

LE FLUIDE ORAL, UN SUBSTITUT DU SÉRUM POUR LA SURVEILLANCE DE LA ROUGEOLE EN CÔTE D'IVOIRE ?

COULD ORAL FLUID BE A SUBSTITUTE FOR SERUM FOR MEASLES SURVEILLANCE
IN CÔTE D'IVOIRE ?

LBN AKA^{1,3}, A DOUBA¹, A OUATTARA², N FOFANA³, A FALL⁴,
A DOSSEH⁴, H KADJO², NIGUE L¹, S TAGLIANTE¹

RESUMÉ

Objectif : Analyser les performances du fluide oral dans la détection des anticorps spécifiques de la rougeole en comparaison avec celles du sérum.

Méthode : Nous avons réalisé une étude transversale dans quatre districts sanitaires de la ville d'Abidjan. Des échantillons de fluide oral et de sang ont été collectés d'août 2010 à septembre 2011 chez les cas suspects de rougeole. Le diagnostic de la rougeole a été fait par la mise en évidence des anticorps antirougeoleux de type IgM dans les différents échantillons.

Principaux résultats : Le fluide oral avait une sensibilité de 96,3% et spécificité à 74,3%. La concordance était à 87,6% avec un coefficient kappa égale à 0,74.

Conclusion : Le fluide oral constitue un bon substitut du sérum dans le diagnostic et la surveillance épidémiologique de la rougeole.

Mots-clés : FLUIDE ORAL, SURVEILLANCE, ROUGEOLE, CÔTE D'IVOIRE

SUMMARY

Objective: Analyze the performance of the oral fluid in the detection of measles-specific antibodies in comparison with those of the serum.

Method: We conducted a cross-sectional study in four health districts of the city of Abidjan. Samples of oral fluid and blood were collected from August 2010 to September 2011 in suspected cases of measles. The diagnosis of measles was made by the detection of antibodies to measles IgM in the different samples.

Main results: The oral fluid had a sensitivity of 96.3% and specificity 74.3%. The concordance was 87.6% with a kappa coefficient equal to 0.74.

Conclusion: The oral fluid is a good substitute of serum in diagnosis and epidemiological surveillance of measles.

KEY WORDS: ORAL FLUID, MEASLES, SURVEILLANCE, CÔTE D'IVOIRE

1- Département de Santé Publique et Informatique Médicale, UFR Sciences Médicales, Université de Cocody-Abidjan

2- Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

3- Direction de Coordination du Programme Elargi de Vaccination, Côte d'Ivoire

4- Organisation Mondiale de la Santé, IST Afrique de l'Ouest

Correspondance : Lepri Bernadin Nicaise AKA / Email : akanicaise@yahoo.fr
Cel: (225) 02024340

INTRODUCTION

La rougeole est une affection virale éruptive contagieuse responsable d'une morbidité et d'une mortalité élevée dans les pays en voie de développement. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) s'est donc fixé un objectif de pré-élimination de la rougeole dans les pays de la région africaine à l'horizon 2012. Conformément au plan stratégique de lutte contre la rougeole, la Côte d'Ivoire a mis en place la surveillance basée sur le cas depuis l'année 2005. Cependant, la Côte d'Ivoire rencontre des difficultés dans la surveillance de la rougeole notamment la qualité des prélèvements (sang hémolysé, quantité insuffisante et le non respect de la chaîne du froid) et le long délai d'acheminement au laboratoire pour la confirmation du diagnostic. Cette confirmation passe par la détection des anticorps (IgM) spécifiques de la rougeole dans le sérum⁶. De nouvelles techniques diagnostiques utilisant d'autres types d'échantillon (sang séché sur papier filtre et fluide gingival, composante du fluide oral) ont été développées. Le fluide gingival, qui contient des IgM et des IgG, est un transsudat des lits capillaires de la fente gingivale entre les dents et la gencive^{10,3}.

L'usage du fluide oral présente de nombreux avantages. Premièrement, le mode de collecte est non invasif avec possibilité de réalisation du prélèvement par des non professionnels de la santé. Secondairement, l'absence de risque d'infection pour le malade et de risque d'exposition au sang pour le préleveur. Troisièmement, une plus grande facilité de conservation et de transport des échantillons. Quatrièmement, les échantillons de fluide oral permettent de rechercher les anticorps spécifiques et l'ARN viral du virus morbilleux^{4,8}.

Dans le but de répondre aux difficultés liées à la collecte, à la conservation et au transport des échantillons de sérum et tenant compte des avantages du fluide oral, le bureau régional de l'OMS a envisagé l'utilisation du fluide oral dans la cadre de la surveillance de la rougeole dans les pays africains. Qu'en est-il de la valeur diagnostic du fluide oral par rapport au sérum en Côte d'Ivoire ? Pour répondre à cette question, il nous est apparu nécessaire d'analyser les performances du fluide oral dans la détection des anticorps spécifiques de la rougeole en comparaison avec celles du sérum.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1- TYPE D'ÉTUDE

Il s'agissait d'une étude transversale réalisée dans le cadre d'un projet pilote d'utilisation du fluide oral pour le diagnostic de la rougeole au laboratoire comme alternative du sérum.

2- CADRE DE L'ÉTUDE

L'étude a eu lieu dans quatre districts sanitaires de la ville d'Abidjan : les districts d'Abobo est, d'Abobo ouest, de Yopougon est et de Yopougon ouest-Songon.

Ces districts sanitaires ont été retenus sur la base des critères suivants :

- un taux de détection de la rougeole \geq 2/100 000 habitants ;
- la détection d'une épidémie de rougeole

en 2010 ;

- la forte densité de population.

3- POPULATION DE L'ÉTUDE

La population de l'étude étaient constituée des cas suspects de rougeole, notifiés dans les quatre districts sanitaires pendant la période de l'étude et ayant bénéficié d'un prélèvement de sang et d'un prélèvement de fluide oral. Dans le cadre de la surveillance de la rougeole, la définition de cas utilisée était la suivante :

- « cas suspect de rougeole », toute personne présentant une fièvre, une éruption cutanée généralisée et l'un des signes suivants : toux, coryza ou conjonctivite, ou toute personne chez qui un clinicien suspectait la

rougeole.

- «cas confirmé de rougeole», tout cas suspect confirmé au laboratoire par la mise en évidence d'IgM spécifiques, ou tout cas confirmé par lien épidémiologique.

4- COLLECTE DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons ont été collectés d'août 2010 à septembre 2011 dans les quatre districts sanitaires sélectionnés. Deux types de prélèvements étaient systématiquement effectués par l'agent de santé devant tout cas suspect de rougeole notifié : le prélèvement de sang et le prélèvement de fluide oral. Les prélèvements de sang veineux et de salives étaient réalisés entre le 4^{ème} et le 28^{ème} jour après le début de l'éruption. Concernant le sang, le sérum était recueilli dans un autre tube et mis dans un porte vaccin contenant des accumulateurs de froid bien congelés.

Quant aux échantillons de fluide oral étaient collectés et transportés à l'aide du kit «Oracol®» (*Malvern Medical Developments Limited, Barbourne, Worcester, UK*). Celui-ci était constitué d'une tige surmontée d'une éponge permettant de recueillir le liquide gingival à partir d'un mouvement de brossage au niveau de la gencive à l'émergence des dents. Une fois le prélèvement réalisé, l'éponge était mise dans un flacon.

Les deux prélèvements étaient transportés dans un porte vaccin contenant des accumulateurs de froid bien congelés et acheminé à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI), laboratoire de référence au niveau national et régional (Afrique de l'ouest) pour la surveillance de la rougeole. Ces prélèvements étaient accompagnés du formulaire générique de notification des cas suspects de rougeole dûment rempli.

5- TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS AU LABORATOIRE

Au laboratoire, les fluides salivaires étaient extraits du prélèvement de fluide orale en ajoutant un millilitre de tampon d'extraction à l'écouvillon, puis mélangés et centrifugés à 2000 tr/min. Les analyses biologiques étaient réalisés sur le surnageant recueilli dans un cryotube.

Les échantillons de sang étaient, pour

leur part, centrifugés à 2000 tr/min pendant cinq minutes et le sérum était recueilli puis aliquoté. Les tests biologiques étaient réalisés sur un de ces aliquotes.

6- TEST DIAGNOSTIQUES

La recherche des anticorps antirougeoleux de type IgM dans les différents échantillons a été faite de façon indépendante par technique immuno-enzymatique (ELISA) à l'aide de kits commerciaux conformément aux instructions du fabricant. Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur la technique sandwich. Les puits sont coâtés avec un antigène. Les anticorps spécifiques, contenus dans l'échantillon et se liant à l'antigène fixés aux puits, sont détectés par un second anticorps conjugué à une enzyme et spécifique des IgM humaines. Suite à la réaction substrat, l'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques IgM. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de courbe étalon ou en utilisant la valeur seuil (cut-off). Les kits utilisés étaient le kit Enzygnost Anti-Measles Virus IgM ELISA (Siemens, Germany) pour le sérum et Microimmune Measles IgM capture EIA (Microimmune Limited, UK) pour les fluides oraux.

7- ANALYSE STATISTIQUE

Les données ont été analysées à l'aide des logiciels Epi Info 3.5 (CDC) et STATA (Version 11, Stata corporation, College Station, Texas, USA). Les formules standards ont été utilisées pour calculer la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positif et la valeur prédictive négatif du fluide oral, par rapport au sérum pris comme «gold standard» et les intervalles de confiances ont été estimés au risque d'erreur alpha de première espèce de 0,05¹. Le coefficient de concordance kappa (k) a été utilisé pour estimer le niveau de concordance entre les résultats d'analyse du fluide oral et ceux du sérum avec comme seuil d'interprétation : k = 0,00 - 0,20 concordance mauvaise ; k = 0,21- 0,40 concordance faible ; k = 0,41 - 0,60 concordance moyenne ; k = 0,61 - 0,80 concordance bonne ; k = 0,81 - 1 concordance

excellente⁵. Les proportions de sujets positifs au fluide oral et de sujets positifs en sérum ont été comparées à l'aide du test du X² de McNemar².

RÉSULTATS

Sur la période de l'étude, 100 cas suspects de rougeole ont fait l'objet de prélèvements. Les résultats de la comparaison des tests ELISA de détection des anticorps antirougeoleux de type IgM dans le fluide oral versus sérum sont présentés dans le tableau ci-dessous (tableau I).

Tableau I : Résultats de comparaison des tests ELIS

A de détection des anticorps antirougeoleux de type IgM dans le fluide oral versus sérum.

Fluide Oral	Sérum			Total
	Positif	Négatif	Indéterminé	
Positif	52	9	4	65
Négatif	2	26	2	30
Indéterminé	0	4	1	5
Total	54	39	7	100

Gold standard = Sérum

En utilisant le sérum comme gold standard, les performances du test utilisant le fluide oral étaient les suivantes. La sensibilité : 85,2%, la spécificité : 92,9%, la VPP : 96,3% et la VPN : 74,3%

Tests statistiques

La concordance observée (p0) était égale à 0,88. La concordance aléatoire (pc) était égale à 0,54. Kappa était égale à 0,74.

La concordance était d'autant plus élevée que le coefficient Kappa était proche de 1.

Ici la concordance était bonne car Kappa est supérieur à 0,6.

Test de McNemar

Le X² était égale à 4,45 pour un degré de liberté égale 1. Il y avait donc une différence significative entre le pourcentage de positifs en fluide oral (68,5 %) et celui des positifs en sérum (60,5 %). En d'autres termes, la proportion de sujet positifs en fluide oral était significativement plus élevée que celle de sujets positifs en Sérum (p < 0,05).

DISCUSSION

Les résultats de ce travail montrent que le fluide oral a une bonne sensibilité (96,3%) et une spécificité à 74,3%. En ce qui concerne la sensibilité, des études similaires ont montré des résultats semblables. En Inde, au Congo et en Ethiopie, les études retrouvaient une sensibilité par le fluide oral respectivement de 89,5%, 92% et 98%^{4,3,8}. La spécificité retrouvée dans notre étude, bien qu'acceptable était inférieure à celle retrouvée dans les études sur le fluide oral en Ethiopie (87%), en Inde (90,6%) et au Congo (100%)^{4,3,8}. La comparaison entre le fluide oral et le test de référence (test ELISA de détection des anticorps antirougeoleux de type IgM dans le sérum) montre une bonne concordance à 87,6% confirmée par le coefficient kappa à 0,74.

La valeur de la concordance entre les résultats du fluide oral et ceux du test ELISA de détection des anticorps antirougeoleux de type IgM dans le sérum à partir du coefficient kappa dans les études au Congo et en Ethiopie était respectivement de 0,90 et 0,82^{4,8}. Ce constat a été fait également par une étude menée par Goyal et col en Inde qui a trouvé une concordance simple à 89%³.

A partir des constats faits au niveau de la sensibilité, de la spécificité et de la concordance du test ELISA sur fluide oral en comparaison au test ELISA sur sérum, nous pouvons affirmer que le fluide oral est convenable pour la confirmation diagnostic des cas de rougeole.

En Belgique, l'utilisation d'échantillons de fluide oral a été perçue comme un outil

utile pour la surveillance et le contrôle d'une épidémie de rougeole survenue à Antwerp⁴. Les fluides oraux peuvent être aussi utilisés pour l'estimation de la prévalence des anticorps protecteurs de la rougeole dans la vaccination de routine ou après une campagne de vaccination pour apprécier son impact, la sensibilité et la spécificité des fluides oraux étant identiques à celles des tests biologiques utilisant le sérum^{7,9}.

D'autres études ont démontré que le fluide oral peut être utilisé comme une bonne alternative au sérum pour la détection de différents virus tels que ceux des hépatites A, B et C, le virus de l'immunodéficience humaine, le virus de la rougeole et celui de la rubéole⁴.

L'Organisation Mondiale de la Santé recommande l'usage du fluide oral comme un outil convenable pour la surveillance de la rougeole¹¹. Différents pays européens utilisent le fluide oral en routine dans la surveillance de la rougeole notamment les Royaumes Unis¹⁰.

Une étude réalisée aux Royaumes Unis portant sur la comparaison des dispositifs de recueil du fluide oral (Oracol®, Omni-Sal® et OraSure®) chez les enfants dans le cadre de la surveillance de la rougeole a montré que le kit Oracol® permet d'obtenir un fluide oral de meilleure qualité en termes de quantité et de spécificité d'anticorps présents. Par ailleurs, Oracol® présente un avantage économique car l'unité coûte £0,50 en comparaison à Omni-Sal® et OraSure® qui coûtent respectivement £1,80 et £2,50. Ainsi, Oracol® qui fournit des échantillons de fluide oral plus fiables avec un kit de prélèvement moins cher est plus avantageux pour la surveillance épidémiologique de la rougeole comparativement aux autres dispositifs du même genre. Vu ses avantages, Oracol® est le dispositif de collecte de fluide oral préféré pour la réalisation d'études impliquant des enfants aux Royaumes Unis¹⁰.

CONCLUSION

Le fluide oral recueilli présente une bonne sensibilité, une bonne spécificité. Le fluide oral constitue donc un meilleur substitut du sérum dans le diagnostic et la

surveillance épidémiologique de la rougeole en Côte d'Ivoire où cette maladie constitue un problème majeur de santé.

REFERENCES

- 1-Armitage P, Berry G. Statistical methods in medical research, 3rd edition. Oxford, Blackwells Scientific Publications, 1994
- 2-Bouyer J. Méthodes statistiques Médecine-Biologie, 3ème Edition. Estem Editions INSERM, 2000
- 3-Goyal A, Shaikh N J, Kinikar A A, Wairagkar N S. Oral fluid, a substitute for serum to monitor measles igg antibody? Indian Journal of Medical Microbiology, (2009) 27(4): 351-3
- 4-Hutse V, Van Hecke K, De Bruyn R, *et al.* Oral fluid for the serological and molecular diagnosis of measles. International Journal of Infectious Diseases 14 (2010) e991-e997
- 5-Landis J, Koch G. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics, 1977, 33:159-174
- 6-Lenesha W, Rimantas S, Kaw B C *et al.* A point-of-care test for measles diagnosis: detection of measles-specific IgM antibodies and viral nucleic acid. Bull World Health Organ 2011;89:675-682
- 7-Nigatu W, Samuel D, Cohen B *et al.* Evaluation of a measles vaccine campaign in Ethiopia using oral-fluid antibody surveys. Vaccine 26 (2008) 4769-4774

- 8-Nokes D J, Enqueslassie F, Nigatu W *et al* .Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population immunity levels? A study of measles, rubella and hepatitis B in rural Ethiopia. *Bulletin of the World Health Organization*, 2001, 79: 588–595
- 9-Ohuma E O, Okiro E A, Bett A *et al*. Evaluation of a measles vaccine campaign by oral-fluid surveys in a rural Kenyan district: interpretation of antibody prevalence data using mixture models. *Epidemiol. Infect.* (2009), 137, 227–233
- 10-Vyse A J, Cohen B J and Ramsay M E.A comparison of oral fluid collection devices for use in the surveillance of virus diseases in children.. *Public Health* (2001)115, 201-207
- 11- World Health Organization. Recommendations from an Ad Hoc Meeting of the WHO Measles and Rubella Laboratory Network (LabNet) on Use of Alternative Diagnostic Samples for Measles and Rubella Surveillance. *Morbidity and Mortality Weekly Report* June 20, 2008 / Vol. 57 / No. 24.