



جامعة سيدي محمد بن عبد الله
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah

Royaume du Maroc المملكة المغربية

كلية الطب والصيدلة
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2020

Thèse N° 046/20

L'APPORT DU QUANTIFERON PLUS DANS LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE MALADIE

EXPERIENCE DU SERVICE DE PNEUMOLOGIE DE L'HOPITAL MILITAIRE MOULAY ISMAIL

(A propos de 47 cas)

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 18/02/2020

PAR

Mr. AYOUB CHAAR

Né le 29 Décembre 1994 à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Tuberculose (maladie, latente) - Test de libération de l'Interféron gamma - Quantiferon Plus

JURY

| | |
|--|-------------------------|
| M. OUARSSANI AZIZ..... | PRESIDENT ET RAPPORTEUR |
| Professeur de Pneumo-phtisiologie | |
| M. ER-RAMI MOHAMMED..... | } JUGES |
| Professeur de Parasitologie - Mycologie | |
| M. ATOINI FOUAD..... | |
| Professeur agrégé de Chirurgie thoracique | |
| M. SBITI MOHAMMED..... | |
| Professeur agrégé de Microbiologie - Virologie | |
| M. ALI ZINEBI..... | |
| Professeur agrégé de Médecine interne | |
| M. NAJI AMRANI HICHAM..... | MEMBRE ASSOCIE |
| Professeur assistant de Pneumo-phtisiologie | |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|--------------------------------|--|
| ADP | : adénopathies |
| AEG | : Une altération de l'état général |
| BAAR | : Bacilles Acido-Alcooloresistant |
| BCG | : Bacillus Calmette-Guerin |
| BK | : Bacille de Koch |
| CFP-10 | : protéine de filtration en culture |
| CMI | : réponse immunitaire à médiation cellulaire |
| CRP | : Protéine-C-Reactive |
| DCs | : les cellules dendritiques |
| ELISA | : enzyme-linked immunosorbent assay |
| ELISPOT | : Enzyme-linked immunospot |
| ESAT-6 | : early secretory antigenic target |
| GB | : Globule blanc |
| IDR | : IntraDermoRéaction à la tuberculine |
| IGRA | : Tests de libération de l'interféron gamma (Interféron Gamma Release assay) |
| INF-γ | : Interféron gamma |
| ITL | : Infection Tuberculeuse Latente |
| LT | : Lymphocytes T |
| Mϕs | : Macrophages |
| MTB | : Mycobactérie Tuberculosis |
| OMS | : l'Organisation mondiale de la santé |
| PCR | : polymérase chaîne réaction |
| PNLAT | : Programme National de Lutte Anti Tuberculeux |

| | |
|-----------------|--|
| PPD | : dérivé protéique purifié |
| QTF-GIT | : TB Gold in tube |
| QTF-Plus | : Quantiféron-TB Gold plus |
| Se | : Sensibilité |
| Sp | : Spécificité |
| TB | : La tuberculose |
| TNF-a | : le facteur de nécrose des tumeurs (Tumornecrosis factor) |
| TSpot | : T-SPOT.TB |
| TU | : test unité |
| VPN | : Valeur Prédictive Négative |
| VPP | : Valeur Prédictive Positive |

LISTE DES FIGURES

Figure-1 – représentation des tranches d'âge en pourcentage

Figure -2– représente la répartition des cas selon leur sexe.

Figure-3– Répartition des malades selon le diagnostic final

Figure-4– Répartition des malades selon l'organe atteint de Tuberculose

Figure -5– courbe de ROC pour TB1

Figure -6– courbe de ROC pour TB2

Figure -7– courbe de ROC pour SUP TB1TB2

Figure -8– courbe de ROC pour TB2-TB1

Figure -9– : taux de prévalence de mortalité par tuberculose, 2000-2016, Maroc.

Figure -10– : Immunité antituberculeuse, tuberculose infection, tuberculose maladie et tests de détection de l'infection.

Figure -11– BK au microscope optique sous forme de bâtonnets rouges

Figure -12– colonies jaunes rugueuses de mycobacteriumtuberculosis en culture sur milieu solide

Figure -13– : Réaction d'hypersensibilité retardée à la tuberculine

Figure -14– : Réalisation du test IDR

Figure-15– interprétation de l'IDR

Figure -16–technique de lecture

Figure -17– différents génération des tests QuantiFERON (Cellestis Limited, Canergie, Australia)

Figure -18– technique de réalisation du QTF-Plus

Figure -19– tableau d'interprétation du résultat du QTF-Plus.

Figure -20– Comparaison des deux tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés par les antigènes de *M. tuberculosis* avec l'intra-dermoréaction

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : une fiche d'exploitation standardisée

Annexe 2 : Un exemple du résultat du test réalisé au laboratoire de recherche génétique de gendarmerie

LISTE DES TABLEAUX

Tableau -1- Données démographiques cliniques et biologiques

Tableau -2- Valeur moyenne du QTF selon le diagnostic final

Tableau-3- : Résultat descriptif selon diagnostic et QTF

Tableau -4- : Facteur influençant le diagnostic final

Tableau -5-: analyse multivariée selon le diagnostic

Tableau -6- Facteurs influençant le résultat du Quantiferon

Tableau -7-: analyse multivariée selon le résultat du QTF

Tableau -8- : les performances diagnostiques du QTF (seuil de positivité, aire sous la courbe, sensibilité et spécificité)

Tableau -9- le seuil de positivité optimal TB1

Tableau -10- le seuil de positivité optimal TB2

Tableau -11- le seuil de positivité optimal SUP TB1 TB2

Tableau -12- le seuil de positivité optimal TB2-TB1

Tableau-13- : la performance diagnostique du QTF (Sensibilité, Spécificité, VPP et VPN)

Tableau -14- interprétation des résultats du LIOFeron1 TB/ITL

Tableau -15- : Se et Sp du QTF-Plus rapportés par la littérature et notre étude

PLAN

| | |
|--|-----------|
| I- INTRODUCTION | 10 |
| II- Objectifs de l'étude | 13 |
| III- MATERIELS ET METHODES | 15 |
| A- Schéma d'étude : | 16 |
| B- Temps et lieu :..... | 16 |
| C- Population d'étude : | 16 |
| D- Recueil des données :..... | 17 |
| E- Les tests relatifs à la tuberculose utilisés dans l'étude : | 17 |
| 1- Quantiferon-TB Gold plus (QFT-PLUS)..... | 17 |
| 2- Les examens bactériologiques | 19 |
| 3- Examens complémentaires selon le site atteint | 19 |
| F- Diagnostic final des patients | 19 |
| G- Etude statistique : | 19 |
| IV- RESULTATS | 21 |
| A- Résultats descriptifs | 22 |
| 1- Données démographiques, cliniques et biologiques | 22 |
| 2- Résultat selon diagnostic final et Quantiferon | 26 |
| B- Résultats analytiques..... | 29 |
| 1- Comparaison des groupes des malades selon diagnostic final | 29 |
| 2- Comparaison des groupes des malades selon Qtf..... | 31 |
| 3- Validité diagnostic du Qtf-Plus | 33 |
| 4- Validité intrinsèque et extrinsèque..... | 42 |
| V- DISCUSSION | 45 |
| A- RAPPEL THEORIQUE | 46 |
| 1- EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE | 46 |
| a- La tuberculose dans le monde | 46 |

| | |
|---|----|
| b- La tuberculose au Maroc..... | 47 |
| 2- PHYSIOPATHOLOGIE ET HISTOIRE NATURELLE DE LA TUBERCULOSE | 48 |
| a- Bactériologie..... | 48 |
| b- Physiopathologie | 48 |
| b.1- le mode de contamination..... | 48 |
| b.2- Histoire naturelle de la Tuberculose (TB)..... | 49 |
| 3- LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE MALADIE | 51 |
| a- La clinique | 51 |
| b- Examens Paraclinique..... | 54 |
| b.1- Imagerie | 54 |
| b.2- Bactériologie | 54 |
| b.3- Histologie..... | 56 |
| b.4- Biologie Standard..... | 56 |
| b.5- Test Immunologiques | 56 |
| b.5.1 - L'Intradermoréaction (IDR) | 56 |
| b.5.2- Les Test de libération de l'interféron Gamma (IGRA) | 60 |
| b.5.2.1- Qtf-Plus | 61 |
| b.5.2.2- TSpot.TB | 65 |
| b.5.2.3- LIOFeron1 TB/ITL | 65 |
| b.5.3- Comparaison entre L'IDR et IGRA..... | 66 |
| b.6- Technique de biologie moléculaire : | 67 |
| B- APPORT DU QTF-PLUS DANS LA TUBERCULOSE ACTIVE | 69 |
| 1- Intérêt de l'étude de la réponse CD8 au cours de la tuberculose active | 69 |
| a- Fonctions effectrices des lymphocytes T CD8+ (Études murines et | |
| études humaines) | 70 |

| | |
|--|-----------|
| b- Variation de la réponse des lymphocytes T CD8+ entre la tuberculose maladie et la tuberculose latente | 72 |
| 2- Evaluation des performances diagnostic | 73 |
| a- Sensibilité (Se) et Spécificité (Sp) du QTF-Plus..... | 73 |
| b- Qtf-Plus peut-il différencier TB active et ITL ?..... | 76 |
| 3- Facteurs influençant le résultat du QTF | 77 |
| 4- Recommandations internationales pour l'utilisation du Qtf dans le diagnostic de la tuberculose maladie | 78 |
| 5- proposition de recommandation pour l'utilisation du Qtf dans le diagnostic de la tuberculose maladie au Maroc | 79 |
| VI- CONCLUSION | 81 |
| VII- RESUME | 84 |
| VIII- BIBLIOGRAPHIE | 90 |

INTRODUCTION

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse à transmission interhumaine liée au bacille de Koch (BK) qui présente toujours, un problème majeur de santé publique dans le monde et surtout dans les pays en voie de développement.

En 2017, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime une incidence globale à 10 millions de cas : 5,8 millions d'hommes – 3,2 millions de femmes et 1,0 millions d'enfants; et estime aussi plus de 1,6 millions de décès dans le monde plaçant ainsi la TB comme étant la deuxième cause de mortalité par maladie infectieuse dans le monde. [1]

Au Maroc, 30 897 cas ont été enregistrés avec une incidence de 88 cas pour 100 000 habitants pour l'année 2017, et 2964 décès liés à cette maladie dans la population générale soit 8,28 décès pour 100 000 habitants. [2]

Le diagnostic de la tuberculose est évoqué devant des données cliniques, biologique et radiologiques, mais la confirmation n'est que par identification bactériologique, antigénique ou génétique des mycobactéries des complexes tuberculosis. Cette mise en évidence n'est pas toujours accessible surtout pour les formes extra pulmonaires (méningé, encéphalique, oculaire), ce qui incite le clinicien à réunir un faisceau d'argument en faveur de la TB

De nouvelles techniques ont été développées dans ces dix dernières années dans l'intérêt d'améliorer l'approche diagnostique de la tuberculose et de combattre les limitations rencontrées dans les anciens tests notamment l'intradermoréaction à la tuberculine (IDR) qui présente une faible spécificité à cause de la vaccination des patients par Bacillus Calmette-Guérin (BCG) ou l'infection par mycobactérie non-Tuberculosis.

Parmi ces examens existent de nouveaux tests sanguins immunologiques, aujourd'hui disponibles au Maroc, prénommés Les tests de libération de l'interféron-gamma (IGRA) dont le principe est la détection d'une réponse immunitaire des

lymphocytes T aux antigènes spécifiques du *Mycobacterium tuberculosis* par sécrétion de l'interféron-gamma (l'INF- γ) qui apporte une aide au diagnostic de la tuberculose dans sa forme latente ou active. Ces tests de libération d'IFN γ sont mis en œuvre par deux tests commerciaux approuvés : Quantiferon-TB (QTF) qui mesure la concentration de l'INF- γ via un dosage immuno-enzymatique en employant trois tubes antigéniques et le T-SPOT.TB qui lui compte le nombre de Lymphocytes T sécrétant de l'INF- γ par une technique enzyme-linked Immuno Spot(ELISPOT) [3]

En 2015, Le Quantiferon-TB Gold plus (QTF-plus) a été introduit comme étant une nouvelle génération du test de QTF-GIT en ajoutant un quatrième tube antigénique (TB2) stimulant à la fois CD4+ et CD8+ des lymphocytes T chez les patients porteurs de TB cela permettrait donc en plus de l'orientation vers le diagnostic de TB avec plus de sensibilité et spécificité, de différencier entre TB latente et active, mais également de suivre la réponse thérapeutique [4]

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Ce travail a pour objectif :

- D'évaluer la valeur diagnostic du dosage de QTF-Plus chez une série de marocains suspects de tuberculose évolutive par étude de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP) et valeur prédictive négative (VPN) et les facteurs influençant le résultat du test.
- Déterminer un seuil de positivité du QTF-plus dans cette série dans le but d'augmenter la spécificité et la sensibilité du test.
- Préciser la réponse estimée des lymphocytes T CD8 et sa corrélation avec la tuberculose active permettant sa distinction de la tuberculose latente.

MATÉRIELS ET METHODES

A- Schéma d'étude :

Etude transversale visant à évaluer la valeur diagnostic du dosage de QTF-Plus chez une série de marocains suspects de tuberculose évolutive par étude de sa validité intrinsèque (sensibilité et spécificité) et validité extrinsèque (VPP et VPN)

B- Temps et lieu :

Cette étude a été réalisée au sein du service de pneumologie à l'Hôpital Militaire Moulay Ismail (HMMI) de Meknès, sur une période de 34 mois allant de Mars 2017 à Décembre 2019

C- Population d'étude :

Quarante sept (47) patients recrutés sont des malades hospitalisés aux différents services hospitaliers de L'Hôpital Militaire Moulay Ismail (HMMI) de Meknès pris en charge en collaboration avec le service de pneumo-phtisiologie de la même structure chez qui on suspecte une tuberculose évolutive sur des données cliniques, biologiques et radiologiques mais en absence de confirmation bactériologique qui ont bénéficié du dosage sérique du QTF-plus.

Les critères d'inclusion :

- adulte > 18 ans
- Patients ayant un tableau clinique pouvant faire suspecter une tuberculose active quelque soit sa localisation (signes cliniques trainants, signes généraux persistants...)
- Difficulté diagnostique bactériologique pour les formes extra pulmonaire
- Négativité des examens directs à la recherche de BK pouvant porter un diagnostic rapide.

Les critères d'exclusion :

- Confirmation rapide du diagnostic de tuberculose par mise en évidence du BK par examen direct
- Tuberculose latente

D- Recueil des données :

Pour la réalisation de ce travail, nous avons consulté :

- Les registres d'hospitalisation du service de pneumologie de l'HMMI de Meknès
- Les dossiers médicaux du service de pneumologie de l'HMMI de Meknès

L'analyse statistique de l'étude a été réalisée en utilisant le logiciel Excel de Microsoft et le logiciel SPSS 16.0

Après consentement et information des patients, un certain nombre de données démographique anamnétique, clinique, radiologique, endoscopique et biologique ont été recueilli. Ces derniers ont servi pour remplir une fiche d'exploitation standardisée (Annexe 1).

E- Les tests relatifs à la tuberculose utilisés dans l'étude :

1- QuantiFERON[®] -TB Gold Plus (QFT[®] -Plus) : [5]

Le test QTF-plus, de quatrième génération, correspond à la technique ELISA de dosage de l'IFN- γ dans un échantillon de sang total.

QFT-Plus est un test qui mesure les réponses immunitaires à médiation cellulaire (CMI) aux antigènes peptidiques simulant les protéines mycobactériennes. Ces protéines, ESAT-6 et CFP-10, sont absentes de toutes les souches de BCG et de la plupart des mycobactéries non tuberculeuses à l'exception de *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum*. [5]

Le test nécessite un prélèvement de sang périphérique dans 4 tubes spéciaux par patient contenant différents réactifs :

- Le tube « Nul » gris ne contient pas d'antigènes stimulants (contrôle négatif)
 - Les tubes « Ag TB1 » et « Ag TB2 » vert et jaune contiennent différents peptides conçus pour provoquer des réponses cellulaires de la part des lymphocytes T CD4+ (Ag TB1) et des lymphocytes T CD4+ et TCD8+ (Ag TB2)
 - Le tube « Mitogène » violet : contrôle positif du test
- Un résultat positif a été définie dans l'un des situations suivantes :
- une différence dans l'INF- γ des niveaux compris entre l'un des tubes de M. tuberculosis-antigène spécifique (Tb1, Tb2) et le tube témoin négatif (Tnul) égal ou sup à 0,35 UI/mL => $(Tb1 - Tnul > 0,35 \text{ UI/mL})$ ou $(Tb2 - Tnul > 0,35 \text{ UI/mL})$
 - une différence dans l'INF- γ des niveaux compris entre les deux tubes de M. tuberculosis-antigène spécifique (Tb1 et Tb2) et le tube témoin négatif (Tnul) égal ou sup à 0,35 UI/ml => $(Tb1 - Tnul > 0,35 \text{ UI/mL})$ et $(Tb2 - Tnul > 0,35 \text{ UI/mL})$
- Un essai a été considéré comme indéterminé si l'échantillon stimulé par les antigènes spécifiques de M. tuberculose et le contrôle positif sont négatifs après soustraction de la valeur de la commande.
- Un exemple du résultat du test réalisé au laboratoire de gendarmerie de Rabat est représenté en **Annexe 2**.

Le QTF-Plus a été réalisé pour tous nos malades au laboratoire de gendarmerie à Rabat, ou le laboratoire national de référence à Casablanca selon les instructions et les normes de contrôles de qualité du fabricant.

2- Les examens bactériologiques :

Les prélèvements de liquides biologiques, de pus ou des fragments biopsiques effectués sur les sites de suspicion de tuberculose sont acheminés au laboratoire de bactériologie de HMMI. Un examen direct par coloration à L'Auramine et Ziehl–Nielsen est effectué avec culture sur milieu solide de Lowenstein–Jensen incubé pendant 2 mois.

3- Examen complémentaire selon le site atteint

Radiologique, endoscopique, biopsique...

F- Diagnostic final des patients

Pour chaque patient un diagnostic a été posé selon les critères suivants :

- **TB probable** : présence d'un faisceau d'arguments cliniques, radiologique, biologiques, anatomopathologiques et du résultat du QTF–Plus en faveur de la tuberculose avec bonne évolution sous traitement antibacillaire.
- **Pas de TB** : confirmation d'un diagnostic autre que la tuberculose (néoplasie, maladie inflammatoire chronique, autre infection) ou absence d'arguments d'orientation vers la tuberculose.

G- Etude statistique :

Nous avons utilisé les logiciels SPSS 16.0 et Excel 2007 pour :

- effectuer les statistiques descriptives.
- Effectuer les statistiques analytiques par comparaison des différents variables entre groupes de malades (analyse univariée ou multivariée)
- Calculer la sensibilité, spécificité, VPP et VPN du QANTIFERON dans notre série.

- Réalisation de la courbe de ROC (Receiver Operating Characteristic = transmission de signal) pour les résultats quantitatifs du QTF permettant de :
 - ⇒ Définir l'aire sous la courbe (AUC : Area Under Curve) qui est proportionnelle à l'intérêt du test utilisé : Plus l'aire sous la courbe est grande, plus le test est meilleur.
 - ⇒ Déterminer la valeur seuil de positivité du QTF dans notre série pour une spécificité et une sensibilité optimale.
 - ⇒ Rechercher une valeur seuil de positivité du QTF pour un minimum de faux positifs et faux négatifs.

RESULTATS

A- RESULTATS DESCRIPTIFS

1- Données démographiques, cliniques et biologiques :

a- Données démographiques :

47 patients ont été recrutés, avec un âge moyen de 43.2 ans, avec des extrêmes allant de 18 ans à 76 ans. La tranche d'âge la plus touchée est de 25 à 45 ans avec un pourcentage de 29.8%. **Figure -1-**

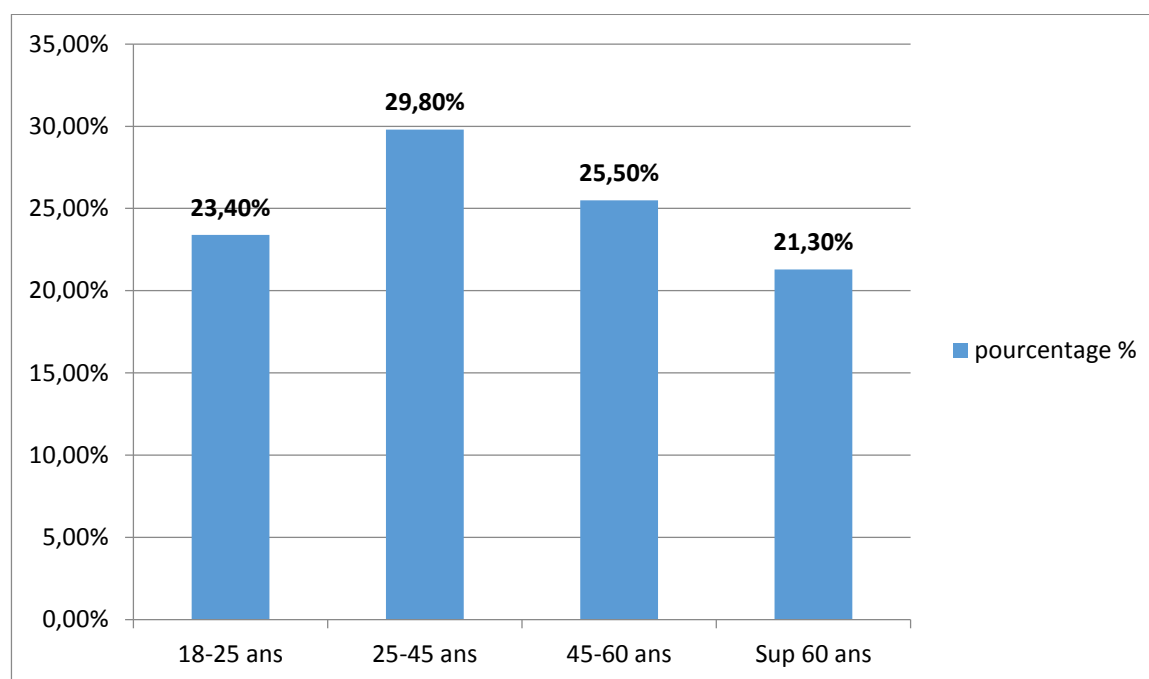


Figure-1- représentation des tranches d'âge en pourcentage

Dans notre série, les hommes et les femmes ont représenté respectivement 61.7% et 38.3% des cas avec un sexe ratio H/F=1.61 . **Figure -2-**

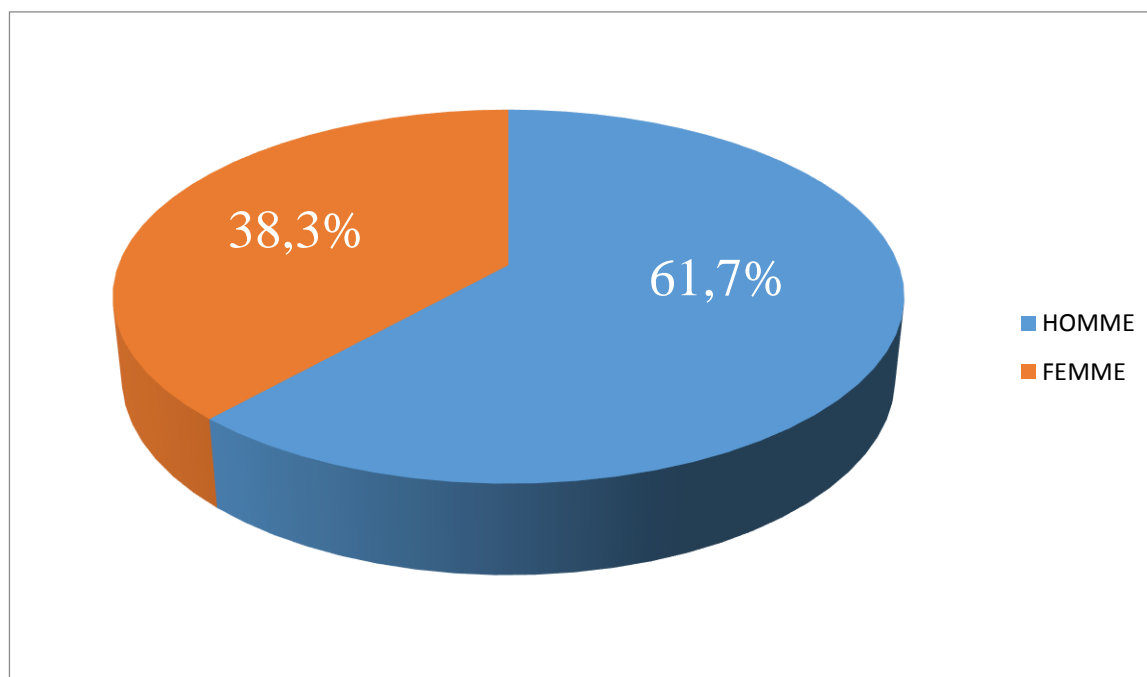


Figure -2- répartition des cas selon leur sexe.

Tous nos malades sont vaccinés au BCG au moins une fois à la naissance dans le cadre du programme national de lutte antituberculeuse. 3 patients (6.4%) sont déjà traités pour tuberculose et 2 malades (4.3%) ont rapporté un contage tuberculeux récent : < 2ans.

15 malades (31.9%) sont tabagiques et 1 malade (2.1%) est alcoolique.

Les facteurs d'immunodépression recherchés chez nos patients sont : La néoplasie, chimiothérapie, diabète, insuffisance hépatique, insuffisance rénale, corticothérapie au long cours et le traitement par anti TNF. 6 malades (12.76%) avaient au moins un de ces facteurs (2 patients diabétique (4.3%), 1 patient sous immunosuppresseurs (2.1%), 2 patients en insuffisance rénale (4.3%), 3 patients sous corticothérapie (6.4%).

b- Données cliniques et biologiques :

Cliniquement, les signes généraux sont présents chez 28 patients (59.5%) alors que les signes fonctionnels sont variables selon l'organe atteint, 34 patients (72.3%) présentent des signes respiratoires, et 12 patients (25.5%) présentent différents signes extra respiratoires.

Sur le plan biologique, la CRP est élevée à un taux moyen à 25.1mg/dL, la VS quant à elle s'accélère la première heure en moyenne à 25.6mm/h.

Le taux des globules blancs (**GB**) enregistré est de 8190.5 UI/L en moyenne, celui des lymphocytes est 2232.7 UI/L en moyenne. Au niveau biochimique on trouve une natrémie moyenne de 140 mEq/l **tableau-1** -

Tableau -1- Données démographiques cliniques et biologiques

| | Moy +/- ET [min-max] | n(%) |
|---------------------|-----------------------|-----------|
| Age moyen | 43.2 +/- 17.5 [18-76] | ----- |
| Homme | ----- | 29(61.7%) |
| Femme | ----- | 18(38.3%) |
| ATCD TB | ----- | 3(6.4%) |
| Contage TB | ----- | 2(4.3%) |
| Tabac | ----- | 15(31.9%) |
| Alcool | ----- | 1(2.1%) |
| Diabète | ----- | 2(4.3%) |
| Insuffisance rénale | ----- | 2(4.3%) |
| Immunosuppression | ----- | 1(2.1%) |
| Corticothérapie | ----- | 3(6.4%) |
| Fièvre | ----- | 22(46.8%) |
| Asthénie | ----- | 23(48.9%) |
| Amaigrissement | ----- | 19(40.4%) |
| Sueurs | ----- | 13(27.7%) |
| Toux | ----- | 26(55.3%) |
| Expectoration | ----- | 9(19.1%) |
| Dyspnée | ----- | 14(29.8%) |
| Hémoptysie | ----- | 11(23.4%) |
| Douleur thoracique | ----- | 14(29.8%) |
| Signes Extra Respi. | ----- | 12(25.5%) |
| GB (UI/L) | 8190.5 +/- 3088.4 | ----- |
| PNN (UI/L) | 5069.9 +/- 2783.3 | ----- |
| Lymphocyte (UI/L) | 2232.7 +/- 1036.1 | ----- |
| VS (mm/h) | 25.6 +/- 25.7 | ----- |
| CRP (mg/dL) | 25.1 +/- 67.4 | ----- |
| Na+ (mEq/l) | 140 +/- 2.1 | ----- |

2- Résultats selon le diagnostic final et du QTF:

a- Résultats selon le diagnostic final

32 patients (68.1%) ont été diagnostiqués comme tuberculose active probable en se basant sur un ensemble d'arguments anamnétiques, cliniques, biologiques, histologique et radiologique avec amélioration sous traitement anti bacillaire.

Figure-3-

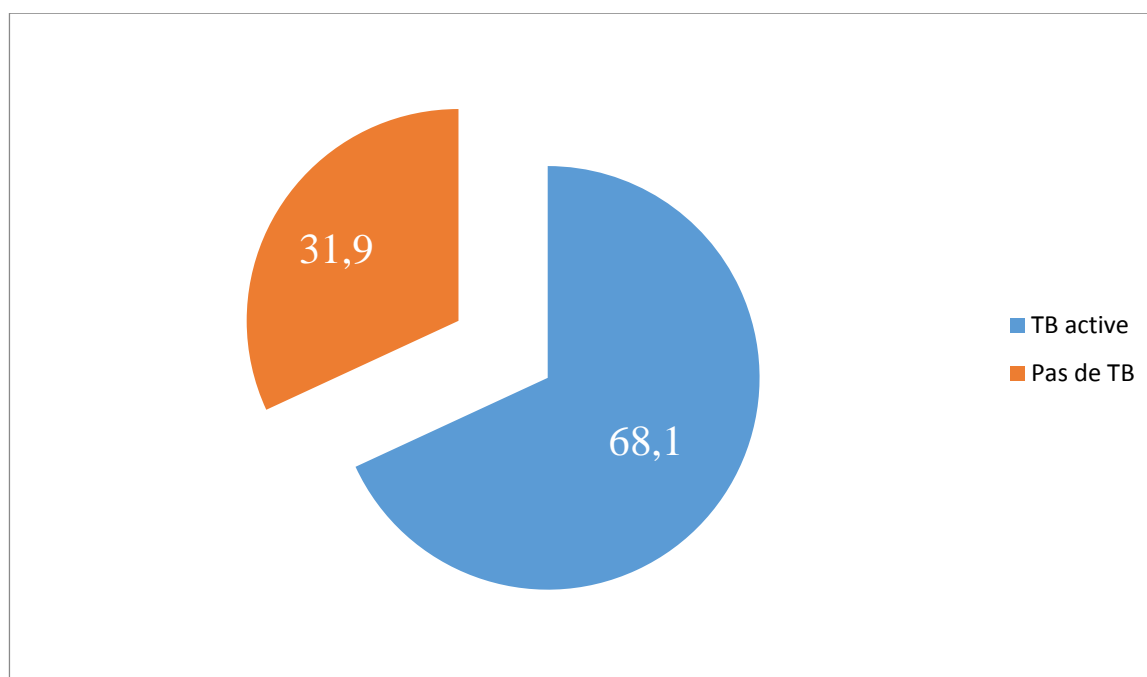


Figure-3- Répartition des malades selon le diagnostic final

L'atteinte la plus enregistrée dans notre série est la TB pulmonaire à microscopie négative (50%)

Le restant des localisations sont : pleural (25%), multifocale (15.62%), ganglionnaire (12.5%), péritonéale (12.5%), intestinale (6.25%), ophtalmique (6.25%), urologique (3,12%), anale (3.12%). **Figure-4-**

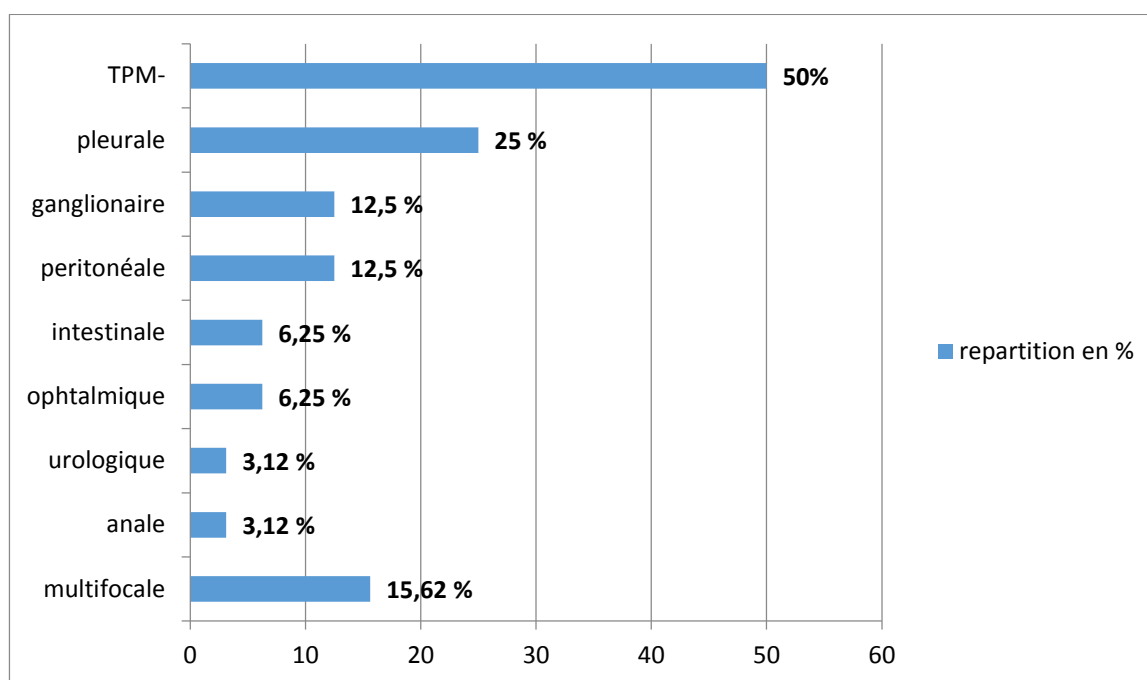


Figure-4- Répartition des malades selon l'organe atteint de Tuberculose

b-Résultats du QTF-Plus :

Le test de QTF-Plus est positif chez 35 malades (74.4%) et négatif chez 12(25.5%), aucun résultat indéterminé n'a été enregistré.

La valeur moyenne du QTF-Plus est de 4.4 UI/ml pour TB1-Nul et 4.7 UI/ml pour TB2-Nul dans le groupe tuberculose active et de 0.76 UI/ml pour TB1 -Nul ainsi que 0.59 UI/ml chez les malades n'ayant pas de tuberculose. **Tableau -2-**

Tableau -2- Valeur moyenne du QTF-Plus selon le diagnostic final

| Valeur moyenne +/- ET (UI/ml) | Total des patients n=47 | TB active probable n=32 | Pas de TB n=15 |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------|
| TB1-Nul | 3.2 +/- 3.9 | 4.4 +/- 3.9 | 0.76 +/- 2.2 |
| TB2-Nul | 3.3 +/- 3.9 | 4.7 +/- 3.9 | 0.59 +/- 1.4 |
| Sup (TB1/TB2) ^a | 3.5 +/- 3.9 | 4.8 +/- 3.9 | 0.84 +/- 2.2 |
| TB2-TB1 ^b | 0.14 +/- 0.74 | 0.28 +/- 0.68 | -0.16 +/- 0.78 |

^a : La valeur la plus élevée entre TB1 /TB2

^b : Résultat de la différence entre TB2-TB1

c- Résultat QTF-Plus selon le diagnostic final :

Chez les sujets à TB active (n=32) on retrouve le QTF-Plus positif chez 31 patients et négatif chez un seul malade

Plus spécifiquement, on retrouve une valeur positive du TB1- Nul chez 30 patients tandis que 31 patients ont un TB2-Nul positif. **Tableau -3-**

Tableau-3- : Résultat descriptif selon diagnostic et QTF-Plus

| | QTF | | TB1-Nul | | TB2-Nul | |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|---------------|---------------|
| | positif | Négatif | Positif | négatif | Positif | Négatif |
| Groupe TB (n=32) | 31 (96.9%) | 1 (3.1%) | 30 (93.8%) | 2 (6.2%) | 31 (96.9%) | 1 (3.1%) |
| Groupe Non TB (n=15) | 4 (26.7%) | 11 (73,3%) | 3 (20%) | 12 (80%) | 4 (26.7%) | 11 (73.3%) |

B- RESULTATS ANALYTIQUES

1- Comparaison groupes des malades selon diagnostic final

En analyse univariée entre les deux groupes de tuberculeux et non tuberculeux, on peut conclure que les sujets porteur de TB sont plus jeunes (40 ans vs 49,7 ans pour les non tuberculeux) mais la différence reste proche de la signification ($p=0.07$). Alors que la prédominance masculine des tuberculeux est significative ($p=0.039$).

Sur le plan biologique, on constate que les tuberculeux ont une Natrémie plus basse ($p=0.03$), le taux de TB1, TB2, Sup TB1 TB2 est évidemment plus élevé chez les tuberculeux (respectivement $p=0,002$, $p<0.001$, $p<0.001$) et particulièrement on remarque la différence entre TB2-TB1 qui reflète l'activité des lymphocytes T CD8 est plus élevé chez les malades tuberculeux avec une différence significative ($p=0.05$)

Tableau-4 -

Tableau -4- : Facteur influençant le diagnostic final

| | Groupe TB active N=32 | Groupe non TB N=15 | P |
|-----------------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------|
| Age | 40 +/- 15.8 | 49.7 +/- 19.4 | 0.07 |
| Homme | 23(71%) | 6(40%) | 0.039 |
| Femme | 9(28.1%) | 9(60%) | 0.039 |
| Tabac | 11(34.4%) | 4(26.7%) | 0.43 |
| Facteur d'immunodépression | 3(9.4%) | 3(20%) | 0.28 |
| GB | 8232 +/- 2853 | 8102 +/- 3632 | 0.89 |
| PNN | 4969 +/- 2552 | 5277 +/- 3297 | 0.72 |
| Lymphocyte | 2340 +/- 1137 | 2010 +/- 774 | 0.31 |
| VS | 25.6 +/- 30.3 | 25.5 +/- 16.63 | 0.99 |
| CRP | 20.77 +/- 49.1 | 34.05 +/- 96.6 | 0.55 |
| Na+ | 140 +/- 2 | 141 +/- 1.97 | 0.03 |
| TB1-Nul | 4.4 +/- 3.9 | 0.76 +/- 2.2 | 0.002 |
| TB2-Nul | 4.7 +/- 3.9 | 0.59 +/- 1.4 | <0.001 |
| Sup TB1, TB2^a | 4.8 +/- 3.9 | 0.84 +/- 2.2 | <0.001 |
| TB2-TB1^b | 0.28 +/- 0.68 | -0.15 +/- 0.78 | 0.05 |

^a: La valeur la plus élevée entre TB1 /TB2

^b: Résultat de la différence entre TB2-TB1

L'analyse multivariée des variables significatives ou proches de la signification statistique, on conclue que les sujets tuberculeux gardent une natrémie plus basse avec différence statistiquement significative ($p=0.02$). **Tableau -5-**

Tableau -5-: analyse multivariée selon le diagnostic

| | P |
|----------------------------|----------|
| Age | 0.5 |
| Sexe | 0.11 |
| Immunodépression | 0.3 |
| Na+ | 0.02 |
| TB2-TB1^b | 0.32 |

^b : Résultat de la différence entre TB2-TB1

2- Comparaison des groupes des malades selon le Qtf-plus

La comparaison des deux groupes QTF positif et QTF négatif vise à étudier les facteurs influençant la positivité de ce test

En analyse univariée, les sujets à QTF positif ont une CRP plus élevée proche de la signification ($p=0.06$), leur natrémie est plus basse ($p=0.014$) et présentent bien évidemment plus de tuberculose ($p<0.001$). **tableau-6-**

Lors de l'analyse multivariée, les patients à QTF positif gardent une natrémie plus basse ($p=0.025$) et présentent également plus de signes respiratoires ($p=0.04$)

Tableau-7-

Tableau -6- Facteurs influençant le résultat du Quantiferon

| | Groupe Qtf positif n= 35 | Groupe Qtf négatif n=12 | P |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------|
| Age | 41.6 +/- 1.6 | 47.6 +/- 19.9 | 0.36 |
| Homme | 22(62.9%) | 7(58.3%) | 0.52 |
| Femme | 13(37.1%) | 5(41.7%) | 0.52 |
| Tabac | 10(28.6%) | 5(41.7%) | 0.31 |
| Facteur d'immunodépression | 4(11.4%) | 2(16.7%) | 0.48 |
| Signes généraux | 26(74.3%) | 7(58.3%) | 0.24 |
| Signes respiratoire | 27(77.1%) | 7(58.3%) | 0.18 |
| Signes extra respiratoire | 9(25.7%) | 3(25%) | 0.64 |
| GB | 8465 +/- 3348 | 7410 +/- 2117 | 0.21 |
| PNN | 5245 +/- 3144 | 4571 +/- 1290 | 0.31 |
| Lymphocytes | 2299 +/- 1073 | 2043 +/- 938 | 0.44 |
| VS | 28 +/- 30 | 20.2 +/- 11.4 | 0.29 |
| CRP | 31.7 +/- 77.2 | 5.66 +/- 3.21 | 0.06 |
| Na+ | 140 +/- 1.98 | 142 +/- 1.96 | 0.014 |
| TB active | 31(88.6%) | 1(8.3%) | <0.001 |

Tableau -7- : Analyse multivariée selon le résultat du QTF

| | P |
|---------------------|--------------|
| Age | 0.84 |
| Immunodépression | 0.31 |
| Signes généraux | 0.23 |
| Signes respiratoire | 0.04 |
| GB | 0.37 |
| PNN | 0.45 |
| Lymphocytes | 0.29 |
| CRP | 0.28 |
| Na+ | 0.025 |

3- Valeurs diagnostic du QTF-plus

La courbe de Roc des différentes valeurs du QTF-plus (TB1, TB2, Sup TB1 TB2, TB2-TB1) a permis de préciser le seuil de positivité optimal pour une sensibilité et spécificité maximale. **Tableau -8-**

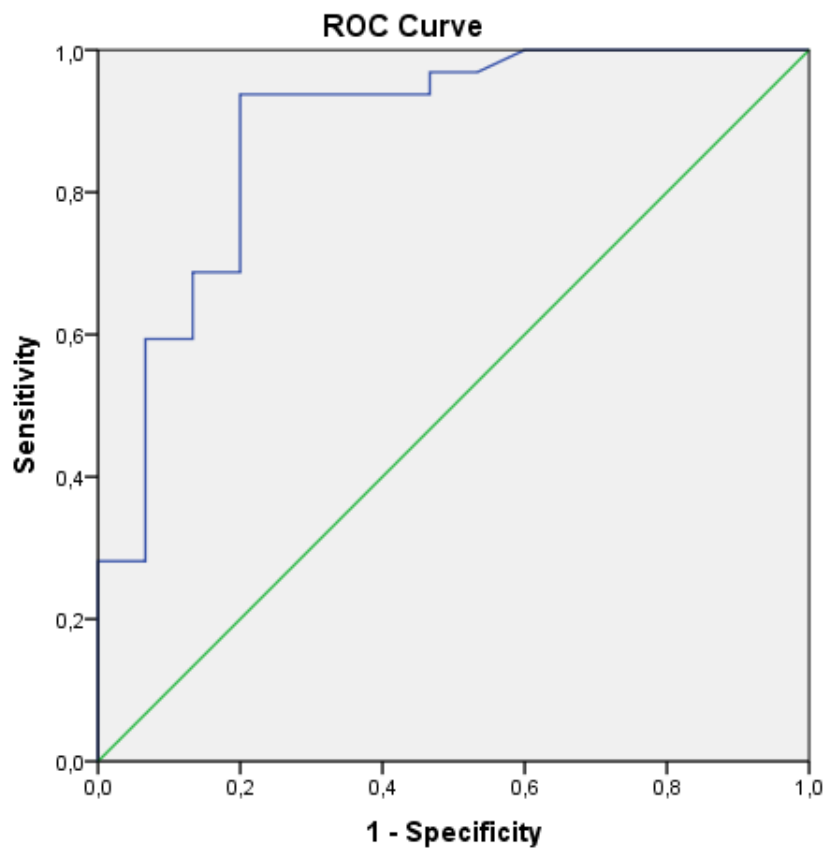
Tableau -8- : les performances diagnostiques du QTF-plus (seuil de positivité, aire sous la courbe, sensibilité et spécificité)

| Test Dc | Seuil positivité optimal | Aire sous la courbe | Sensibilité (Se) | Spécificité (Sp) |
|--------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|------------------|
| TB1 | 0.31 UI/ml | 88.4% | 93.8% | 80% |
| TB2 | 0.54 UI/ml | 90.9% | 96.9% | 80% |
| Sup TB1 TB2 ^a | 0.54UI/ml | 90.4% | 96.9% | 80% |
| TB2-TB1 ^b | 0.08 UI/ml | 62% | 53.1% | 73.3% |

^a: La valeur la plus élevé entre TB1 /TB2

^b: Résultat de la différence entre TB2-TB1

- On remarque que la valeur de TB2 constitue le test le plus pertinent avec un aire sous la courbe de 90.9%, une Se à 96.9% et une Sp à 80%
- Le seuil de positivité de TB1 est proche de celui du fabricant (0.31 UI/mL vs 0.35UI/mL) alors que le seuil optimal de TB2 s'avère plus élevé (0.54UI/mL)
- Sur la courbe Roc de Sup TB1 TB2, en considérant une valeur seuil de positivité à 0.11 UI/ml, la sensibilité du test s'élève à 100% => tous les patients dont la valeur la plus élevé de TB1 et TB2 est inférieur a 0.11 UI/ml n'ont pas de tuberculose.
- Sur la courbe Roc de TB2-TB1, en considérant une valeur seuil de positivité à 0.485 UI/ml, la spécificité du test s'élève a 100% => tous les patients ayant un taux TB2-TB1 supérieur à 0.485 UI/ml sont des tuberculeux

TB1

Aire sous la courbe= 88,4%

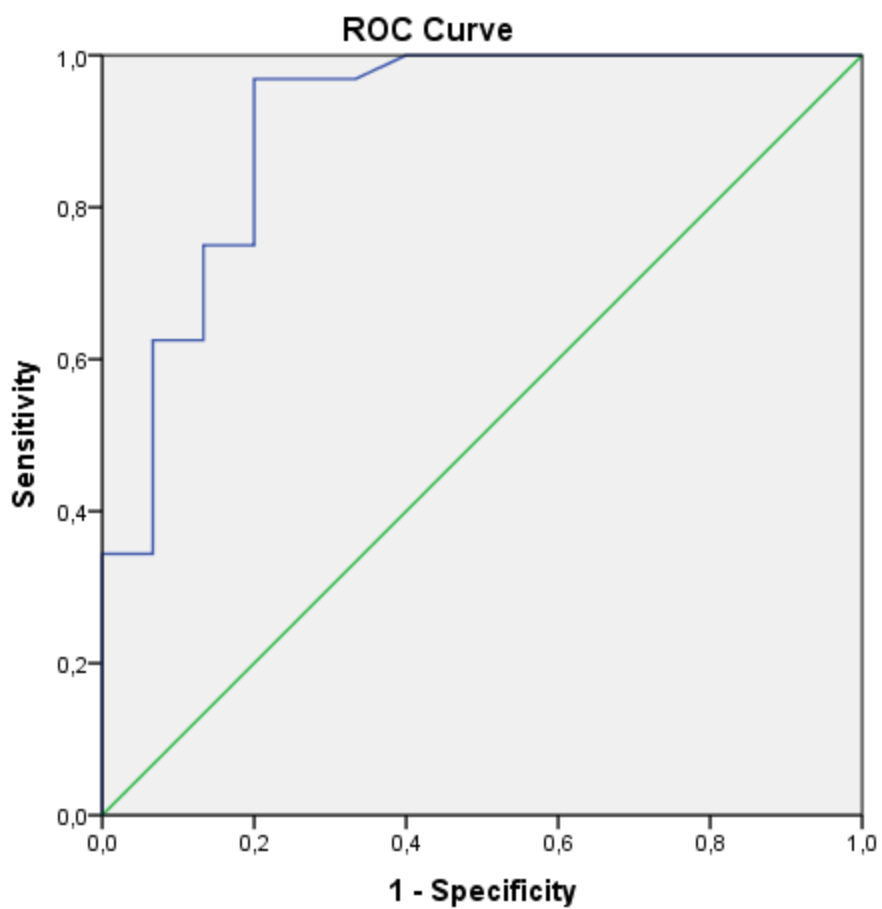
Figure -5- courbe de ROC pour TB1

TB1**Tableau -9- le seuil de positivité optimal TB1**

Test Result Variable(s): TB1Nul

| Positive if Greater Than or Equal To ^a | Sensitivity | 1 - Specificity |
|---|-------------|-----------------|
| -1,4900 | 1,000 | 1,000 |
| -,3300 | 1,000 | ,933 |
| -,1450 | 1,000 | ,867 |
| -,0850 | 1,000 | ,800 |
| -,0300 | 1,000 | ,733 |
| -,0050 | 1,000 | ,600 |
| ,0050 | ,969 | ,533 |
| ,0150 | ,969 | ,467 |
| ,0300 | ,938 | ,467 |
| ,0550 | ,938 | ,400 |
| ,1600 | ,938 | ,333 |
| ,2550 | ,938 | ,267 |
| ,3100 | ,938 | ,200 |
| ,4050 | ,906 | ,200 |
| ,4600 | ,875 | ,200 |
| ,4900 | ,844 | ,200 |
| ,5250 | ,813 | ,200 |
| ,5950 | ,781 | ,200 |
| ,6850 | ,750 | ,200 |
| ,9700 | ,688 | ,200 |
| 1,2800 | ,688 | ,133 |
| 1,5550 | ,656 | ,133 |
| 1,8550 | ,625 | ,133 |
| 2,0050 | ,594 | ,133 |
| 2,4450 | ,594 | ,067 |
| 2,8550 | ,531 | ,067 |
| 3,0500 | ,500 | ,067 |
| 3,2400 | ,469 | ,067 |
| 3,4500 | ,438 | ,067 |
| 3,7750 | ,406 | ,067 |
| 4,1900 | ,375 | ,067 |
| 5,8150 | ,344 | ,067 |
| 2,8550 | ,531 | ,067 |
| 3,0500 | ,500 | ,067 |
| 3,2400 | ,469 | ,067 |
| 3,4500 | ,438 | ,067 |
| 3,7750 | ,406 | ,067 |
| 4,1900 | ,375 | ,067 |
| 5,8150 | ,344 | ,067 |
| 7,4900 | ,313 | ,067 |
| 8,1400 | ,281 | ,067 |
| 9,2350 | ,281 | ,000 |
| 11,0000 | ,000 | ,000 |

Seuil positivité**optimal = 0,31 UI/ml****Se = 0,938 = 93,8%****1-Sp = 0,2****Sp = 0,8 = 80 %****Seuil positivité = 0,31 UI/ml****Se = 93,8%****Sp = 80%**

TB2

Aire sous la courbe= 90,9 %

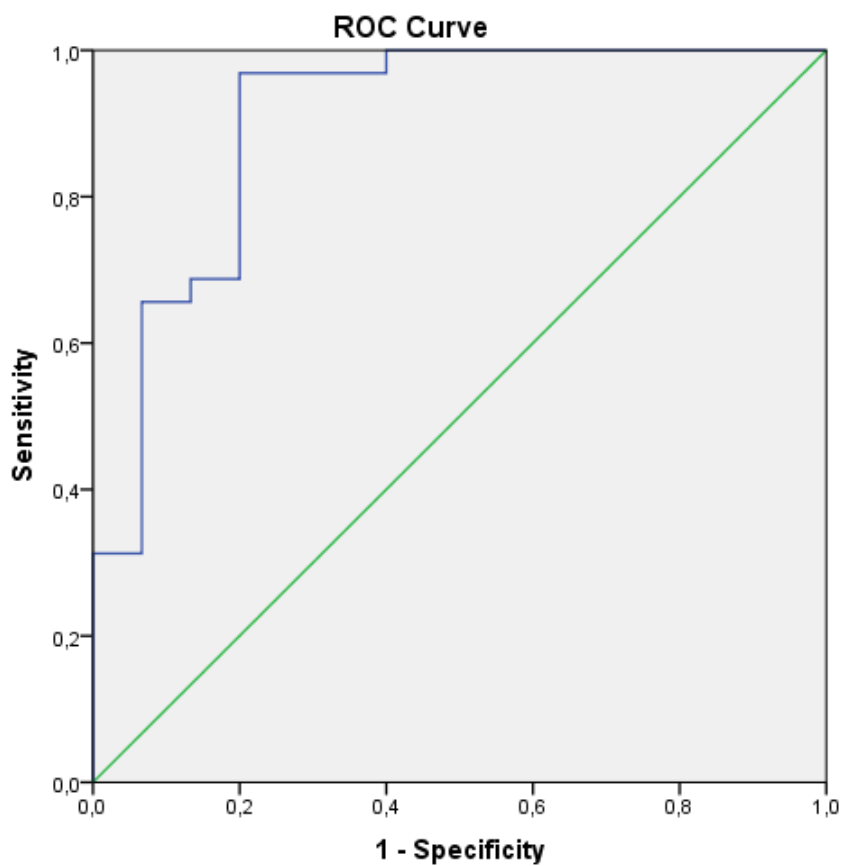
Figure -6- courbe de ROC pour TB2

TB2**Tableau -10- le seuil de positivité optimal TB2**

Test Result Variable(s): TB2Nul

| Positive if Greater Than or Equal To ^a | Sensitivity | 1 - Specificity |
|---|-------------|-----------------|
| -1,2100 | 1,000 | 1,000 |
| -,1600 | 1,000 | ,933 |
| -,0550 | 1,000 | ,867 |
| ,0100 | 1,000 | ,600 |
| ,0400 | 1,000 | ,533 |
| ,0800 | 1,000 | ,467 |
| ,1100 | 1,000 | ,400 |
| ,1300 | ,969 | ,333 |
| ,3250 | ,969 | ,267 |
| ,5400 | ,969 | ,200 |
| ,5950 | ,938 | ,200 |
| ,6450 | ,875 | ,200 |
| ,7150 | ,844 | ,200 |
| ,8100 | ,813 | ,200 |
| ,8750 | ,781 | ,200 |
| ,9500 | ,750 | ,200 |
| 1,0500 | ,750 | ,133 |
| 1,1650 | ,688 | ,133 |
| 1,4550 | ,656 | ,133 |
| 1,7150 | ,625 | ,133 |
| 2,0800 | ,625 | ,067 |
| 2,4400 | ,594 | ,067 |
| 2,5100 | ,563 | ,067 |
| 2,6100 | ,531 | ,067 |
| 3,4650 | ,500 | ,067 |
| 4,2900 | ,469 | ,067 |
| 4,3350 | ,438 | ,067 |
| 4,6050 | ,406 | ,067 |
| 5,1500 | ,375 | ,067 |
| 5,4850 | ,344 | ,067 |
| 6,3550 | ,344 | ,000 |
| 8,5850 | ,313 | ,000 |
| 11,0000 | ,000 | ,000 |

Seuil positivité**optimal = 0,54 UI/ml****Se = 0,969= 96,9%****1-Sp = 0,2****Sp =0,8 = 80 %****Seuil positivité optimal = 0,54
UI/ml****Se = 96,9%****Sp = 80%**

Sup TB1TB2

Aire sous la courbe=90,4 %

Figure- 7- courbe de ROC pour SUP TB1 TB2

Sup TB1TB2

Tableau -11- le seuil de positivité optimal SUP TB1 TB2

Test Result Variable(s): SupTB1TB2

| Positive if Greater Than or Equal To ^a | Sensitivity | 1 - Specificity |
|---|-------------|-----------------|
| -1,2100 | 1,000 | 1,000 |
| -,1600 | 1,000 | ,933 |
| -,0550 | 1,000 | ,867 |
| ,0100 | 1,000 | ,800 |
| ,0400 | 1,000 | ,733 |
| ,0800 | 1,000 | ,667 |
| ,1100 | 1,000 | ,600 |
| ,1850 | ,969 | ,533 |
| ,2550 | ,969 | ,467 |
| ,3850 | ,969 | ,400 |
| ,5400 | ,969 | ,333 |
| ,5950 | ,938 | ,267 |
| ,6450 | ,875 | ,200 |
| ,7150 | ,844 | ,200 |
| ,8100 | ,813 | ,200 |
| ,8750 | ,781 | ,200 |
| ,9900 | ,750 | ,200 |
| 1,1550 | ,688 | ,200 |
| 1,2800 | ,688 | ,133 |
| 1,7050 | ,656 | ,133 |
| 2,3050 | ,625 | ,067 |
| 2,6100 | ,594 | ,067 |
| 2,7500 | ,594 | ,067 |
| 3,0150 | ,563 | ,067 |
| 3,2400 | ,531 | ,067 |
| 3,7600 | ,500 | ,067 |
| 4,2900 | ,469 | ,067 |
| 4,3350 | ,438 | ,067 |
| 4,6050 | ,406 | ,067 |
| 5,1500 | ,375 | ,067 |
| 6,3000 | ,344 | ,067 |
| 7,8200 | ,313 | ,067 |
| 9,2350 | ,313 | ,000 |
| 11,0000 | ,000 | ,000 |

Seuil = 0,11 UI/ml

Se = 1 = 100%

1-Sp = 0,4

Sp = 0,6 = 60 %

Seuil optimal = 0,54 UI/ml

Se = 0,969 = 96,9%

1-Sp = 0,2

Sp = 0,8 = 80 %

1-Sp = 0,067

Sp = 0,933 = 93,3 %

Se = 0,656 = 65,6%

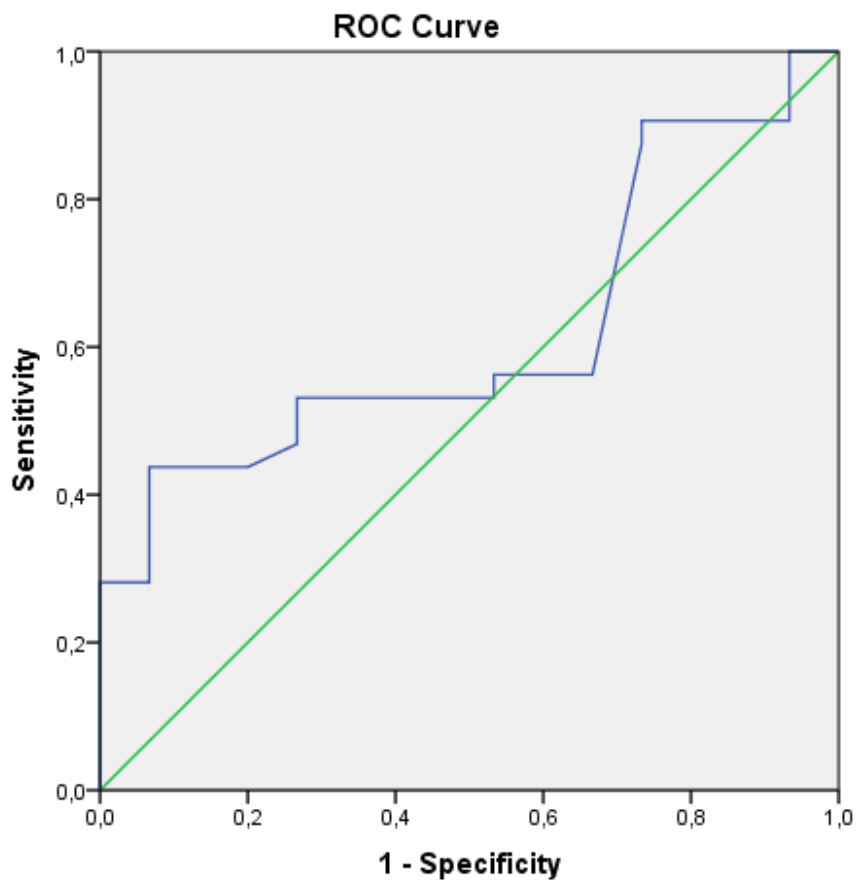
Seuil = 2,3 UI/ml

Seuil positivité optimal = 0,54 UI/ml

Se = 96,9%

Sp = 80%

TB2TB1



Aire sous la courbe = 62 %

Figure -8- courbe de ROC pour TB2-TB1

TB2TB1

Tableau -12- le seuil de positivité optimal TB2-TB1

Test Result Variable(s): TB2TB1

| Positive if Greater Than or Equal To ^a | Sensitivity | 1 - Specificity |
|---|-------------|-----------------|
| -3,9300 | 1,000 | 1,000 |
| -2,2350 | 1,000 | ,933 |
| -1,1650 | ,969 | ,933 |
| -,6050 | ,938 | ,933 |
| -,3650 | ,906 | ,933 |
| -,2600 | ,906 | ,867 |
| -,1700 | ,906 | ,800 |
| -,1150 | ,906 | ,733 |
| -,0500 | ,875 | ,733 |
| ,0050 | ,563 | ,667 |
| ,0150 | ,563 | ,533 |
| ,0250 | ,531 | ,533 |
| ,0400 | ,531 | ,467 |
| ,0550 | ,531 | ,333 |
| ,0800 | ,531 | ,267 |
| ,1050 | ,500 | ,267 |
| ,1150 | ,469 | ,267 |
| ,1450 | ,438 | ,200 |
| ,2250 | ,438 | ,133 |
| ,2850 | ,438 | ,067 |
| ,3050 | ,406 | ,067 |
| ,3450 | ,375 | ,067 |
| ,3900 | ,313 | ,067 |
| ,4250 | ,281 | ,067 |
| ,4850 | ,281 | ,000 |
| ,5750 | ,250 | ,000 |
| ,6650 | ,219 | ,000 |
| ,7250 | ,188 | ,000 |
| ,7500 | ,156 | ,000 |
| 1,0600 | ,125 | ,000 |
| 1,4350 | ,094 | ,000 |
| 1,8500 | ,031 | ,000 |
| 3,1900 | ,000 | ,000 |

Seuil positivité optimal = 0,08 UI/ml

Se = 53,1%

Sp = 73,3%

Seuil = 0,08 UI/ml

Se = 0,531 = 53,1%

1-Sp = 0,267

Sp = 0,733 = 73,3 %

1-Sp = 0

Sp = 1 = 100 %

Se = 0,28 = 65,6%

Seuil = 0,485 UI/ml

4- Validité intrinsèque et extrinsèque

On définit la sensibilité comme étant la probabilité qu'un test soit positif si la maladie est présente, elle se mesure chez les malades seulement.

Une mesure de la sensibilité s'accompagne toujours d'une mesure de la spécificité.

Tandis que pour la spécificité, elle est la probabilité d'obtenir un test négatif chez les non-malades. Cette dernière se mesure chez les non-malades seulement.

Tableau -13-

Tableau-13- : la performance diagnostique du QTF (Sensibilité, Spécificité, VPP et VPN)

| test Dc | Se | | Sp | | VPP | | VPN | |
|--|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------------------|
| | Valeur | IC95% ^c | valeur | IC95% ^c | valeur | IC95% ^c | valeur | IC95% ^c |
| QTF-Plus | 96.88% | 83.7-99.9% | 73.33% | 44.9-92.21% | 88.57% | 76.96-94.73% | 91.67% | 60.94-98.73% |
| TB1 | 93.75% | 79.19-99.23% | 80% | 51.91-95.67% | 90.91% | 78.36-96.51% | 85.71% | 60.5-95.92% |
| TB2 | 96.88% | 83.78-99.92% | 73.33% | 44.90-92.21% | 88.57% | 76.96-94.73% | 91.67% | 60.94-98.73% |
| Sup TB1 TB2 | 96.88% | 83.78-99.92% | 73.33% | 44.90-92.21% | 88.57% | 76.96-94.73% | 91.67% | 60.94-98.73% |
| SupTB1TB2 ^a > 0.11 UI/ml | 100% | 89.11-100% | 60% | 32.29-83.66% | 84.21% | 74.16-90.84% | 100% | ----- |
| TB2-TB1 ^b >0.5UI/ml | 28.12% | 13.75-46.75% | 100% | 78.2-100% | 100% | ----- | 39.47% | 34.43-44.75% |

^a: La valeur la plus élevée entre TB1 /TB2

^b: Résultat de la différence entre TB2-TB1

^c: Intervalle de confiance à 95%

- Dans notre série de malades marocains, la sensibilité du QTF-Plus dans le diagnostic de la tuberculose active est de 96,88%, sa spécificité est de 73,33%, sa VPP est de 88,57% et sa VPN est de 91,67%.
- On remarque une concordance entre la Se, Sp VPP et VPN du TB2 et du Sup TB1 TB2 avec les valeurs du QTF-Plus
- En variant le seuil de positivité on remarque :
 - ✓ En considérant un seuil de positivité de sup TB1 TB2 à 0.11UI/mL on obtient une Se à 100% et une VPN à 100% également.
 - ✓ En considérant un seuil de positivité de TB2-TB1 à 0.5UI/mL, on obtient une Sp à 100% et une VPP à 100% également.
- Ainsi chez un malade suspect de présenter une TB active, sur des arguments cliniques et radiologiques, une valeur de sup TB1 TB2 inférieur à 0.11UI/mL permettrait d'éliminer une tuberculose
- Alors qu'une valeur de TB2-TB1 supérieur à 0.5UI/mL permettrait de consolider le diagnostic

DISCUSSION

A- RAPPEL THEORIQUE

1- EPIDEMIOLOGIE DE LA TUBERCULOSE

a- LA TUBERCULOSE DANS LE MONDE [1]

En 2017, 10,0 millions de personnes ont développé la TB dont 5,8 millions d'hommes, 3,2 millions de femmes et 1,0 million d'enfants.

Des millions de personnes continuent de contracter la tuberculose chaque année. En 2017, la TB aurait causé 1,3 million de décès chez les personnes séronégatives pour le VIH, et 300 000 décès supplémentaires dus à la tuberculose chez les séropositifs.

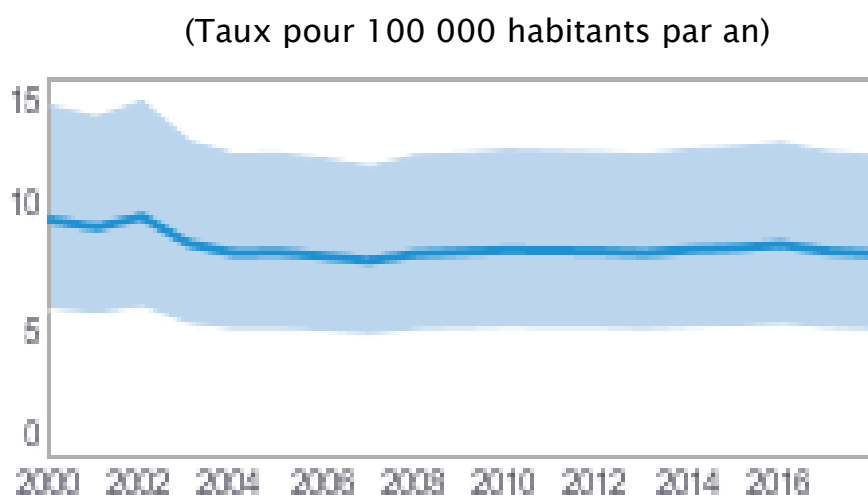
On a recensé des cas dans tous les pays et dans tous les groupes d'âge, mais dans l'ensemble, 90% étaient des adultes (âgés de 15 ans et plus), 9% des personnes porteuses de VIH (72% en Afrique) et les deux tiers ont été répertoriés dans huit pays: Inde (27%), Chine (9%), Indonésie (8%), Philippines (6%), Pakistan (5%), Nigéria (4%), Bangladesh (4%) et Afrique du Sud (3%). Ces pays et les 22 autres figurant sur la liste des 30 pays de l'OMS où la charge de TB est la plus forte représentent 87% des cas dans le monde.

Seuls 3% des cas dans le monde étaient enregistrés dans la Région européenne de l'OMS, ainsi que 3% des cas dans la Région d'Amérique du nord.

La gravité de l'épidémie est très variable selon les pays. En 2017, la plupart des pays à revenu élevé comptaient une incidence moins de 10 nouveaux cas pour 100 000 habitants. Dans la majorité des 30 pays où la charge de la tuberculose est la plus forte, ce chiffre était compris entre 150 et 400, et il s'élevait à plus de 500 dans quelques pays, notamment l'Afrique du Sud, le Mozambique et les Philippines.

b- LA TUBERCULOSE AU MAROC [2,6]

Le Maroc a réalisé des progrès importants dans la lutte anti tuberculeuse : les taux de prévalence de mortalité par tuberculose sont réduits en 2016 par rapport à 2000. **Figure -9-**



Mortalité de la TB

Figure -9- : taux de prévalence de mortalité par tuberculose, 2000-2016, Maroc [2]

En 2017, Selon les dernières du Programme National de Lutte anti tuberculose (PNLAT), 30897 cas de TB toutes formes confondues ont été enregistrés avec une incidence de 88 nouveaux cas par 100000 habitants (vs 103 nouveaux cas en 2016). TB pulmonaire : 52%, TB extra pulmonaire 48% ; avec prédominance masculine M/F :1,5, Quant au nombre de décès dus à la TB est estimé à 2964 décès (vs 3300 en 2016) [6]

2- PHYSIOPATHOLOGIE ET HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION

TUBERCULEUSE

a- BACTERIOLOGIE :

La TB humaine est une maladie infectieuse due principalement à un nombre limité de variant d'une espèce de Mycobactéries regroupées sous l'appellation de «Complexe Mycobacterium tuberculosis» (MTB) :

- M. tuberculosis Hominis qui est la plus importante, connue aussi sous l'appellation de BK pour « Bacille de Koch ». Cette dernière cause la majorité des cas de TB humaine.
- M. bovis prédominante dans les régions d'élevages
- M. africanum située principalement en Afrique

L'homme demeure actuellement le principal réservoir naturel de M. tuberculosis sa croissance est lente ce qui explique la nature chronique de l'affection, la complexité du diagnostique microbiologique et l'intérêt d'un traitement prolongé. [7]

Ces bacilles tuberculeux sont des bacilles aérobies à parois riches en lipides et en cires, se multipliant lentement (20 heures en moyenne). Le poumon offre les conditions idéales de multiplication aux bacilles : température à 37°C, obscurité et richesse en oxygène. Dans le milieu extérieur ces bacilles sont rapidement détruits par les rayonnements ultraviolets (lumière solaire). [8]

b- PHYSIOPATHOLOGIE :

b.1- le mode de contamination [9]

La transmission du bacille de koch se fait essentiellement par voie aérienne interhumaine directe à partir d'un malade atteint de TB pulmonaire, bronchique ou de la sphère orolaryngée. Suite a une toux reflexe ou éternuement, le patient malade émet des particules infectantes appelées gouttelettes de FLUGGE, ces dernières peuvent rester en suspension dans l'air et sont susceptible d'être inhalées par les

sujets contact. Ces gouttelettes contiennent des Bacilles infectant qui persistent jusqu'à 9h après leur émission.

b.2- Histoire naturelle de la TB [9, 10, 11, 12]

Une fois inhalées les bacilles tuberculeux échappent au système muco-épithélial cilié de l'arbre bronchique et se déposent au niveau des espaces alvéolaire pulmonaire distaux, ces particules sont phagocytées par les Macrophages (MØs) alvéolaires et/ou les cellules dendritiques (DCs) agissant comme sentinelles vis-à-vis des agressions extérieures. Les MØs alvéolaires sont hautement permissifs vis-à-vis de *M. tuberculosis*, favorisant sa multiplication. La mort de ces cellules, par nécrose et/ou apoptose, permet à la fois la prise en charge des débris cellulaires par les DCs, et la libération de facteurs solubles (cytokines : interféron gamma (INF- γ), l'interleukine 2 (IL2) et le facteur de nécrose des tumeurs (TNF- α) favorisant le recrutement d'autres cellules comme les monocytes circulants, ainsi que la mise en place d'une réponse inflammatoire. [10]

La réponse inflammatoire à la stimulation antigénique par le BK est principalement médiée par les lymphocytes T CD4 via le CMH de type II mais aussi les lymphocytes T CD8 via le CMH de classe I. Une fois activés, ces lymphocytes permettent la médiation de l'inflammation via plusieurs profils :

- La réponse TH1 qui est induite par l'IL 12, est à l'origine de la production d'INF γ , d'IL 2 et de TNF α . Ces cytokines sont à l'origine de l'activation intracellulaire microbicide des macrophages, ce qui initie et maintient la formation du granulome.
- La réponse TH2 qui est induite par l'IL4, produit l'IL5, l'IL10 et l'IL13 qui sont des cytokines importantes dans la réaction inflammatoire médiée par les anticorps. [12]

Les LT CD8 quant à eux sont activés par la présentation de peptides antigéniques par le CMH de classe I. Les cellules T CD8 produisent des cytokines et expriment des activités cytolytiques spécifiques en formant un manteau externe entourant les granulomes. À l'origine, on pensait que les antigènes exogènes restent dans le compartiment endocytaire et ne peuvent donc être présentés que par la voie du CMH de classe II, alors que les antigènes nouvellement synthétisés ont la possibilité de s'associer aux molécules du CMH de classe I, cependant après plusieurs études, ces antigènes se trouvent capables de pénétrer dans le compartiment cytoplasmique et accéder à la voie de CMH classe I ce qui indique la capacité des LT CD8 à être réactives aux antigènes sauvages et/ou mutantes.

Dans 90 % des cas, la réponse immunitaire de l'organisme prévient la prolifération des mycobactéries et contrôle l'infection en 3 à 9 semaines. Il s'agit d'une TB latente. Toutefois, des BK peuvent persister à l'état quiescent dans les macrophages sous un mode répliatif lent ou non. Une TB peut survenir lors d'une baisse de l'immunité cellulaire ou lors d'une réinfection. Ce risque est majoré aux âges extrêmes de la vie notamment chez les enfants de moins de 5 ans et les sujets de plus de 75 ans. D'autres situations favorisent également le passage à la TB telle la malnutrition, la précarité, l'insuffisance rénale, le diabète mais aussi l'infection par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) où la progression atteint les 10 % dans les pays à forte endémie tuberculeuse.

L'évolution vers la tuberculose maladie survient dans 50 à 80% des cas dans les deux années qui suivent l'infection initiale. Ce risque décroît progressivement par la suite mais semble s'étendre sur toute la vie. [9] **Figure -10-**

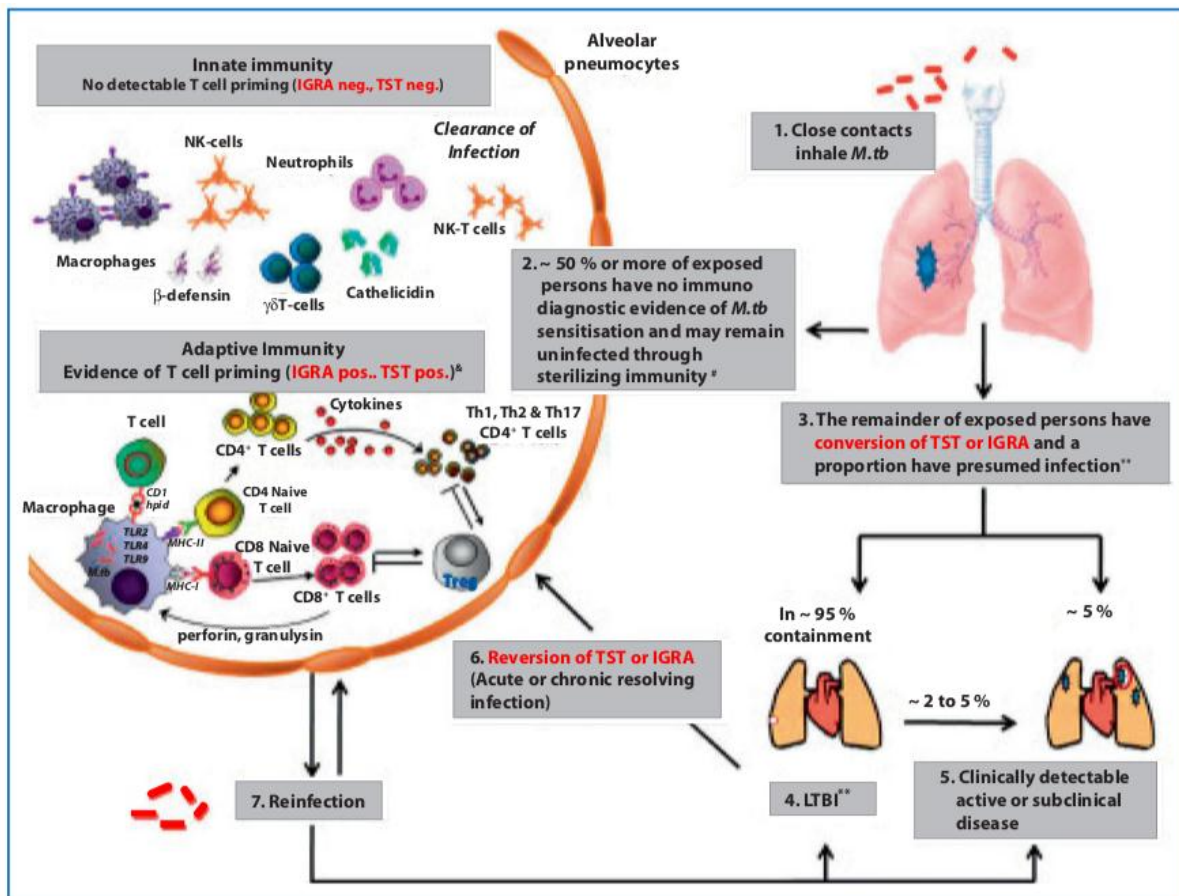


Figure -10- : Immunité antituberculeuse, tuberculose infection, tuberculose maladie et tests de détection de l'infection [11]

3- LE DIAGNOSTIC DE LA TUBERCULOSE MALADIE

a- LA CLINIQUE [7,13]

Le diagnostic de tuberculose pulmonaire est évoqué devant un contexte épidémiologique, en présence de signes généraux, de signes respiratoires associés ou non à des signes extra respiratoire et des lésions radiologiques évocatrices.

Tandis que les localisations extra pulmonaires sont plus difficiles à diagnostiquer du faite de la variété de leur présentation clinique.

a.1– Signes généraux : [13]

Les signes généraux sont marqués par :

- **une fièvre** généralement modérée et à prédominance nocturne. Elle peut prendre un aspect oscillant avec des frissons dans certaines formes sévères.
- **Les sueurs nocturnes** sont très fréquentes, surtout dans les formes évoluées de tuberculose.
- **Une altération de l'état général (AEG)** est observée mais souvent négligées par les patients. L'amaigrissement peut, dans les formes graves, dépasser 10 kg.
- **L'anorexie et l'asthénie**, fréquentes dans la tuberculose évoluée, peuvent être les seuls signes de la maladie.

a.2– Signes cliniques respiratoires : [7]

Les signes respiratoires fonctionnels sont dominés par :

- **La toux** qui devient de plus en plus fréquente au cours des semaines et ne cède pas aux traitements symptomatiques. Elle peut être productive ou non productive.
- **Les hémoptysies** ne surviennent que dans 10 % des cas, mais inquiètent le malade et orientent rapidement vers le diagnostic.
- **La dyspnée** traduit une forme évoluée de la maladie.
- **Les douleurs thoraciques** sont peu fréquentes.

Là encore, la persistance de ces signes plus de 3 semaines avec ou sans traitement symptomatique doit orienter vers le diagnostic et conduire à prescrire une radiographie.

Quant à l'examen clinique du thorax, il reste remarquablement négatif, contrastant avec l'importance des signes cliniques et radiologiques

a.3– Signes cliniques extra respiratoires : [7]

Un examen clinique approfondi est parfois nécessaire, à la recherche de localisations extra pulmonaires. Ces signes sont très nombreux et dépendent de la localisation de la maladie :

- **Localisation pleurale** : toux sèche, douleur de type pleurale, dyspnée
- **Localisation ganglionnaire** : adénopathies (ADP) indolore, non-inflammatoire, souvent cervicales, évoluant vers la un ramollissement et une fistulisation
- **Localisation rachidienne** : début insidieux, douleurs rachidiennes a début mécanique puis inflammatoire, souvent dorsale, associée a un déficit neurologique
- **Localisation ostéo–arthrite** : arthrite subaigüe s'aggravant progressivement typiquement mono–articulaire au niveau des grosses articulations
- **Localisation méningo–encéphalique** : syndrome méningé, obnubilation et déficit focal
- **Localisation uro–génitale** : prédominance masculine, atteinte urinaire et génitale souvent simultané
- **Localisation péritonéale** : évolution insidieuse d'une ascite fébrile avec AEG
- **Localisation gastro–intestinale** : douleurs abdominales, anorexie, vomissements, troubles de transit, siège souvent au niveau iléo–caecale ne sont pas spécifiques.
- **Localisation péricardique** : douleur rétro sternale fébrile avec dyspnée
- **Localisation oculaire** : non spécifique, souvent uvéite granulomateuse, ou tuberculomes choroïdien
- **Autres** : en fonction de l'atteinte tuberculeuse

b- EXAMENS PARACLINIQUE [9,14]**b.1- Imagerie :**

L'imagerie radiologique est demandé en fonction de la localisation ou de l'organe suspecté d'être atteint de tuberculose.

Elle comportera généralement une radiographie standard ou une tomodensitométrie pour les formes endothoraciques, abdominales ou ostéo articulaires ou une échographie cardiaque pour sa forme péricardique.

b.2- Bactériologie : [9, 26, 27, 28]**b.2.1- Examen direct**

La confirmation de la tuberculose est toujours bactériologique.

Classiquement, elle se fait par la mise en évidence de bacilles acido-alcoolorésistants (BAAR) à l'examen microscopique et par l'identification des bacilles tuberculeux après leur mise en culture sur des milieux spécifiques. La microscopie classique optique après coloration au Ziehl-Neelsen ou à l'auramine (microscopie à fluorescence) est une technique rapide, peu couteuse et assez spécifique dans les régions de haute incidence. Leur sensibilité par rapport à la culture peut varier de 50 à 80% [26]. **Figure-20-**

b.2.2- Culture :

La culture reste l'essence du diagnostic de tuberculose. Celle réalisée sur milieu solide de lowenstein Jensen est lente (3 à 8 semaines) **Figure-21-**. L'utilisation de systèmes de cultures sur milieux liquides permet de réduire le temps de détection à 10 jours et de tester plus rapidement la sensibilité aux antituberculeux.

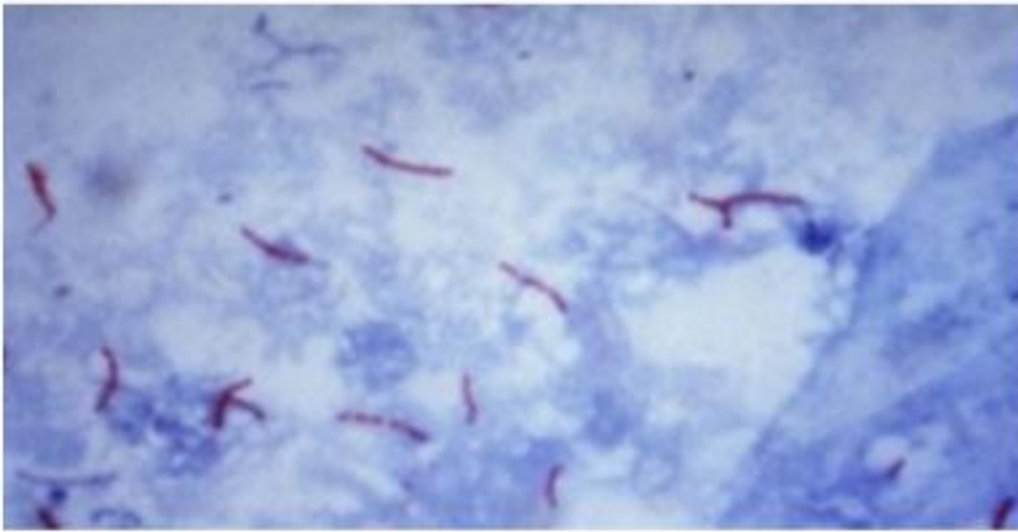


Figure -11- BK au microscope optique sous forme de bâtonnets rouges [28]

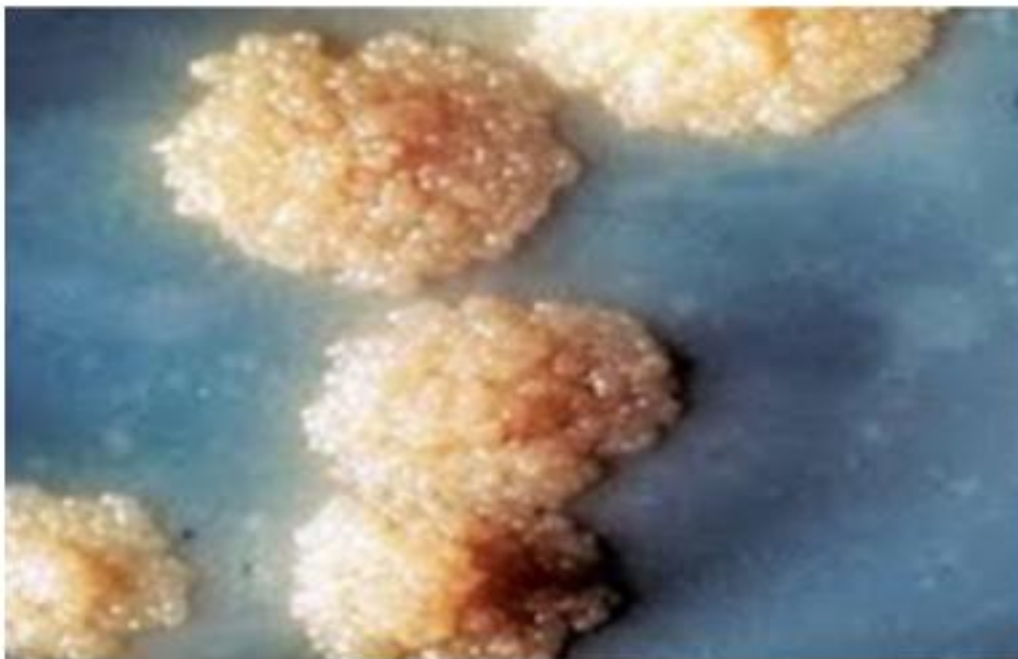


Figure -12- colonies jaunes rugueuses de Mycobacterium tuberculosis en culture sur milieu solide [28]

b.3– histologie : [28]

Les biopsies sous fibroscopie, cœlioscopie, coloscopie, ou laparotomie, intéressent plusieurs sites tels que muqueuse bronchique, plèvre, foie, ganglion, péritoine, iléon.

- **L'aspect macroscopique** peut être évocateur du diagnostic comme c'est le cas des granulations, des adhérences...
- **L'étude microscopique** de ces prélèvements va soutenir le diagnostic en mettant en évidence le granulome épithélioïde et giganto-cellulaire avec nécrose caséuse d'autant plus spécifique de la tuberculose mais reste non pathognomonique.

b.4– Biologie standard [9]

La numération formule sanguine et les analyses biochimiques de routine sont souvent normales au cours de la tuberculose pulmonaire. La protéine-C-réactive (CRP) est élevée chez 85 % des patients. Dans les formes évoluées de la maladie, une anémie normocytaire, une hyperleucocytose ou une monocytose sont observées. L'hyponatrémie secondaire à un syndrome de sécrétion inappropriée de l'hormone antidiurétique ou à une insuffisance surrénalienne peut être observée. Une hypoglobulinémie avec hypergammaglobulinémie peuvent survenir plus tardivement. Une leucocyturie aseptique à l'ECBU doit faire pratiquer une recherche de BK dans les urines.

b.5– Test Immunologiques

b.5.1– L'INTRADERMO-REACTION (IDR) [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]

L'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine, mise au point par Mantoux en 1910, est le plus vieux test diagnostique encore utilisé à ce jour. Elle explore l'hypersensibilité retardée induite par un premier contact avec *M. tuberculosis*. Mise au point il y a plus de cent ans, elle utilise désormais un extrait antigénique ou dérivé

protéique purifié (PPD), obtenu à partir de souches de *M. tuberculosis* tuées par la chaleur. Ce dernier est constitué de plus de 200 protéines plus ou moins dénaturées. Dans les années cinquante, l'OMS a standardisé la production et l'utilisation de la tuberculine : un test cutané se définit par le nombre d'unités (TU) injectées (5 TU correspondant à 0,0001 mg de PPD-S).

Les professionnels de santé doivent maîtriser parfaitement la réalisation de l'IDR pour en assurer la reproductibilité : injection rigoureusement intradermique, exsanguine, sur la face antérieure de l'avant-bras de 0,1 mL de tuberculine pendant la première consultation médicale. Cela fait apparaître une papule par soulèvement du derme. La tuberculine entraîne une libération locale de plusieurs lymphokines qui donnent en 72 H une infiltration localisée de la peau. [15] **Figure -13,14-**

Mais son indisponibilité sur le marché marocain fait qu'elle soit de moins en moins utilisée.

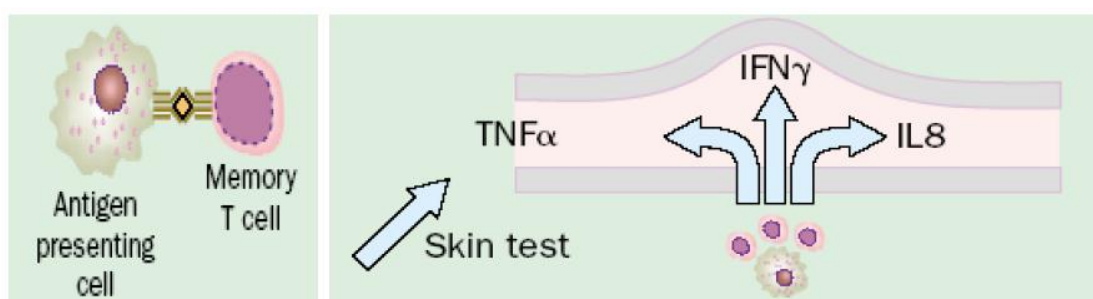


Figure -13- : Réaction d'hypersensibilité retardée à la tuberculine [16]



Figure -14- : Réalisation du test IDR

La lecture et l'interprétation du résultat de l'IDR nécessite une deuxième consultation à 72H d'intervalle, et dépend de plusieurs facteurs **figure -15-**, Les plus importants sont la vaccination par le BCG, la prévalence de l'infection tuberculeuse dans la population concernée et l'âge du sujet [17]. Le diamètre de l'induration est à mesurer transversalement par rapport au sens de l'injection, non pas l'érythème. **figure-16-**

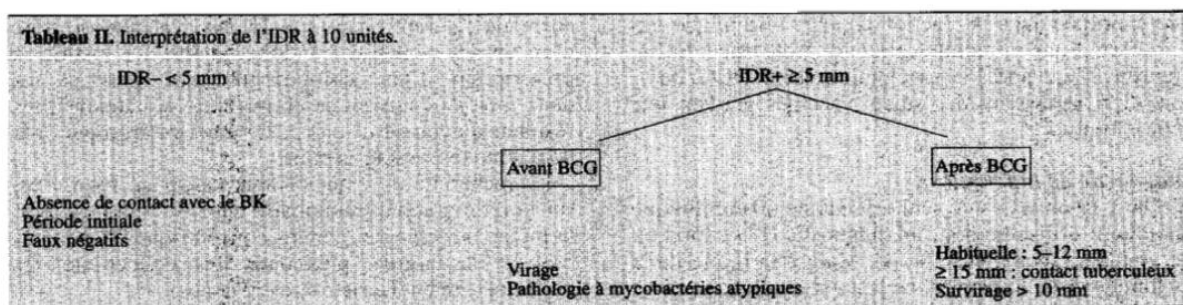


Figure-15- interprétation de l'IDR [18]

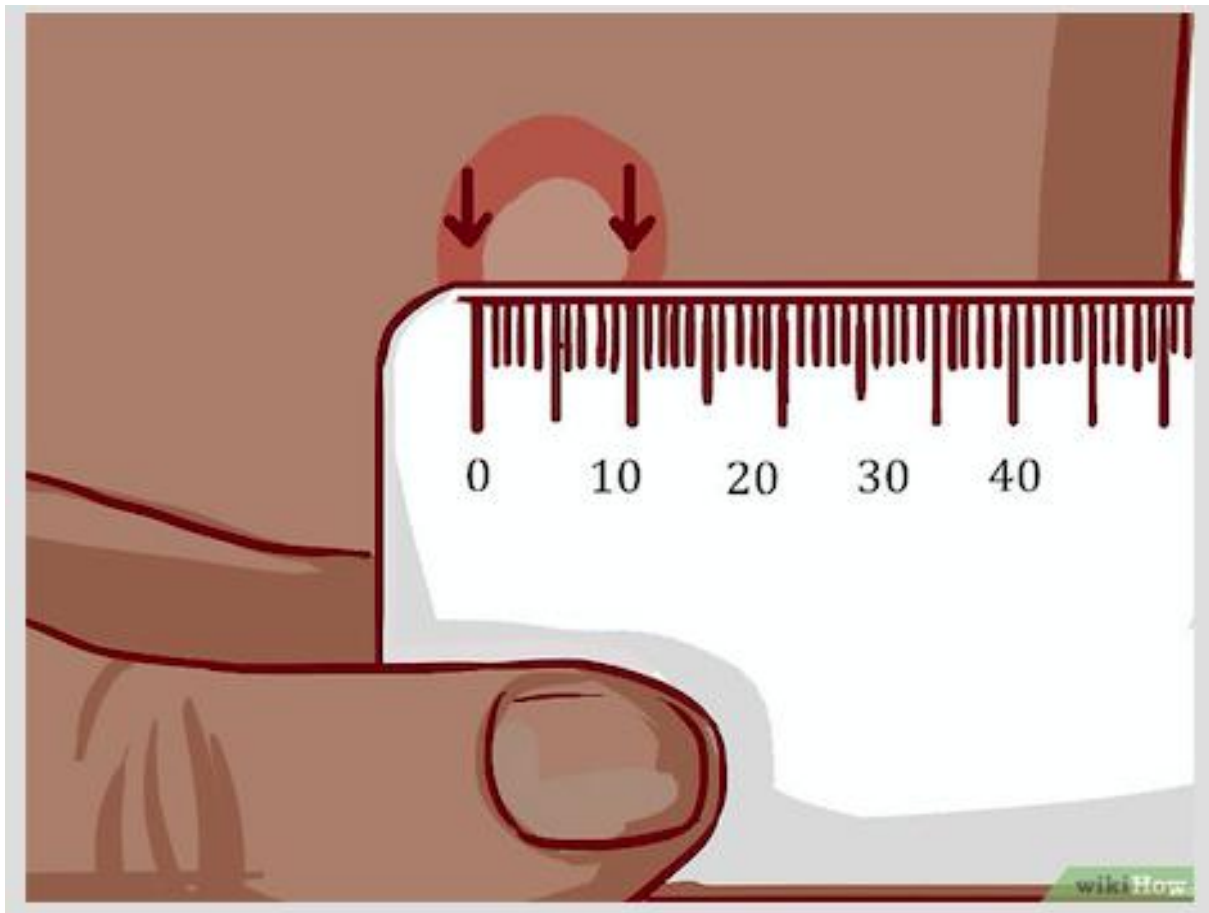


Figure -16- technique de lecture [19]

Les principaux avantages de l'IDR sont son coût modique et l'apparente simplicité de sa réalisation qui ne nécessite pas d'infrastructure lourde. [20]

Par contre ses désavantages sont nombreux :

- Réaction croisée avec le bacille BCG conduisant à des faux positifs et expliquant la stimulation observée après des IDR rapprochées « effet booster » ;
- Réactions croisées avec les mycobactéries atypiques de l'environnement conduisant à des faux positifs ;
- Lecture subjective, opérateur dépendante ;
- Fausse négativité par anergie post infectieuse virale ou post vaccinale (lymphomes, VIH) ;

- Fausse négativité ou faible réponse en cas d'immunosuppression, chez des sujets à fort potentiel évolutif vers une tuberculose maladie ;
- Absence de consensus sur les doses utilisées de tuberculine (5 TU ou 10 TU) ayant un impact sur le diamètre d'induration ;
- Nécessité de deux visites, l'une pour réaliser le test, l'autre pour sa lecture : on estime à environ 30% les patients non compliants qui ne se présentent pas pour la lecture [21]

b.5.2- LES TESTS DE LIBERATION DE L'INTERFERON GAMMA (IGRA) [5, 22, 23, 24]

Les tests de libération d'interféron INF- γ (IGRA) sont des tests immunitaires in vitro qui ont été introduits ces dernières années en tant qu'alternative au IDR. Les IGRA reposent sur la détection d'une réponse immunitaire des cellules T vis-à-vis des antigènes spécifiques du complexe M. tuberculosis (early secretory antigenic target (ESAT-6), protéine de filtration en culture (CFP-10) et/ou TB7.7) absentes de toutes les souches de BCG et de la plupart des mycobactéries autres que la tuberculose à l'exception de M. kansasii, M. szulgai et M. marinum. Depuis les années 2000, il existe sur le marché trois tests commerciaux approuvés

- Le test **QuantiFERON[®] -TB Gold Plus (QFT[®] -Plus)** qui est la 4^{ème} génération des tests QuantiFERON (Cellestis Limited, Canergie, Australia)
- Le test **T-SPOT.TB[®] (TSpot)** (Oxford Immunotech, Oxford, UK).
- Le test **LIOFeron[®] TB/ITL (Lionex[®])** nouveau test lancé en 2019

b.5.2.1– QuantiFERON[®] –TB Gold Plus [5, 22]

- Principe : [5]

Le QuantiFERON–TB Gold Plus (QTF–Plus) est un test qui mesure les réponses immunitaires à médiation cellulaire (CMI) aux antigènes peptidiques simulant les protéines mycobactériennes (ESAT–6 et CFP–10). Les individus infectés par des organismes du complexe *M. tuberculosis* ont généralement dans leur sang des lymphocytes qui reconnaissent ces antigènes mycobactériens et d'autres. Ce processus de reconnaissance implique la génération et la sécrétion de la cytokine, IFN– γ .

La détection et la quantification ultérieure de l'IFN– γ constituent la base de ce test.

Jusqu'à présent, seules les cellules CD4 ont été testées par les IGRAs. Le nouveau test QTF–Plus porte maintenant non seulement sur la réponse a CD4, mais également sur la réponse à CD8 sous prétexte que ces cellules ne sont activées et ne secrètent l'IFN– γ qu'en présence d'une infection récente ou d'une maladie active.

Figure –15–




| 1 st generation QuantiFERON®-TB | 2 nd generation QuantiFERON®-TB Gold (liquid antigen) | 3 rd generation QuantiFERON®-TB Gold (QFT® in tube) | 4 th generation QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) |
|--|---|---|--|
| 2001: FDA approval | 2004: FDA approval | 2007: FDA approval | Q4 2014: CE-IVD 2017: FDA approved |
| <ul style="list-style-type: none"> Measured cell-mediated immunity to tuberculin purified protein derivative (PPD) Breakthrough: TST becomes a blood test | <ul style="list-style-type: none"> "Liquid antigen" version Antigens specific for <i>M.tb</i> with 99% specificity Clinical benchmark: No cross reactivity with BCG | <ul style="list-style-type: none"> Logistical advantage – remote incubation Lab benchmark: Scalable and easily automated >1200 peer reviewed publications >30 million tests sold | <ul style="list-style-type: none"> Addition of patented CD8 antigens – potential biomarker of intracellular TB burden New flexible blood draw options |
|  |  |  |  |

Figure -17- différents génération des tests QuantiFERON (Cellestis Limited, Canergie, Australia)

- **Technique : [5]**

- Des échantillons de sang total sont prélevés dans 4 tubes spéciaux :
 - L'un contient le mitogène, et sert de témoin positif.
 - L'un ne contient pas d'antigène, et sert de témoin négatif.
 - L'un contient les antigènes spécifiques de Mtb à peptides longues (ESAT-6, CFP-10, TB7.7) pour stimulation CD4.
 - Le dernier contient les antigènes spécifiques de Mtb à peptides longues (ESAT-6, CFP-10, TB7.7) plus 6 autres peptides courtes pour stimulation des lymphocytes CD4 et CD8.
- Les tubes sont agités pour mélanger l'antigène au sang.
- Une incubation des tubes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pour obtenir du plasma. Elle doit être réalisée dans les 16 heures suivant le prélèvement, pour une durée de 16 à 24 heures.

- Une centrifugation des tubes pendant 15 minutes, pour séparer les cellules du plasma.
- Le plasma est déposé sur la plaque ELISA du test pour mesure de l'INF γ par densité optique et un calcul de sa concentration en UI/mL. **Figure -18-**

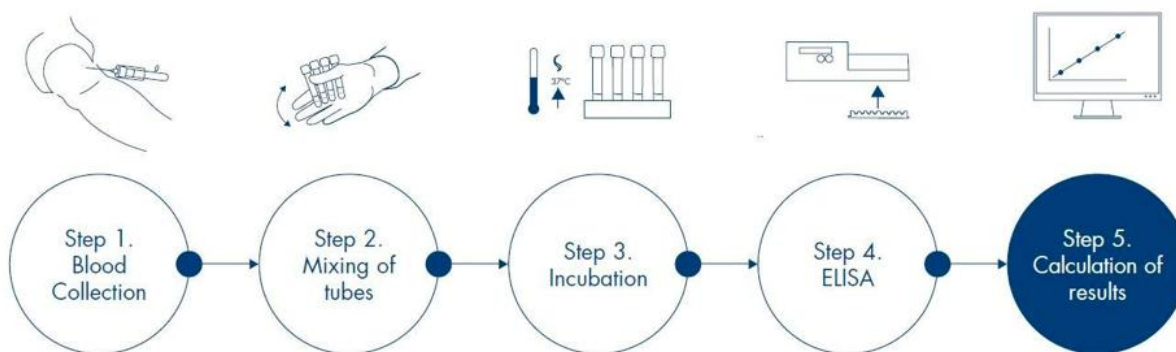


Figure -18- technique de réalisation du QTF-Plus [22]

- **Résultats :** [5]

Le test QTF-Plus est soit positif, négatif ou indéterminé. Le seuil de positivité est fixé par le constructeur à 0,35 UI/mL (TB1-nul et/ou TB2-nul \geq 0,35 UI/mL) **Figure -19-**

| Nil (IU/ml) | TB1 minus Nil (IU/ml) | TB2 minus Nil (IU/ml) | Mitogen minus Nil (IU/ml)* | QTF-Plus Result | Report/interpretation |
|--------------------|---|---|----------------------------|----------------------------|---|
| ≤ 8.0 | ≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil | Any | Any | Positive [†] | <i>M. tuberculosis</i> infection likely |
| | Any | ≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil | | | |
| | < 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil | < 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil | ≥ 0.50 | Negative | <i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely |
| | < 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil | < 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil | < 0.50 | Indeterminate [‡] | Likelihood of <i>M. tuberculosis</i> infection cannot be determined |
| $> 8.0^{\ddagger}$ | Any | | | | |

Figure -19- tableau d'interprétation du résultat du QTF-Plus [5]

- Lorsque le test **QTF est positif**, il s'agit :
 - D'un « vrai positif » qui traduit la présence dans le sang de lymphocytes T mémoires (CD4 et/ou CD8) spécifiques de M. tuberculosis. Si le résultat du TB2 est plus marqué que celle du TB1, elle peut indiquer que l'exposition à la TB est récente ou il s'agit d'un TB maladie
 - D'un « faux positif » qui traduit de rares cas de colonisations ou d'infections par des mycobactéries atypiques partageant les gènes ESAT 6 et CFP10 avec M. tuberculosis. Il s'agit de M. kansasii, M. marinum ou M. szulgai. (Très rare)
- Lorsque le test **QTF est négatif**, il s'agit :
 - D'un « vrai négatif » qui signifie l'absence de contagé par M. tuberculosis.
 - D'un « faux négatif » qui peut être en rapport avec une exposition très ancienne à M.tuberculosis, associée à une diminution de la réponse mémoire effectrice. En raison d'une immunodépression acquise ou modification du répertoire antigénique impliqué dans des réponses mémoires spécifiques.
- Lorsque le test **QTF est indéterminé**
 - Soit le résultat du tube « contrôle nul » est positif. Dans ce cas il s'agit d'une activation in vivo du système immunitaire, induisant une sécrétion spontanée d'INF γ .
 - Soit le résultat du tube « mitogène » qui est négatif. Il s'agit alors d'une incapacité du système immunitaire à développer une réponse lymphocytaire T fonctionnelle.

b.5.2.2– T-SPOT.TB :**• Principes et résultats : [23]**

Le test T-SPOT.TB utilise la méthode ELISPOT (enzyme-linked immunospot) pour énumérer les LT sensibilisés aux antigènes de la tuberculose à la suite d'une exposition aux mycobactéries de la tuberculose. Les LT sensibilisés sont détectés en capturant l'IFN- γ sécrété après une stimulation in vitro avec les antigènes de la tuberculose (ESAT-6, CFP10). L'IFN- γ est capturé par des anticorps spécifiques à la surface d'une membrane et, après l'ajout d'un substrat, est visible sous forme de points. Le nombre de points obtenus représente le nombre de LT sensibilisés dans l'échantillon. Les résultats du test T-SPOT.TB sont signalés comme positifs, négatifs, invalides ou limites, en fonction du nombre de spots produits. Les résultats du T-SPOT.TB sont signalés comme positifs, négatifs, invalides ou limites, en fonction du nombre de spots produits

b.5.2.3– LIOFeron® TB/ITL : [25]

En 2019, Lionex GmbH (Braunschweig, Allemagne) a introduit un nouveau test IGRA appelé LIOFeron1 TB/ITL. Ce test est conçu comme QuantiFERON-TB Gold Plus, comportant 4 tubes (Nul, TB-A, TB-B et Mitogène) mais il diffère fortement car dans LIOFeron1 TB/ITL le premier tube antigène (TB-A) contient comme antigènes ASAT-6, CFP-10 et TB7.7 pleine longueur, et dans le deuxième tube d'antigène (TB-B), un nouveau antigène : ALANINE-DESHYDROGENASE (Ala-DH) recombinant hautement purifié est inclus. Aucun autre antigène ou peptide n'est inclus dans le deuxième tube d'antigène (TB-B).

Ala-DH a une propriété intéressante, c'est qu'il aurait été impliqué dans l'adaptation du BK au stade dormant anaérobie de l'infection tuberculeuse latente, ce test est ainsi conçu pour une sensibilité meilleure au diagnostic de la ITL.

L'interprétation des résultats du test sont représenté au **Tableau -14-**

Tableau -14- interprétation des résultats du LIOFeron1 TB/ITL

| NC Negative Control [IU/mL] | TB A - NC TB antigen A minus Negative Control [IU/mL] | TB B - NC TB antigen B minus Negative Control [IU/mL] | PC - NC Positive control minus Negative Control [IU/mL] | Result |
|--|---|---|---|---------------|
| ≤ 8.00 | < 0.35 | < 0.35 | ≥ 0.50 | Negative |
| | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | | |
| | < 0.35 | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | | |
| | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | < 0.35 | not relevant | Positive |
| | ≥ 0.35 and ≥ 25 % of Negative Control value | not relevant | | |
| | not relevant | ≥ 0.35 and ≥ 25 % of Negative Control value | | |
| | < 0.35 | < 0.35 | < 0.50 | Indeterminate |
| | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | | |
| | < 0.35 | ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | | |
| ≥ 0.35 and < 25 % of Negative Control value | < 0.35 | not relevant | Indeterminate | |
| > 8.00 | not relevant | | | |

b.5.3- COMPARAISON ENTRE L'IDR ET IGRA : [24]

| | ELISpot (T-SPOT-TB) | ELISA (QuantIFERON) | IDR |
|------------------------------|--|--------------------------|-----------------------|
| Antigènes | ESAT-6 et CFP-10 | ESAT-6 et CFP-10 (TB7.7) | PPD |
| Contrôles positif et négatif | Oui | Oui | Non |
| Uniformité de la méthode | Oui (nombre de cellules fixe) | Partielle (volume fixe) | Non |
| Effet « booster » | Non | Non | Oui |
| 2 ^e consultation | Non | Non | Oui |
| Délai de rendu du résultat | 16-20 heures | 16-24 heures | 48-72 h |
| Cellules étudiées | Cellules mononucléées sanguines | Sang total | NA |
| Technologie | ELISpot | ELISA | NA |
| Système de lecture | Lecteur ELISpot | Lecteur Elisa | Diamètre d'induration |
| Unités | Nombre de cellules formant des spots IFN _γ + | UI/mL d'IFN _γ | mm |
| Interprétation | Objective | Objective | Subjective |

CFP-10 : culture filtrate protein 10 ; ELISA : enzyme linked immunosorbent assay ; ELISpot : enzyme linked immunospot ; ESAT-6 : early secretory antigenic target 6 ; IDR : intradermoréaction ; NA : non applicable ; PPD : purified protein derivative.

Figure -20- Comparaison des deux tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés par les antigènes de *M. tuberculosis* avec l'intradermoréaction [24]

Les tests IGRA constituent actuellement une méthode validée pour diagnostic de l'ITL, alors que leur place reste controversée dans le diagnostic de la tuberculose évolutive [24].

b.6– Technique de biologie moléculaire : [9, 26, 27]

b.6.1– Technique d'amplification génique, la Polymérase chain reaction (PCR)

Les techniques de biologie moléculaire notamment la polymérase chaîne réaction (PCR) constituent un progrès récent dans le diagnostic de la tuberculose. La PCR permet de détecter rapidement la présence d'acides nucléiques de bacilles du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et par conséquent pallie la lenteur de la culture.

Leur sensibilité est de 95 à 100 % lorsque l'examen microscopique est positif, et de 50 à 70 % en cas de bacilloscopies négatives. Leur spécificité est en moyenne de 97%. [9]

Un résultat négatif ne peut pas exclure le diagnostic de tuberculose.

Ces techniques de biologie moléculaire offrent la possibilité d'obtenir des résultats beaucoup plus rapides que les méthodes classiques des proportions. Elles constituent un outil intéressant de détection de souches résistantes à la rifampicine, l'isoniazide et aux antibacillaires de deuxième ligne, très bon marqueur de la multirésistance (MDR), ce qui permet d'instaurer précocement un traitement adapté. Cette technique est surtout utilisée dans la TB méningée par PCR du liquide céphalorachidien après ponction lombaire. [27]

Cependant, à l'heure actuelle, ces techniques de biologie moléculaire, rapides et fiables, ne peuvent pas remplacer la culture et ne sont pas encore de pratique courante dans tous les pays. Ainsi, les méthodes bactériologiques classiques restent la référence [26]

b.6.2– Xpert MTB/RIF (Genexpert) [28]

Il s'agit d'une PCR en temps réel automatisée qui détecte la présence du Mtb en même temps que les mutations les plus fréquentes (résistance à la rifampicine) en moins de 2 heures. Sa sensibilité est supérieure à 95 % lorsqu'il s'agit de prélèvements respiratoires ayant un examen direct positif, et varie entre 65 et 77 % en cas d'examen microscopique négatif.

Cela peut s'expliquer par le fait que l'extraction des acides nucléiques se fait automatiquement dans la cartouche, il n'y a ni perte ni contamination par de l'ADN. Sa spécificité est très élevée (97 % à 100 %). Son apport dans le diagnostic de la tuberculose extra pulmonaire est intéressant puisque sa sensibilité est de 77,3 % et sa spécificité est de 98,2 %. Il a été noté une meilleure détection dans les urines et les selles avec une sensibilité qui avoisine les 100 % versus 69 % pour les tissus. Cependant, un examen Genexpert négatif n'exclut pas le diagnostic de tuberculose.

B- APPORT DU QTF-PLUS DANS LA TUBERCULOSE ACTIVE

1- Intérêt de l'étude de la réponse CD8 au cours de la tuberculose active :

Le rôle des lymphocytes T CD4 sécrétant l'IFN- γ est, depuis longtemps, établi comme étant une composante essentielle de la réponse immunitaire protectrice contre M. tuberculose [29-34].

Cependant, l'importance d'autres populations de lymphocytes T dans l'immunité protectrice contre la tuberculose s'est dévoilé plus récemment, mais restant toujours controversé.

Il y a de plus en plus de preuves, suite à des études sur souris infectées et études humaines, qui proposent l'existence d'un rôle majeur des lymphocytes T CD8 + spécifiques dans le contrôle de l'infection par Mtb. Les cellules T CD8+ spécifiques à Ag peuvent sécréter des cytokines, notamment l'IFN- γ , qui activent les mécanismes mycobactéricides des macrophages [35-37,38]

Suite à ces découvertes récentes, La société Qiagen a développé une nouvelle génération du test QFT, QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), avec de nouvelles formulations de peptides ESAT-6 / CFP-10 contenus dans deux tubes, le tube 1 (TB1) et le tube 2 (TB2). TB1 contient des cocktails de peptides synthétiques relativement longs pour stimuler principalement les lymphocytes T CD4 +, tandis que le TB2 contient également de courts cocktails de peptides pour stimuler les lymphocytes T CD4 + et CD8 + [39].

Deux études récentes se sont intéressées à objectiver la réponse des LT CD4 et LT CD8 en contact avec les antigènes des TB1 TB2

- La première faite par Petruccioli et collègues, en 2016, qui rapporte principalement que TB1 a provoqué une réponse des lymphocytes T CD4 tandis que TB2 a induit des réponses CD4 et CD8. [40]

- La deuxième étude réalisée par Allen et collègues, en 2018, ses principaux résultats sont : [41]
 - ✓ l'identification des clones de lymphocytes T CD4 et CD8 spécifiques qui reconnaissent différentes régions couvrant la longueur de la protéine CFP 10 dans Mtb à tester directement dans des tubes QFT-Plus TB1 et TB2, suivis d'une détection d'interféron-gamma par l'ELISA QFT-Plus.
 - ✓ Ces clones ont montré des réponses spécifiques aux différents tubes QFT-Plus, le clone des cellules T CD4 a montré des réponses dose-dépendantes aux tubes TB1 et TB2, tandis que les clones des cellules T CD8 ont montré des réponses spécifiques et ciblées au tube QFT-Plus TB2 par rapport aux tubes QFT-Plus TB1 utilisant le QFT-Plus ELISA.
 - ✓ Ce test a fourni une preuve directe de la spécificité de la réponse médiée par les cellules T CD8 dans les tubes QFT Plus TB2.

a- Fonctions effectrices des lymphocytes T CD8+ (Études murines et études humaines):

Les lymphocytes T CD4+ et CD8+ partagent plusieurs fonctions effectrices qui médie des activités anti mycobactériennes.

➤ Etudes murines :

Tout d'abord, lors de l'activation, les deux types de cellules sécrètent de l'interféron gamma (IFN- γ), Une cytokine puissante qui favorise le contrôle immunologique de l'infection à Mtb. Souris déficientes en IFN- γ sont très sensibles à l'infection par Mtb [42,43].

D'autre part, les souris, chez qui le gène du récepteur de l'IFN- γ est muté, sont sujets à une infection par des mycobactéries atypiques [44].

Sur le plan pathogénie, l'IFN- γ active les macrophages infectés pour neutraliser les bactéries intracellulaires et possède des effets immunomodulateurs supplémentaires spécifique à l'infection par Mtb [45].

➤ Etudes humaines :

Chez l'homme, les CD4⁺ et CD8⁺ libèrent le contenu des granules cytotoxiques lors de l'activation [46–48].

Ces granules contiennent différents cytokines (la Perforine, du Granzyme B et du Granulysin) qui peuvent tous jouer un rôle dans le contrôle des infections intracellulaires. La Perforine établit des pores dans la membrane cytoplasmique, permettant l'entrée du Granzyme B, qui médie l'apoptose des cellules infectées. [49, 50]

Enfin, la Granulysin est une molécule bactériostatique qui inhibe directement la croissance de Mtb [51,52].

Les lymphocytes T CD8 peuvent également produire une variété de cytokines, y compris IFN- γ , IL-17, TNF, IL-10, IL-2 et TGF- β et ceux-ci ont été rapportés dans des études humaines sur la TB [53].

La production d'IFN- γ par les lymphocytes T CD8 est considérée comme un important médiateur de la protection. La production de cytokines pro-inflammatoires est supposée être importante pour activation des cellules qui hébergent le Mtb, en particulier les macrophages. Bien que le mélange de cytokines nécessaire à l'activation des macrophages humains pour maîtriser Mtb soit controversé, la plupart pensent que l'IFN- γ et TNF sont primordiales pour cette fonction. [54]

Par la suite, une hypothèse a été émise par Lewishon et collègues que puisque Les lymphocytes T CD4⁺ reconnaissent toutes les cellules infectées, peut-être que les lymphocytes T CD8⁺ ne peuvent préférentiellement reconnaître que les cellules fortement infectées. Ils ont conclut que les cellules CD8⁺, utilisent préférentiellement la voie d'exocytose granulaire, et reconnaissent les cellules fortement infectées, leurs

données rapportées affirment aussi un rôle essentiel que peut jouer les lymphocytes CD8+ dans la surveillance de la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection par Mtb. [55]

b- Variation de la réponse des lymphocytes T CD8+ entre la tuberculose maladie et la tuberculose latente :

Une infection latente à Mtb se caractérise par la réponse immunitaire cellulaire spécifique de Mtb en l'absence de symptômes cliniques.

Les Réponses des lymphocytes T CD8 + spécifiques de Mtb contre ESAT-6 ou CFP-10 ont été détectés principalement chez les patients atteints de tuberculose active par rapport aux sujets ITL, Cette hypothèse est appuyée par une étude récente réalisé chez des enfants montrant que les lymphocytes T CD8 + spécifiques du MTB détecté chez une tuberculose active, mais pas chez des enfants en bonne santé exposés aux Mtb, malgré le fait que des fréquences similaires les réponses des lymphocytes T CD4 + étaient présentes dans les deux groupes. [56,57]

Des différences phénotypiques et fonctionnelles majeures ont été observées entre les sujets TB et ITL. Les lymphocytes T CD8 + spécifiques de Mtb étaient principalement composés de T_{EMRA} (CD45RA + CCR7 -), co-exprimant 2B4 et CD160 dans ITL et de T_{EM} (CD45RA - CCR7 -), exprimant 2B4 mais dépourvu de PD-1 et CD160 chez les patients tuberculeux. Le profil des cytokines n'était pas significativement différent dans les deux groupes. La prolifération des lymphocytes T CD8 + spécifiques au Mtb était également plus importante chez les patients atteints de TB extra pulmonaire que de TB pulmonaire. [56]

2- performance diagnostique du QTF :

Depuis les années 2000, de nouveaux tests sont créés et développés pour la détection rapide des cas de TB active, et sont en perpétuelle évaluation de leur performance diagnostic à fin de renforcer les programmes de contrôle nationaux de lutte antituberculeuse. Tout cela entre dans le cadre de la réalisation de l'objectif d'éradication de la Tuberculose, les personnes atteintes de tuberculose active doivent être rapidement identifiés et traités pour interrompre la transmission de l'infection au sein d'une population.

Le QTF est une nouvelle méthode immunologique réalisée in vitro à partir de prélèvements veineux périphériques. Il continue depuis leur validation à susciter de l'importance en matière d'évaluation de leurs performances.

Si la place des IGRAs, plus spécifiquement le QTF, dans la détection de l'ITL est définie actuellement [58].

a- Sensibilité (Se) et Spécificité (Sp) du QTF-Plus

- La Se est la proportion de vrais positifs parmi les personnes malades, elle permet d'éliminer les faux négatifs. Alors que la Sp est la proportion de vrais négatifs chez les non-malades et permet d'éliminer les faux positifs.
- Dans notre série on a évalué les performances du Qtf-Plus chez des patients hospitalisés suspect de tuberculose. On a conclu à une **Se de 96.88%** et une **Sp de 73,33%** ce qui garde une place importante dans le diagnostic de la tuberculose maladie.
- L'analyse de la littérature trouve une multitude de travaux qui se lance dans cette évaluation avec de différentes méthodologies de collecte de patients et de localisation tuberculeuse visée. On a retrouvé une Se allant de **85% à 98,9%** et une Sp variant de **84,2 % à 100 %**. Les données des études analysées sont représentées dans le **Tableau-15-**

Tableau-15- : Se et Sp du QTF-Plus rapportés par la littérature et notre étude

| Auteur | Date | Titre | Pays | N | Se | Sp |
|--------------------|------|---|---------------|-----|-----------------------------------|-------|
| D. J. Horn [59] | 2018 | Multicenter study of QuantiFERON W -TB Gold Plus in patients with active tuberculosis | USA-JAPAN | 164 | 93,02% | --- |
| Hoffmann [60] | 2016 | Equal sensitivity of the new generation QuantiFERON-TB Gold plus in direct comparison with the previous test version QuantiFERON-TB Gold IT | Germany | 458 | 89.5% | 84.2% |
| Takasaki [61] | 2017 | Sensitivity and specificity of QuantiFERON-TB Gold Plus compared with QuantiFERON-TB Gold In-Tube and T-SPOT.TB on active tuberculosis in Japan | Japan | 216 | 98,9% | 98,1% |
| Siegle [62] | 2018 | Specificity of QuantiFERON-TB Plus : a new generation Interferon-gamma release assay | USA | 262 | --- | 98,1% |
| Petruccioli [63] | 2018 | Analytical evaluation of QuantiFERON-Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis | Italie | 179 | 90% | 100% |
| Petruccioli [40] | 2016 | First characterization of the CD4 and CD8T-cell responses to QuantiFERON-TB Plus | Italie | 57 | 85% | 100% |
| Lina Yi [65] | 2016 | Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Detection of Mycobacterium tuberculosis infection in Japan | Japon | 374 | 96,2% | 96,7% |
| L. Telisinghe [66] | 2017 | The sensitivity of the QuantiFERONW-TB Gold Plus assay in Zambian adults with active tuberculosis | Zambie | 108 | 83% VIH+ 85% VIH- 80% | --- |
| Notre série | 2019 | Expérience du service de pneumologie a l'hôpital Militaire Moulay Ismail | Maroc, Meknès | 47 | 96,80 | 73,33 |

Deux méta-analyses très récentes réalisées, en 2019, ont permis une décortication de la plus parts des travaux évaluant les deux dernières générations du test QTF en matière de tuberculose maladie. [66, 67]

La première étude méta-analytique mené par Giovanni Sotgiu et al. Elle regroupe un ensemble de 15 autres études sur différents groupe d'échantillons, leurs taille variait selon les catégories testées: de 27 à 164 patients dans le groupe TB active, de 29 à 1031 dans le groupe ITL, et de 10 à 212 dans le groupe donneurs sains. [67]

Ses principaux résultats étaient comme suite :

- ✓ La Se moyenne calculée de QFT-Plus-TB1 pour la tuberculose active était de **91% (IC à 95% = 0,79-0,98)**.
- ✓ La Se moyenne calculée de QFT-Plus-TB2 pour la tuberculose active était de **95 % (IC 95% = 0,88-0,99)**.
- ✓ L'inclusion de peptides au TB2 a augmenté la sensibilité du test QTF sans affecter la spécificité du test.

Lors de la deuxième étude menée par Babak Pourakbari et al. Regroupant 11 articles ont été retenus selon les critères d'inclusion, 2724 personnes ont été recrutées au total. L'âge médian des cas inclus était de 41 ans (35-53 ans). [68]

Sa conclusion regroupe les points suivants :

- la Se moyenne du test Qtf-Plus est **94% (IC 95% = 89%-97%)**,
- la Sp moyenne du test Qtf-Plus est **96% (IC 95% = 94%-98%)**
- Le test QFT-Plus a démontré une sensibilité plus élevée que QFT-GIT chez les personnes âgées. La sensibilité de QFT-GIT diminue avec l'âge, en particulier chez les participants plus âgés (≥ 75 ans)

b- Qtf-Plus peut-il différencier TB active et ITL ?

Dans l'étude de Meng-rui et collègues [69], qui s'est concentré sur la réponse des lymphocytes T CD8 seule mesuré par le QTF-Plus et leur intérêt apporté.

Il s'agit d'une étude prospective, recrutant un ensemble de 336 participants de deux centres en Taiwan (118 contacts non infectés, 105 ITL, 113 TB actives) chez qui le test Qtf-plus et Qtf-GIT ont été réalisés. Ses principaux résultats sont :

- Le taux de concordance entre QFT-GIT et QFT-Plus est élevé (**89,3%**)
- Les réponses quantitatives TB1 et TB2 n'étaient pas différentes entre TB active et ITL.
- Suite au calcul TB2-TB1, les réponses quantitatives à CD8 étaient plus élevées dans la TB active que dans la ITL (TB active vs ITL: **$0,47 \pm 1,53$ UI / ml vs $-0,05 \pm 1,47$ UI / ml**) ($p=0,011$).
- Chez les patients tuberculeux actifs, la réponse CD8 était plus élevée chez les patients confirmés par culture (**$0,63 \pm 1,74$ UI / ml**) que chez les patients confirmés par l'histologie (**$0,07 \pm 0,67$ UI / ml**) et les contacts ITL (**$-0,05 \pm 1,47$ UI / ml**) ($p=0,004$).

Une autre étude menée par Bercellini et collègues chez 119 sujets contact de TB active, calculant la différence entre les deux tubes d'antigène utilisée comme estimation indirecte de l'activation des LT CD8 + spécifique, le résultat principal ressorti est que les valeurs positif de la différence (TB2-TB1 > 0,6UI/ml) étaient significativement associées à un contact rapproché au cas index. [70]

Babak Pourakbari et collègues on conclut aussi dans leur méta-analyse qu'une libération plus élevée d'IFN- γ dans TB2 par rapport à TB1 dans le diagnostic de La tuberculose a été décrite dans la majorité des études incluses. Et qu'une baisse progressive de la libération d'IFN- γ dans TB2 pourrait servir d'outil évaluant l'efficacité du traitement antituberculeux. [68]

Petruccioli et collègues ont démontré également que la réponse CD4 spécifique à TB2 a été détectée à la fois pour la TB active et l'ITL, tandis que la réponse CD8 spécifique à TB2 était principalement associée à la TB active ($p = 0,01$). [40]

3- Facteurs influençant le résultat du Qtf :[71,72]

Dans notre série le groupe ayant un QTF positif a plus de signes respiratoires et une natrémie plus basse avec une différence significative en analyse multivariée. Le groupe avec un QTF négatif est plus âgé, comporte plus d'immunodéprimé, une lymphopénie plus fréquente sans que la différence soit significative.

Des facteurs influençant les résultats du QTF ont été rapporté dans la littérature en se basant sur la version Qtf GIT, l'extrapolation de ces résultats au Qtf Plus doit rester prudente.

- L'équipe de You La Jeon et al ont analysé de façon rétrospective les facteurs influençant les résultats négatives et indéterminé du Qtf GIT chez 168 patients ayant une tuberculose confirmée par la bactériologie. Le groupe ayant des résultats négatifs ou indéterminés était plus âgé, avec un taux de lymphocytes bas, un taux d'albumine diminué et une CRP élevée. [71]
- Kwon YS et al lors d'une étude rétrospective à propos de 1264 cas de tuberculose confirmée bactériologiquement ont évalué les facteurs de faux négatifs en réalisant le Qtf GIT : il s'agit de l'âge avancé, l'atteinte pulmonaire bilatérale, la néoplasie et la lymphopénie qui étaient hautement corrélés aux résultats faux négatifs. [72]
- Ainsi une évaluation du terrain et de la gravité clinique et biologique doit être prise en considération en présence de résultats Qtf négatifs ou indéterminés

4- Recommandations internationales pour l'utilisation du Qtf dans le diagnostic de la tuberculose maladie : [58, 73,74, 75]

La Société de pneumologie en langue française (SPLF) [75] :

- En raison de leur spécificité insuffisante, les tests IGRAs ne peuvent être utilisés pour le diagnostic de TB pulmonaire ou extra pulmonaire de l'adulte
- Les tests IGRAs pourraient être utilisés pour éliminer une TB maladie à condition qu'ils s'intègrent dans une démarche diagnostique où la probabilité de TB est initialement faible.

Le Haut Conseil de la santé publique a été saisi par la Direction générale de la santé afin d'élaborer des recommandations pratiques d'utilisation des tests de détection de la production d'interféron gamma (tests IGRA).

Dans son avis, le HCSP : [73]

- Dans le diagnostic des ITL, en remplacement de l'IDR ;
- Dans le cadre de l'enquête autour d'un cas chez l'adulte (>15ans) ;
- Lors de l'embauche de professionnels de santé, ou des personnes travaillant dans un service considéré à risque pour la tuberculose ;
- Dans l'aide au diagnostic des formes extra pulmonaires de tuberculose maladie ;
- Avant la mise en route d'un traitement par anti TNF- α .

D'autres indications sont mentionnées par la haute autorité de santé (HAS) qui considère que les tests IGRA constituent une modalité diagnostique dans les indications suivantes proposées par la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés CNAMTS : [58]

- chez les « enfants migrants de moins de 15 ans », sous réserve de l'ajout des deux mentions suivantes :
 - ✓ ajouter la provenance des sujets migrants : « enfant migrants de moins de 15 ans en provenance d'une zone de forte endémie tuberculeuse »,

- ✓ préciser que cette utilisation doit faire l'objet d'une discussion clinico-biologique préalable chez les enfants de moins de cinq ans, compte tenu des données limitées à ce jour disponibles concernant l'utilisation des tests IGRA chez ces enfants ;
- chez les patients infectés par le VIH pour le dépistage de l'ITL inclus dans le bilan initial de leur infection ;
- avec possibilité de renouveler un test IGRA afin de contrôler un résultat indéterminé ou négatif obtenu par un premier test IGRA ;
- pour l'aide au diagnostic de tuberculose maladie en cas de forme extra-pulmonaire de TB et de diagnostic difficile chez l'enfant.

Le « canadian tuberculosis committee » [74], quant à lui a rénové ses recommandations en 2014 pour conclure :

- les tests IGRAs ne doivent être utilisés pour le diagnostic de TB active chez l'adulte
- IGRAs associés à IDR à tuberculine peuvent être utilisés pour l'aide au diagnostic de TB active chez l'enfant <18ans.

A noter que toutes ces recommandations se sont basées sur des études utilisant le QTF gold In Tube et pas le Qtf-Plus pour tirer leurs conclusions.

5- proposition de recommandation pour l'utilisation du QTF-Plus dans le diagnostic de la tuberculose maladie au Maroc : [76]

Le guide national de la lutte anti tuberculeux précise que les IGRAs gardent leur place comme argument en faveur de tuberculose probable chez l'enfant et l'adulte en l'absence de confirmation bactériologique [76]

D'après les résultats de notre série qui reste limitée à 47 patients marocains, on peut proposer des recommandations d'utilisation pratique du QTF-Plus dans l'aide

au diagnostic positif de TM : ainsi le taux de QTF-Plus présenterait un argument fort parmi d'autres pour décider du traitement antibacillaire, en présence de signes cliniques, biologiques et radiologiques en faveur de TB active

- **Sup TB1 TB2 < 0,11 UI/ml**: tuberculose peu probable mais il faut évaluer le terrain et la présentation clinique et morphologique avec surveillance médicale.
- **Sup TB1 TB2 entre 0,54–2,3 UI/ml** : réaction positive, tuberculose probable, un traitement antibacillaire est recommandé.
- **Sup TB1 TB2 > 2,3 UI/ml** : réaction fortement positive, tuberculose très probable, un traitement antibacillaire est fortement recommandé.
- **Sup TB1 TB2 > 2,3 UI/ml et TB2–TB1 > 0,5 UI/ml** : diagnostic de la tuberculose maladie est presque certain, le traitement antibacillaire est à démarrer.
- **TB2–TB1 ≥ 0.5 UI/ml** : serait un argument fort en faveur d'une tuberculose évolutive ou un contage tuberculeux récent et rapproché

Par ailleurs on propose d'élargir cette étude à d'autres centres hospitaliers avec recrutement maximal de malades afin d'élaborer des recommandations plus précises et spécifiques à la population marocaine.

CONCLUSION

Au terme de notre étude transverse et de la revue de littérature, la place du QTF-Plus dans le diagnostic de la TB évolutive commence à s'éclaircir mais reste controversée. Ce qui est sûr c'est que les IGRAs ne peuvent à l'heure actuelle confirmer ou éliminer de façon formelle une TB évolutive

Le nouveau QTF-Plus a par contre prouvé sa place parmi les moyens indirects du diagnostic positif en s'appuyant sur d'autres arguments de présomption ainsi que d'utiliser la différence entre les deux tubes d'antigène TB1 et TB2 comme estimation indirecte de la réponse TCD8, suggérant une tuberculose évolutive ou un contage tuberculeux récent.

En conclusion, certains avantages et inconvénients ont été relevés concernant l'intérêt du QTF-Plus dans le diagnostic de la TB maladie :

- **Avantage :**

- Non influencés par le statut vaccinal (BCG)
- Leur sensibilité est supérieure à celle de l'IDR, et elle peut être améliorée par l'association des examens bactériologiques.
- Garde une place importante dans le diagnostic de la TB évolutive, surtout extra pulmonaire, avec une meilleure Se et Sp
- Permettrait, par l'appréciation de la réponse spécifique des Lymphocytes TCD8, d'orienter le clinicien vers une TB évolutive ou un contage récent.

- **Inconvénients :**

- Leur spécificité reste limitée mais peut être améliorée par la variation du seuil de positivité après des études prospectives propres à chaque pays avec étude statistique minutieuse.
- Ne peuvent pas distinguer de façon formelle ITL et TM et doivent être interprétés avec prudence dans les pays d'endémie tuberculeuse.

Notre étude est prometteuse par sa proposition d'un nouveau seuil de positivité du QTF-Plus basé sur une population locale et qui vise à augmenter la spécificité et la sensibilité du test en attendant d'autres études marocaines multicentriques.

RESUME

RESUME :

La tuberculose est une maladie infectieuse à transmission interhumaine liée au bacille de Koch (BK) qui reste toujours un problème de santé publique majeur dans le monde et le Maroc malgré les nombreuses stratégies de lutte antituberculeuse (LAT). Le diagnostic est évoqué devant des données cliniques, biologique et radiologiques, mais la confirmation n'est que bactériologique.

Les techniques mises à la disposition du clinicien ces dix dernières années sont en train de modifier radicalement l'approche diagnostique de la tuberculose. En effet, elles permettent d'améliorer la sensibilité et la rapidité et rendant l'examen plus aisé.

Parmi ces examens existent de nouveaux tests sanguins, aujourd'hui disponibles au Maroc, évaluant la libération d'Interféron Gamma (IFN γ) qui apporte une aide au diagnostic de la tuberculose dans sa forme latente ou active.

Ces tests de libération d'IFN γ sont mis en œuvre par trois tests commerciaux approuvés : Quantiféron-TB Gold, T-SPOT.TB, Lioferon

Le test de Quantiféron-TB Gold (QTF) a bénéficié en 2016 d'une amélioration de ses capacités diagnostic par l'avenue du Quantiféron-TB Gold plus (QTF-plus) comportant deux valeurs TB1 et TB2 qui permettrait en plus de l'orientation vers le diagnostic de tuberculose (TB), de différencier entre TB latente et active, mais aussi de suivre la réponse thérapeutique.

Ce travail a pour objectif d'évaluer la valeur diagnostic du dosage de QTF-Plus (sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative) en matière de Tuberculose maladie, de déterminer un seuil de positivité du QTF, mais aussi de préciser la réponse estimée des lymphocytes T CD8 et sa corrélation avec la tuberculose active permettant sa distinction de la tuberculose latente.

Une étude transversale a été réalisée dans ce cadre, s'étalant sur 2 ans, chez Quarante-sept (47) patients hospitalisés suspects de tuberculose évolutive sont recrutés (29 hommes / 18 femmes), l'âge moyen est de 43,2 ans. Les patients ont été explorés sur les plans clinique, radiologique, biologique bactériologique avec réalisation du QTF-Plus. Une TM probable a été diagnostiquée chez 32 patients (68,1%), alors que 15 malades (31,9 %) ne présentent pas de TM. Le QTF-Plus est positif dans 74,5 % des cas, négatif dans 25,5% et il est revenu indéterminé chez aucun patient. La sensibilité (Se) du QTF-Plus dans notre série est de 96,88 %, sa spécificité (Sp) est de 73,33 %, la valeur prédictive positive est à 88,57 % et la valeur prédictive négative à 91,67 %.

Ainsi selon le résultat de notre série qui reste limité, on peut conclure que :

- Chez un malade suspect de présenter une TB active, sur des arguments cliniques et radiologiques, la valeur la plus élevée de TB1 et TB2 inférieure à 0.11 UI/mL permettrait d'éliminer une tuberculose. (La Se s'élève à 100% et la VPN à 100%)
- Alors qu'une réponse TCD8 estimée par la valeur de TB2-TB1 supérieur à 0.5UI/mL associée à une valeur la plus élevée de TB1 et TB2 supérieure à 2,3UI/mL permettrait de consolider le diagnostic de TB évolutive.

Mots clés : Tuberculose (maladie, latente) ; test de libération de l'Interféron gamma; Quantiferon plus.

ABSTRAT :

Tuberculosis is an infectious disease with human-to-human transmission linked to Koch's bacillus (BK), which still remains a major public health problem in the world and in Morocco despite the numerous tuberculosis control strategies (LAT). The diagnosis is evoked in front of clinical, biological and radiological data, but the confirmation is only bacteriological.

The techniques available to the clinician over the past decade are radically changing the diagnostic approach to tuberculosis. Indeed, they improve sensitivity, speed and make the examination easier.

These IFN γ release tests are implemented by three approved commercial tests: Quantiféron-TB Gold, T-SPOT.TB, Lioferon

The Quantiféron-TB Gold (QTF) test benefited ,in 2016, an improvement in its diagnostic capabilities by the invention of Quantiféron-TB Gold plus (QTF-plus) comprising two values TB1 and TB2 which would also allow orientation towards the diagnosis of tuberculosis (TB), to differentiate between latent and active TB, but also to monitor the therapeutic response.

The aim of this work is to assess the diagnostic value of the QTF-Plus assay (sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value) in terms of Tuberculosis disease, to determine a threshold for QTF positivity, but also to specify the estimated CD8 T cell response and its correlation with active tuberculosis allowing its distinction from latent tuberculosis.

A cross-sectional study was carried out in this context, spanning 2 years, in forty-seven (47) patients suspected of active tuberculosis are recruited (29 men / 18 women), the average age is 43.2 years. The patients were explored on the clinical, radiological and biological bacteriological levels with the realization of QTF-Plus.

Probable TM was diagnosed in 32 patients (68.1%), while 15 patients (31.9%) did not have TM. QTF-Plus is positive in 74.5% of cases, negative in 25.5% and has returned undetermined in no patient. The sensitivity (Se) of QTF-Plus in our series is 96.88%, its specificity (Sp) is 73.33%, the positive predictive value is 88.57% and the negative predictive value is 91.67%.

Thus according to the result of our series which remains limited, we can conclude that:

- In a patient suspected of having active TB, on clinical and radiological arguments, the highest value of TB1 and TB2 less than 0.11 IU / mL would eliminate tuberculosis. (The Se amounts to 100% and the VPN to 100%)
- While a TCD8 response estimated by the value of TB2-TB1 greater than 0.5 IU / mL associated with a higher value of TB1 and TB2 greater than 2.3 IU / mL would consolidate the diagnosis of active TB.

Keywords: Tuberculosis (disease, latent); gamma interferon release test; Quantiferon Plus.

ملخص:

السل هو مرض معد ينتقل من إنسان إلى آخر إلى عصية كوخ (BK) ، التي لا تزال تمثل مشكلة صحية عامة رئيسية في العالم وفي المغرب على الرغم من العديد من استراتيجيات مكافحة السل (LAT). يتم استحضار التشخيص أمام البيانات السريرية والبيولوجية والإشعاعية ، ولكن التأكيد يكون فقط بكتريولوجي.

التقنيات المتوفرة للطبيب على مدى العقد الماضي تغير جذرياً في النهج التشخيصي لمرض السل. في الواقع ، فهي تحسن الحساسية والسرعة وتجعل الفحص أسهل.

من بين هذه الاختبارات المتوفرة في المغرب، تقييم إصدار إنترفيرون غاما الذي يقدم المساعدة في تشخيص السل بشكله الخفي أو النشط.

يتم تنفيذ اختبارات إطلاق IFN γ هذه من خلال ثلاثة اختبارات تجارية معتمدة: Quantiferon-TB Gold و T-

Lioferon و SPOT.TB

استفاد اختبار فحص الكونتيفيرون في عام 2016 من تحسن في قدراته التشخيصية من خلال اختراع فحص الكونتيفيرون بلاس الذي يشتمل على قيمتين TB1 و TB2 والتي ، بالإضافة إلى التوجه نحو تشخيص السل ، للتمييز بين السل الكامن والنشط ، ولكن أيضاً لمراقبة الاستجابة العلاجية.

الهدف من هذا العمل هو تقييم القيمة التشخيصية لفحص الكونتيفيرون بلاس (QTF-Plus) (الحساسية والنوعية والقيمة التنبؤية الإيجابية والقيمة التنبؤية السلبية) من حيث مرض السل ، لتحديد عتبة إيجابية الكونتيفيرون QTF ، ولكن أيضاً لتحديد تقدير استجابة خلية CD8 T وارتباطها بالسل النشط ، مما يسمح بتمييزها عن مرض السل الكامن.

أجريت دراسة مقطعية في هذا السياق ، امتدت على مدار عامين ، وتم تجنيد سبعة وأربعين (47) مريضاً في المستشفى يشتبه في إصابتهم بالسل النشط (29 رجلاً / 18 امرأة) ، ومتوسط العمر هو 43.2 سنة. تم استكشاف المرضى سريرياً ، وإشعاعياً ، وبيولوجياً ، وبكتريولوجياً مع تحقيق الكونتيفيرون بلاس. تم تشخيص مرض السل المحتمل في 32 مريضاً (68.1 %). في حين أن 15 مريضاً (31.9 %) لم يكن لديهم مرض السل. الكونتيفيرون بلاس إيجابي في 74.5 % من الحالات ، سلبية في 25.5 % ولم يعد محددًا في أي مريض. حساسية الكونتيفيرون بلاس في سلسلتنا هي 96.88 % ، خصوصيته 73.33 % ، القيمة التنبؤية الإيجابية 88.57 % والقيمة التنبؤية السلبية 91.67 %.

وبالتالي وفقاً لنتائج سلسلة ما زالت محدودة، يمكننا أن نستنتج أن:

- في حالة مريض يشتبه في إصابته بمرض السل النشط ، لأسباب سريرية وإشعاعية ، فإن القيمة الأعلى لل TB1 و TB2 التي تقل عن 0.11 وحدة دولية / مل تسمح بإلغاء تشخيص السل. (الحساسية 100 % و القيمة التنبؤية السلبية 100 %)
- في حين أن استجابة TCD8 المقطرة بقيمة TB2-TB1 أكبر من 0.5 وحدة دولية / مل مرتبطة بقيمة أعلى من TB1 و TB2 أكبر من 2.3 وحدة دولية / مل من شأنها أن تعزز تشخيص السل النشط.

الكلمات المفتاحية: مرض السل (مرض ، كامن) ؛ اختبار إطلاق إنترفيرون غاما ؛ الكونتيفيرون بلاس

LISTE DES REFERENCES

- [1] Global tuberculosis report 2018. World health organisation ; 2018
- [2] https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=/WHO_HQ_Reports/G2/PROD/EXT/TBCountryProfile&ISO2=MA&outtype=html&LAN=FR&
consulté le 23/11/2019
- [3] L. Slim-Saidi, E. Mehiri-Zeghal, A. Ghariani, F. Tritar. Nouvelles méthodes de diagnostic de la tuberculose. Revue de Pneumologie Clinique Volume 71, Issues 2-3, April-June 2015, Pages 110-121
- [4] Barcellini L, Borroni E, Brown J, Brunetti E, Codecasa L, Cugnata F, et al. First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. Eur Respir J 2016;47:1587e90.
- [5] <http://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2017/10/QFT-Plus-ELISA-IFU-L1095849-R02.pdf> consulté 11/2019
- [6] Plan stratégique national pour la prévention et le contrôle de la tuberculose au maroc 2018-2021
- [7] KB de pneumologie 2016
- [8] Nadia Ait-khaled, Donald Enarson. Tuberculose manuel pour les étudiants en médecine
- [9] Toujani S, et al. La primo-infection et la tuberculose pulmonaire. Rev Pneumol Clin (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneumo.2015.02.001> consulté le 11/2019
- [10] J. L. Herrmann¹, L. Tailleux², J. Nigou³, B. Giquel², G. Puzo³, P. H. Lagrange¹, O. Neyrolles. Rôle des cellules dendritiques humaines dans la tuberculose : protecteur ou non protecteur ? revue des maladies respiratoires [Volume 23, Issue 3, Supplement 1](#), June 2006, Pages 21-28
- [11] D. Bouvry. Tuberculose ; Revue des Maladies Respiratoires Actualités (2012) 4, 34-37

- [12] Ader F, Epaulard E, Etienne M, Faure K, Lacombe K, Launay O, et al. CMIT. Tuberculose. In E.Pilly: Vivactis Plus Ed; 2012: 338–343.
- [13] Kaufmann, S. H. E. 1993. Immunity to intracellular bacteria. Annu. Rev. Immunol. 11:129.
- [14] Andreu J, Cáceres J, Pallisa E, Martinez-Rodriguez M. Manifestations radiologiques de la tuberculose pulmonaire. EMC-Radiologie 2005 [32– 390–A–20; 12p].
- [15] Berkel GM, Cobelens FG, de Vries G, Draayer-Jansen IW, Borgdorff MW. Tuberculin skin test: estimation of positive and negative predictive values from routine data. Int J Tuberc Lung Dis 2005;9(3):310–6.
- [16] Bergot E. Interprétation et signification d'un test IGRA en pratique quotidienne. 2013. Consultable à l'URL : <http://www.fondation-misericorde.fr> consulté le 11/2019
- [17] C. Olivier, l'intradermoreaction a la tuberculine, ArchPédiatr 2000 ; 7 Suppl : 559–64, 2000 Editions scientifiques et medicales Elsevier SAS.
- [18] tournier G, Clément A. tuberculose. Les éléments du diagnostic: IDR et bactériologie. Flammarion Medecine–science. Journées parisiennes de pédiatrie 1997 : 67–73
- [19] [Comment interpréter le test cutané de dépistage de la tuberculose](https://fr.wikihow.com/interpréter-le-test-cutané-de-dépistage-de-la-tuberculose)<https://fr.wikihow.com/interpréter-le-test-cutané-de-dépistage-de-la-tuberculose> consulté le 23/11/2019
- [20] Madariaga MG, Jalali Z, Swindells S. Clinical utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis. J Am Board Fam Med 2007;20(6):540–7.
- [21] Hansted E, Sitkauskiene B, Kevalas R, Tattersall A, Day T. Research for practice: a new in vitro test for identification of tuberculosis infection. Medicina (Kaunas) 2007;43(7):519–22

- [22] https://www.quantiferon.com/us/products/quantiferon-tb-gold-plus-us/provider-resources/workflow_and_results_providers/ consulté 11/2019
- [23] Rego, K., Pereira, K., MacDougall, J., & Cruikshank, W. (2018). *Utility of the T-SPOT® TB test's borderline category to increase test resolution for results around the cut-off point. Tuberculosis, 108, 178-185.*
- [24] Cécile Beauvillain^a, Pascale Jeannin^a, Gilles Renier^b, Alain Chevailler. Apport des tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses. *Revue Francophone des laboratoires* ; Mars 2009 ; N 410 ; 33-41
- [25] C.Della Bella et al. LIOFeron®TB/LTBI: A novel and reliable test for LTBI and tuberculosis. *Int J Infect Dis.* 2020;91:177-181
- [26] Drancourt M. Point-of-care: the 21st century microbiology. *Clin Microbiol Infect* 2010; 8:1043.
- [27] Brady MF, Coronel J, Gilman RH, Moore DA. The MODS method for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistant tuberculosis. *J Vis Exp* 2008; 11:845.
- [28] Jabri H, et al. Les moyens diagnostiques de la tuberculose. *Rev Pneumol Clin* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneumo.2016.06.003> consulté le 11/2019
- [29] Barnes, P. F., S. Lu, J. S. Abrams, E. Wang, M. Yamamura, and R. L. Modlin. Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Infect. Immun.* 1993. 61:3482.
- [30] Barnes, P. F., J. S. Abrams, S. Lu, P. A. Sieling, T. H. Rea, and R. L. Modlin. Patterns of cytokine production by Mycobacterium tuberculosis-reactive human T-cell clones. *Infect. Immun.* 1993. 61:197.
- [31] Boom, W. H., R. S. Wallis, and K. A. Chervenak. Human Mycobacterium tuberculosis-reactive CD4⁺ T-cell clones: heterogeneity in antigen recognition, cytokine production, and cytotoxicity for mononuclear phagocytes. *Infect. Immun.* 1991. 59:2737.

- [32] Orme, I. M., A. D. Roberts, J. P. Griffen, and J. S. Abrams. Cytokine secretion by CD4 T lymphocytes acquired in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Immunol.* 1993. 151:518.
- [33] Andersen, P., A. B. Andersen, A. L. Sorensen, and S. Nagai. Recall of long-lived immunity to *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J. Immunol.* 1995.154:3359.
- [34] Ravn, P., H. Boesen, B. K. Pedersen, and P. Andersen. Human T cell responses induced by vaccination with *Mycobacterium bovis* BCG. *J. Immunol.* 1997. 158:1949.
- [35] Brighenti, S. and Andersson, J., Induction and regulation of CD8+ cytolytic T cells in human tuberculosis and HIV infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010. 396: 50–57.
- [36] Lalvani, A., Brookes, R., Wilkinson, R. J., Malin, A. S., Pathan, A. A., Andersen, P., Dockrell, H. et al., Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998. 95: 270–275.
- [37] Chen, C. Y., Huang, D., Wang, R. C., Shen, L., Zeng, G., Yao, S., Shen, Y. et al., A critical role for CD8 T cells in a nonhuman primate model of tuberculosis. *PLoS Pathog.* 2009. 5: e1000392.
- [38] Kaufmann, S. H. E. Immunity to intracellular bacteria. *Annu. Rev. Immunol.* 1993. 11:129.
- [39] Lucia, B. et al. First independent evaluation of QuantiFERON–TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 2016. in press: doi:10.1183/13993003.02033–3015
- [40] Petruccioli E, et al., First characterization of the CD4 and CD8 T-cell responses to QuantiFERON–TB Plus, *J Infect* 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2016.09.008>

- [41] Nadia PC, Allena, Gwendolyn Swarbrickb, Meghan Canslerb, Megan Nullb, Hiam Salima ; Characterization of specific CD4 and CD8 T-cell responses in QuantiFERON TB Gold-Plus TB1 and TB2 tubes. *Tuberculosis* 113. 2018. 239-241
- [42] Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR. An essential role for interferon γ in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med* 1993;178:2249-2254.
- [43] Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, Griffin JP, Russell DG, Orme IM. Disseminated tuberculosis in interferon gene-disrupted mice. *J Exp Med* 1993;178:2243-2247.
- [44] Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, Levin M. A mutation in the interferon-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996;335:1941-1949.
- [45] Pearl JE, Saunders B, Ehlers S, Orme IM, Cooper AM. Inflammation and lymphocyte activation during mycobacterial infection in the interferon-deficient mouse. *Cell Immunol* 2001;211:43-50.
- [46] Henkart PA, Williams MS, Zacharchuk CM, Sarin A. Do CTL kill target cells by inducing apoptosis? *Semin Immunol* 1997;9:135-144.
- [47] Lewinsohn DM, Bement TT, Xu J, Lynch DH, Grabstein KH, Reed SG, Alderson MR. Human purified protein derivative-specific CD4 T cells use both CD95-dependent and CD95-independent cytolytic mechanisms. *J Immunol* 1998;160:2374-2379.
- [48] Canaday DH, Wilkinson RJ, Li Q, Harding CV, Silver RF, Boom WH. CD4 + and CD8 + T cells kill intracellular *Mycobacterium tuberculosis* by a perforin and Fas/Fas ligand-independent mechanism. *J Immunol* 2001;167:2734-2742.
- [49] Cooper AM, D'Souza C, Frank AA, Orme IM. The course of *Mycobacterium tuberculosis* infection in the lungs of mice lacking expression of either perforin- or granzyme-mediated cytolytic mechanisms. *Infect Immun* 1997;65:1317-1320.

- [50] Laochumroonvorapong P, Wang J, Liu CC, Ye W, Moreira AL, Elkon KB, Freedman VH, Kaplan G. Perforin, a cytotoxic molecule which mediates cell necrosis, is not required for the early control of mycobacterial infection in mice. *Infect Immun* 1997;65:127-132.
- [51] Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi KR, Froelich CJ, Ganz T, Thoma-Uszynski S, Melian A, Bogdan C, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 1998; 282:121-125.
- [52] Ernst WA, Thoma-Uszynski S, Teitelbaum R, Ko C, Hanson DA, Clayberger C, Krensky AM, Leippe M, Bloom BR, Ganz T, et al. Granulysin, a T cell product, kills bacteria by altering membrane permeability. *J Immunol* 2000;165:7102-7108.
- [53] Silva BD, Trentini MM, da Costa AC, Kipnis A, Junqueira-Kipnis AP. Different phenotypes of CD8⁺ T cells associated with bacterial load in active tuberculosis. *Immunol Lett*. 2014. 160:23-32
- [54] Philana Ling Lin 1 & JoAnne L. Flynn 2,3. CD8 T cells and Mycobacterium tuberculosis infection ; *Semin Immunopathol*. 2015. 37:239-249 DOI 10.1007/s00281-015-0490-8
- [55] Deborah A. Lewinsohn, Amy S. Heinzl, James M. Gardner, Liqing Zhu, Mark R. Alderson, and David M. Lewinsohn. Mycobacterium tuberculosis-specific CD8 + T Cells Preferentially Recognize Heavily Infected Cells ; *J Respir Crit Care Med*. 2003. Vol 168. pp 1346-1352
- [56] Virginie Rozot, Selena Vigano, Jesica Mazza-Stalder, Elita Idrizi, etc ; Mycobacterium tuberculosis-specific CD8 + T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease ; *Eur. J. Immunol*. 2013. 43: 1568-1577 ; 10.1002/eji.201243262

- [57] Lancioni, C., Nyendak, M., Kiguli, S., Zalwango, S., Mori, T., Mayanja-Kizza, H., Balyejusa, S. et al., CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012. 185: 206–212
- [58] HAS ; Tests de détection de production d'interféron gamma pour l'infection tuberculeuse – Argumentaire 2015, www.has-santé.fr
- [59] Horne DJ, Jones BE, Kamada A, Fukushima K, Winthrop KL, Siegel SAR, Kovacs A, Anthony P, Meekin KA, Bhat S, Kerndt P, Chang A, Koelle DM, Narita M. Multicenter study of QuantiFERON®–TB gold plus in patients with active tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2018;22(6):617–21.
- [60] Hoffmann H, Avsar K, Göres R, Mavi S–, Hofmann–Thiel S. Equal sensitivity of the new generation QuantiFERON–TB gold plus in direct comparison with the previous test version QuantiFERON–TB gold IT. *Clin Microbiol Infect* 2016;22(8):701–3.
- [61] Takasaki J, Manabe T, Morino E, Muto Y, Hashimoto M, Iikura M, Izumi S, Sugiyama H, Kudo K. Sensitivity and specificity of QuantiFERON–TB gold plus compared with QuantiFERON–TB gold in–tube and T–SPOT.TB on active tuberculosis in japan. *J Infect Chemother* 2018;24(3):188–92
- [62] Siegel SAR, Cavanaugh M, Ku JH, Kawamura LM, Winthrop KL. Specificity of QuantiFERON–TB plus, a new–generation interferon gamma release assay. *J Clin Microbiol* 2018;56(12).
- [63] Pieterman ED, Liqui Lung FG, Verbon A, Bax HI, Ang CW, Berkhout J, Blaauw G, Brandenburg A, van Burgel ND, Claessen A, van Dijk K, Heron M, Hooghiemstra M, Leussenkamp–Hummelink R, van Lochem E, van Loo IHM, Mulder B, Ott A, Pontesilli O, Reuwer A, Rombouts P, Saegeman V, Scholing M, Vainio S, de Steenwinkel JEM. A multicentre verification study of the QuantiFERON®–TB gold plus assay. *Tuberculosis* 2018;108:136–42.

- [64] Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, Ippolito G, Goletti D. Analytical evaluation of QuantiFERON- plus and QuantiFERON- gold in-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis* 2017;106:38–43.
- [65] Yi L, Sasaki Y, Nagai H, Ishikawa S, Takamori M, Sakashita K, et al. Evaluation of QuantiFERON-TB gold plus for detection of Mycobacterium tuberculosis infection in Japan. *Sci Rep* 2016;6:30617
- [66] L. Telisinghe, M. Amofa-Sekyi, K. Maluzi, D. Kaluba-Milimo, M. Cheeba-Lengwe, K. Chiwele, B. Kosloff, S. Floyd, L. Bailey, H. Ayles ; The sensitivity of the QuantiFERONW-TB Gold Plus assay in Zambian adults with active tuberculosis. 2017. *INT J TUBERC LUNG DIS* 21(6):690–696
- [67] Giovanni Sotgiu, Laura Saderi, Elisa Petruccioli , Stefano Aliberti ,Andrea Piana, Linda Petrone, Delia Goletti, QuantiFERON TB Gold Plus for the diagnosis of tuberculosis: a systematic review and meta-analysis, *Journal of Infection* (2019)
- [68] Babak Pourakbari a , Setareh Mamishi a,b , Sepideh Benvari c , Shima Mahmoud ; Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube interferon- γ release assays: A systematic review and meta-analysis ; *Advances in Medical Sciences* 64 (2019) 437–443
<https://doi.org/10.1016/j.advms.2019.09.001>
- [69] Meng-Rui Lee, Chia-Hao Chang, Lih-Yu Chang, Yu-Chung Chuang, Hsin-Yun Sun, Jann-Tay Wang, Jann-Yuan Wang ; CD8 response measured by QuantiFERON-TB Gold Plus and tuberculosis disease status ; *Journal of Infection* 78 (2019) 299–304 ; <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2019.01.007>
- [70] Lucia Barcellini, Emanuele Borroni, James Brown, Enrico Brunetti et al ; First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening ; *ERJ Express*. Published on July 7, 2016 as doi: 10.1183/13993003.00510-2016

- [71] Y L Jeon et al. Factors influencing discordant results of the QuantiFERON–TB Gold In–tube test in patients with active TB. *Journal of Infection* .2013 ; 67, 288e293
- [72] Kwon Y–S, Kim YH, Jeon K, Jeong B–H, Ryu YJ, Choi JC, et al. Factors that Predict Negative Results of QuantiFERON–TB Gold In–Tube Test in Patients with Culture–Confirmed Tuberculosis:A Multicenter Retrospective Cohort Study. *PLoS ONE* .2015 ;10(6) : e0129792
- [73] Faber J. le diagnostic de l'infection tuberculose latente par les tests de detection de la production d'interferon gamma (interferon–gamma release assays ou IGRAs). Conseil superieur d'hygiene Section des Maladies Transmissibles. 2011 www.sante.public.lu/fr/recommandations/conseil-maladies-infectieuse/tuberculose/2011-diagnostic-infection-tuberculeuse/2011-tuberculose-tests-detection.pdf
- [74] Normes canadiennes pour la lutte antituberculeuse, 7ème édition, update 2014
- [75] F.–X. Blanca, S. Diroua, J. Morina, N. Vezirisb ; Valeurs des tests IGRA pour le diagnostic de la tuberculose maladie. *Revue des maladies respiratoire*. 2018. 35, 894–899
- [76] Programme National de Lutte Antituberculeuse ; Prise en charge de la tuberculose chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte : Algorithmes et procédures opérationnelles standards. 2020

ANNEXES

Annexe 1 : une fiche d'exploitation standardisée

TEST DE LIBERATION D'INTERFERON GAMMA DANS LE DIAGNOSTIQUE DE LA TUBERCULOSE MALADIE

| | | |
|-------------------|---|---|
| Nom : Prénom : | Age : Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F | Sexe: N° dossier : N° dossier Pno: Tel: |
|-------------------|---|---|

FRD Tuberculose :

- BCG : oui non
- Traité pour tuberculose : non oui
- Cicatrice BCG : oui non
- Forme :
- Date :
- Régime pris :
- Contage tuberculeux récent : oui non
- Habitudes toxiques : tabac alcool
- Facteurs d'immunodépression : HIV+ chimiothérapie diabète insuff rénale insuff hép
 Immunosuppresseurs corticothérapie anti TNF
- Autres ATCD :

Clinique : Signes Généraux : fièvre asthénie amaigrissement sueurs nocturnes
 Signes Fonctionnels : pulmonaire : toux expectoration dyspnée hémoptysie
 extra pulmonaire :

- ex clinique :

Para clinique : - Biologie : GB= PNN= Ly= VS= CRP= Na+=

- Bactériologie : Expectorations ED
 Culture
 extrapulm : type de prélèvement : ED : Culture :

- Biopsie tissulaire : Site de biopsie : Anapath : culture :
- Rx thorax : normale anormale ;
- Examen morphologiques

- **Quantiféron plus :** négatif positive indéterminé
TB1 : positive négatif TB2 : positive négatif

| | | |
|----------------------------------|--|--|
| Nul = TB1 = TB2 = Mit = | TB1- Nul = TB2 - Nul = TB2-TB1 = | |
|----------------------------------|--|--|

Diagnostic : Organe atteint =

- Tuberculose confirmée : frottis positif anapath
- Tuberculose probable (faisceaux d'arguments)
- Tuberculose latente
- Pas de tuberculose

Régime du Traitement antibacillaire :

Annexe 2 : Un exemple du résultat du test réalisé au laboratoire de recherche génétique de gendarmerie

LRAM
La Fraternelle de la Gendarmerie Royale

cofrac
EXAMENS MEDICAUX
ACCREDITATION N° 8-3031
PORTÉE DISPONIBLE SUR WWW.COFRAC.FR

مختبر الأبحاث والتحليلات الطبية
LABORATOIRE DE RECHERCHE ET D'ANALYSES MÉDICALES

COMPTE-RENDU D'EXAMENS

Prélèvement du : 10/04/2019 à 09:22

Résultat édité le : 15/04/2019 à 12:02

Prescripteur : **DR YOUSOUFI TARIK**
RESIDENT EN RHUMATOLOGIE
CHU HASSAN II

Né(e) le : 05/04/1968 Sexe: F

Dossier N° : 2190410-0272

IMMUNOLOGIE (Analyse du sang)

Test de détection de l'interféron gamma (IFN gamma) pour le diagnostic des infections tuberculeuses (Quantiféron)*
Technique ELISA (prélèvement sur 4 tubes de plasma (Qiagen))

| | | |
|----------|------|-------|
| Nul | 0.09 | |
| TB1 | 2.71 | <0,35 |
| TB2 | 3.42 | <0,35 |
| Mitogène | > 10 | |

INTERPRETATION Présence d'IFN gamma compatible avec une infection tuberculeuse.

le diagnostic ou l'exclusion de la tuberculose et l'évaluation de la probabilité de l'infection tuberculeuse latente, exigent une combinaison de résultats épidémiologiques, historiques, médicaux et diagnostiques qui doivent être pris en compte dans l'interprétation des résultats.

Page :1

أطروحة رقم 20/046

سنة 2020

مساهمة الكونتيقيرون بلاس لتشخيص مرض السل تجربة مصلحة أمراض الرئة بالمستشفى العسكري مولاي اسماعيل بمكناس

الأطروحة

قدمت و نوقشت علانية يوم 2020/02/18

من طرف

السيد أيوب الشعار

المزاد في 1994/12/29 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية

مرض السل (مرض، كامن) - اختبار إطلاق إنترفين غاما - الكونتيقيرون بلاس

اللجنة

| | |
|----------------|---|
| الرئيس والمشرف | السيد ورساني عزيز..... أستاذ في علم أمراض الرئة والسل |
| الأعضاء | السيد محمد الرامي أستاذ في علم الطفيليات وعلم الفطريات |
| | السيد فؤاد عطواني..... أستاذ مبرز في الجراحة الصدرية |
| | السيد محمد السبيطي..... أستاذ مبرز في علم الجراثيم فيرولوجيا |
| | السيد علي زينيبي..... أستاذ مبرز في الطب الداخلي |
| | السيد هشام ناجي العمراني..... أستاذ مساعد في علم أمراض الرئة والسل |
| عضو مشارك | |