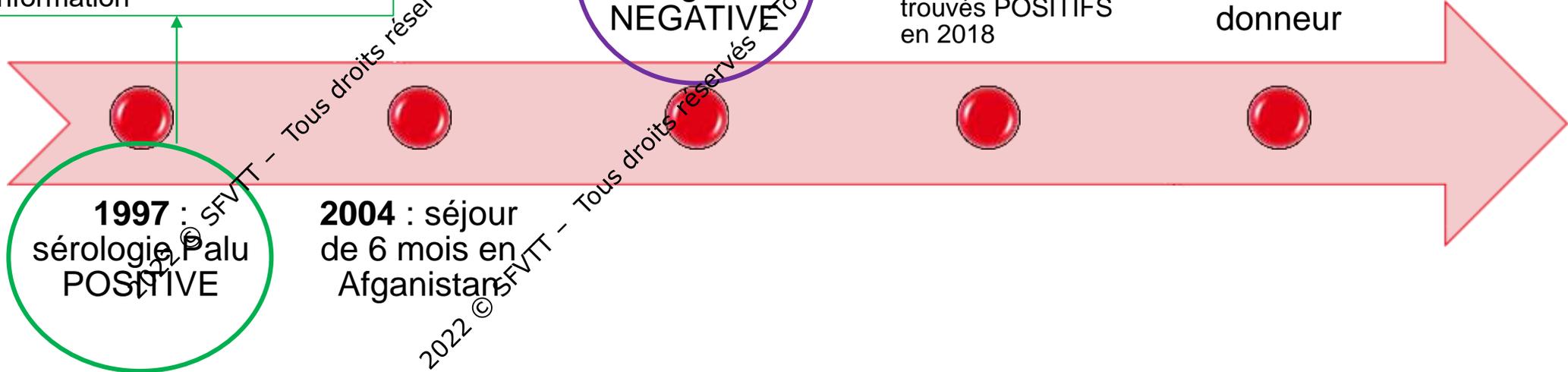
11 dons antérieurs entre 2014 et 2017 (avec biothèque disponible) : aucun testé PALU

- ✓ Déstockage cryotubes / paillettes: **tous sont bien POSITIFS** avec les 2 méthodes ELISA disponibles
- ✓ Enquête receveurs = **RAS**

Cas n°1: explication

En 1997 : technique utilisée = immunofluorescence (technique peu sensible , mais assez spécifique)

Remarque : il devait y avoir eu d'autres expositions avant le séjour le 2004. Dossier probablement incomplet ou perte d'information



Résultat « anormal »

- En 2009 : trousse ELISA DIAMED
- En 2018: trousses ELISA Diapro / EuroImmun

Explication : changement de réactif !!
Le résultat négatif de 2009 était probablement **un faux négatif avec le réactif ELISA DIAMED**

Cas n°2

Donneuse née à Dakar

- ✓ Aurait eu des crises de palu étant jeune, mais non diagnostiquées réellement, traitées par nivaquine
- ✓ Dernier voyage au Sénégal en décembre 2017. Retour en janvier 2018.
- ✓ Depuis seulement un voyage à Marrakech en 2018.

1^{er} don à l'EFS en mars 2019: sérologie palu NEGATIVE

2^{ème} don en aout 2019 : sérologie palu faiblement POSITIVE

→ **passage de NEG à POS = signalement hémovigilance**

1er don MARS 2019	ratio	conclusion	lot réactif
résultat ELISA DIAPRO	0,438	NEG	1118
Résultat ELISA EUROIMMUN	0,366	NEG	E181022CC

2ème don AOUT 2019	ratio	conclusion	lot réactif
résultat ELISA DIAPRO	0,938	POS faible	1218
Résultat ELISA EUROIMMUN	0,93	POS faible	E181210BK

Cas n° 2 : enquête

Décongélation du cryotube du don de mars 2019, repassé avec les lots réactifs utilisés pour le don d'Août 2019

1er don MARS 2019	ratio	conclusion	lot réactif
résultat ELISA DIAPRO	0,438	NEG	1118
Résultat ELISA EUROIMMUN	0,366	NEG	E181022CC

Cryotube du don de MARS 2019	ratio	conclusion	lot réactif
résultat ELISA DIAPRO	0,864	POS faible	1218
Résultat ELISA EUROIMMUN	0,869	POS faible	E181210BK

2ème don AOUT 2019	ratio	conclusion	lot réactif
résultat ELISA DIAPRO	0,938	POS faible	1218
Résultat ELISA EUROIMMUN	0,93	POS faible	E181210BK

Echantillons envoyés au CNR Palu (Bichat, S. Houze): Sérologie en IF négative sur les 2 dons – Biologie moléculaire Négative

Conclusion : fausse « séroconversion » = artefact lié à un changement de lot réactif

- **Aucun argument tangible pour affirmer la sérologie positive... mais histoire personnelle et clinique en faveur de la présence d'anticorps (née en zone d'endémie et rapportant des épisodes fébriles!!!)**

Cas n°3 : Descriptif

Découverte fortuite lors de validation d'automates en QBD EST en 2020

Validation de nouveaux automates en repassant 15 échantillons connus et documentés issus de la plasmathèque nationale. Panel constitué et utilisé à plusieurs reprises sur les années antérieures.

1 échantillon trouvé discordant :

- ✓ Connu POSITIF en techniques Diapro + EuroImmun
- ✓ Retrouvé NEGATIF lors de la validation des automates - NEGATIF reproductible sur 4 automates différents (les 2 anciens / les 2 nouveaux avec le lot Diapro n°220
- ✓ Tous les autres échantillons du panel retrouvés POSITIFS comme attendu

Passage de l'échantillon sur un autre lot DIAPRO (lot 918) : sort POSITIF (ratio 1,71)

Vérification de l'échantillon sur une autre méthode disponible au laboratoire ELISA EUROIMMUN : POSITIF , ratio = 1,39

Problème sur le lot réactif DIA.PRO n° 220 ??

Cas n° 3 : Enquête

Ouverture déclaration de réactovigilance

Explorations poussées en collaboration avec le fournisseur

Au terme des explorations, l'échantillon :

- ✓ Sort systématiquement négatif avec lot 220
- ✓ Sort positif avec d'autres lots Diapro (918, 919 et 620)

- Le lot 220 : mis en quarantaine / revalidé complètement – tous les échantillons informatifs passés ressortent exactement pareil que sur d'autres lots...
- Chez le fournisseur : échantillon testé sur un kits de typage (RUO): mise en évidence d'un profil anticorps particulier = présence d'anticorps dirigés contre l'antigène CSP de *P. falciparum* uniquement
 - ✓ Profil très rare
 - ✓ habituellement , les échantillons réagissent conjointement aux **antigènes CSP** (antigène du sporozoïte, c'est-à-dire la forme parasitaire injectée par le moustique) **et MSP** (antigène du mérozoïte, c'est-à-dire du stade réplicatif érythrocytaire) .

Cas n°3 : Conclusion

Donneur originaire de Côte d'Ivoire relatant des crises de paludisme (après enquête : aucune des crises palustres relatées n'ont fait l'objet d'un diagnostic biologique en laboratoire (donc pas de diagnostic d'espèce posé)).

Expertise CNR: la PCR et la recherche antigénique réalisées sont négative : pas de trace directe du parasite chez le donneur. La technique sérologique en immunofluorescence , spécifique de *P falciparum* , est négative .

Ici encore , peu d'éléments factuels permettant de conclure formellement à la présence d'anticorps anti-Plasmodium chez le donneur : faux-négatif du lot 220 ou faux-positif des autres lots ?

- **Probable profil immunologique très particulier entraînant une absence de réaction ponctuelle sur 1 lot donné**

BILAN

Cas n°1: Evolution atypique d'un profil anticorps → variations liées à des changements de méthode au fil du temps ! Probable faux négatif d'un réactif ELISA utilisé il y a 15 ans à l'EFS

Cas n°2: variation d'intensité en fonction des lots réactifs, chez une donneuse née en zone d'endémie avec probablement de faibles titres d'anticorps

Cas n° 3: probable profil immunologique très particulier chez un donneur né en zone d'endémie – avec comportement atypique sur 1 lot uniquement de réactif

2022 © SFVTT

2022 © SFVTT

CONCLUSION

L'interprétation de la sérologie du paludisme est rendue difficile par :

- l'immunologie particulière vis-à-vis de ce parasite en particulier chez les sujets nés en zone d'endémie
- Les différences notables entre les techniques / entre les réactifs
- La variabilité inter-lot pour 1 réactif donné

Au final, devant toute évolution sérologique atypique , il faut :

- appeler le laboratoire de QBD pour décortiquer le dossier
- ne pas hésiter à décongeler des cryotubes pour vérifier avec 1 seul lot réactif la réalité de l'évolution sérologie
- réinterroger le donneur pour bien vérifier les éléments permettant d'aider à éclaircir la situation

ET TOUJOURS SE SOUVENIR QUE :

- Le risque est uniquement sur les CGR
- Que le PTT est rare , et mortel le plus souvent (donc enquête receveur « simple »)
- Rien n'est simple avec la sérologie du paludisme
- Et que l'histoire personnelle et clinique du donneur est primordiale pour bien évaluer le risque transfusionnel

MERCI !

CONTACT

Sophie LE CAM

sophie.lecam@efs.sante.fr

2022 © SFVTT – Tous droits réservés – Toute repro

2022 © SFVTT – Tous droits réservés – Toute reproduction même partielle est interdite.

duction même partielle est interdite