



www.ldbiodiagnostics.com

Lyon, le 30 Juillet 2014

## Avertissement de Mise à Jour de notice

### Référence :

Epidémie Schistosoma en Corse

Modifications des critères d'interprétation du kit LDBIO Schistosoma WB IgG

Ref. SCH-WB12G, SCH-WB24G et SCH-WB96G

Une alerte sanitaire a été lancée fin Mai 2014 sur la présence de Schistosome dans la rivière Cavu dans le sud-est de la Corse.

Les études actuellement menées démontrent la contamination autochtone de personnes qui se sont baignées en période estivale dans cette rivière en 2011, 2012 et 2013. Le parasite isolé serait un hybride *S. haematobium* – *S. bovis*.

Nous avons constaté que les techniques de diagnostic aujourd'hui utilisées en routine (IHA, Elisa, WB), toutes basées sur la mise en oeuvre d'un antigène *S. mansoni*, sont parfois prises en défaut.

Ainsi, notre immunoblot SCH-WB IgG montre une réaction anormalement faible et parfois négative avec les « sérums Corses ».

En conclusion de ce travail que nous avons mené avec le Pr Antoine Berry (laboratoire de Parasitologie et Mycologie du CHU de Toulouse) et pour améliorer la sensibilité du test sur les prélèvements d'origine Corse, nous avons décidé de modifier les critères de lecture et d'interprétation de notre kit Schistosoma WB IgG :

**Seuil de positivité : présence de 2 bandes spécifiques sur la bandelette.**

(au lieu de 3 bandes précédemment)

L'étude clinique réalisée lors du marquage CE du kit en 2010 montre que sous ces conditions les performances du test restent préservées.

- Spécificité : 99.0 % (*versus* 99.9 % précédemment)
- Sensibilité : 97.8 % (*versus* 95.6% précédemment)

Nous rappelons également de respecter scrupuleusement les temps d'incubation indiqués dans la notice (Incubation sérum : 90 minutes - Incubation conjugué : 60 minutes - Incubation substrat : 60 minutes) et d'effectuer une lecture très attentive des bandelettes.

La mise à jour de la notice du kit est effectuée ce jour même (version 14).

Nous restons à votre disposition pour toute information complémentaire.

LDBIO DIAGNOSTICS  
Dr Denis Limonne, Gérant

**Destinataires :**

D. Dehaineault, F. Chevenne et M. Deschenes, ANSM

MC. Paty, H. Noel, INVS

A.Berry, J. Fillaux, CHU Toulouse

K. Jaafoura, GEMED

Ainsi que tous les laboratoires clients-utilisateurs du test.

PJ : Avis du 23 Mai 2014 du HCSP  
Notice SCH-WB IgG - version 14

## AVIS

### relatif au dépistage et au traitement des infections à *Schistosoma haematobium*

23 mai 2014

Le Haut Conseil de la santé publique a reçu le 9 mai 2014 une saisine de la Direction générale de la santé concernant le dépistage et le traitement des infections à *Schistosoma haematobium*.

Il est demandé au HCSP d'émettre un avis sur les points suivants :

- 1) Compte tenu des caractéristiques épidémiologiques et cliniques des infections à *Schistosoma haematobium*, quelles sont les modalités de dépistage et de confirmation du diagnostic à mettre en place et quelles sont celles qui peuvent être mises en place localement ?
- 2) Quelle définition de la population exposée, en termes de type d'exposition (lieux de baignade, années et périodes de baignade, type de contact avec l'eau, durée et fréquence de baignade) doit être retenue ?
- 3) Le dépistage doit-il cibler préférentiellement et prioritairement certaines populations, ou bien doit-il s'appliquer de façon uniforme à l'ensemble des personnes exposées en fonction notamment de leurs caractéristiques, du fait qu'elles soient ou non symptomatiques et de leur lieu de résidence ?
- 4) Quelles sont les modalités de prise en charge thérapeutique à recommander aux professionnels de santé qui auront à traiter les personnes diagnostiquées ?
- 5) Quelles sont les mesures de prévention recommandées notamment s'agissant de la mise en place de précautions en matière d'interdiction de baignade et par rapport aux autres rivières de Corse ?

**Le Haut Conseil de la santé publique a pris en considération les points suivants :**

➤ **Le cycle de la maladie [1]**

Il s'agit d'une affection parasitaire due à un plathelminthe, *Schistosoma haematobium*, endémique en Afrique intertropicale, à Madagascar et au Moyen-Orient. Le réservoir est l'homme porteur de vers adultes, qui élimine les œufs dans les urines. Il faut quatre semaines d'évolution via le bulin (mollusque hôte intermédiaire) pour libérer les formes infectantes survivant une journée dans l'eau (furcocercaires). L'homme se contamine par pénétration cutanée des furcocercaires lors d'un contact même bref avec de l'eau douce.

La phase d'invasion dure plusieurs semaines et correspond au développement des larves en forme adulte et sexuée, à leur accouplement et à leur migration vers les plexus veineux péri-vésicaux. A la phase d'état, au-delà de 2-3 mois, les femelles pondent dans la sous-muqueuse vésicale.

Les symptômes sont dus pendant la phase d'invasion à des manifestations allergiques (fièvre, urticaire, toux), et pendant la phase d'état à la réaction granulomateuse et fibrosante péri-ovulaire générant des lésions chroniques focales, sources de signes urinaires (hématurie terminale, cystites à répétition) ou génitaux (hémospemie, douleurs pelviennes, granulomes cutanés ou muqueux périnéaux). A la différence de la bilharziose chronique de migrants adultes

infectés massivement dans l'enfance, les bilharzioses faisant suite à une exposition unique (voyageurs) ont une charge ovulaire faible et moins de lésions destructives ; une guérison spontanée est parfois possible.

Le diagnostic et le traitement de la bilharziose permettent au niveau individuel de diminuer le risque de bilharziose urinaire symptomatique et de complications à long terme (infertilité, insuffisance rénale, néoplasie) ; au niveau collectif d'interrompre le cycle de la maladie et donc la survenue de nouvelles contaminations.

#### ➤ Le contexte épidémiologique oriente vers une transmission locale

Plusieurs épisodes de cas groupés d'infections à *Schistosoma haematobium* ont été signalés depuis avril 2014. En date du 19 mai, 14 cas répartis en quatre groupes distincts ont été déclarés à Toulouse, Strasbourg et en Allemagne.

L'interrogatoire de ces quatre familles met en évidence un lieu suspect d'être à risque d'infection bilharzienne du fait : i) de l'absence évidente de contact hydrique à risque de bilharziose dans des zones habituelles d'endémie, ii) de la fréquentation d'un même lieu de baignade en Corse : la rivière Cavu à Sainte-Lucie de Porto Vecchio, seule source commune d'exposition des cas identifiée à ce jour.

Les analyses malacologiques ont mis en évidence la présence de bulins (*Bulinus truncatus*) dans le Cavu, ce qui rend cette hypothèse biologiquement possible.

Il semble s'être établi un cycle parasitaire récidivant chaque été au moins en 2011 et en 2013, à partir de personnes infectées vivant ou séjournant régulièrement en Corse : i) deux patients présentant des signes cliniques en faveur d'une infection antérieure à 2012 ont eu un contact hydrique dans le Cavu en 2011 ; ii) une famille infectée ne s'est baignée dans cette rivière qu'en 2013 ; iii) les deux patients présentant les signes cliniques anciens ne peuvent pas être la source de la famille infectée en 2013 (présence concomitante en 2013 alors qu'il faut quatre semaines pour le développement de furcocercaires infectants).

Du fait de la fréquentation élevée (touristique et professionnelle) du site pendant l'été, de la contagiosité importante de la bilharziose et de la forte proportion de formes asymptomatiques, il faut attendre plusieurs milliers de sujets infectés asymptomatiques.

La température de l'eau du Cavu n'est pas favorable à l'instauration d'un cycle hivernal.

#### ➤ Le diagnostic difficile [2]

La fréquence des cas asymptomatiques (un cas sur 3) et le caractère fruste, non spécifique ou trompeur des symptômes expliquent l'insuffisance de la sensibilité des arguments cliniques pour le diagnostic. Certains arguments sont cependant évocateurs de bilharziose urogénitale : hémospérmié, hématurie terminale, cystites à répétitions, douleurs sus-pubiennes, pollakiurie, lésions granulomateuses vulvaires récidivantes, infertilité. Des complications sont d'ores et déjà possibles : leur rareté et l'absence de séjour en pays connu d'endémie en rendra le diagnostic difficile.

Les examens biologiques standards manquent également de sensibilité : fréquente normalité du dépistage d'une hématurie à la bandelette sur échantillon d'urines fraîches, inconstance de l'hyperéosinophilie sanguine en phase chronique, normalité de la fonction rénale en dehors des formes très anciennes. La réalisation correcte de l'examen parasitologique des urines à la recherche d'œufs nécessite une certaine habitude et s'avère chronophage ; il est moins sensible que la sérologie, d'autant plus que la charge parasitaire est faible comme observé sur les cas index infectés en Corse. La PCR *Schistosoma haematobium* dans les urines est au stade d'évaluation et ne peut donc pas être pratiquée en routine.

La sérologie est l'examen de choix du diagnostic de la bilharziose génito-urinaire. Pour une sensibilité optimale, elle doit associer deux techniques (Elisa et hémagglutination) ainsi que l'utilisation de deux antigènes parasitaires de stades différents (œuf et parasite adulte). Le choix de cette stratégie repose sur les résultats obtenus chez les patients toulousains et sur les données de la littérature [3,4,5]. Il peut exister des réactions croisées avec certaines filarioses tropicales absentes de Corse.

La technique du Western blot, très spécifique, a cependant un coût élevé. Une évaluation du rapport coût/efficacité des stratégies diagnostiques pourrait être envisagée en incluant les coûts de transports de chaque analyse, du traitement et le risque de pénurie du traitement médicamenteux.

### ➤ Le traitement

Il n'existe en France qu'une seule molécule active sur les formes adultes de *Schistosoma haematobium*, le praziquantel [1, 6-9]. Les autres molécules comme l'oxamniquine et les dérivés de l'artémisinine n'ont pas de place dans cette situation [10,11]. Le schéma thérapeutique recommandé est une dose de 40 mg/kg administrée en une ou deux prises sur un seul jour. L'efficacité est très bonne sur les formes chroniques (70 à 95 %) et nécessite d'attendre la phase d'état, soit deux mois après le dernier contact présumé contaminant avec l'eau du fait de l'absence d'efficacité sur les formes immatures au cours de la phase d'invasion et les œufs [9], et pour éviter des accidents allergiques liés à la lyse parasitaire par le traitement. Cette dose s'avère suffisante dans les infections à faible charge parasitaire [9, 12, 13]. Les résistances vraies de *S. haematobium* au praziquantel semblent exceptionnelles.

Un bilan pré-thérapeutique parasitaire (charge ovulaire urinaire, éosinophilie sanguine) et lésionnel (créatinine, échographie des voies urinaires) est souvent réalisé mais ne modifie en rien le protocole thérapeutique. Le suivi post-thérapeutique est souvent réalisé à 6-12 mois mais l'indication d'une deuxième dose reste débattue en l'absence de critère objectif de guérison.

En termes d'interactions médicamenteuses, il faut souligner que l'administration concomitante d'inducteurs puissants du cytochrome P450 diminue les concentrations plasmatiques du praziquantel. Aussi, l'association avec la rifampicine ou les anticonvulsivants inducteurs enzymatiques est déconseillée et le traitement par la dexaméthasone doit être interrompu au moins une semaine avant l'administration du praziquantel.

Du fait du risque d'infection à *S. haematobium*, de l'existence de formes pauci- et asymptomatiques, du risque de développement de complications (atteintes sévères des voies urinaires et des organes génitaux) et de l'existence d'un traitement efficace, un dépistage doit être proposé à toutes les personnes appartenant à la population exposée.

De plus, le traitement des personnes infectées permettra de limiter le risque de réensemencement des cours d'eau où sont présents des bulins et donc la transmission.

### En conséquence, le HCSP recommande

- **De réaliser le dépistage de la bilharziose urinaire en relation avec l'exposition en Corse**, par la réalisation d'une double sérologie associant deux techniques différentes : Elisa/hémagglutination. Le test est positif si au moins une des deux techniques est positive.

Une filière biologique doit être mise en place allant du laboratoire de proximité jusqu'au laboratoire compétent.

Dans un premier temps, il n'y a pas lieu de réaliser une numération formule sanguine (NFS), un examen parasitologique des urines (EPU) ou une PCR.

En cas de diagnostic positif (cas infecté), le bilan complémentaire nécessite l'évaluation de l'intégrité des voies urinaires (échographie des voies urinaires) ainsi que de la fonction rénale par une créatininémie et selon le contexte, le médecin pourra compléter son bilan par un EPU et une NFS.

Tout cas confirmé doit faire l'objet d'un signalement à l'Agence régionale de santé (ARS).

- **De réaliser ce dépistage dans la population à risque définie comme suit :**

- tout sujet ayant eu un contact cutané même bref avec de l'eau (baignade, trempage d'un membre, etc.) ;
- de la rivière Cavu en Corse du Sud ;
- entre 2011 et 2013 sur une période allant du 1<sup>er</sup> juin au 30 septembre.

Cette population pourra évoluer avec la définition de nouvelles zones à risque :

- en cas d'identification de cas humains pouvant être liés à une exposition dans une zone ou à une période différente de celles actuellement définies ;
- en cas d'identification de bulins parasités dans d'autres cours d'eau ;
- ou sur la base des recommandations issues de l'expertise sur l'écologie de *Bulinus* sp. en Corse réalisée à la demande de la DGS et pilotée par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).

➤ **D'organiser ce dépistage selon le niveau de risque de la population**

Pour certaines populations, la probabilité d'infection est plus élevée en raison de l'existence de symptômes ou en raison de la fréquence et de la durée du contact avec l'eau du Cavu. Il s'avère important de distinguer ces populations afin d'adapter la démarche de dépistage, notamment les efforts pour les atteindre et les inciter au dépistage.

Il s'agit par ordre de priorité :

- des personnes présentant une hématurie avec notion de contact cutané avec l'eau du Cavu depuis 2011
- Il est recommandé que les personnes qui présentent une symptomatologie évocatrice de bilharziose dans ce contexte réalisent un bilan pour la confirmation ou l'infirmité du diagnostic et la prise en charge thérapeutique.
- des personnes asymptomatiques avec notion de contact cutané avec l'eau du Cavu depuis 2011

On peut distinguer les personnes co-exposées dans l'entourage des cas confirmés, les personnes exposées fréquemment professionnellement, les personnes exposées lors de loisirs de manière prolongée ou répétée, les personnes exposées ponctuellement.

**a) Les personnes co-exposées dans l'entourage d'un cas confirmé**

En cas de détection d'un cas confirmé d'infection à *S. haematobium*, tous les membres de la famille et amis/proches du cas, ayant été en contact avec l'eau du Cavu, en même temps que le cas confirmé, seront considérés comme à risque élevé d'infection à *S. haematobium*.

**b) Les personnes exposées fréquemment professionnellement** : il s'agit des personnes qui ont, de par leur profession, été souvent en contact avec l'eau douce de la rivière Cavu depuis plusieurs années pendant la période identifiée comme à risque (juin-septembre inclus) :

- encadrants et animateurs d'activités sportives nautiques et aquatiques ou de colonies de vacances, centres aérés, centres de loisirs et classes vertes, à proximité de la rivière Cavu ;
- personnels de structures ou d'administrations fréquemment en contact avec l'eau du Cavu (contrôle de la qualité de l'eau...).

**c) Les personnes exposées lors de loisirs de manière prolongée ou répétée** : il s'agit de personnes qui, dans leurs activités de loisirs, ont été exposées de manière prolongée ou répétée entre juin et septembre inclus, entre 2011 et 2013 :

- vacanciers ayant séjourné régulièrement en été dans les campings et hôtels de proximité du Cavu ;

- personnes ayant participé à des stages ou séjours d'activités aquatiques dans la rivière Cavu ;
  - enfants et adolescents de colonies de vacances, de centres aérés, centres de loisirs ou de classes vertes, avec des activités orientées vers le Cavu ;
  - personnes résidant dans les communes limitrophes et se baignant fréquemment dans le Cavu.
- d) Les personnes exposées ponctuellement à l'eau du Cavu :** il s'agit de toute personne, résident ou vacancier, qui a pu avoir un contact cutané avec l'eau du Cavu à un moment donné depuis 2011, entre juin et septembre inclus.

### ***Modalités de dépistage à envisager***

Si toute la population ayant eu, au moins une fois, un contact cutané avec l'eau douce de la rivière Cavu en Corse durant la période estivale (juin à septembre inclus depuis 2011) doit pouvoir bénéficier d'un dépistage, les modalités de réalisation pourraient être menées selon une démarche tenant compte de la symptomatologie et de la fréquence du contact avec l'eau du Cavu.

Les modalités pourront inclure :

- une recherche active de cas : cette recherche active peut être adaptée à des populations limitées et fermées (professionnels, amis et proches de cas confirmés...), permettant un recensement plus efficient ;
- une information active des personnes (résidents et touristes) dans les zones limitrophes de la rivière du Cavu ;
- une information générale sous la forme de communiqués et d'articles de presse régionale et nationale pour la population générale ;
- une information à destination des professionnels de santé dans la presse spécialisée.

Ces recherches actives ou informations auprès de la population orienteront vers une consultation chez le médecin traitant pour le dépistage et la prise en charge diagnostique et thérapeutique. Dans ce but, il sera nécessaire que soit mis à disposition des médecins (notamment généralistes, gynécologues, urologues, néphrologues, dermatologues, neurologues, infectiologues, urgentistes) :

- une conduite à tenir pour réaliser le diagnostic ;
- une conduite à tenir pour la prise en charge des cas confirmés d'infection à *S. haematobium* ;
- un descriptif du circuit de signalement des cas confirmés.

### ***Recensement des cas et détermination des expositions***

Enfin, il apparaît nécessaire d'organiser un dispositif permettant de recenser les cas confirmés et de les interroger pour préciser leurs lieux et les dates de villégiature et de baignade afin de déterminer le plus précisément possible les lieux et les périodes de transmission.

- **De traiter tous les patients ayant une sérologie positive quels que soient le tableau clinique, le résultat de la bandelette urinaire, l'éosinophilie ou le résultat de l'examen parasitologique des urines**

Le praziquantel, (Biltricide®, laboratoire Bayer) est disponible en France sous forme de flacon de 6 comprimés de 600 mg, quadrisécables. Pour rappel, le laboratoire Bayer qui commercialise le Biltricide® a informé les autorités sanitaires d'un problème de production bloquant l'approvisionnement au moins jusqu'au mois de septembre 2014. Au vu des consommations observées, le stock actuellement disponible permet de couvrir la période jusqu'au 1<sup>er</sup> juillet 2014. Une rupture de stock en Biltricide® 600 mg, comprimé pelliculé est donc à prévoir. Des mesures de contingentement vont donc être mises en place très

prochainement par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Il est également envisagé, en lien avec le laboratoire Bayer, la mise à disposition par importation d'une spécialité à base de praziquantel commercialisée par un autre laboratoire.

La posologie de 40 mg/kg en une prise, telle que recommandée par l'Autorisation de mise sur le marché (AMM), semble suffisante dans les infections chroniques à faible charge parasitaire [9, 12, 13]. Il n'existe aucune recommandation spécifique dans les libellés d'AMM actuels concernant les posologies dans la population pédiatrique pour laquelle il n'existe pas de forme galénique spécifique. Les comprimés sont cependant dispersibles dans l'eau [9]. Aucune adaptation posologique n'est recommandée chez l'insuffisant rénal ou hépatique.

Concernant la grossesse, bien que le Biltricide® soit actuellement contre-indiqué chez la femme enceinte pendant le premier trimestre, cette contre-indication sera levée d'ici deux mois. Ainsi, le praziquantel pourra être utilisé pendant la grossesse, si cela est cliniquement justifié, dans la mesure où les données rapportées dans la littérature sont rassurantes sur un nombre important de femmes traitées. Concernant l'allaitement, la période d'interruption de l'allaitement suite à la prise de praziquantel actuellement de 72h sera réduite à 24h post-administration. Le Résumé des caractéristiques du produit (RCP) est en cours d'actualisation concernant les libellés d'information sur la sécurité d'emploi. Cette actualisation fait suite à une procédure européenne d'évaluation des données de sécurité d'emploi du praziquantel [14].

D'autre part, en cas d'antécédents de troubles cardiaques, une surveillance accrue sur ce plan est recommandée.

La tolérance du praziquantel est caractérisée notamment par les effets indésirables suivants : troubles du transit ou des douleurs abdominales modérées, des réactions d'hypersensibilité, prurit, éruption cutanée, système nerveux (vertiges, somnolence, convulsions), système ostéo-musculaire (myalgies, arthralgies), système cardiovasculaire : arythmie (exceptionnelle)

Un délai minimal d'au moins huit semaines doit être respecté entre le bain exposant et le traitement afin d'améliorer l'efficacité thérapeutique et de diminuer le risque d'effet secondaire. Il est rappelé que le traitement des formes d'invasion repose sur le traitement anti-histaminique et la corticothérapie systémique en cas d'atteinte sévère.

Le suivi des patients exposés traités reposera sur l'examen clinique, le résultat de la bandelette urinaire, l'éosinophilie, l'examen parasitologique des urines. Il n'existe aucun intérêt à réaliser un suivi sérologique. Le traitement anti-helminthique pourra être renouvelé à six mois en cas d'échec (avis spécialisé recommandé).

➤ **En termes de prévention, le HCSP recommande de :**

- **s'abstenir de tout contact cutané avec l'eau douce dans les zones à risque et en particulier dans la rivière Cavu ;**
- **s'abstenir d'uriner dans les rivières de ces mêmes zones compte tenu du mode de contamination et de la présence de bulins.**

**De plus, le HCSP recommande la réalisation d'une analyse malacologique visant à évaluer l'infection des bulins du Cavu.** L'éradication des bulins n'est pas réalisable dans la rivière et le dépistage/traitement du réservoir humain sera la solution pour empêcher l'implantation de la bilharziose dans le Cavu.

*La CSMT a tenu séance le 23 mai 2014 : 8 membres qualifiés sur 14 membres qualifiés votant étaient présents, 0 conflit d'intérêt, le texte a été approuvé par 8 votants, 0 abstention, 0 vote contre.*

## Références

- [1] Bilharzioses, ANOFEL, 2014.
- [2] HAS. Guide – Affection de longue durée – Bilharziose compliquée. Octobre 2007.  
Disponible sur [http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_609559/fr/ald-n4-bilharziose-compliquee](http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_609559/fr/ald-n4-bilharziose-compliquee) (consulté le 22/05/2014).
- [3] Van Gool T, Vetter H, Vervoort T, Doenhoff MJ, Wetsteyn J, Overbosch D.  
Serodiagnosis of imported schistosomiasis by a combination of a commercial indirect hemagglutination test with *Schistosoma mansoni* adult worm antigens and an enzyme-linked immunosorbent assay with *S. mansoni* egg antigens. *J Clin Microbiol.* 2002 Sep;40(9):3432-37.  
Disponible sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC130766/> (consulté le 22/05/2014).
- [4] Jauréguiberry S, Paris L, Caumes E. Acute schistosomiasis, a diagnostic and therapeutic challenge. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Mar;16(3):225-31. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03131.x. Review.
- [5] Centre d'épidémiologie et de santé publique des armées. Investigation de l'épidémie de bilharziose. Opération Boali XXIX, mai-juillet 2012.
- [6] Danso-Appiah A, et al. Drugs for treating urinary schistosomiasis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 3.
- [7] Karl-Horst Bichler, et al. EAU Guidelines for the Management of Urogenital Schistosomiasis, *European Urology*, Volume 49, Issue 6, June 2006, Pages 998-1003.
- [8] Clerynx J, et al. Schistosomiasis in travellers and migrants. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2011; 9(1): 6-24. doi: 10.1016/j.tmaid.2010.11.002. Epub 2011 Jan 7. Review.
- [9] Colley DG, et al. Human schistosomiasis, *Lancet.* 2014 Mar 31. pii: S0140-6736(13)61949-2. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61949-2. [Epub ahead of print].
- [10] Martinez-Calle N, et al. Asymptomatic *Schistosoma haematobium* infection in a traveler with negative urine microscopy and late seroconversion presumably linked to artemisinin. *J Travel Med.* 2013 Sep-Oct;20(5):326-8. doi: 10.1111/jtm.12043. Epub 2013 May 27.
- [11] Pratico L, et al. Failure of repeated treatment with praziquantel and artemeter in four patients with acute schistosomiasis. *J Travel Med.* 2014 Mar-Apr;21(2):133-6. doi: 10.1111/jtm.12098. Epub 2014 Jan 24.
- [12] Davis A. Antischistosomal drugs and clinical practice. In: *Human schistosomiasis*; Jordan P, Webbe G, Sturrock RF eds, 1993, pp 367-404.
- [13] Utzinger J, et al. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection. *Trop Med Int Health.* 2000.
- [14] Biltricide®. Résumé des caractéristiques du produit.  
Disponible sur <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60996403&typedoc=R> (consulté le 22/05/2014).

Avis produit par la Commission spécialisée Maladies transmissibles

Le 23 mai 2014

**Haut Conseil de la santé publique**

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

[www.hcsp.fr](http://www.hcsp.fr)

# SCHISTOSOMA WESTERN BLOT IgG



Technique d'immunoblot pour  
usage diagnostique *in vitro*



#SCH-WB24G: 24 tests  
#SCH-WB12G: 12 tests  
#SCH-WB96G: 96 tests

## NOTICE D'UTILISATION

### Indications du test

SCHISTOSOMA Western Blot IgG est un test qualitatif de diagnostic sérologique par immunoblot de la bilharziose.

Il est proposé comme test de confirmation d'un résultat positif ou douteux obtenu par des tests quantitatifs classiques de dépistage (HAI, IFI, ELISA).

### Contexte épidémiologique et clinique

Les bilharzioses (schistosomiasés) sont des zoonoses dues à l'infection par des trématodes du genre *Schistosoma*. Cinq espèces : *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi* et *S. intercalatum* sont responsables de l'infection chez l'homme. L'OMS estime à 200 millions le nombre d'individus présentant les symptômes de l'infection, 600 autres millions étant considérés comme population à risque. A l'état endémique dans 74 pays (Afrique, Méditerranée Orientale, Asie, Amérique Latine et Caraïbes), les bilharzioses sont de plus en plus souvent diagnostiquées dans le monde entier du fait des flux migratoires et du tourisme croissants. [2, 3, 11]

Les différentes espèces se ressemblent et présentent un cycle similaire. Elles diffèrent par la nature de l'hôte intermédiaire, mollusques aquatiques qui jouent un rôle déterminant dans l'épidémiologie de la maladie, la physiopathologie de la maladie en phase d'état (bilharziose urinaire pour *S. haematobium*, bilharziose intestinale pour les autres *S. sp.*) ainsi que par leur localisation géographique.

A l'infestation cutanée (éruption locale éventuelle aux points de pénétration des cercaires) succède après plusieurs semaines la phase d'invasion (ou toxémie, schistosomiasé aiguë, fièvre de Katayama) pendant quelques semaines puis la phase d'état (atteinte viscérale, variable selon l'espèce).

Signes cliniques et pronostics sont extrêmement variables, fonction du parasite, de l'individu et du mode de contamination (massif d'emblée ou

progressif, répété, chronique...). [1, 3]

Le diagnostic repose sur l'épidémiologie, la clinique, la parasitologie directe (recherche des œufs dans les urines, les selles, la biopsie rectale), l'imagerie médicale (ultrasonographie), les données biologiques (hyperéosinophilie, hématurie, protéinurie...), la recherche d'antigène soluble et la sérologie. [5, 6, 10]

L'immunofluorescence indirecte (IFI), l'Hémagglutination indirecte (HAI), l'ELISA, l'électrosynérèse (ES) sont le plus souvent pratiquées. Utilisant des antigènes naturels plus ou moins purifiés, des antigènes recombinants, elles peuvent présenter des problèmes de sensibilité et/ou de spécificité. [4, 7, 8, 9]

## Principe du test :

### Origine et description des bandelettes :

Les antigènes bruts (vers adulte *S. mansoni*), après séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide, ont été fixés par électro-transfert sur la surface de bandelettes de nitrocellulose (technique de Western Blot).

Les bandelettes sont fournies prêtes à l'emploi, numérotées et prédécoupées.

### Déroulement du test :

Chaque sérum à tester est incubé séparément avec une bandelette. Les anticorps anti-*Schistosoma* éventuellement présents dans les prélèvements se fixent sélectivement sur les antigènes de *Schistosoma* présents sur les bandelettes. Le lavage élimine les anticorps non fixés. Chaque bandelette est ensuite incubée avec le conjugué Phosphatase Alcaline-anti-IgG humaines qui se lie aux anticorps anti-*Schistosoma* précédemment fixés. Le lavage élimine le conjugué non fixé. Lors de la dernière étape, les immunocomplexes réagissent avec le substrat : les antigènes reconnus par les anticorps anti-*Schistosoma* de classe IgG éventuellement présents dans les échantillons sont révélés sous forme de bandes transversales violettes. La réaction de coloration est arrêtée par un lavage à l'eau distillée. Les bandelettes sont séchées ; leur coloration est stable plusieurs années à l'abri de la lumière.

### Lecture :

9 bandes retrouvées entre 8 et 33 kDa sont spécifiques du genre *Schistosoma*. Elle permettent d'interpréter le test comme positif et de conclure à la présence d'anticorps IgG anti-*Schistosoma* dans l'échantillon testé.

## Réactifs fournis dans la trousse

**Nota :** Les volumes et quantités indiqués (*en italique*) correspondent au conditionnement de 12 tests #SCH-WB12G. Ceux indiqués en caractères gras correspondent au conditionnement 96 tests #SCH-WB96G.

- R1 : Une (1) pochette de 24 (*12, 4x24*) BANDELETTES SENSIBILISEES :  
Bandelettes de nitrocellulose, numérotées et prédécoupées mais attachées par leur extrémité supérieure à la souche. Les bandelettes ont été sensibilisées par électro-transfert d'antigènes de *Schistosoma mansoni* séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- R2 : Un (1) flacon contenant 30 (*30, 120*) ml de DILUANT ECHANTILLONS :  
(*Prêt à l'emploi - solution rose*)  
Solution tampon + surfactant + NaN<sub>3</sub> (inf. 0.1%).
- R3 : Un (1) flacon contenant 30 (*30, 120*) ml de CONJUGUE ANTI-IgG :  
(*Prêt à l'emploi - solution bleue*)  
Solution tampon + sérum polyclonal de chèvre anti-IgG humaines conjugué à la phosphatase alcaline + NaN<sub>3</sub> (inf. 0.1%) + stabilisants.
- R5 : Un (1) flacon contenant 30 (*30, 120*) ml de SUBSTRAT :  
(*Prêt à l'emploi - flacon opaque marron*)  
Solution tampon + NBT + BCIP + stabilisants.
- R6 : Un (1) flacon contenant 60 (*60, 240*) ml de TAMPON DE LAVAGE CONCENTRE 10X :  
(*A diluer 10 fois dans de l'eau distillée - solution incolore*)  
Solution tampon + surfactant + NaN<sub>3</sub> (inf. 0.1%).
- R10 Un (1) tube contenant 200 (*200, 400*) µl de SERUM DE CONTROLE POSITIF :  
(*Prêt à l'emploi - bouchon rouge/orange*)  
Solution tampon + pool de sérums humains positif en sérologie *S. mansoni* + NaN<sub>3</sub> (inf. 0.1%) + stabilisants.
- Standards colorés (protéines recombinantes) situés dans la pochette (R1) à droite des bandelettes permettant d'estimer de haut en bas la distance de migration et correspondant aux Poids Moléculaires suivants (kDa) : Bleu : 250, Bleu : 150, Bleu : 100, Rose : 75, Bleu : 50, Vert : 37, Rose : 25, bleu : 20 , bleu : 15, jaune (peu visible) : 10.
  - Le coffret contient également, à titre d'exemple, la reproduction scanner d'immunoblots provenant de sérums positifs et négatifs (voir page 15 de la présente notice).

## Matériel nécessaire mais non fourni

- Gants en latex. Pincette pour manipuler les bandelettes
- Cuves d'incubation multicanaux en polypropylène adaptées aux miniblots (Réf. LDBIO # WBPP- 08 ou équivalent)
- Agitateur oscillant pour immunoblots
- Système d'aspiration pour les liquides permettant de vider les cuves d'incubation
- Cutter ou scalpel
- Règle plate transparente
- Papier absorbant de type Whatman
- Papier aluminium
- Eau distillée ou désionisée de bonne qualité
- Pipettes automatiques, micropipettes et pointes à usage unique (volumes de 25µl, 1.2ml et 2ml)
- Éprouvettes graduées, récipients adaptés, pissette de laboratoire.
- Chronomètre
- Ruban adhésif transparent de bonne qualité
- Tubes et matériel pour le prélèvement des échantillons.

## Conditions de conservation

Tous les réactifs du coffret doivent être conservés entre 2 et 8°C. Ils sont valables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le couvercle de la boîte et les étiquettes des flacons.

Une fois dilué, le tampon de lavage est stable 2 mois, conservé entre 2 et 8°C.

## Précautions spéciales d'emploi

### Sécurité

- pour usage in vitro exclusivement.
- Le contrôle positif est un sérum d'origine humaine. Il a subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1 et 2, les anticorps anti-VHC et l'Ag HBs, mais doit cependant être manipulé comme un produit potentiellement infectieux.
- Manipuler selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire et considérer tout réactif et tout échantillon comme potentiellement toxique et/ou infectieux.
- Le substrat contient un mélange NBT et BCIP toxiques par contact (peau et muqueuses) et inhalation.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium susceptible de former des sels métalliques explosifs avec le plomb ou le cuivre. Rincer à l'eau tout rejet à

l'évier.

- Porter des vêtements protecteurs (blouse, gants, lunettes...).
- Se laver soigneusement les mains après la manipulation.
- Ne pas boire, manger ou fumer dans le laboratoire.
- Ne pas pipeter avec la bouche. Refermer les flacons après usage.
- Éliminer les déchets (prélèvements, pointes, tubes, liquides de lavage, réactifs usagés...) conformément aux bonnes pratiques en usage dans la profession et aux règlements en vigueur dans le Pays.

### **Précautions**

- Ne pas toucher les bandelettes avec les doigts, porter des gants et utiliser une pincette.
- Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption.
- Conserver les réactifs dans le coffret fourni, reboucher les flacons après usage.
- Ne pas utiliser ensemble des réactifs de lots différents.
- Ne pas utiliser de réactif provenant d'un flacon présentant des signes de fuite.
- Les réactifs doivent être bien mélangés avant usage.
- Ne pas laisser inutilement les réactifs hors du réfrigérateur.
- Bien mélanger le tampon de lavage concentré avant dilution.
- La qualité de l'eau est importante pour obtenir un bon tampon de lavage.
- Ne pas utiliser de solution trouble, précipitée ou contaminée.
- N'utiliser que des cônes de pipette à usage unique.
- Éviter toute contamination inter-puits.
- Attention à la formation d'aérosols.
- Établir un plan de distribution précis avant de commencer la manipulation.
- L'omission de distribution d'un échantillon ou la distribution d'un volume inapproprié peut faire considérer comme négatif le résultat du test quelque soit son statut réel.

## **Prélèvement des échantillons**

Prélever de manière aseptique les échantillons de sang sur tube sec (25µl de sérum sont nécessaires pour l'analyse).

Laisser coaguler le sang, centrifuger et décanter le sérum. Le conserver à 2-8°C.

Le congeler à -20 ± 5°C s'il ne doit pas être utilisé dans les 72h.

Éviter de congeler et décongeler les sérums plusieurs fois.

## **Préparation des réactifs**

**Tampon de lavage** : Pour 4 tests diluer dans un flacon propre 10ml de tampon de lavage concentré 10x (**R6**) dans 90ml d'eau distillée ou désionisée (le tampon dilué se conserve 2 mois à 2-8°C).

# Mode opératoire

1/ Préparer un plan de distribution des échantillons et du contrôle positif (**R10**). L'utilisation de ce contrôle permet de valider techniquement la manipulation et de fournir un modèle précis pour l'identification finale des bandes antigéniques révélées.

2/ Distribuer 1.2ml de tampon échantillon (**R2**) dans chacun des puits selon le plan établi.

3/ Mettre des gants. Ne pas toucher les bandelettes. Utiliser une pincette pour les manipuler. A l'aide d'un cutter (ou scalpel) et d'une règle plate transparente propre et sèche, découper le nombre de bandelettes (**R1**) nécessaire en prenant garde de conserver le trait de positionnement sur la bandelette. Pour cela, maintenir fermement les bandelettes plaquées par la règle et les découper **du côté de la souche** (les numéros étant visibles au travers de la règle par transparence).

4/ Distribuer les bandelettes numérotées à l'aide des pincettes selon le plan de distribution établi. Laisser les bandelettes se réhydrater dans le tampon pendant environ 5 minutes, face vers le haut (N° visible) et totalement recouvertes par le tampon.

5/ Distribuer échantillons et contrôle positif (**R10**), selon le plan de distribution, à raison de 25µl par puits. Agiter doucement la cuve après chaque dépôt pour bien mélanger l'échantillon.

Incuber sur un agitateur oscillant pendant **90mn** ± 5mn à 18-25°C.

6/ Lavage : Aspirer le contenu des puits à l'aide d'une pompe aspirante et répartir environ 2 à 3ml de tampon de lavage **dilué** dans chacun d'eux en évitant de retourner les bandelettes. Agiter doucement la cuve horizontalement puis ré aspirer le contenu des puits.

Répartir à nouveau environ 2 à 3ml de tampon de lavage dilué en évitant de retourner les bandelettes. Incuber 3 à 5mn sur l'agitateur. Aspirer le liquide. Répéter cette dernière opération 2 fois.

7/ Distribuer 1.2ml de conjugué anti-IgG (**R3**) dans chacun des puits. Les bandelettes doivent être totalement recouvertes et face vers le haut (numéros visibles). Incuber sur un agitateur oscillant pendant **60mn** ± 5mn à 18-25°C

8/ Lavage : procéder comme pour l'étape 6.

9/ Distribuer 1.2ml de substrat NBT/BCIP (**R5**) dans chacun des puits. Les bandelettes doivent être face vers le haut (N° visible) et totalement recouvertes par le tampon.

Incuber sur un agitateur oscillant, à 18-25°C et à l'abri de la lumière directe (recouvrir les cuves d'un papier aluminium).

Observer le développement de la coloration toutes les 5 minutes. Il dure généralement 60 minutes mais il n'y a pas de règle absolue.

L'arrêt est décidé lorsque les bandes éventuellement présentes sont bien contrastées par rapport à la couleur que prend la bandelette (gris - rosé).

L'arrêt se fait par l'aspiration du substrat avec la pompe et la distribution de 2ml d'eau distillée dans le puits. Répéter une fois ce dernier lavage.

**Remarque :** Des sérologies très faibles peuvent demander du temps pour se positiver du fait des très faibles concentrations d'anticorps retrouvées dans les prélèvements. La révélation peut être poursuivie tant que la couleur du fond de la bandelette ne s'assombrit pas au point de rendre la lecture difficile (La qualité des lavages a une influence fondamentale sur cette coloration et sur le contraste des bandes).

10/ Saisir les bandelettes par leur extrémité numérotée à l'aide de la pincette (cette manipulation est plus aisée si les puits sont pleins d'eau) et les déposer, numéro visible, sur un papier absorbant de type Whatman. Les laisser sécher à l'air. La couleur des bandelettes s'éclaircit naturellement en séchant (la lecture ne doit s'effectuer qu'après séchage complet).

11/ Transférer les bandelettes sur la feuille de papier qui servira à les archiver. Les maintenir avec la règle plate et les coller par le haut à l'aide du ruban adhésif transparent. Éviter de les manipuler avec les doigts.

## Interprétation

### ◇ Étalonnage des poids moléculaires

- La juxtaposition de la bandelette d'un échantillon et du standard de poids moléculaire (PM) coloré fourni dans la trousse (pochette R1) permet d'estimer le PM des bandes antigéniques révélées (il faut auparavant le découper à l'aide d'une règle et d'un scalpel comme une bandelette ordinaire et le manipuler avec une pincette).

- Le contrôle positif **R10** (sérum positif *S. mansoni*) présente la plupart des bandes décrites dans la notice. Utilisé dans la même série que les échantillons il fournit une bandelette témoin qui indique très précisément, en ajustant les traits de positionnement, la position des bandes spécifiques.

- La reproduction d'immunoblots de sérums positifs vis à vis de

*Schistosoma*. est incluse dans la présente notice à titre d'exemple (voir page 15).

### ◇ Description des bandes présentes (voir p 15)

La zone de lecture se situe en bas de la bandelette, entre **8 et 33 kDa**. L'aspect des bandes peut être variable. Les bandes de bas poids moléculaires P8, P9, P10 et P11 sont habituellement fines. Les autres bandes peuvent prendre la forme d'une seule large bande, d'un doublet de 2 bandes plus fines, ou de l'une des 2 bandes composante du doublet.

9 bandes peuvent être présentes : P8, P9, P10, P11, P12-13, P15-16, P18-19, P22-23 et P30-33 aux poids moléculaires correspondants (voir la photo p. 15).

Le contrôle positif R10 a été choisi pour bien délimiter la position de chacune des bandes spécifiques. Il doit être utilisé systématiquement comme témoin dans chaque série. La bonne révélation de toutes les bandes spécifiques demande une incubation de 60 minutes dans le substrat.

*Remarque : Les bandes P9 et P11 n'apparaissent pas sur le contrôle R10, elles se situent de part et d'autre de la bande P10.*

### ◇ Interprétation :

Rechercher la présence des bandes spécifiques pour chacun des échantillons testés à l'aide des outils d'étalonnage décrits ci-dessus.

La présence simultanée de 2 bandes parmi les 9 bandes spécifiques et incluant l'une des bandes P22-23 ou P30-33 est indicative d'une schistosomiase.

**Remarque 1** : deux bandes fines, non spécifiques se retrouvent assez souvent présente sur la bandelette à 28 KDa et 35 KDa.

**Remarque 2** : Des bandes au dessus de la zone 8-33 kDa sont très souvent présentes. Elles ne doivent pas intervenir dans l'interprétation du test.

## Limites du test

- Les bandes spécifiques peuvent présenter des aspects variables, être plus ou moins colorées. Il est recommandé, avant d'utiliser le test pour un usage diagnostic, de réaliser quelques essais sur des sérums positifs connus afin de se familiariser avec son interprétation.
- Les résultats sérologiques doivent être interprétés en fonction des renseignements épidémiologiques, cliniques et parasitologiques afin

d'établir le diagnostic de bilharziose.

- Un résultat sérologique négatif n'écarte pas le diagnostic d'une bilharziose.
- Le test ne permet pas de différencier les différentes espèces du genre *Schistosoma*.
- Le test ne permettrait pas de différencier une co-infection (par exemple *S. mansoni* et *S. haematobium*).

## Problèmes rencontrés

*"Les bandes sont pâles et peu contrastées" :*

Certains sérums très peu chargés en anticorps peuvent donner de tels résultats.

*"Des zones d'ombre se voient, plus ou moins colorées, légèrement diffuses" :*

La bandelette n'était pas totalement immergée dans l'un des réactifs et n'a pas incubé correctement sur toute sa longueur. Des taches peuvent être également présentes à l'endroit du dépôt de l'échantillon si la cuve n'a pas été agitée après la distribution.

*"Le bruit de fond est important, rendant la lecture très difficile" :*

Les lavages ont été insuffisants ou la dernière incubation a été trop longue.

S'assurer du bon déroulement technique du test, du respect des temps de lavage, de la qualité de l'eau. Diminuer le temps de la dernière incubation.

Exceptionnellement, certains sérums peuvent réagir ainsi de façon non spécifique. Le résultat de l'immuno-blot ne peut être alors rendu.

*"Un précipité apparaît dans la solution lors de la dernière étape de révélation"*

Le substrat peut effectivement partiellement précipiter (flocons noirs) dans le tampon en fin de révélation. Ce phénomène n'altère pas la qualité de la révélation qui doit être poursuivie normalement. Le lavage final à l'eau distillée élimine les particules solides éventuellement présentes.

## Contrôle de qualité

Le sérum de contrôle fourni avec le coffret doit systématiquement être inclus dans toute série d'immunoblots. Il permet :

- de valider techniquement le bon déroulement du test (les bandes doivent apparaître très nettement sur la bandelette),
- d'étalonner précisément la position exacte des bandes spécifiques dans la zone 8-33 kDa pour aider à l'interprétation des résultats. La bonne révélation de toutes les bandes spécifiques demande une incubation de 60 minutes dans le substrat.

## Performances - évaluation effectuée par un centre de référence indépendant.

- **Sensibilité** 279 sérums correspondant à 224 patients différents suspectés de schistosomiase ont été testés.

◇ **Groupe 1 BILHARZIOSE CLINIQUE** : 134 prélèvements correspondant à 73 patients différents présentaient une recherche parasitaire positive et/ou une clinique évocatrice. Parmi ceux-ci 37 patients étaient porteurs d'œufs de *S. haematobium*, et 33 patients porteurs d'œufs de *S. mansoni*. 3 patients étaient porteurs d'œufs des deux espèces.

Nb d'échantillons	Nb de bandes	Interprétation	fréquence de présence des bandes spécifiques									
			P8	P9	P10	P11	P12-13	P15-16	P18-19	P22-23	P30-33	
2	0	NEG										
1	1		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
3	2	POS	0.33	0.33	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.33	0.67
20	3		0.70	0.00	0.10	0.00	0.35	0.00	0.00	0.90	0.90	
16	4		0.64	0.00	0.21	0.00	0.71	0.43	0.07	0.93	1.00	
29	5		0.90	0.03	0.41	0.10	0.79	0.45	0.31	1.00	1.00	
21	6		0.67	0.29	0.48	0.24	0.95	0.76	0.62	1.00	1.00	
27	7		0.89	0.19	0.85	0.11	1.00	1.00	0.96	1.00	1.00	
14	8		0.92	1.00	0.67	0.42	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
1	9		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	

**Fig1 – Groupe 1** : Fréquence d'apparition des bandes spécifiques sur 134 échantillons de patients porteurs d'œufs de *Schistosoma* et/ou présentant une clinique évocatrice de la maladie. Les bandes P8, P22-23 et P30-33 sont plus souvent présentes.

	IFI (n=130)	IHA (n=92)	WB (n=134)
seuil de positivité	≥ 1/50	≥ 1/80	≥ 2 bandes
sensibilité (%)	93.1	92.4	97.8

**Fig2 – Groupe 1** : Sensibilité comparée des trois techniques IFI, IHA et WB. La sensibilité du WB est de 97.8%, supérieure à celle des tests IFI et IHA. Les valeurs de sensibilité des techniques de dépistage calculées sur l'effectif de notre étude sont comparables à celles retrouvées dans la littérature.

La sensibilité du test WB sur les patients porteurs d'œufs de *S.h* et de *S.m* était respectivement de 100% et 95.4%.

### ◇ BILHARZIOSE SEROLOGIQUE :

	IFI (n=230)		IHA (n=234)		WB (n=279)
seuil de positivité	≥ 1/50	≥ 1/100	≥ 1/80	≥ 1/160	≥ 2 bandes
positifs (%)	93.9	77.4	95.7	77.8	96.8

**Fig3 – bilharziose sérologique** : Résultats comparés des trois techniques IFI, IHA et WB sur tous les patients recrutés à partir de résultats positifs en IFI et/ou IHA (279 sérums). Cette étude montre la bonne corrélation des techniques lorsque les seuils de positivité des tests de dépistages sont IFI ≥ 1/50 et IHA ≥ 1/80.

**La sensibilité des tests de dépistage dépend très fortement du seuil de positivité utilisé.**

### Suivi thérapeutique :

L'examen des immunoblots issus du suivi des patients pour lesquels on disposait de plusieurs prélèvements échelonnés dans le temps ne met pas en évidence une évolution significative du nombre de bandes présentes sur les bandelettes. Le WB semble inutilisable en suivi de traitement.

**Séroconversion** : le suivi de 2 séroconversions dont le premier prélèvement précoce correspondait au syndrome de Katayama, a mis en évidence une augmentation très significative du nombre des bandes présentes sur les prélèvements ultérieurs.

### Diagnostic différentiel :

Il n'a pas été constaté de profil immunologique spécifique pouvant être rattaché à *S. mansoni* ou à *S. haematobium*. Le test WB ne peut donc pas différencier les infections liées à chacune des espèces.

### ● Spécificité :

313 sérums correspondant à 313 patients différents ont été testés en suivant les indications présentées dans la notice de la trousse. Ces sérums étaient ceux de patients sains (24), de patients atteints de pathologies auto-immunes, Facteur rhumatoïde (11) anticorps anti-nucléaires (10) ou de diverses helminthiases ou autres parasitoses.

Ces sérums ont été choisis :

- pour des raisons épidémiologiques : zones où la bilharziose est associée à d'autres parasitoses,

- selon des critères cliniques : parasitoses donnant des symptômes similaires à ceux de la bilharziose lors de la phase immédiate (réactions prurigineuses), d'invasion (réactions d'hypersensibilité), et d'état (symptômes digestifs, urinaires, ou à long terme hépatospléniques)

- en raison de l'existence de communautés antigéniques liées à la proximité zoologique des parasites.

Ont été ainsi testés des sérums de :

- cestodoses : cysticercose (19), hydatidose (34), échinococcose alvéolaire (11)

- trématodoses : distomatose (29)

- nématodoses : anguillulose (23), toxocarose (48), trichinose (27), loase (10)

- protozooses : paludisme (31), leishmaniose (18), amibiase (18).

Aucun des sérums de volontaires sains (15) ou de patients présentant une pathologie auto-immune (21) ne provoque l'apparition de bandes au niveau des bandes spécifiques.

**Toxocarose** : 2/48 échantillons présentent une bande large isolée et très pale au niveau 30-33 KDa.

**Leishmaniose** : 2/18 échantillons présentent une bande isolée respectivement au niveau 30-33 KDa et 12-13 KDa.

**Hydatidose** : 1/34 échantillon présente 1 bande pale à 30-33 KDa.

**Echinococcose alvéolaire** : 1/11 échantillon présente une bande pale à 30-33 KDa

**Cysticercose** : 1/ 19 échantillon présente une large bande diffuse entre 35 et 40 KDa débordant sur la bande 30-33 KDa et qui pourrait porter à confusion en absence de comparaison précise avec le témoin positif.

**Trichinellose** : 9/27 échantillons présentent **une bande fine à 8 KDa**. Elle est intense

pour l'un d'entre eux et deux de ces échantillons présentent également une double bande fine à 30 et 33 KDa.

**Distomatose** : 6/29 échantillons présentent **une bande fine à 8 KDa**. Un échantillon présente la bande 30-33 KDa isolée mais assez marquée.

**Filariose** : 1/10 échantillon présente un profil à 4 bandes à 8KDa et proches de 9KDa, 12-13 KDa et 15-16 KDa. Un autre échantillon présente une bande isolée pale et diffuse à 30-33 KDa.

**Anguillulose** : 3/23 échantillons présentent des bandes isolées : 2 échantillons présentent une bande à 8 Kda, et un échantillon présente 2 bandes à 12 et 30-33 KDa.

**Paludisme** : 7/31 échantillons présentent un profil incomplet de 1 à 5 bandes au niveau ou à proximité des bandes spécifiques de bas poids moléculaire. Ces bandes sont assez peu marquées sauf pour un échantillon pour lequel les bandes sont très prononcées mais non spécifiques.

**Ambiase** : 1/18 échantillon présente 2 bandes à proximité des bandes spécifiques 8KDa et 22-23 KDa.

**7 échantillons sur 313 montrent un profil "schistosoma positif"** caractéristique présentant entre 3 et 7 bandes spécifiques très bien définies. Ces résultats suggèrent très fortement une co-infection, confirmée pour 4 d'entre eux par un IHA et/ou IFA positif.

La co-infection paraît d'autant plus probable que ces sérums positifs ne sont pas systématiquement retrouvés pour une même parasitose mais répartis sur l'ensemble des groupes de patients analysés.

#### **Calcul de la spécificité :**

Si l'on considère les 7 co-infections probables comme de vrais positifs, la spécificité du WB est de 99.0%.

Si l'on considère les 7 co-infections probables comme de faux positifs la valeur de la spécificité est de 96.8%.

#### **Remarques :**

Quelque soit la qualité des échantillons, deux bandes fines, non spécifiques se retrouvent assez souvent présente sur la bandelette à 28 KDa et 35 KDa.

Des bandes non spécifiques sont très fréquemment observées au dessus de 33KDa.

#### ● **Reproductibilité :**

La reproductibilité inter-lots a été contrôlée : elle est très satisfaisante.

#### ● **Interférences :**

Bien qu'aucune interférence particulière n'ait été relevée avec des sérums hémolysés, ictériques ou lipidiques, il est conseillé d'interpréter les résultats provenant de l'utilisation de tels échantillons avec prudence.

# Bibliographie

1. **Aryeetey M.E., Wagatsuma Y., Yeboah G., Asante M. Mensah G. Nkrumah. F.K., Kojima S.** 2000. Urinary schistosomiasis in southern Ghana: 1. Prevalence and morbidity assessment in three (defined) rural areas drained by the Densu river. *Parasitology International* **49**: 155-163.
2. **Chitsulo L., Engels D., Montresor A., Savioli L.** 2000. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica* **77**: 41-51.
3. **Gibobat M.** 2000. Post-transmission schistosomiasis: a new agenda. *Acta Tropica* **77**: 3-7.
4. **Hamilton J.V., Klinkert M. and Doenhoff M.J.** 1998. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, with notes on parasitological and antigen detection methods. *Parasitology* **117**: 41-57
5. **Naus C.W.A., Kimani G. Ouma J.H., Fulford A.J.C., Webster M., VAN DAM G.J., Deelder A.M., Butterworth A.E., Dunne D.W.** 1999. Development of antibody isotype responses to *Schistosoma mansoni* in an immunologically naive immigrant population: influence of infection duration, infection intensity, and host age. *Infection and Immunity* **67-7**: 3444-3451.
6. **Richter J.** 2000. Evolution of schistosomiasis-induced pathology after therapy and interruption of exposure to schistosomes: a review of ultrasonographic studies. *Acta Tropica* **77**: 111-131.
7. **Ross A.G.P., Sleight A.C., Li Y. Davis G.M., Williams G.M., Jiang Z., Feng Z. McManus D.P.** 2001. Schistosomiasis in the people's Republic of China: prospects and challenges for the 21st century. *Clinical Microbiology Reviews* **14-2**: 270-295.
8. **Tarp B. Black F.T, Petersen E.** 2000. The immunofluorescence antibody test (IFAT) for diagnosis of schistosomiasis in non-endemic area. *Tropical Medicine and International Health*, **5-3**: 185-191.
9. **Thors, C., Linder E.** 1998. Cross reacting antibodies against keyhole limpet haemocyanin may interfere with the diagnostics of acute schistosomiasis. *Parasite Immunology* **20**: 489-496.
10. **Van Gool, T., Vetter, H., Vervoort T., Doenhoff, M.J., Wetsteyn, J. and Overbosh, D.** 2002. Serodiagnosis of imported schistosomiasis by a combination of a commercial indirect hemagglutination test with *Schistosoma mansoni* adult worm antigens and an enzyme-linked immunosorbent assay with *S. mansoni* egg antigens. *J. Clin. Microbiol.*, **40**:3432-3437
11. **Vennervald B.J., Kahama A.I., Reimert C.M.** 2000. Assessment of morbidity in *Schistosoma haematobium* infection; current methods and future tools. *Acta Tropica* **77**: 81-89.
12. **Whitty C.J.M., Carroll B. Armstrong M. Dow C. Snashall D. Marshall T. Chiodini P.L.** 2000. Utility of history, examination and laboratory tests in screening those returning to Europe from the tropics for parasitic infection. *Tropical Medicine and International Health* **5-11**: 818-823.

# RESUME DU MODE OPERATOIRE

*Nota Bene : ne pas pratiquer le test sans avoir préalablement lu la présente notice dans son intégralité.*

- 1/ **Établir** un plan de distribution.  

---
- 2/ **Distribuer** 1.2ml de **R2** (tampon échantillons **rose**) dans chacun des puits. Agiter doucement la cuve.
- 3/ **Placer** une bandelette numérotée **R1**, face vers le haut, dans chacun de puits. Attendre 1mn puis agiter doucement la cuve pour immerger la bandelette.
- 4/ **Distribuer** les échantillons (25 $\mu$ l - sérum) et le contrôle positif **R10** (25 $\mu$ l). Agiter doucement la cuve après chaque dépôt.  
**Incubation 90 mn sur agitateur.**  

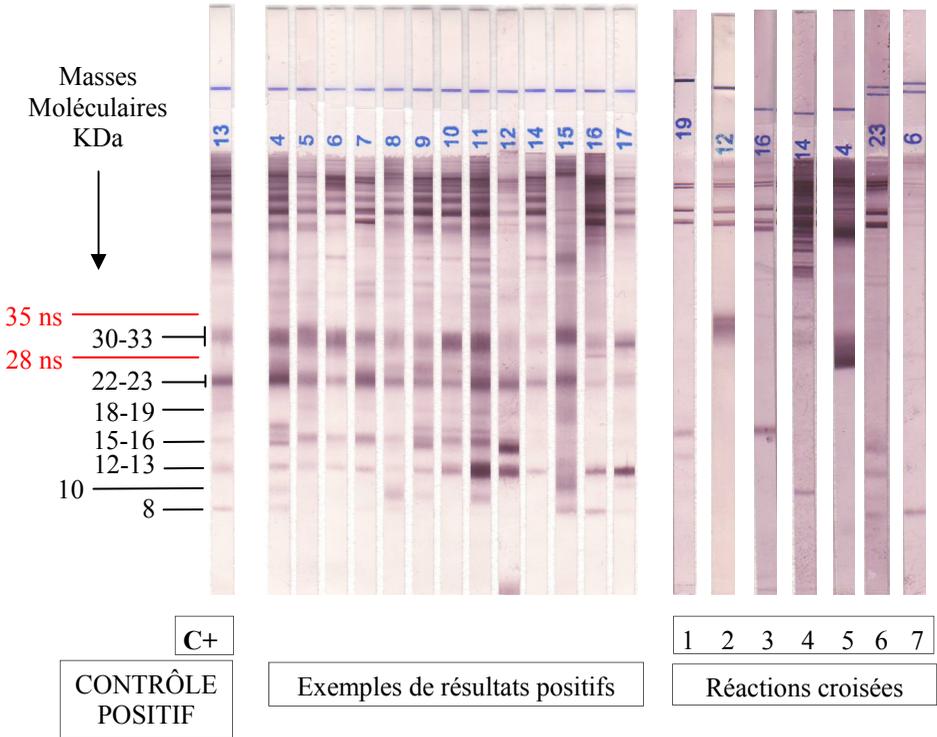
---
- 5/ **Laver** 3 fois avec **R6 dilué au 1/10**
- 6/ **Distribuer** 1.2ml de **R3** (conjugué anti-IgG **bleu**), agiter doucement la cuve, **incubation 60 mn sur agitateur**, arrêter plus tôt les bandelettes dont la coloration devient très forte.  

---
- 7/ **Laver** 3 fois avec **R6 dilué au 1/10**
- 8/ **Distribuer** 1.2ml de **R5** (substrat – **flacon opaque**), agiter doucement la cuve. **Incubation 60 mn sur agitateur**, arrêter plus tôt les bandelettes dont la coloration devient très forte.
- 9/ **Arrêt** de la réaction par 2 lavages à l'eau distillée.  

---
- 10/ **Transférer** les bandelettes sur un papier filtre. Laisser sécher à l'air 15 mn
- 11/ **comparer** le profil de l'immunoblot de chaque échantillon avec celui du contrôle positif **R10**.

## SCHISTOSOMA WB IgG

### Exemple d'immunoblots obtenus (échantillons négatifs et positifs)



*Pour la validation des résultats, toujours comparer le profil de l'immunoblot de chaque échantillon avec celui du contrôle positif R10.*

#### Interprétation

La présence simultanée de 2 bandes au minimum parmi les bandes P8, P9, P10, P11, P12-13, P15-16, P18-19, P22-23, P30-33 et incluant l'une des bandes P22-23 ou P30-33 est indicative d'une bilharziose.

Les bandes P28 et P35 **ne sont pas spécifiques** de *Schistosoma*.

La bandelette « C+ » de l'exemple ci-dessus correspondent au témoin positif (R10) fourni dans la trousse. Les bandes P9 et P11 se situent de part et d'autre de P10.

Les sérums « réactions croisées » présentés correspondent à un paludisme (n°1), une cysticercose (n°2), distomatose (n°3), une hydatidose (n°4), Une échinococcose alvéolaire (N°5), Une filariose (N°6) et une trichinellose (n°7). Ils ont été spécialement sélectionnés parmi les quelques sérums qui ont présenté au cours de l'évaluation des bandes non spécifiques dans la zone de lecture 8-33 kDa.

# Index

	n° page
Indication	1
Contexte clinique	1-2
Principe du test	2
Réactifs fournis avec la trousse	2-3
Matériels nécessaires non fournis	4
Conditions de conservation	4
Précautions spéciales d'emploi	
Sécurité	4-5
Précautions	5
Prélèvement des échantillons	5
Préparation des réactifs	5
Mode opératoire	6-7
Interprétation	7-8
Limites du test	8-9
Problèmes rencontrés	9
Contrôle de qualité	9
Performances	10-12
Bibliographie	12-13
Résumé du mode opératoire	14
Exemple d'immunoblot (positifs et négatifs)	15