

UNIVERSITE MOHAMMED V
Faculté de Médecine et de Pharmacie -Rabat-

ANNEE : 2011

THESE N° : 32

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE RAPIDE EN CONTEXTE EPIDEMIQUE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. ZAHRA EL HABRI

Née le 20 / 01 / 1985 à KHENIFRA

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Epidémie – diagnostic biologique rapide – immunochromatographie
– PCR en temps réel

JURY

Mr. O. CHOKAIRI

Professeur d'histologie – embryologie

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de microbiologie

Mr. A. ABOUZAHIR

Professeur de médecine interne

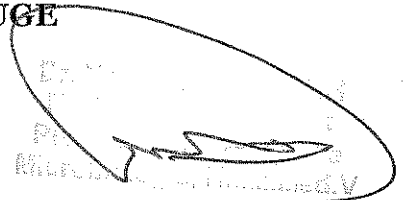
Mr. H. TLIGUI

Professeur de parasitologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGE

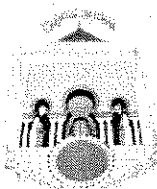
A handwritten signature is written over a circular stamp. The stamp contains the text "FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE RABAT" and "BIBLIOTHEQUE 'B'".

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 - 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 - 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 - 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 - 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 - 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 - 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie - Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- | | | |
|-----|------------------------------|-----------------------------|
| 11. | Pr. ABROUQ Ali* | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 12. | Pr. BENOMAR M'hammed | Chirurgie-Cardio-Vasculaire |
| 13. | Pr. BENSOUA Mohamed | Anatomie |
| 14. | Pr. BENOSMAN Abdellatif | Chirurgie Thoracique |
| 15. | Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma | Physiologie |

Novembre 1983

- | | | |
|-----|-------------------------------|---------------------|
| 16. | Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir* | Pneumo-phtisiologie |
| 17. | Pr. BALAFREJ Amina | Pédiatrie |
| 18. | Pr. BELLAKHDAR Fouad | Neurochirurgie |
| 19. | Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia | Rhumatologie |
| 20. | Pr. SRAIRI Jamal-Eddine | Cardiologie |

Décembre 1984

- | | | |
|-----|----------------------------------|--------------------------|
| 21. | Pr. BOUCETTA Mohamed* | Neurochirurgie |
| 22. | Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil | Radiothérapie |
| 23. | Pr. MAAOUNI Abdelaziz | Médecine Interne |
| 24. | Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie - Réanimation |
| 25. | Pr. NAJI M'Barek * | Immuno-Hématologie |
| 26. | Pr. SETTAF Abdellatif | Chirurgie |

Novembre et Décembre 1985

- | | | |
|-----|---------------------------------------|---|
| 27. | Pr. BENJELLOUN Halima | Cardiologie |
| 28. | Pr. BENSAID Younes | Pathologie Chirurgicale |
| 29. | Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa | Neurologie |
| 30. | Pr. IHRAI Hssain * | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale |
| 31. | Pr. IRAQI Ghali | Pneumo-phtisiologie |
| 32. | Pr. KZADRI Mohamed | Oto-Rhino-laryngologie |

Janvier, Février et Décembre 1987

- | | | |
|-----|--------------------------------------|------------------------------|
| 33. | Pr. AJANA Ali | Radiologie |
| 34. | Pr. AMMAR Fanid | Pathologie Chirurgicale |
| 35. | Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE | Gastro-Entérologie |
| 36. | Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq | Pneumo-phtisiologie |
| 37. | Pr. EL HAITEM Naïma | Cardiologie |
| 38. | Pr. EL MANSOURI Abdellah* | Chimie-Toxicologie Expertise |
| 39. | Pr. EL YAACOUBI Moradh | Traumatologie Orthopédie |
| 40. | Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah | Gastro-Entérologie |
| 41. | Pr. LACHKAR Hassan | Médecine Interne |
| 42. | Pr. OHAYON Victor* | Médecine Interne |
| 43. | Pr. YAHYAOUI Mohamed | Neurologie |

Décembre 1988

- | | | |
|-----|---------------------------------|-----------------------|
| 44. | | |
| 45. | Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 46. | Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |

- | | | |
|-----|---------------------|--------------------------|
| 47. | Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 48. | Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 49. | Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | | |
|-----|-------------------------------------|--------------------------|
| 50. | Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 51. | Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 52. | Pr. BENAMEUR Mohamed* | Radiologie |
| 53. | Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 54. | Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 55. | Pr. CHKOFF Rachid | Pathologie Chirurgicale |
| 56. | Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH | Pédiatrique |
| 57. | Pr. HACHIM Mohammed* | Médecine-Interne |
| 58. | Pr. HACHIMI Mohamed | Urologie |
| 59. | Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 60. | Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 61. | Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 62. | Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 63. | Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

- | | | |
|-----|--------------------------------------|--|
| 64. | Pr. AL HAMANY Zaïtounia | Anatomie-Pathologique |
| 65. | Pr. ATMANI Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 66. | Pr. AZZOUZI Abderrahim | Anesthésie Réanimation |
| 67. | Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM | Néphrologie |
| 68. | Pr. BELKOUCHI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 69. | Pr. BENABDELLAH Chahrazad | Hématologie |
| 70. | Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif | Chirurgie Générale |
| 71. | Pr. BENSOUDA Yahia | Pharmacie galénique |
| 72. | Pr. BERRAHO Amina | Ophthalmologie |
| 73. | Pr. BEZZAD Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 74. | Pr. CHABRAOUI Layachi | Biochimie et Chimie |
| 75. | Pr. CHANA El Houssaine* | Ophthalmologie |
| 76. | Pr. CHERRAH Yahia | Pharmacologie |
| 77. | Pr. CHOKAIRI Omar | Histologie Embryologie |
| 78. | Pr. FAJRI Ahmed* | Psychiatrie |
| 79. | Pr. JANATI Idrissi Mohamed* | Chirurgie Générale |
| 80. | Pr. KHATTAB Mohamed | Pédiatrie |
| 81. | Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 82. | Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 83. | Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 84. | Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

- | | | |
|-----|---------------------|------------------------|
| 85. | | |
| 86. | Pr. AHALLAT Mohamed | Chirurgie Générale |
| 87. | Pr. BENOUDA Amina | Microbiologie |
| 88. | Pr. BENSOUDA Adil | Anesthésie Réanimation |

89. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
90. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
91. Pr. CHRAIBI Chafiq
92. Pr. DAOUDI Rajae
93. Pr. DEHAYNI Mohamed*
94. Pr. EL HADDOURY Mohamed
95. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
96. Pr. FELLAT Rokaya
97. Pr. GHAFIR Driss*
98. Pr. JIDDANE Mohamed
99. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
100. Pr. TAGHY Ahmed
101. Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

102. Pr. AGNAOU Lahcen
103. Pr. AL BAROUDI Saad
104. Pr. BENCHERIFA Fatiha
105. Pr. BENJAAFAR Noureddine
106. Pr. BENJELLOUN Samir
107. Pr. BEN RAIS Nozha
108. Pr. CAOUI Malika
109. Pr. CHRAIBI Abdelmajid
110. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
111. Pr. EL AOUDAD Rajae
112. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
113. Pr. EL HASSANI My Rachid
114. Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur
115. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
116. Pr. ERROUGANI Abdelkader
117. Pr. ESSAKALI Malika
118. Pr. ETTAYEBI Fouad
119. Pr. HADRI Larbi*
120. Pr. HASSAM Badredine
121. Pr. IFRINE Lahssan
122. Pr. JELTHI Ahmed
123. Pr. MAHFOUD Mustapha
124. Pr. MOUDENE Ahmed*
125. Pr. OULBACHA Said
126. Pr. RHRAB Brahim
127. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
128. Pr. SLAOUI Anas

Mars 1994

129. Pr. ABBAR Mohamed*
130. Pr. ABDELHAK M'barek
131. Pr. BELAIDI Halima

Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie - Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale
Gynécologie -Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire

Urologie
Chirurgie - Pédiatrique
Neurologie

132. Pr. BRAHMI Rida Slimane
133. Pr. BENTAHILA Abdelali
134. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
135. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
136. Pr. CHAMI Ilham
137. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
138. Pr. EL ABBADI Najia
139. Pr. HANINE Ahmed*
140. Pr. JALIL Abdelouahed
141. Pr. LAKHDAR Amina
142. Pr. MOUANE Nezha

Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Gynécologie - Obstétrique
 Traumatologie - Orthopédie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Neurochirurgie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie

Mars 1995

143. Pr. ABOUQUAL Redouane
144. Pr. AMRAOUI Mohamed
145. Pr. BAIDADA Abdelaziz
146. Pr. BARGACH Samir
147. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*
148. Pr. BENAZZOUI Mustapha
149. Pr. CHAARI Jilali*
150. Pr. DIMOU M'barek*
151. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
152. Pr. EL MESNAOUI Abbas
153. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
154. Pr. FERHATI Driss
155. Pr. HASSOUNI Fadil
156. Pr. HDA Abdelhamid*
157. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
158. Pr. IBRAHIMY Wafaa
159. Pr. MANSOURI Aziz
160. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
161. Pr. RZIN Abdelkader*
162. Pr. SEFIANI Abdelaziz
163. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Gastro-Entérologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Cardiologie
 Urologie
 Ophtalmologie
 Radiothérapie
 Ophtalmologie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Génétique
 Réanimation Médicale

Décembre 1996

164. Pr. AMIL Touriya*
165. Pr. BELKACEM Rachid
166. Pr. BELMAHI Amin
167. Pr. BOULANOUI Abdelkrim
168. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
169. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
170. Pr. GAOUZI Ahmed
171. Pr. MAHFOUDI M'barek*
172. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
173. Pr. MOHAMMADI Mohamed
174. Pr. MOULINE Soumaya

Radiologie
 Chirurgie Pédiatrie
 Chirurgie réparatrice et plastique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Parasitologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumo-phtisiologie

175. Pr. OUADGHIRI Mohamed
176. Pr. OUZEDDOUN Naima
177. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

178. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
179. Pr. BEN AMAR Abdesslem
180. Pr. BEN SLIMANE Lounis
181. Pr. BIROUK Nazha
182. Pr. BOULAICH Mohamed
183. Pr. CHAOUIR Souad*
184. Pr. DERRAZ Said
185. Pr. ERREIMI Naima
186. Pr. FELLAT Nadia
187. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
188. Pr. HAIMEUR Charki*
189. Pr. KANOUNI NAWAL
190. Pr. KOUTANI Abdellatif
191. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
192. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
193. Pr. NAZI M'barek*
194. Pr. OUAHABI Hamid*
195. Pr. SAFI Lahcen*
196. Pr. TAOUFIQ Jallal
197. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.R.L.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

198. Pr. AFIFI RAJAA
199. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
200. Pr. ALOUANE Mohammed*
201. Pr. BENOMAR ALI
202. Pr. BOUGTAB Abdesslam
203. Pr. ER RIHANI Hassan
204. Pr. EZZAITOUNI Fatima
205. Pr. KABBAJ Najat
206. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-Laryngologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

207. Pr. BENKIRANE Majid*
208. Pr. KHATOURI ALI*
209. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

210. Pr. ABID Ahmed*
211. Pr. AIT OUMAR Hassan
212. Pr. BENCHERIF My Zahid

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie

213. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
214. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
215. Pr. CHAOUI Zineb
216. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
217. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
218. Pr. EL FTOUH Mustapha
219. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
220. Pr. EL OTMANYAzzedine
221. Pr. GHANNAM Rachid
222. Pr. HAMMANI Lahcen
223. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
224. Pr. ISMAILI Hassane*
225. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
226. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
227. Pr. TACHINANTE Rajae
228. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

229. Pr. AIDI Saadia
230. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
231. Pr. AJANA Fatima Zohra
232. Pr. BENAMR Said
233. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
234. Pr. CHERTI Mohammed
235. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
236. Pr. EL HASSANI Amine
237. Pr. EL IDGHIRI Hassan
238. Pr. EL KHADER Khalid
239. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
240. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
241. Pr. HSSAIDA Rachid*
242. Pr. LACHKAR Azzouz
243. Pr. LAHLOU Abdou
244. Pr. MAFTAH Mohamed*
245. Pr. MAHASSINI Najat
246. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
247. Pr. NASSIH Mohamed*
248. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

249. Pr. ABABOU Adil
250. Pr. AOUAD Aicha
251. Pr. BALKHI Hicham*
252. Pr. BELMEKKI Mohammed
253. Pr. BENABDELJLIL Maria
254. Pr. BENAMAR Loubna
255. Pr. BENAMOR Jouda

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie

256. Pr. BENELBARHDADI Imane
257. Pr. BENNANI Rajae
258. Pr. BENOUACHANE Thami
259. Pr. BENYOUSSEF Khalil
260. Pr. BERRADA Rachid
261. Pr. BEZZA Ahmed*
262. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
263. Pr. BOUHOUCHE Rachida
264. Pr. BOUMDIN El Hassane*
265. Pr. CHAT Latifa
266. Pr. CHELLAOUI Mounia
267. Pr. DAALI Mustapha*
268. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
269. Pr. EL HAJJOUI Ghizel Samira
270. Pr. EL HIJRI Ahmed
271. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
272. Pr. EL MADHI Tarik
273. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
274. Pr. EL OUNANI Mohamed
275. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
276. Pr. ETTAIR Said
277. Pr. GAZZAZ Miloudi*
278. Pr. GOURINDA Hassan
279. Pr. HRORA Abdelmalek
280. Pr. KABBAJ Saad
281. Pr. KABIRI EL Hassane*
282. Pr. LAMRANI Moulay Omar
283. Pr. LEKEHAL Brahim
284. Pr. MAHASSIN Fattouma*
285. Pr. MEDARHRI Jalil
286. Pr. MIKDAME Mohammed*
287. Pr. MOHSINE Raouf
288. Pr. NABIL Samira
289. Pr. NOUINI Yassine
290. Pr. OUALIM Zouhir*
291. Pr. SABBAH Farid
292. Pr. SEFIANI Yasser
293. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
294. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Décembre 2002

295. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
296. Pr. AMEUR Ahmed *
297. Pr. AMRI Rachida
298. Pr. AOURARH Aziz*
299. Pr. BAMOU Youssef *
300. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*

Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Rhumatologie
 Anatomie
 Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques

301. Pr. BENBOUAZZA Karima
302. Pr. BENZEKRI Laila
303. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
304. Pr. BERNOUSSI Zakiya
305. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
306. Pr. CHOHO Abdelkrim *
307. Pr. CHKIRATE Bouchra
308. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
309. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
310. Pr. EL BARNOUSSI Leila
311. Pr. EL HAOURI Mohamed *
312. Pr. EL MANSARI Omar*
313. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
314. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
315. Pr. HADDOUR Leila
316. Pr. HAJJI Zakia
317. Pr. IKEN Ali
318. Pr. ISMAEL Farid
319. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
320. Pr. KRIOULE Yamina
321. Pr. LAGHMARI Mina
322. Pr. MABROUK Hfid*
323. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
324. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
325. Pr. MOUSTAINE My Rachid
326. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
327. Pr. OUJILAL Abdelilah
328. Pr. RACHID Khalid *
329. Pr. RAISS Mohamed
330. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
331. Pr. RHOU Hakima
332. Pr. SIAH Samir *
333. Pr. THIMOU Amal
334. Pr. ZENTAR Aziz*
335. Pr. ZRARA Ibtisam*

Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

336. Pr. ABDELLAH El Hassan
337. Pr. AMRANI Mariam
338. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
339. Pr. BENKIRANE Ahmed*
340. Pr. BENRAMDANE Larbi*
341. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
342. Pr. BOULAADAS Malik
343. Pr. BOURAZZA Ahmed*

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie

344. Pr. CHAGAR Belkacem*
345. Pr. CHERRADI Nadia
346. Pr. EL FENNI Jamal*
347. Pr. EL HANCHI ZAKI
348. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
349. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
350. Pr. HACHI Hafid
351. Pr. JABOUIRIK Fatima
352. Pr. KARMANE Abdelouahed
353. Pr. KHABOUZE Samira
354. Pr. KHARMAZ Mohamed
355. Pr. LEZREK Mohammed*
356. Pr. MOUGHIL Said
357. Pr. NAOUMI Asmae*
358. Pr. SAADI Nozha
359. Pr. SASSENOU ISMAIL*
360. Pr. TARIB Abdelilah*
361. Pr. TIJAMI Fouad
362. Pr. ZARZUR Jamila

Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

363. Pr. ABBASSI Abdellah
364. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
365. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
366. Pr. ALLALI Fadoua
367. Pr. AMAR Yamama
368. Pr. AMAZOUZI Abdellah
369. Pr. AZIZ Nouredine*
370. Pr. BAHIRI Rachid
371. Pr. BARKAT Amina
372. Pr. BENHALIMA Hanane
373. Pr. BENHARBIT Mohamed
374. Pr. BENYASS Aatif
375. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
376. Pr. BOUKLATA Salwa
377. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
378. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
379. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
380. Pr. HAJJI Leila
381. Pr. HESSISSEN Leila
382. Pr. JIDAL Mohamed*
383. Pr. KARIM Abdelouahed
384. Pr. KENDOSSI Mohamed*
385. Pr. LAAROUSSI Mohamed
386. Pr. LYAGOUBI Mohammed
387. Pr. NIAMANE Radouane*
388. Pr. RAGALA Abdelhak

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique

389. Pr. SBIHI Souad
 390. Pr. TNACHERI OUZZANI Brissam
 391. Pr. ZERAIDI Najia

Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 424. Pr. AFIFI Yasser
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429. Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina
 445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio - Vasculaire
 Chirurgie Cardio - Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie - Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo - Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo - Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation

461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq *	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Nouredine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophthalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophthalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophthalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib *	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes
Pr. AZENDOUR Hicham *
Pr. BELYAMANI Lahcen *
Pr. BOUHSAIN Sanae *
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. LAMSAOURI Jamal *
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. AMAHZOUNE Brahim *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. BOUNAIM Ahmed *
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. CHTATA Hassan Toufik *
Pr. BOUI Mohammed *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. FATHI Khalid
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. EL OUENNASS Mostapha
Pr. ZOUHAIR Said*
Pr. L'kassimi Hachemi*
Pr. AKHADDAR Ali *
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AGADR Aomar *
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. MESKINI Toufik
Pr. KABIRI Meryem
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. BASSOU Driss *
Pr. ALLALI Nazik
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. AMINE Bouchra
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. KADI Said *

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. CHERRADI Ghizlan
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. ALILOU Mustapha
Pr. KANOUNI Lamya

Anatomie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Biochimie
Cardiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Chirurgie Cardio-vasculaire
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Dermatologie
Gastro-entérologie
Gynécologie obstétrique
Hématologie biologique
Hématologie biologique
Hématologie clinique
Médecine interne
Médecine interne
Microbiologie
Microbiologie
Microbiologie
Neuro-chirurgie
Neurologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Rhumatologie
Rhumatologie
Traumatologie orthopédique
Traumatologie orthopédique

Médecine interne
Gastro entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie réanimation
Radiothérapie

Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. ZOUAIDIA Fouad
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. CHADLI Mariama*

Radiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Médecine aérologique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES **PROFESSEURS**

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRIS Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
 Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie-Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Génétique Humaine
 Microbiologie
 Biochimie
 Physiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique

 Biochimie
 Biologie
 Biochimie
 Chimie Organique
 Pharmacognosie
 Pharmacologie
 Chimie Organique

** Enseignants Militaires*

Je dédie cette thèse

A mes très chers parents qui m'ont tellement aidé et supporté aussi tout au long de ces si longues et nombreuses années de ma vie étudiante...

Toujours plein d'affection, ils ont toujours œuvré pour mon bonheur et je leur dois tout.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma vive gratitude, mon intime attachement et ma profonde affection envers eux. Que Dieu leur accorde longue vie.

A mes sœurs et frères : Mohammed, Halima, Abd Elkhaleq et Hafida, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de succès. Je vous aime très fort.

A ma nièce Omayma et mes neveux Anas et Hamza, que Dieu vous garde.

A mon oncle Ismail, tellement généreux. Merci pour tout...

A mes grands parents, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines et à tous mes proches.

A Houssine Balouch et sa famille, toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements.

A tous mes amies et collègues, et surtout à toi Nouha, Ghizlane, Fatima ezahra, Lamia, Khaoula... pour ces moments de bonheur partagés, pour votre soutien, votre générosité et votre amitié.

A tous ceux que j'ai pu connaître et apprécier au cours de mes stages.

A tous ceux que cette liste a peut être oubliés, mais pas moi !

A tous les professeurs et corps administratif de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat.

Remerciements

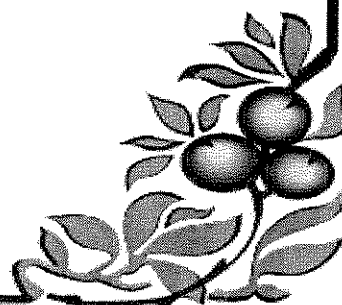


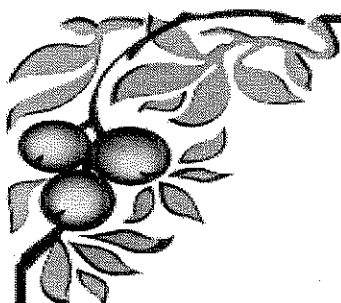
*A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
Monsieur le professeur OMAR CHOKAIRI
Professeur d'Histologie- Embryologie*

Vous nous faites l'honneur de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Vos qualités humaines, professionnelles, sociales et scientifiques font de vous un maître admiré.

Veillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.





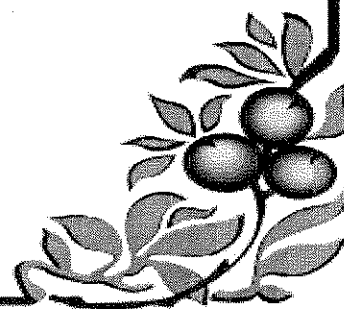
A NOTRE MAÎTRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE

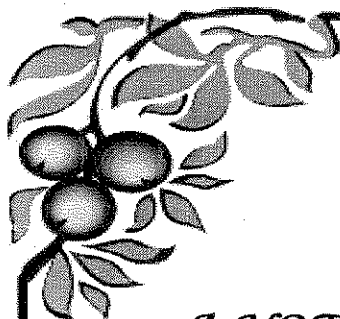
Monsieur le professeur YASSINE SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Je vous remercie de la confiance que vous m'avez faite en me proposant ce travail. J'ai vite apprécié vos qualités scientifiques et humaines. Ces qualités couplées à votre simplicité et votre générosité font de vous un maître exemplaire.

Soyez assuré cher maître de ma profonde gratitude et de mes sincères remerciements.

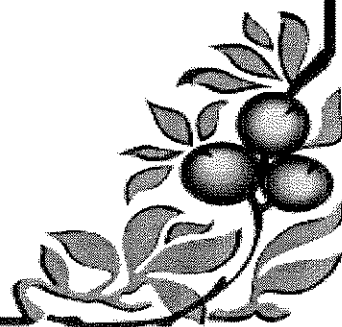


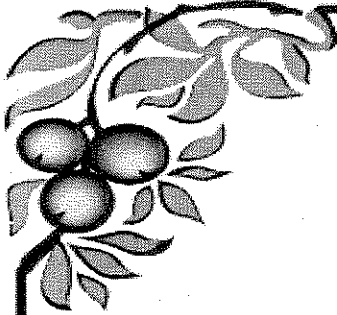


A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
Monsieur le Professeur ALI ABOUZAHIR
Professeur de Médecine Interne

Je suis très honorée par votre présence dans ce jury de thèse.
Merci de m'avoir accordé de votre temps précieux,

Recevez ici toute l'expression de ma reconnaissance.





A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
Monsieur le professeur HOUSSAIN TLIGUI
Professeur de Parasitologie

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie.

Veuillez croire cher maître l'expression de ma reconnaissance et de ma respectueuse considération.

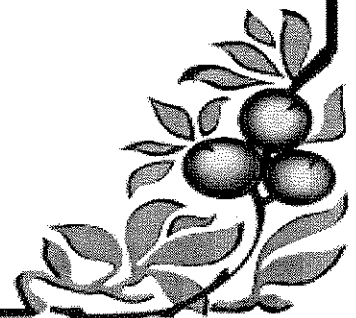


TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
I. ASPECTS TECHNOLOGIQUES.....	5
1. Qu'est-ce qu'un test rapide ?.....	5
2. Avantages des tests rapides.....	5
3. Limites des tests rapides.....	7
4. Principes.....	8
4.1. Détection rapide d'antigènes.....	10
4.2. Détection rapide d'anticorps.....	12
4.3. Tests moléculaires.....	15
5. Phase pré-analytique.....	22
5.1. Recueil et traitement des échantillons	22
5.2. Équipement minimum nécessaire.....	24
II. APPLICATIONS EN SITUATION EPIDEMIQUE.....	26
1. Syndromes fébriles.....	26
1.1. Problématique.....	26
1.2. Tests disponibles	27
1.2.1. Paludisme.....	27
2. Syndromes ictérohémorragiques.....	36
2.1. Problématique.....	36
2.2. Tests disponibles.....	36
2.2.1. Dengue.....	36

3. Pneumopathies.....	44
3.1. Problématique.....	44
3.2. Tests disponibles.....	45
3.2.1. Grippe.....	45
3.2.2. Peste	51
3.2.3. Tuberculose.....	55
4. Diarrhées.....	67
4.1. Problématique.....	67
4.2. Tests disponibles.....	68
4.2.1. Choléra.....	68
4.2.2. Autres diarrhées bactériennes.....	70
4.2.3. Diarrhées virales	76
4.2.4. Diarrhées parasitaires.....	80
5. Syndromes neuroméningés.....	81
5.1. Problématique.....	81
5.2. Tests disponibles.....	84
5.2.1. Méningites purulentes.....	84
5.2.2. Méningites à liquide clair.....	90
6. Angines.....	93
6.1. Problématique.....	93
6.2. Tests disponibles.....	93
6.2.1. Angines streptococciques.....	93
CONCLUSION	98
BIBLIOGRAPHIE	

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'un test d'immunochromatographie. p.12

Figure 2 : Principales étapes d'analyse d'un échantillon en biologie moléculaire.
p.16

Figure 3 : Frottis sanguin. p.28

Figure 4 : Goutte épaisse. p.28

Figure 5 : Différentes situations rencontrées avec un test détectant les antigènes HRP2 (spécifiques de *P.falciparum*), détectant des antigènes spécifiques de *P.vivax* (LDH ou aldolase) et des antigènes spécifiques des quatre espèces. p.33

Figure 6 : Le virus de la dengue et ses différentes protéines constituanes. p.37

Figure 7 : Cinétique des antigènes et anticorps lors d'une primo-infection de dengue (Centre National de Référence des arbovirus, Institut Pasteur de Paris).
p.40

Figure 8 : Les résultats possibles de la détection de NS1 et des IgG/IgM par le test Dengue Duo® (notice du fabricant). p.41

Figure 9 : Représentation schématique du virus influenza A. p.46

Liste des tableaux

Tableau I : Sensibilité relative des tests de diagnostic rapide en fonction de la nature de l'antigène détecté. **p.32**

Tableau II : Principales caractéristiques des techniques de diagnostic biologique de le dengue. **p.42**

Tableau III : Ré-émergence récente de la peste dans des foyers que l'on croyait définitivement éteints. **p.52**

Tableau IV: Principaux pathogènes responsables de diarrhées. **p. 68**

Tableau V: Réactions croisées des tests d'agglutination au latex. **p.87**

Table des abréviations

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
ARN	Acide ribonucléique
BAAR	Bacille acido-alcool-resistant
BCG	Bacille de Calmette et Guérin
BK	Bacille de Koch
CFP-10	Culture filtrate protein 10
DEN	Virus de la dengue
EHEC	E. coli entérohémorragiques
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
EPEC	E. coli entéropathogènes
EPS	Examen parasitologique des selles
ESAT-6	Early secretory antigenic target protein 6
ETEC	E. coli entérotoxinogènes
FHV	Fièvres hémorragiques virales
FRET	Transfert d'énergie par résonance en fluorescence
HA	Hémagglutinine
HAS	Haute Autorité de Santé
HRP2	Histidine Rich Protein 2
ICT	Immunochromatographie
IDR	Intradermoréaction
IF	Immunofluorescence
IFN- γ	Interféron gamma
Ig	Immunoglobulines
IGRA	IFN γ release assays
IHA	Inhibition de l'hémagglutination
ITL	Infection tuberculeuse latente
MAT	Microscopic agglutination test
ME	Microscopie électronique
MIF	Merthiolate-iode-formol
MNT	Mycobactéries non tuberculeuses
NA	Neuraminidase
NS	Protéine non structurale
OMS	Organisation Mondiale de la Santé

PCR	Polymerase Chain Reaction
pLDH	Plasmodium lactate déshydrogénase
RAA	Rhumatisme articulaire aigu
RT-PCR	Reverse transcriptase - polymerase chain reaction
SGA	Streptocoque du groupe A
TDR	Test de diagnostic rapide
TIAC	Toxi-infections alimentaires collectives
TM	Tuberculose maladie (TM)
VIH	Virus d'immunodéficience acquise

INTRODUCTION

De tout temps, les épidémies ont eu un impact social important du fait de leurs conséquences sur la morbidité, la mortalité et la démographie, et par la désorganisation qu'elles peuvent entraîner. Les épidémies peuvent aussi avoir des répercussions importantes sur la circulation des personnes et des biens et l'activité économique (1).

Lors de la survenue d'une épidémie, l'investigation sur le terrain repose sur une approche multidisciplinaire (clinique, épidémiologique, environnementale et microbiologique), cette enquête requiert des moyens de diagnostic biologique adaptés pour identifier l'agent en cause avec certitude et lorsque les critères de diagnostic clinique ne sont pas assez discriminants, pour confirmer les cas.

L'ambiance épidémique comporte généralement un contexte d'urgence lié à la gravité de la maladie ou à l'accessibilité difficile des populations atteintes, ou encore à la pression de l'opinion attisée par la médiatisation de l'événement.

Tout retard dans la communication des résultats d'investigation favorise la propagation de rumeurs souvent fausses, volontiers alarmistes et la prise de décisions inappropriées. Raisons pour lesquelles le diagnostic doit être rapide.

Grâce à un diagnostic sûr, la notification de l'épisode épidémique aux autorités sanitaires régionales, nationales ou internationales, permettra de déclencher une série de mesures visant à prévenir la diffusion du processus épidémique et à prendre en charge les cas déclarés.

Ainsi, pour les maladies soumises au règlement sanitaire international (peste, choléra, fièvre jaune,...), le microbiologiste chargé de confirmer les premiers cas à l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) n'a-t-il pas droit à l'erreur.

Le diagnostic doit donner la possibilité de différencier un agent pathogène classique d'un agent émergent, ou une situation épidémique naturelle d'une attaque bioterroriste.

Les tests de diagnostic rapides (ou TDR) ont connu un essor ces dernières années dans le but de répondre aux attentes de la population et des biologistes impliqués dans la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses. Ces tests rapides occupent une place croissante au sein du marché du diagnostic biologique. Cette croissance est plus rapide que celle observée pour les tests classiques. Les enjeux économiques considérables incitent les firmes pharmaceutiques à investir dans cette nouvelle voie. *

Ces tests rapides sont donc de plus en plus utilisés. Après une première implantation dans l'ensemble des pays industrialisés, ce marché s'oriente maintenant vers les pays en voie de développement (PED). En effet, ces techniques qui allient rapidité, simplicité de réalisation et de lecture et possibilité de délocalisation correspondent parfaitement aux besoins de ces pays (2).

Dans les pays en développement, la plupart de ses laboratoires en périphérie ne sont pas fonctionnels. Les difficultés qui entravent leur bonne marche sont multiples, récurrentes et bien souvent identiques d'un pays à l'autre.

Il s'agit de problèmes logistiques (irrégularité de l'électricité, absence de service de maintenance des équipements, rupture de chaîne de froid, irrégularité des approvisionnements...), d'insuffisance en ressources humaines (manque de techniciens et de biologistes, mobilité du personnel, manque de motivation), de l'absence de contrôle de qualité et de supervision. Par ailleurs, les contraintes climatiques influencent aussi. Il y a donc un besoin pressant de techniques de diagnostic adaptées à la réalité de ces pays, c'est-à-dire des tests simples à réaliser, ne nécessitant pas d'équipement, faciles à conserver, enfin peu coûteuses et rapides.

Certes, les tests rapides d'agglutination de particules de latex sont utilisés depuis plus de deux décennies mais les tests basés sur le principe de l'immunochromatographie sur bandelettes sont actuellement les plus prometteurs. A côté des tests immunologiques, les techniques récentes de biologie moléculaire font preuve de leur robustesse et trouvent ainsi leur place parmi les tests biologiques d'urgence.

Actuellement certains tests atteignent une sensibilité et une spécificité généralement très satisfaisantes comparables aux tests de référence.

Pour certaines maladies (paludisme, infections par HBV [virus de l'hépatite B] et VIH [virus de l'immunodéficience humaine]), les TDR sont actuellement utilisés en routine dans de nombreux hôpitaux en raison de leur fiabilité, robustesse et faible coût.

Incontestablement, les TDR contribueront à une meilleure prise en charge des malades et à une promptitude de l'alerte pour les maladies à potentiel épidémique et/ou à prévention vaccinale.

Les avancées technologiques ayant abouti au développement de tests de diagnostic rapide seront décrites avant d'aborder les principales applications actuellement disponibles dans un contexte épidémique, ou qui pourraient être développées prochainement.

I. ASPECTS TECHNOLOGIQUES

1. Qu'est-ce qu'un test rapide ?

Un test de diagnostic rapide permet d'aboutir à un diagnostic biologique de certitude ou de quasi-certitude dans un délai plus court que la technique de référence, généralement compris entre quelques minutes et quelques heures (3). Ceci le différencie des tests d'orientation, par exemple l'examen direct en bactériologie, qui nécessite une confirmation ultérieure par la culture et l'identification de la souche bactérienne. On peut définir un test rapide comme un test analytique répondant aux conditions essentielles comme la réalisation rapide même en dehors du laboratoire permettant l'obtention de résultats précoces ainsi que l'utilisation aisée sans interférence sur la qualité du résultat. La plupart des tests rapides sont conçus pour être employés sur le terrain, dans l'urgence, avec des moyens réduits. La simplicité de mise en œuvre, la conservation à température ambiante, la réduction du nombre de réactifs au strict nécessaire, l'absence d'équipements lourds pour la lecture et l'interprétation du résultat et le faible encombrement sont les principaux critères exigés d'un test rapide (3).

2. Avantages des tests rapides

Leurs avantages sont nombreux (4):

- La rapidité : lecture à l'œil nu après 5-15 minutes ;

- La praticabilité : généralement en une seule étape par simple introduction de quelques gouttes de l'échantillon biologique à tester dans le tube ou dans la fenêtre «échantillon » de la plaquette ;
- La simplicité d'interprétation ; la réalisation du test peut être effectuée par du personnel non biologiste (aide-soignant, médecin, infirmier, patient).
- La très grande sensibilité et spécificité, liées à la qualité des anticorps monoclonaux utilisés. Les seuils de détection rivalisent avec ceux des tests ELISA ;
- Le contrôle interne de qualité intégré au test (ligne « contrôle ») ;
- La facilité de transport et de conservation (encombrement et poids minimum, stabilité de 1 à 2 ans à température inférieure à 30°C) ;
- La très bonne reproductibilité ;
- Le temps de formation du personnel (très court: 1 à 2 heures) ;
- Aucun appareillage nécessaire (utilisable dans les structures dépourvues d'électricité);
- Le coût abordable, globalement 5 à 10 fois moins cher que les méthodes conventionnelles ;
- Ils sont également robustes, ne demandent qu'une maintenance minimale ;
- Ces tests permettent la délocalisation de la biologie.

Ces tests répondent pratiquement à toutes les exigences requises pour une utilisation en condition de terrain par du personnel non biologiste dans les dispensaires et les laboratoires de brousse.

3. Limites des tests rapides

Malgré tous les avantages énumérés ci-dessus, les tests rapides ne font pas encore l'unanimité auprès des biologistes. Une des raisons permettant d'expliquer cette réticence par rapport aux tests rapides est leur relative jeunesse. Malgré leur expansion et le développement actuel important, on manque encore de recul vis-à-vis de l'ensemble de ces tests, et la documentation les concernant n'est pas encore suffisante. De nombreuses questions se posent encore quant à leur fiabilité, leur sensibilité et leur spécificité par rapport aux méthodes de référence (2).

- Le résultat obtenu doit souvent être confirmé par une autre méthode.
- Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres pathogènes non ciblés par le test.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence du pathogène ciblé par le test (précocité de réalisation du test, variabilité interindividuelle...).
- Le test n'est souvent applicable qu'à un seul type de prélèvement bien défini.
- Il ne permet pas toujours, pour certaines pathologies d'affirmer si l'infection est en cours ou passée.
- Leur coût n'est pas toujours négligeable.
- L'absence de résultats quantitatifs; Dans certains cas, l'observation de l'intensité du trait rose, par référence à une gamme de concentrations d'antigène cible, permet de rendre des résultats semi-quantitatifs.
- Enfin, il existe le problème du cadre juridique en particulier l'aspect réglementaire lié à l'utilisation de ces tests avec, en particulier, les notions de responsabilité notamment dans le domaine de la biologie délocalisée (5).

Ces inconvénients parmi d'autres permettent de comprendre que certains biologistes s'opposent encore à une implantation généralisée des tests rapides.

4. Principes (3, 6-9)

Le diagnostic biologique repose sur deux approches différentes et complémentaires. Le diagnostic direct est fondé sur la détection de particules ou de composants (antigènes [Ag] par exemple) du germe recherché dans un fluide biologique ou un tissu. Le diagnostic indirect, encore appelé diagnostic sérologique ou sérodiagnostic, est fondé sur la détection des anticorps (Ac) spécifiques élaborés par l'organisme infecté en réponse à l'infection. La recherche des anticorps se fait le plus souvent dans le sérum ou le plasma mais elle concerne parfois d'autres fluides biologiques tels que le liquide céphalorachidien, la salive, les urines, les liquides oculaires.

Les deux approches s'appuient souvent sur la même technique de base, ce qui peut être une source de confusion: ainsi, la réaction Ag-Ac permet aussi bien de détecter une protéine du pathogène avec un anticorps de référence (diagnostic direct) qu'un anticorps sérique avec une protéine de référence (diagnostic indirect). En revanche, le diagnostic direct et le diagnostic indirect diffèrent fondamentalement par leur pratique et par l'interprétation de leurs résultats.

Schématiquement, le diagnostic indirect est plus simple dans sa réalisation mais plus complexe dans son interprétation. De fait, le sérum est facile à obtenir et, conservé congelé à -20°C , est un prélèvement analysable pendant de longues périodes. Les procédures de détection, fondées principalement sur des techniques immunoenzymatiques, sont en général bien automatisées et bien étalonnées. Cependant, la présence des anticorps dépend de la capacité du sujet

infecté à élaborer une réponse immune adaptée, et cette réponse immune est souvent altérée de façon physiologique ou pathologique, notamment dans les situations d'immunodépression.

Pour le diagnostic direct, les échantillons biologiques sont de natures très variées et exigent, d'une façon générale, plus de précautions pour leur prélèvement, leur transport et leur conservation que les prélèvements de sérums. Pour isoler un germe en culture cellulaire, l'infectiosité et la viabilité des cellules infectées présentes dans l'échantillon doivent être absolument préservées. De même, pour la recherche de composants in situ dans un échantillon cellulaire, il faut protéger la structure et la morphologie des cellules présentes. En revanche, la détection d'un antigène circulant dans le sérum exige moins de précautions car cet examen est très proche techniquement du diagnostic sérologique. Les résultats du diagnostic direct sont plus faciles à interpréter que ceux du diagnostic indirect puisqu'un résultat positif indique en général la présence d'une infection productive. Cependant, l'interprétation reste grandement influencée par la sensibilité et la spécificité de la technique de détection utilisée.

Pour le diagnostic d'une primo-infection, le diagnostic direct apparaît le plus souvent comme le meilleur choix car la séroconversion est souvent décalée par rapport à la phase aiguë de l'infection. Ceci est d'autant plus vrai si le sujet se trouve dans une situation d'immunodépression. Cependant, pour certains germes le profil de réactivité sérologique est d'emblée très informatif alors que le diagnostic direct est très difficile. D'une façon générale, la recherche d'une séroconversion garde sa valeur pour pallier un échec du diagnostic direct ou confirmer ses résultats.

4.1. Détection rapide d'antigènes

Ce sont les premiers tests à avoir été développés en particulier en virologie. L'utilisation des anticorps monoclonaux a permis d'augmenter leur spécificité. Les antigènes recherchés sont soit des constituants de l'agent pathogène, flagelles, pili ou protéines de surface, soit des antigènes solubles ou diffusibles retrouvés au siège de l'infection ou à distance, dans les liquides biologiques en particulier, soit enfin des toxines bactériennes.

Les méthodes de détection immunologique sont basées sur l'utilisation d'anticorps, dirigés spécifiquement contre un antigène donné. Les techniques utilisant des anticorps polyclonaux sont très sensibles mais peu spécifiques (risque de réactions croisées) alors que les tests avec des monoclonaux sont plus spécifiques (dirigés contre un seul épitope) mais peuvent manquer de spécificité en cas de variant présentant une absence ou une variation de l'épitope recherché. Pour une meilleure détection, il est préférable d'utiliser des tests avec un anticorps dirigé contre un antigène spécifique. La détection des principaux agents pathogènes se fait notamment grâce aux tests immunochromatographiques, aux tests de type « sandwich » comprenant les tests ELISA (Enzyme Link Immuno-Sorbent Assay). Les tests immunochromatographiques ou « tests sur bandelettes » sont les plus rapides et présentent des performances en constante progression mais leur sensibilité est souvent insuffisante pour une détection directe à partir de prélèvements cliniques alors que les tests de type « sandwich » sont plus spécifiques mais présentent plus de contraintes (matériels, connaissances techniques).

Les techniques essentiellement utilisées pour la détection d'antigènes sont :

a- Agglutination directe

Le principe est de visualiser la réaction antigène-anticorps par formation d'agrégats de particules. L'agglutination peut être pratiquée sur lame de verre (observation à l'œil nu ou au microscope optique), en tubes (où elle provoque une sédimentation accélérée, laissant un surnageant limpide), sur microplaques et sur gel pour les techniques les plus récentes.

On peut agglutiner des bactéries, l'antigène cible étant une structure de la paroi, de l'enveloppe ou de la capsule (exemple : sérogroupage des méningocoques).

b- Agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques

Elle permet la détection des antigènes polysaccharidiques solubles dans les liquides biologiques (sérum, liquide céphalo-rachidien [LCR], urines) en quelques minutes sur une simple carte (exemple: méningocoques, pneumocoques, *Haemophilus influenzae* b, streptocoque B).

c- Immunochromatographie ICT (ou immunocapture) sur membrane.

Cette technique commence à révolutionner le diagnostic rapide. L'échantillon à tester est déposé à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose. Si l'antigène recherché est présent, il se lie avec des anticorps spécifiques marqués à l'or colloïdal. Sous l'effet d'un tampon de lyse-migration, les complexes Ag-Ac migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane.

Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée. Un contrôle interne permet de valider chaque test. Ce contrôle interne est permis par une zone témoin qui doit être colorée pour que le test soit valide. Sa coloration témoigne de la migration des anticorps spécifiques de l'antigène marqué à l'or colloïdal mais non fixés à l'antigène, ces anticorps en excès sont capturés par des anticorps spécifiques fixés sur la membrane.

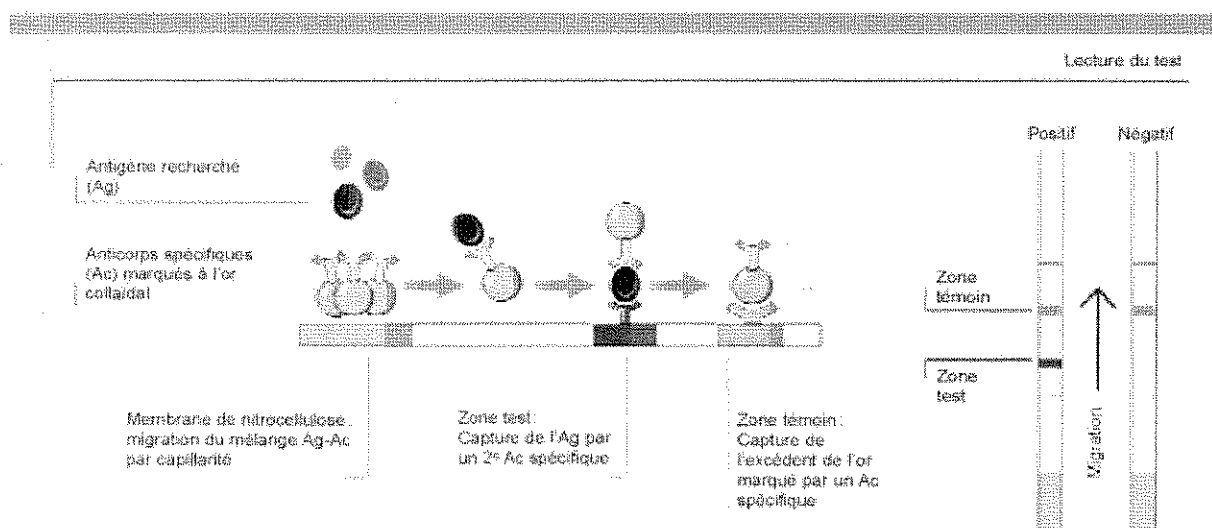


Figure 1. Schéma d'un test d'immunochromatographie (ICT)

Figure 1: Schéma d'un test d'immunochromatographie (10).

4.2. Détection rapide d'anticorps

La mise en évidence d'anticorps dirigés contre un agent infectieux ne suffit pas toujours à établir le rôle de cet agent dans une épidémie, la présence d'anticorps circulants indique seulement que l'antigène a été rencontré. Pour le diagnostic d'une infection aiguë, une augmentation significative du titre d'anticorps doit être constaté dans des sérums prélevés à deux semaines d'intervalle, ce délai

moyen de 15 jours reste évidemment incompatible avec un diagnostic rapide. Cependant, la détection des IgM demeure intéressante dans la perspective de surveillance d'une épidémie.

L'interprétation des résultats peut être difficile. La détection des anticorps dans un seul prélèvement de sérum est suffisante pour affirmer, selon le cas, l'existence d'une infection guérie ou d'une infection persistante. En revanche, le titre des anticorps sur ce sérum ne peut en aucun cas traduire le caractère récent ou ancien de l'infection car il dépend essentiellement de la qualité de la réponse immune de l'individu. La présence d'IgM est classiquement synonyme d'une infection récente mais on sait maintenant qu'ils réapparaissent au cours de l'évolution de nombreuses infections chroniques. En pratique, l'argument sérologique le moins contestable en faveur d'une infection récente est la mise en évidence d'une séroconversion grâce à l'analyse de deux sérums consécutifs, le premier étant séronégatif et le second séropositif, par la même technique. Une ascension significative du titre des anticorps observée sur deux sérums consécutifs a classiquement la même signification mais cette élévation correspond parfois à une réponse immune anamnétique chez un sujet anciennement infecté. Les principales techniques applicables sont :

a- Agglutination passive

Elle permet de visualiser un certain nombre de réactions antigènes-anticorps invisibles ou discrètes, en les faisant bénéficier de la grande sensibilité des réactions d'agglutination.

Leur principe général consiste à fixer un antigène soluble sur un support figuré inerte, n'intervenant pas directement dans la réaction Ag-Ac. La présence des

anticorps sera décelée par l'agglutination des microparticules sensibilisées par l'antigène correspondant et la formation de complexes visibles.

La nature des particules figurées utilisées comme support est variable. Il peut s'agir d'hématies traitées ou non, de particules de latex, etc.

L'agglutination passive se prête bien à l'urgence et sa grande sensibilité permet de l'utiliser pour faire la preuve d'un état d'immunité.

b- Immunodot sur membrane

C'est une technique Elisa réalisée sur une bande de nitrocellulose (ou autres) sur laquelle l'antigène natif ou purifié a été fixé. L'anticorps spécifique reconnaît l'antigène, la révélation s'effectue avec un anticorps monoclonal anti-IgG ou IgM selon les cas. La lecture permet un résultat qualitatif, parfois difficile à interpréter pour des taux d'anticorps faibles ;

c- Immunochromatographie sur membrane

L'échantillon de sérum ou de sang total est déposé sur une extrémité puis migre vers une zone où les anticorps se lient à un antigène conjugué à un révélateur de type colloïde de sélénium. Ce mélange continue de migrer jusqu'aux antigènes immobilisés sur la membrane au niveau de la fenêtre patient. Les anticorps conjugués au complexe antigène-révélateur se lient spécifiquement aux antigènes de la fenêtre patient et s'immobilisent en formant un trait de couleur. En l'absence d'anticorps spécifiques, le conjugué antigène colloïde traverse la fenêtre patient sans produire de signal.

4.3. Tests moléculaires (3, 11-14)

Les techniques moléculaires présentent un potentiel de développement très important. L'apparition récente des automates pour la réalisation des PCR va modifier le diagnostic des infections et rendre disponible ces techniques 24 heures sur 24. Les techniques moléculaires actuellement utilisées sont devenues plus sensibles et permettent d'éviter une partie importante des contaminations de laboratoire. Parallèlement, de nombreux progrès sont réalisés. Les premiers concernent l'acquisition des connaissances biologiques du génome des agents pathogènes. Les seconds concernent le développement de nouvelles techniques permettant de déterminer simultanément de nombreuses cibles correspondant à l'ensemble des agents potentiellement responsables d'une infection en fonction de son site.

a- PCR classique (Polymerase Chain Reaction)

La PCR est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase (la plus connue étant la Taq ADN polymérase). Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence désirée.

Après 30 cycles on obtient en moyenne une amplification de 10^6 . Après amplification, la cible est détectée sur un gel d'agarose après addition d'un agent intercalant (cf. BET, bromure d'éthidium) et exposition aux UV;

Le problème majeur de la PCR est celui de la contamination et donc de faux positifs. Une autre limite est le manque de fidélité de la Taq polymérase si le produit de l'amplification doit être sous-cloné, enfin il apparaît souvent des amplifications parasites dont il n'est pas toujours possible de se débarrasser.

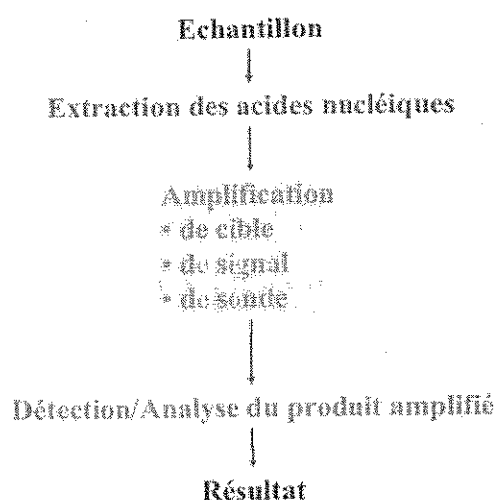


Figure 2 : Principales étapes d'analyse d'un échantillon en biologie moléculaire (12).

b- RT-PCR (reverse-transcription PCR)

Après extraction d'un ARN, celui-ci est transformé en ADN complémentaire (ADNc) par transcription inverse. Dans un second temps, l'ADNc est amplifié par PCR.

c- Nested-PCR

Il s'agit d'une PCR avec deux couples d'amorces, un couple d'amorces (couple externe) effectuant une première PCR suivie d'une seconde PCR à l'aide d'un second couple d'amorces (couple interne) s'hybridant à l'intérieur du premier couple. Deux PCR successives sont donc réalisées. Cette PCR « nichée » (nested) permet d'augmenter la sensibilité du système mais augmente également considérablement le risque de contamination.

d- LCR (Ligase Chain Reaction)

Il s'agit d'une technique de type amplification de sonde, elle n'est donc pas sujette au problème de contamination. Après hybridation de quatre sondes adjacentes (deux sondes spécifiques du brin sens et deux spécifiques du brin antisens), les sondes sont collées à l'aide d'une ligase à condition que la complémentarité soit absolue (absence de mésappariement).

Cette technique repose sur la propriété des DNA ligases qui ne sont capables de ligaturer deux séquences de l'ADN que si ces séquences sont parfaitement hybridées avec leur brin complémentaire, sans trou ni mésappariement au point de ligation. Comme la PCR le système est cyclique et met en jeu des variations de température.

Elle permet de mettre en évidence la présence ou l'absence d'une séquence donnée, elle est donc une technique de choix en infectiologie.

e- ADN branché (bdNA)

Cette technique d'amplification du signal, elle permet de détecter et de quantifier aussi bien des ARN que des ADN. Elle est basée sur l'hybridation spécifique à partir de l'ADN ou de l'ARN cible d'un certain nombre de sondes dont certaines sont chimiquement branchées (elles n'existent pas à l'état naturel). Le signal est révélé à l'aide de sondes marquées à la phosphatase alcaline. Ce système est commercialisé par la société Bayer sous la marque Versant®. Son avantage principal est le manque du risque de contamination, par contre l'inconvénient est qu'elle est moins sensible.

f- PCR multiplex

Cette variante permet d'amplifier au cours d'une même PCR plusieurs régions différentes. Pour cela il suffit d'ajouter une série de couples d'oligonucléotides (et non un seul couple) dans le milieu d'incubation. Chacun permettre d'amplifier une région différente de l'ADN. Il faut que les tailles de chacun des amplicons soient suffisamment différentes pour être discriminées, le produit d'amplification est ensuite analysé par électrophorèse. La mise au point d'une PCR multiplex est particulièrement complexe car il est impératif que toute hybridation entre chacun des oligonucléotides utilisés soit impossible.

La PCR multiplex permet donc la mise en évidence de plusieurs cibles dans un seul tube. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle (PCR classique), par PCR-Elisa ou par PCR en temps réel.

g- PCR–Elisa

Le produit amplifié est marqué au cours de la PCR grâce à une des deux amorces marquées. Après fixation en microplaque à l'aide d'une sonde capture, la révélation est effectuée à l'aide d'un anticorps spécifique. La société BAG (Biologische Analysensystem GmbH) commercialise en Allemagne une PCR–Elisa multiplex.

h- PCR compétitive

Il s'agit d'une technique de quantification des acides nucléiques par PCR développée avant la description de la PCR en temps réel. Dans cette technique, la cible est coamplifiée en présence d'un acide nucléique titré de même nature et de séquence proche qui fait office de standard interne. Cette technique est encore utilisée dans certains kits de biologie moléculaire (par exemple, les kits de la gamme Amplicor™, société Roche).

Mais la PCR et les méthodes développées par la suite, dont la *ligase chain reaction* ou l'ADN branché, se prêtent mal au diagnostic rapide avec un délai de réponse variant de 3 à 16 h. Le recours à l'électrophorèse, à l'hybridation ou au séquençage pour caractériser les produits amplifiés augmente les délais. L'intérêt se tourne actuellement vers l'utilisation d'automates de PCR en temps réel.

i- PCR en temps réel

En sus des amorces utilisées pour la PCR proprement dite, une ou deux sondes (selon la technique utilisée) est/sont ajoutée(s) au milieu réactionnel. La/les sonde(s) est/sont marquée(s) par un fluorophore permettant la détection directe du produit amplifié.

Le pionnier dans le domaine de la PCR quantitative en temps réel a été la société Applied Biosystems avec le système TaqMan®. De nombreuses variantes ont ensuite été introduites. Elles sont pratiquement toutes basées sur le même principe du transfert d'énergie par résonance en fluorescence (FRET): lorsqu'une substance fluorescente, ou fluorochrome, a été excitée par un rayonnement électromagnétique ayant la longueur d'onde requise (qui est fonction du type de fluorochrome), elle reprend son état initial quelques microsecondes plus tard en émettant une onde électromagnétique dont la longueur d'onde est elle aussi fonction du fluorochrome, et qui se situe en général dans le visible. La quantité de lumière émise est proportionnelle au nombre de molécules fluorescentes présentes.

La fluorescence est utilisée pour mesurer l'accumulation des produits de la réaction de polymérisation en chaîne après chacun de ses cycles. Les mesures de fluorescence permettent d'extrapoler la quantité d'ADN cible présent dans l'échantillon avant l'amplification ; la détection et la quantification sont ainsi obtenues dans un même test.

La PCR en temps réel présente également l'intérêt de pouvoir être effectuée en PCR multiplex. Par ailleurs, la PCR en temps réel utilise un système fermé donc il n'y a plus aucun risque de contamination puisqu'il n'est plus nécessaire d'ouvrir le tube pour analyser le produit de PCR. Les tubes sont évacués et

détruits sans jamais avoir été ouverts. En plus, dans la majorité des cas, une enzyme l'uracile N ADN glycosylase est ajoutée dans le tube ce qui diminue encore le risque de contamination.

Le développement de la PCR en temps réel a été une révolution car, grâce à cette variante, il est possible maintenant de déterminer le nombre de copies d'une séquence de l'ARN ou de l'ADN avec une étonnante précision sur une très large gamme de concentrations puisque la quantification est parfaitement linéaire sur une échelle de concentrations de 1 à 100 000.

Pour réaliser des PCR en temps réel il faut disposer d'un appareil particulier qui permet à la fois de faire une PCR et de mesurer à tout moment la fluorescence du milieu réactionnel. Le LightCycler®, développé par Roche™, dont l'avantage est de travailler avec des tubes capillaires dont l'inertie thermique est très faible, apparus ce qui permet de diminuer considérablement la durée des PCR. Depuis de nombreux autres appareils sont apparus sur le marché, y compris des systèmes robotisés à très haut débit.

Il est donc évident que pour les industriels, la PCR en temps réel représente un enjeu considérable pour l'avenir, et cela les a conduits à développer des systèmes proches de la technique TaqMan® comme les balises moléculaires (molecular beacons) ou les scorpions.

L'inconvénient de toutes ces techniques est que les sondes sont difficiles à synthétiser et sont donc de coût élevé.

Une autre possibilité bien plus économique consiste à utiliser une substance, le SybrGreen®, qui a la propriété de présenter une fluorescence verte lorsqu'elle se fixe à l'ADN double brin. Il suffit donc d'ajouter cette substance à la réaction de PCR et la fluorescence verte qui sera mesurée tout au long de la PCR est proportionnelle à la quantité de l'ADN double brin présent, donc à la quantité de

produit PCR formé. L'avantage est le coût car aucune sonde supplémentaire n'est nécessaire. L'inconvénient majeur est le manque de spécificité car les produits d'amplification parasite donneront un signal aussi bien que les produits d'amplification spécifique.

La réaction PCR en temps réel, ou quantitative, est déjà considérée comme un outil valable, rapide, sensible et spécifique pour la détection d'agents pathogènes émergents, les études d'épidémiologie moléculaire et la mise en évidence de résistances aux antibiotiques.

5. Phase pré-analytique (2, 3)

La qualité des résultats microbiologiques dépend de celle de la phase pré-analytique. Il s'agit en effet d'une phase « critique » pour laquelle les modalités de prélèvement, de transport et de conservation doivent être de qualité optimale. Dans le cas contraire, les résultats des analyses risquent de n'avoir aucune utilité clinique.

5.1. Recueil et traitement des échantillons

La première étape est le recueil des échantillons (sang, LCR, urine, selle, exsudat rhinopharyngé, etc.) et leur conditionnement pour une analyse immédiate, une conservation prolongée ou un transport.

À l'exception des tests de biologie moléculaire, les prélèvements sont effectués avec le matériel classique (tubes pour échantillons sanguins, flacons pour urines et selles, écouvillons pour recueil d'exsudats).

Des milieux de transport peuvent être nécessaires, à visée bactériologique ou virologique. Il en existe de nombreuses références. Pour les tests de biologie moléculaire, des tubes spécifiques sont actuellement commercialisés. À partir de sang total prélevé sur citrate de sodium, il est possible de réaliser, dans le tube primaire, le transport de l'échantillon et, après centrifugation, la séparation de la couche mononuclée grâce à un gel et une solution de Ficoll agissant comme un gradient de densité. L'avantage est la diminution du risque de contamination et la réduction du matériel consommable.

Dès le prélèvement de l'échantillon biologique, des modifications du profil d'expression des gènes peuvent intervenir par dégradation spécifique et non spécifique des ARN et par induction transcriptionnelle. Il est ainsi nécessaire de stocker immédiatement l'échantillon biologique dans l'azote liquide ou à -80°C avant l'extraction. Toutefois, pour éviter les dégradations irréversibles et des analyses inexacts de l'expression des gènes, des solutions de stabilisation ont été développées par différents industriels. Ces réactifs, en perméabilisant rapidement les cellules, stabilisent immédiatement les ARN (RNAlater® Ambion et Qiagen pour les tissus et les cellules ; système Preanalytix BD/Qiagen® pour le sang), ce qui permet d'obtenir un délai avant l'extraction. Les échantillons ainsi traités peuvent être conservés plusieurs jours à température ambiante (1 jour à 37°C ; 7 jours à $18-25^{\circ}\text{C}$) voire plusieurs semaines à -20°C ou -80°C (après 24 h à 4°C) sans dommage pour l'ARN. D'autres systèmes, plus performants, permettent la conservation des acides nucléiques, en particulier l'ARN qui se dégrade facilement, ceci à partir de sang

total à température ambiante. Des caisses isothermes avec des gels eutectiques sont utilisées lorsqu'il est nécessaire de maintenir une chaîne de froid pour le transport des échantillons.

5.2. Équipement minimum nécessaire

Les tests détectant des antigènes ne nécessitent généralement aucun traitement préalable de l'échantillon ; ils sont prêts à l'emploi, sans reconstitution de réactifs. C'est le cas du Now ICT Malaria™ (Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret) directement utilisable à partir d'une goutte de sang total, ou du test Diarlex Rota Adeno™ (Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret) pratiqué sur un échantillon de selles. Les tests recherchant des anticorps imposent une centrifugation préalable des tubes de sang. Les tests moléculaires nécessitent un appareillage plus sophistiqué. Ainsi, même en situation d'isolement et de pénurie de moyens, la réalisation de tests rapides ne peut se concevoir sans l'équipement minimum et l'environnement d'un laboratoire mobile de campagne. Au niveau de l'infrastructure, il est souhaitable de disposer d'une pièce spécifique, propre, étanche, bien éclairée et pouvant être fermée à clé. Les matériels sont conditionnés dans des cantines pour le transport. Le fonctionnement nécessite une alimentation en électricité (groupe électrogène, onduleur, rampes de prises électriques et adaptateurs). Un microscope optique est indispensable, équipé si possible d'une lampe à fluorescence, ainsi qu'une centrifugeuse de paillasse avec des rotors adaptables aux différents tubes standard.

Des étuves de petites dimensions et un bain-marie peuvent être utiles. Il est difficile de disposer d'un système de réfrigération idéal pour la conservation de réactifs et des échantillons, la carboglace étant rarement disponible, et les congélateurs $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ peu adaptés à un laboratoire de campagne (alimentation en CO_2). Il est préférable de congeler à $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ plutôt qu'à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ du fait de la fragilité des ARN.

L'azote liquide, transportable en bonbonnes, est le meilleur moyen de cryoconservation. Des jerricans d'eau distillée sont également à prévoir.

Le module de biologie moléculaire comprend l'automate de PCR en temps réel, un ordinateur portable, une microcentrifugeuse et une alimentation électrique indépendante. L'extraction des acides nucléiques se fait par simple chauffage pour l'ADN, protocole suffisant pour la plupart des bactéries, mais nécessite une trousse d'extraction chimique pour l'ARN.

L'élimination des déchets de laboratoire, en particulier les objets piquants et les consommables souillés, doit se faire en emballages plastiques pour les déchets contaminés qui seront incinérés.

II. APPLICATIONS EN SITUATION EPIDEMIQUE

1. Syndromes fébriles

1.1. Problématique

Il n'est pas rare que des cas groupés de fièvre d'origine inexplicée soient signalés aux autorités sanitaires. Les étiologies les plus fréquentes sont le paludisme, la dengue (les arboviroses en général), les hépatites virales, les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes puis les infections respiratoires et gastro-intestinales. Première endémie parasitaire mondiale, le paludisme reste une des maladies infectieuses les plus meurtrières. C'est le premier diagnostic à évoquer et éliminer car il s'agit d'une urgence médicale qui peut mettre rapidement en jeu le pronostic vital. Un adage simple résume à lui seul l'orientation clinico-épidémiologique : « *Toute fièvre sous les tropiques ou au retour d'une zone tropicale est un paludisme jusqu'à preuve du contraire* ».

En dehors du paludisme, plusieurs maladies fébriles épidémiques peuvent avoir une expression clinique peu évocatrice ou trompeuse, d'où la difficulté d'établir un diagnostic à partir seulement des signes cliniques. La localisation géographique du foyer épidémique, l'âge des malades, l'allure de la courbe thermique, l'existence de symptômes associés et parfois, le taux de létalité peuvent orienter le diagnostic, mais le diagnostic de certitude ne peut se faire qu'après avoir les résultats des examens biologiques (3, 15, 16).

1.2. Tests disponibles

1.2.1. Paludisme

Le paludisme est un des principaux fléaux des pays tropicaux, responsable de 300 à 400 millions de malades chaque année, avec une mortalité atteignant 1 à 2 millions pendant la même période (17). Malgré cette incidence élevée, le diagnostic n'est pas toujours fait dans les meilleurs délais, exposant le patient à une évolution vers un accès grave (18).

a- Diagnostic biologique classique: Les techniques microscopiques

Le paludisme nécessite un diagnostic rapide, par prélèvement veineux au pli du coude ou au bout du doigt, pour un traitement mis en oeuvre le plus précocement possible. Les techniques classiques de référence sont le frottis sanguin et la goutte épaisse (17). La réalisation d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse nécessite une bonne technicité, une habitude de lecture et une durée de temps difficilement compressible. La goutte épaisse est certainement la moins adaptée aux conditions d'urgence car elle nécessite un personnel très entraîné (modifications morphologiques des *Plasmodium*, lyse des hématies), et un long temps de séchage (3).

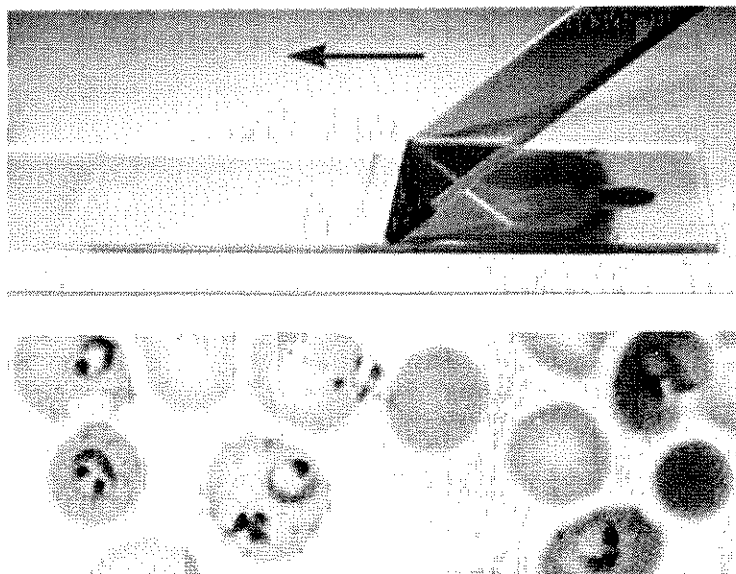


Figure 3 : Frottis sanguin (17).

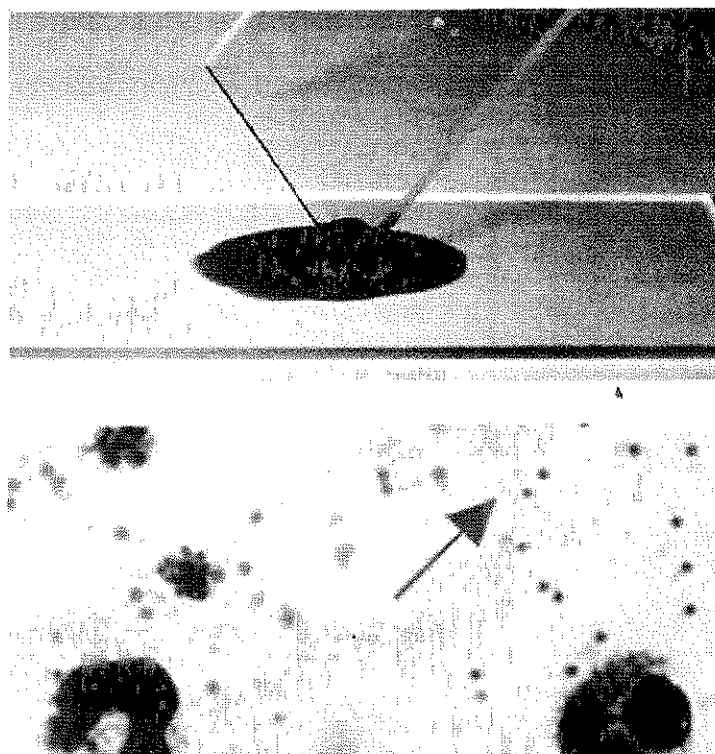


Figure 4 : Goutte épaisse (17).

b- Le QBC® Malaria Test

Le QBC Malaria (*Quantitative Buffy Coat-QBC™*, Becton- Dickinson, Etats-Unis) est une aide au diagnostic. Il s'agit d'une amélioration de la lecture microscopique des lames par fluorescence (19). Il combine une concentration sur gradient de densité, par centrifugation d'un tube capillaire rempli de sang, et une coloration des acides nucléiques par l'orange d'acridine. La lecture est faite sur un microscope avec éclairage halogène bleu. La présence d'éléments fluorescents verts brillant dans la couche érythrocytaire signe la présence des structures contenant de l'ADN que sont les plasmodies (20).

Ce test est très sensible, permettant la détection de 50 trophozoïtes par μl , et a donc la meilleure sensibilité des méthodes microscopiques. Il est très rapide (10 minutes d'exécution) et se lit en 5 minutes maximum, beaucoup plus aisément que la goutte épaisse (20).

La commercialisation des réactifs rencontre actuellement des difficultés, et il est en passe d'être abandonné, à moins qu'un nouveau fabricant n'en reprenne la distribution (19).

c- Les tests de diagnostic rapide (TDR)

Ils sont basés sur une immuno-chromatographie du sang veineux ou capillaire appliqué sur une bandelette généralement contenue dans un cadre de plastique dit savonnette qui contient l'équipement immuno-colorimétrique nécessaire à la mise en évidence d'antigènes palustres (19).

Le principe de ces tests est de détecter une protéine spécifique des plasmodiums. Ils doivent, selon les recommandations de l'OMS, être aussi performants que la

microscopie optique pratiquée en routine par un technicien entraîné. Leur sensibilité doit être supérieure à 95 %, et le seuil de détection minimum est fixé à 100 parasites par microlitre (soit une parasitémie de 0,002 %) (21).

Ils recherchent la protéine HRP2, les enzymes LDH ou l'aldolase contenues dans les plasmodies (18). Ces tests sont actuellement les plus pratiqués dans les laboratoires d'urgence. Ils sont réalisés en une quinzaine de minutes, sans aucun matériel particulier et la lecture se fait à l'œil nu, par l'apparition d'une bande bien visible (17).

➤ Détection de l'antigène HRP2

L'antigène soluble HRP2 (Histidine Rich Protein 2) est une glycoprotéine spécifique de *P. falciparum* présente dans la membrane et le cytoplasme du parasite, elle est aussi sécrétée et se retrouve dans le plasma. Elle est produite uniquement par les formes asexuées et les gamétocytes jeunes (20).

Sa détection par immunochromatographie sur sang total est réalisable en moins de 10 min avec une spécificité voisine de 90 %. La sensibilité varie de 83 à 100 %, le test pouvant être mis en défaut par les faibles parasitémies, l'association avec un *P. vivax*, ou par une forte proportion de gamétocytes. Plusieurs échantillons peuvent être passés simultanément (3). Les tests recherchant l'antigène HRP2 sont spécifiques de *P. falciparum*, mais cette glycoprotéine peut persister plus de 15 jours dans le sang périphérique après un traitement bien conduit, ce qui exclut une surveillance post-traitement basée sur sa détection. Les premiers anticorps monoclonaux anti-HRP2 étaient des IgG, ce qui a conduit à de faux diagnostics positifs en présence de facteurs rhumatoïdes. Avec

les tests actuels, ce phénomène a été drastiquement réduit par utilisation de monoclonaux IgM (20).

➤ Détection de la LDH

La pLDH (*Plasmodium* lactate déshydrogénase) est une enzyme glycolytique produite par les formes asexuées et sexuées de tout âge. Son activité est proportionnelle à la parasitémie, et sa clairance rapide rend possible le suivi post-thérapeutique. Il existe plusieurs isoenzymes de la pLDH. Les trousses commercialisées détectent la pLDH de *P. falciparum*, celle de *P. vivax*, ainsi que la Pan pLDH commune aux quatre espèces. Leur sensibilité pour la détection de *P. falciparum* et *P. vivax* serait de l'ordre de 100 à 300 parasites/μL, comparable à celle du frottis et donc acceptable. En revanche, leur pouvoir de détection des paludismes à *P. ovale* et *P. malariae* est médiocre. En conséquence, il n'est pas rare, en cas d'infection par une de ces deux espèces, d'avoir un frottis positif et un test immunochromatographique négatif (20).

Les tests utilisant la LDH sont spécifiques de *P. falciparum* ou de *P. vivax* (ou communs à toutes les espèces pour certains) et restent encore positifs en présence de gamétocytes, même si les trophozoïtes ont disparu (19).

➤ Détection de l'aldolase

L'aldolase est une enzyme du cycle glycolytique des plasmodies. Parmi les différentes isoenzymes existantes, seule celle de *P. vivax* et celle commune aux quatre espèces sont détectées. Concernant le paludisme à *P. vivax*, les tests détectant l'aldolase apparaissent moins performants que ceux recherchant les

pLDH. Pour les infections à *P. ovale* et *P. malariae*, la détection de la pan-aldolase a de mauvaises performances, similaires à celles obtenues avec la recherche des pLDH parasitaires (20).

Les tests recherchant l'aldolase sont moins spécifiques de *P. falciparum* car l'antigène est commun à toutes les espèces plasmodiales (19).

Tableau I. Sensibilité relative des tests de diagnostic rapide en fonction de la nature de l'antigène détecté (20).

Antigènes détectés	Espèces plasmodiales détectées	Sensibilité
HRP2	<i>P. falciparum</i>	++++
Pf. pLDH	<i>P. falciparum</i>	+++
Pv. pLDH	<i>P. vivax</i>	+++
Pv. aldolase	<i>P. vivax</i>	++
Pan pLDH	<i>Plasmodium sp.</i>	- *
Pan aldolase	<i>Plasmodium sp.</i>	- *

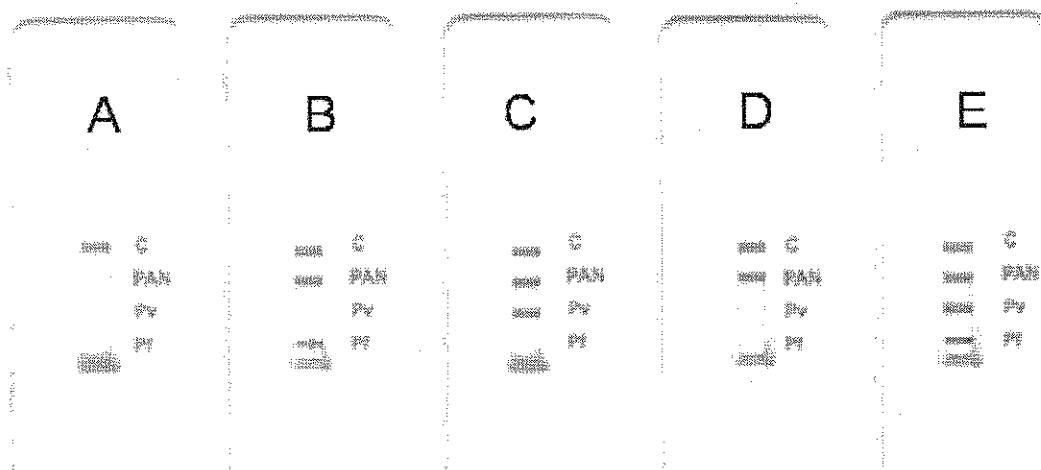
* données pour la détection de *P. ovale* et de *P. malariae*

d- Les troussees disponibles

Plusieurs sont actuellement commercialisées, les tests associent souvent sur une même bandelette plusieurs systèmes de détection, ajoutant alors à la recherche de *P. falciparum* celle de *P. vivax* et/ou des trois autres espèces.

La plupart de ces tests sont basés sur la recherche de l'HRP2 pour le diagnostic du paludisme à *P. falciparum*, avec une exception pour le test Optimal®

(Diamed) qui détecte la pLDH de *P. falciparum*. Pour le diagnostic des espèces autre que *P. falciparum*, les tests recherchent la pLDH de *P. vivax* et/ou une panpLDH. L'exception est le test Binax Now® Malaria (Inverness Medical) qui détecte une aldolase spécifique de *P. vivax* et une autre commune aux quatre espèces plasmodiales (20).



Pf : bande spécifique de *P. falciparum*, Pv : bande spécifique de *P. vivax*, PAN : bande spécifique des 4 espèces, C : bande contrôle assurant la bonne exécution du test.
 A : absence d'infection plasmodiale.
 B : infection à *P. falciparum* (possible coinfection *P. falciparum* avec *P. ovale* ou *P. malariae*).
 C : infection à *P. vivax* (possible coinfection *P. vivax* avec *P. ovale* ou *P. malariae*).
 D : infection à *P. ovale* ou *P. malariae*.
 E : coinfection *P. falciparum* avec *P. vivax* (possible présence associée de *P. ovale* ou de *P. malariae*).

Figure 5: Différentes situations rencontrées avec un test détectant les antigènes HRP2 (spécifiques de *P. falciparum*), détectant des antigènes spécifiques de *P. vivax* (LDH ou aldolase) et des antigènes spécifiques des quatre espèces (20).

e- Avantages et limites des TDR du paludisme

D'une façon générale, les tests rapides ont de remarquables valeurs pronostiques positives et négatives. Ils sont sensibles, permettant de détecter jusqu'à 200 trophozoites par microlitre, voire moins (19). Mais ils ne permettent pas de mesurer la parasitémie et ne différencient pas toujours *P falciparum* des autres espèces. Surtout, ils ne permettent pas de juger de la guérison. Ils restent positifs à distance du traitement ou en présence de gamétocytes, alors même que l'accès palustre est terminé. Pour toutes ces raisons, ils doivent être impérativement confirmés par le frottis sanguin (17, 19).

f- Diagnostic moléculaire

Depuis sa première description, l'utilisation de la PCR dans le diagnostic de la malaria s'est imposée. Différents systèmes de PCR ont été développés : PCR classique ou en temps réel, multiplex, révélation ou lecture sur gel d'agarose, SyberGreen[®], ou avec différentes sondes d'hybridation.

Sur le plan de la sensibilité, de nombreux systèmes de PCR revendiquent un seuil de sensibilité de 0,5 à 0,005 parasites/ μ L pour la détection de *P falciparum*. La prudence est cependant de mise car, en l'absence de standardisation, les performances des différentes PCR sont difficilement comparables. Concernant la spécificité, la PCR, de par sa nature, est un outil très performant lorsqu'elle est correctement utilisée.

L'intérêt de la PCR par rapport à la microscopie réside dans sa capacité à diagnostiquer un paludisme accompagné d'une très faible parasitémie, telle

qu'elle se rencontre lors d'une infection décapitée par la prise d'antimalariques, souvent en automédication, ou chez des patients immunisés. Elle assure aussi l'exactitude du diagnostic de l'espèce plasmodiale incriminée, ce qui concerne surtout les plasmodies autres que *P falciparum*. L'apport essentiel de la PCR tient à sa valeur prédictive négative élevée, venant de son excellente sensibilité : un résultat négatif permet d'écarter formellement un accès palustre évolutif (20).

Les tests rapides constituent un progrès majeur pour le diagnostic du paludisme, pour traiter plus tôt et éviter les traitements probabilistes. Ils ont de remarquables valeurs pronostiques positives et négatives. Ils sont sensibles, mais ils doivent être impérativement confirmés par une lecture optique.

2. Syndromes ictérohémorragiques

2.1. Problématique

Si la fièvre jaune reste encore cantonnée dans ses aires d'endémicité africaine et américaine, la dengue s'est signalée au cours de la dernière décennie par une extension vers de nouveaux territoires, une urbanisation croissante avec une tendance épidémique marquée et l'augmentation des formes hémorragiques justifiant une place de choix parmi les maladies émergentes. Le diagnostic des agents de FHV (fièvres hémorragiques virales) est long, difficile et dangereux. L'association de méthodes directes et indirectes, souvent nécessaire, requiert un équipement important.

2.2. Tests disponibles

2.2.1. Dengue

a- Épidémiologie

La dengue est une des plus importantes arboviroses au monde en terme de mortalité et de morbidité. Selon l'OMS, près de 100 millions d'infections ont lieu chaque année, dont 500 000 sont responsables de formes sévères et 30 000 de décès dont la plupart chez des enfants. À ce titre, la dengue est considérée comme une maladie ré-émergente. La dengue, arbovirose des régions tropicales et subtropicales, sévit aujourd'hui dans plus de 100 pays, principalement en

Asie, en Amérique latine et dans le Pacifique, et plus modérément en Afrique (22).

b- Clinique

L'agent responsable de cette maladie est un virus appartenant à la famille des *Flaviviridae* genre *Flavivirus*, transmis à l'homme par un moustique de genre *Aedes*. Quatre sérotypes de dengue (DEN-1 à DEN-4) ont été identifiés.

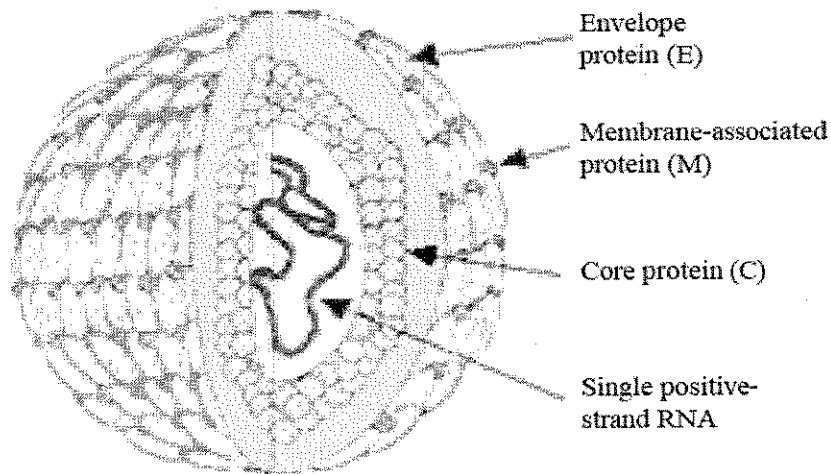


Figure 6 : Le virus de la dengue et ses différentes protéines constitutantes (23).

L'infection par le DEN peut être asymptomatique ou bien engendrer un large spectre de symptômes cliniques allant d'une simple fièvre (dengue classique), associée à des céphalées, myalgies et arthralgies difficile à dissocier d'autres infections virales jusqu'à des syndromes hémorragiques (dengue hémorragique avec ou sans syndrome de choc) (22).

c- Diagnostic biologique

c. 1. Diagnostic d'infection au cours de la phase aiguë de l'infection (22)

c. 1.1. Détection moléculaire par RT-PCR

Cette technique peut être effectuée à partir de sérum, de plasma, de moustiques, de cellules infectées ou de biopsies. Ce diagnostic moléculaire offre l'avantage de pouvoir détecter le génome viral indépendamment de l'état structural du virus dans l'échantillon biologique initial, qu'il soit partiellement dégradé, non viable ou encore complexé à des anticorps. Toutefois, comme toute technique d'amplification génique, le risque de contamination lors de la manipulation des tubes existe.

c. 2. Diagnostic au cours de la phase tardive de l'infection (22)

Différents tests sérologiques sont proposés pour réaliser le diagnostic d'infection par le DEN incluant les tests d'inhibition de l'hémagglutination, de séroneutralisation et plus récemment les techniques immuno-enzymatiques permettant la détection d'IgM et IgG spécifiques de la dengue. Cependant, le diagnostic sérologique de la dengue reste toujours un diagnostic probabiliste d'infection par ce virus dans les zones où co-circulent d'autres flavivirus. En effet, l'existence de réactivités sérologiques croisées entre différents flavivirus tels que les virus de la fièvre jaune et de l'encéphalite de Saint-Louis peut rendre difficile l'interprétation des résultats. En plus, aucun test immuno-enzymatique ne permet à l'heure actuelle de déterminer le sérotype impliqué.

c. 3. Tests de diagnostic rapides : détection sérique de l'antigène NS1

La glycoprotéine NS1 est une protéine virale non structurale exprimée par le DEN dont le rôle dans la pathogenèse de la maladie n'est pas encore clairement défini. Des études ont montré que cette protéine est retrouvée à des taux élevés dans le sérum des patients infectés par DEN au cours de la phase aiguë de l'infection. Cette découverte a ouvert une nouvelle voie dans le diagnostic précoce d'infection par le DEN. Ainsi, en 2006, un test ELISA basé sur la détection de cet antigène par immunocapture a été commercialisé par les laboratoires Bio-Rad (Marnes-La Coquette, France). Ce test permet la mise en évidence de l'antigène viral NS1 dans le sérum des patients dès l'apparition des premiers signes cliniques. Il offre par là même la possibilité de poser un diagnostic de certitude d'infection par le DEN (22, 24).

D'autres laboratoires pharmaceutiques que Bio-Rad ont suivi la même voie. Ainsi, les laboratoires Panbio (Brisbane, Australie) ont aussi commercialisé un test d'immunocapture de la protéine NS1. Plus récemment, un test d'immunochromatographie sur bandelette (Bio-Rad) permettant la détection de la protéine virale NS1 a été commercialisé. Ce test, facile à réaliser sur le terrain et plus rapide que le Platelia™ Dengue NS1 Ag, permet de poser un diagnostic d'infection précoce en 15 minutes (22).

L'étude de juin 2009 de la HAS (Haute Autorité de la Santé) fait évoluer considérablement la stratégie diagnostique de la dengue. La détection de l'antigène NS1, par technique immunoenzymatique ou par technique immunochromatographique, permettra désormais le diagnostic précoce de la dengue, du 1^{er} au 5^e jour après l'apparition des signes cliniques. Un résultat

positif permet de poser un diagnostic plus précoce de la dengue et ainsi une meilleure prise en charge médicale en évitant un traitement inapproprié pour d'autres maladies. Cependant, en cas de résultat négatif, le risque de « faux négatif » n'est pas négligeable. Un résultat négatif doit donc conduire à la poursuite de la stratégie diagnostique de la dengue.

Des études complémentaires évaluant l'efficacité de la détection de l'antigène NS1 par technique immunochromatographique, notamment en comparaison à la technique immunoenzymatique, sont nécessaires (24).

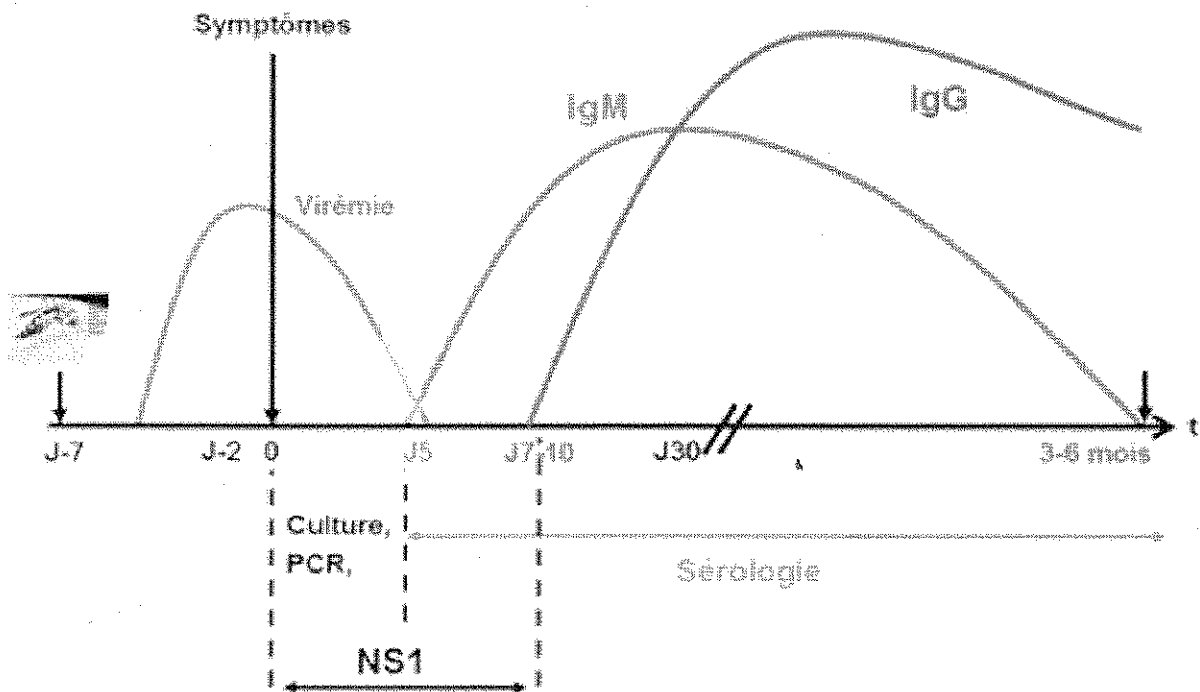


Figure 7 : Cinétique des antigènes et anticorps lors d'une primo-infection de dengue (23).

➤ Les troussees disponibles

- **Le test NS1 Ag STRIP® commercialisé par Bio-Rad (Hercules, USA) :** c'est un test individuel utilisant l'immunochromatographie sur bandelette pour la détection qualitative de l'antigène NS1 dans le sérum ou le plasma humain (notice du fabricant).
- **Le test Dengue Duo® (NS1/IgM/IgG) commercialisé par Standard Diagnostics (Kyonggi-do, Corée du Sud) pour la détection de l'antigène NS1 et des anticorps IgM et IgG.**

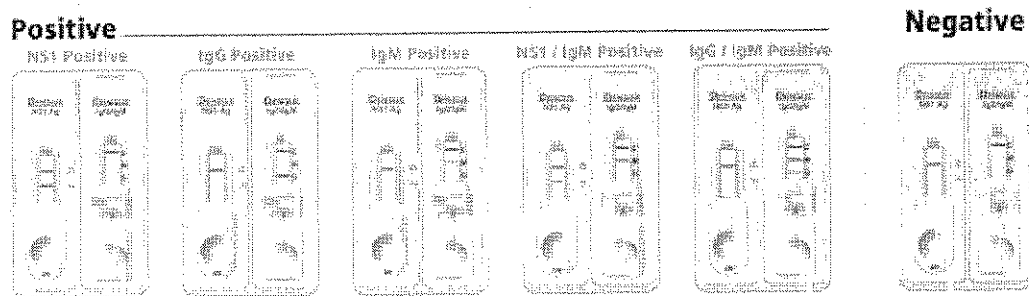


Figure 8 : Les résultats possibles de la détection de NS1 et des IgG/IgM par le test Dengue Duo® (notice du fabricant) (23).

➤ Sensibilité et spécificité

La spécificité des tests disponibles dans le commerce est généralement élevée (100 %) et leur sensibilité est variable. La sensibilité des tests NS1 dépend du jour de la maladie. Ces tests ont une sensibilité plus élevée les 3 premiers jours qui suivent l'apparition des symptômes. Le niveau de NS1 sécrétée est en corrélation étroite avec la virémie des patients atteints de dengue hémorragique.

La combinaison des tests NS1 et MAC ELISA améliore le diagnostic de la maladie en phase aiguë (23).

➤ Limites

Bien qu'offrant de bonnes performances en terme de sensibilité et de spécificité, ce test ne permet cependant pas d'identifier le sérotype viral mis en cause dans l'infection. De même, ce test présenterait une sensibilité moindre pour les sérums issus de patients développant une dengue secondaire du fait de la présence d'IgG spécifiques exprimées très précocement lors d'une dengue secondaire. Ces anticorps se complexeraient aux protéines virales NS1 solubles, empêchant ainsi la détection de NS1 lors de la réalisation du test. De ce fait, les résultats obtenus avec ces tests sont donc à interpréter avec prudence lors de leur utilisation dans les régions endémiques où une grande majorité des patients n'est pas naïve vis-à-vis d'une infection par le DEN (22).

Tableau II : Principales caractéristiques des techniques de diagnostic biologique de la dengue (23).

	Diagnostic précoce	Réalisation facile	Identification du sérotype
Isolement et caractérisation du virus	non	non	oui
Amplification génique (RT-PCR)	oui	non	oui
Détection de l'Ag NS1	oui	oui	non
Détection des IgM/IgG spécifiques	oui	oui	non

À défaut de disposer de vaccin ou de traitement spécifique, un test rapide, spécifique et facilement réalisable s'avère important pour confirmer l'infection pendant la phase aiguë de la maladie et permettre une prise en charge précoce et efficace. Pour permettre également de faire le diagnostic différentiel et donc de réaliser des économies importantes en évitant l'utilisation coûteuse et inutile d'antibiotiques. Il peut aussi aider à la lutte antivectorielle en permettant d'identifier rapidement les premiers cas dans une zone nouvellement infestée.

3. Pneumopathies

3.1. Problématique

Une épidémie d'infections respiratoires aiguës peut être attendue, comme la dernière pandémie de grippe H1N1 appelée aussi « porcine ». Outre le virus grippal, d'autres agents viraux (*Paramyxovirus influenzae*, VRS, adénovirus) et bactériens (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*), souvent isolés au cours de syndromes pseudogrippaux, peuvent être recherchés simultanément. Dans certains contextes particuliers, il faudrait plutôt s'attacher à la détection de pathogènes émergents ou intentionnellement disséminés: *Bacillus anthracis* et *Yersinia pestis*, sans oublier les souches mutirésistantes de *Mycobacterium tuberculosis*. Mais afin d'éviter l'apparition d'un climat d'angoisse ou de panique collective, il faut aussi être en mesure d'affirmer ou d'infirmer rapidement l'hypothèse d'une maladie émergente ou d'un acte bioterroriste.

Dans ces trois exemples les délais du diagnostic bactériologique classique sont incompatibles avec l'institution précoce d'un traitement efficace, qui, associée aux mesures d'isolement, permet seulement de limiter les effets de l'épidémie.

3.2. Tests disponibles

3.2.1. Grippe

a- Epidémiologie

En avril 2009, le Mexique a été touché par une recrudescence d'affections respiratoires. Les services sanitaires nord-américains ont alors mis en évidence une nouvelle souche de grippe A (H1N1), triple réassortiment des virus de la grippe saisonnière H3N2, de la grippe aviaire et de la grippe porcine H1N1 classique. Le 11 juin 2009, l'OMS déclarait l'état de pandémie mondiale (25).

La pandémie grippale 2009 a remis, avec une acuité particulière, la grippe au premier plan des préoccupations sanitaires de la population mondiale. Les virus de la grippe partagent avec les autres virus émergents de nombreuses propriétés générales, cependant, les virus grippaux ont des caractéristiques spécifiques, en particulier, le caractère zoonotique, la diversité des types et sous-types, la plasticité génétique, la transmissibilité. L'accumulation des connaissances les concernant conduit finalement à l'affirmation en apparence paradoxale qu'une émergence grippale est à la fois inéluctable et imprévisible tant dans son calendrier que dans ses effets. Les récentes épidémies à virus A/H5N1 et A/H1N1 2009 n'ont pas apporté de démenti à cette affirmation (26).

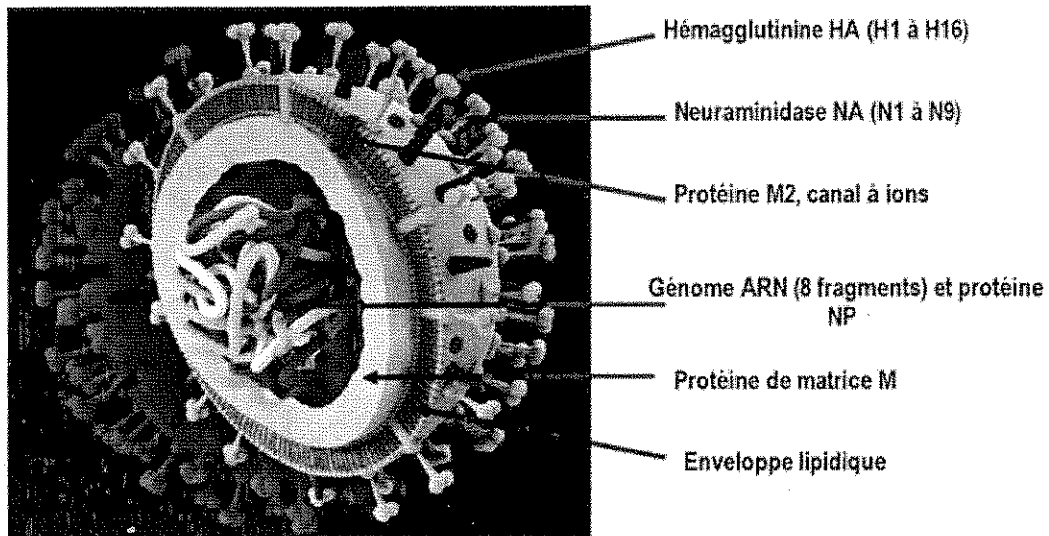


Figure 9 : Représentation schématique du virus *influenza A* (27).

b- Diagnostic biologique (27, 28)

b-1. Méthodes d'immunofluorescence (IF)

Pour l'IF, les cellules d'une aspiration (ou d'un lavage ou d'un écouvillonnage) nasale ou trachéobronchique sont, après lavage, déposées sur une lame microscopique et fixées dans l'acétone. Des anticorps monoclonaux (disponibles commercialement) permettent de marquer les protéines virales. On choisit celles qui sont abondamment exprimées dans les cellules infectées, et qui ne risquent pas de subir de variations antigéniques : protéines NP ou M1 par exemple. La lecture de la lame d'IF se fait soit directement lorsque les anticorps monoclonaux (de souris) antiviral *influenza* sont eux-mêmes marqués à l'aide d'un fluorochrome, soit indirectement à l'aide d'anticorps fluorescents anti-immunoglobulines de souris.

Ces méthodes permettent d'obtenir un résultat rapidement (1 à 2 h). Par ailleurs, cette technique est conditionnée par la qualité du prélèvement et l'expérience de l'opérateur pour une bonne interprétation de la lecture.

b-2. Tests rapides immunochromatographiques et immunoenzymatiques

Des tests de diagnostic rapides (TDR) des virus *Influenza*, facilement réalisables, permettent de détecter après un délai de 30 minutes, la présence des virus saisonniers de type A et B dans des échantillons respiratoires.

Ils reposent sur 2 méthodes: les méthodes d'immunochromatographie sur membrane (Binax NOW® Influenza A et B) et bandelette (QuickVue® Influenza A+B ; Ivatect® InfluenzaA+B) ou les méthodes immunoenzymatiques sur membrane de cellulose (BD Directigen® FLU A+B).

Les performances de ces tests pour la grippe saisonnière sont globalement satisfaisantes surtout en terme de spécificité (82,6 à 95%), comparable à la culture cellulaire ou la PCR. En revanche leur sensibilité constatée varie de 39 à 76% selon les études.

Des résultats préliminaires d'une étude réalisée sur 3 TDR mis sur le marché pour détecter le virus A (H1N1) dans des échantillons respiratoires ont confirmé qu'il pouvait être détecté par ces tests, mais pas dans tous les cas.

En effet, ces tests sont souvent peu performants lorsqu'il existe une faible circulation virale dans la communauté (début d'épidémie). En revanche, lorsque la circulation du virus dans la communauté est active, leur valeur prédictive positive augmente et autorise chez les patients qui ont un TDR positif, le

traitement de façon empirique avec des antiviraux si cela est cliniquement indiqué sans recours à des tests complémentaires.

b-3. Diagnostic moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire par PCR en temps réel sont actuellement des outils de choix pour le diagnostic d'urgence de l'infection grippale en raison de leur rapidité (résultats obtenus après 4-6h), sensibilité et spécificité.

A l'heure actuelle, l'automatisation de l'extraction des acides nucléiques permet un rendu de résultat très rapide et en fonction de la taille de la série, divers systèmes sont disponibles dans le marché (MagNaPure LC, Roche® ; BioRobot EZ1 Qiagen® ; QIASymphony, Qiagen®; NucliSENS easyMAG, Biomérieux®..). Par ailleurs, l'intégration d'un contrôle interne dans ces trousse permet de valider la réaction. D'autres trousse permettent en plus de l'amplification des gènes spécifiques de type (nucléoprotéine NP) des virus *Influenza A* et des virus *Influenza A* porcins, le diagnostic différentiel entre une infection grippale par un virus saisonnier *Influenza A* sous-type H1 et le nouveau virus *Influenza A* (H1N1)v émergent (*Influenza A* H1N1 porcin, BIOadvance®).

Il existe aussi des kits (Seeplex® FluA ACE) basés sur les technologies brevetées DPO™ (Dual Priming Oligonucleotide) et permettent le screening différentiel, des sous-types H1 et H3 saisonniers, H5 aviaire et H1 pandémique A (H1N1), en une seule réaction de RT-PCR multiplex classique.

Les techniques par RT-PCR en temps réel ont recours essentiellement à la chimie de détection avec sondes d'hydrolyse (technologie TaqMan) et l'amplification se réalise en fonction des trousse sur divers thermocycleurs en

temps réel (LightCycler® 1.5/2.0/480 Roche, Rotor Gene® Q Qiagen, 7500/7900 Applied® Biosystems..). Par ailleurs, quelques publications récentes montrent l'intérêt des techniques « in house » utilisant le Sybergreen.

Des systèmes très récents et innovants permettent l'automatisation intégrale de l'analyse moléculaire (GeneXpert®, Cepheid). Les tests se réalisent dans une cartouche test comprenant des réactifs lyophilisés sous forme de billes (amorces, sondes, enzymes..), une colonne d'extraction des acides nucléiques, des contrôles de qualité intégrés (contrôle d'extraction et d'amplification) et un tube dédié pour la PCR en temps réel. Ces systèmes sont d'utilisation simple (cinq minutes pour la préparation de l'échantillon) et permettent une réponse rapide (une heure environ) avec des résultats précis en raison de leur très bonne sensibilité et spécificité. Un test de RT-PCR multiplex permettant la détection simultanée et différenciée des virus grippaux A/H1N1 et A/H3N2 saisonniers, du virus pandémique A(H1N1) et des virus grippaux de type B a été développée dans le cadre de la grippe pandémique 2009 (Xpert® Flu). La technologie Luminex® (xTAG® RVP), permet la détection d'un panel de 12 virus respiratoires (*Influenza A* sous-types saisonniers H1 et H3, *Influenza B*, *Influenza A* non sous-typable, *Parainfluenza* 1, 2, 3, virus respiratoire syncytial A et B, adénovirus, rhinovirus, métapneumovirus).

Plus récemment, plusieurs industriels ont développé des techniques multiplex permettant la détection simultanée de plusieurs cibles virales (12 à 15 cibles virales différentes) parfois associées à quelques bactéries difficilement cultivables. Ces techniques ont l'avantage d'inclure un contrôle interne permettant de valider le processus d'extraction et de contrôler l'absence d'inhibiteurs de la polymérase. Ces tests utilisent des technologies variées : PCR en temps réel (société Diagénodé), PCR classique avec détection des produits

amplifiés par analyse de fragment ou électrophorèse capillaire (société Bionobis, société Pathofinder), par technologie Luminex (société Abbott, société Qiagen), ou par hybridation sur des puces basse densité (société Genomica).

Un des avantages de la PCR en temps réel est la possibilité d'envisager la quantification de la cible virale, en prenant en compte la richesse du prélèvement respiratoire qui, par nature, est hétérogène. En revanche, un des inconvénients de la PCR en temps réel est le nombre limité de cibles détectables en un tube (trois au maximum, dont le contrôle interne), ce qui multiplie le nombre de tubes réactionnels quand la recherche inclut plusieurs virus respiratoires. A l'inverse, avec les trousses utilisant une autre technologie (analyse de fragment, luminex), la réaction « multiplex » se fait en un seul tube, avec cependant l'inconvénient que ce tube n'est pas fermé (ouverture de tube contenant des produits amplifiés avant la détection).

La survenue de la pandémie grippale H1N1v (nouveau variant 2009) en avril dernier a constitué un véritable « booster » pour le diagnostic moléculaire respiratoire, devenu indispensable pour la prise en charge optimale des patients « grippés » hospitalisés.

Les méthodes de biologie moléculaire, par RT-PCR en temps réel représentent des outils de choix en raison de leur rapidité, sensibilité et spécificité. Les tests rapides immunologiques ont une faible sensibilité, ce qui devrait limiter leur utilisation.

3.2.3. Peste

De longues périodes de silence peuvent faire croire que l'infection s'est éteinte alors qu'elle continue de circuler dans le réservoir animal jusqu'à ce qu'une nouvelle flambée survienne à la suite de contacts entre rongeurs sauvages et péri-domestiques. Une introduction volontaire et malveillante du bacille de la peste est également possible car *Yersinia pestis* fait partie des quelques bactéries considérées comme une arme biologique de choix pour une utilisation terroriste (29, 30).

a- Épidémiologie (29, 30, 31)

Conformément à l'actuel Règlement Sanitaire International, les pays sont tenus de déclarer à l'OMS tous les cas humains survenus sur leur territoire. Le nombre de cas ainsi officiellement rapportés avoisine les 2 500 par an. Défaut de diagnostic clinique, capacités de confirmation limitées, réticence à notifier une pathologie encore synonyme de misère, ce nombre n'est cependant qu'une approximation de l'incidence réelle de la maladie.

Les pays déclarant le plus de cas humains se situent en Afrique subsaharienne (Madagascar, la République démocratique du Congo, Tanzanie). Viennent ensuite l'Asie du Sud-est (Vietnam, Chine), l'Asie centrale, berceau historique de la peste (Mongolie, Kazakhstan, Inde), et les deux sous-continentes américains.

Non seulement la peste n'a pas disparu, mais une recrudescence significative des cas humains observée depuis une quinzaine d'années a justifié son inclusion dans la liste des maladies ré-émergentes.

Tableau III : Ré-émergence récente de la peste dans des foyers que l'on croyait définitivement éteints (29).

Pays	Derniers cas	Nouvelle épidémie	Durée de silence
Mahajanga (Madagascar)	1928	1991	63 ans
Inde	1964	1994	30 ans
Mozambique	1978	1994	16 ans
Zambie	1954	1997	43 ans
Jordanie	≈1915	1997	>80 ans
Algérie	1946	2003	57 ans
Lybie	1984	2009	25 ans

b- Clinique (29, 30)

On distingue plusieurs formes cliniques de peste :

- **La peste bubonique** : est la forme la plus fréquente. Elle est la conséquence d'une piqûre de puce et se caractérise par un syndrome infectieux très sévère et une hypertrophie du ganglion lymphatique drainant la piqûre (bubon). La bactérie peut ensuite proliférer dans le sang, conduisant à une septicémie, rapidement mortelle (moins d'une semaine).

- **La peste pulmonaire** : est très contagieuse (par les aérosols) et plus grave que la peste bubonique. Elle apparaît lors d'une contamination par voie respiratoire

ou peut apparaître secondairement à partir d'une forme bubonique. La peste pulmonaire est létale à presque 100%, avec une évolution vers la mort en moins de trois jours.

- **La peste septicémique** : est l'infection du système sanguin par *Y pestis*. Elle peut correspondre à la phase terminale des deux formes précédentes (septicémie secondaire), mais apparaît parfois rapidement sans bubon ni infection pulmonaire (septicémie primaire).

c- Diagnostic biologique

Les principales méthodes de diagnostic biologique de la peste sont : l'observation microscopique d'un frottis après coloration, la détection de l'antigène F1 par immunofluorescence ou par ELISA et la sérologie (détection d'anticorps anti- F1).

Pour les techniques moléculaires, l'amplification par PCR en temps réel est une technique prometteuse, qui reste à évaluer sur le terrain en situation d'épidémie.

c-1. Les tests de diagnostic rapide

Actuellement, les tests de diagnostic rapide sur bandelettes basés sur la détection de l'antigène F1 très spécifique de *Y pestis*, représentent une avancée majeure dans le diagnostic précoce de la peste (7). Ils permettent de dépister la peste au chevet des patients. Ils utilisent des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène F1. Ces tests sont capables de détecter en 15 mn l'antigène F1. Ils ont

une durée limite d'utilisation de 21 jours à 60°C. La sensibilité et la spécificité sont de 100% (31, 32).

Sur la base des techniques actuellement disponibles, les experts ont défini un nouvel algorithme d'analyse des échantillons et proposé une nouvelle définition de cas (31). Ainsi, l'OMS a donné en 2006 une définition standard de cas suspects présumé ou confirmé de peste. On retient que dans une région d'endémie, lorsque aucun autre test de confirmation ne peut être pratiqué, un test rapide faisant appel à l'immunochromatographie pour détecter l'antigène F1 positif permet de confirmer un cas de peste (32).

Loin d'être éradiquée, ni même contrôlée, la peste reste encore aujourd'hui un problème de santé publique. *Y pestis* représente une arme bactériologique de choix sans oublier que des foyers naturels de peste existent toujours et que cette maladie ré-émerge actuellement dans le monde. La récente apparition de souches antibiorésistantes de *Y pestis* représenterait un réel danger si une telle résistance se propageait. Le développement de nouvelles techniques diagnostiques reste indispensable.

3.2.4. Tuberculose

a- Epidémiologie

Avec deux millions de décès et plus de huit millions de nouveaux cas par an, la tuberculose est l'une des plus sérieuses menaces sanitaires mondiales (33). L'OMS estime qu'un tiers de la population mondiale est infecté par le bacille de la tuberculose, de plus, un décès par tuberculose sur quatre est lié au VIH (34, 35, 36).

Dans les pays développés, grâce à la vaccination par le bacille de Calmette et Guérin (BCG), l'incidence de la maladie a diminué pour augmenter au début des années quatre-vingt lors de l'explosion de l'infection par le VIH. La co-infection par le VIH, la malnutrition, l'insalubrité et l'apparition d'une multirésistance de certaines souches aux antibiotiques antimycobactériens due à des mutations sont autant des facteurs aggravants de l'épidémie (33).

b- Clinique (35)

Une fois dans l'organisme, dans 90 % des cas, le Bk reste à l'état quiescent et ne provoque pas de maladie, c'est l'ITL (ou infection tuberculeuse latente). La tuberculose maladie ne se développe que dans 10 % des cas environ selon l'âge et le statut immunitaire du sujet.

c- Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique est réalisé à partir de prélèvements pulmonaires (crachats, aspirations bronchiques, tubages gastriques) ou extrapulmonaires (urine, biopsies, ponctions...) (37, 38).

c-1. L'examen microscopique

Pour mettre en évidence les mycobactéries à l'examen microscopique, on utilise leur propriété d'acido-alcool-résistance après une coloration de Ziehl-Neelsen ou coloration à l'auramine (39). La recherche de BAAR nécessite un examen minutieux des lames, ce qui impose un temps de lecture allant jusqu'à 15 minutes par lame, lorsqu'on utilise la coloration de Ziehl. La microscopie à fluorescence permet de réduire le temps de lecture à 2 ou 3 minutes. Il nécessite, de ce fait, une bonne maîtrise de la technique de la coloration et de l'examen microscopique (40).

L'examen microscopique met en évidence les BAAR sans faire la distinction entre bacilles de la tuberculose et mycobactéries atypiques. Il est peu sensible car il n'est positif que lorsque la concentration bacillaire est au moins égale à 10^4 /ml (39, 40, 41).

c-2. Le diagnostic par les tests cutanés : L'IDR (ou l'intradermoréaction à la tuberculine)

Ce test explore l'hypersensibilité retardée induite par un premier contact avec *M tuberculosis*. Il utilise un extrait antigénique, obtenu à partir de souches de *M*

tuberculosis tuées par la chaleur. Ce dernier est constitué de plus de 200 protéines partagées entre *M tuberculosis*, *M bovis*, le BCG et certaines mycobactéries atypiques (33, 35, 37, 43- 46).

Les principaux avantages de l'IDR sont son coût modique et l'apparente simplicité de sa réalisation qui ne nécessite pas d'infrastructure lourde (33).

L'IDR, couramment utilisée depuis un siècle pour le diagnostic d'infection tuberculeuse, présente de nombreux inconvénients (33, 37, 43) :

- Diverses erreurs techniques peuvent conduire à un test faussement négatif : dose insuffisante, mauvaise conservation, injection sous-cutanée, mauvaise lecture du résultat, lecture trop précoce ou trop tardive (44).
- 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 (chez les sujets présentant des infections à mycobactéries non tuberculeuses (MNT);
- lecture subjective, opérateur dépendante ;
- fausse négativité par anergie post-infectieuse virale ou post-vaccinale ;
- fausse négativité ou faible réponse en cas de tuberculose maladie avec forte charge antigénique ;
- difficulté d'interprétation en cas d'immunosuppression, chez des sujets à fort potentiel évolutif vers une tuberculose maladie (33) ;
- Un algorithme décisionnel est nécessaire selon l'origine géographique, l'âge du sujet, son statut vaccinal et la source de contamination (37, 43) ;
- 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 représentent pas pour la lecture ; De nombreux patients sont perdus de vue entre les deux consultations ;
- Chez les patients présentant une tuberculose-maladie la sensibilité de l'IDR varie entre 75-90 %. Dix à vingt-cinq pour cent des adultes présentant une tuberculose-maladie ont une IDR faussement négative. Ce pourcentage est de l'ordre de 10 % chez les enfants immunocompétents. Les valeurs sont plus faibles chez les sujets présentant des tuberculoses-maladies sévères, ou en fonction de l'immunodépression sous-jacente. La spécificité du test cutané varie entre 35 et 100 %, selon les populations testées (37).

c-3. Le diagnostic par les nouveaux tests sanguins de quantification de l'interféron gamma (IGRA)

Depuis le début des années 2000, deux méthodes de quantification rapide ont été développées pour le diagnostic de l'infection tuberculeuse. On les regroupe sous le terme générique de tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés (en anglais IGRA pour T cell-based IFN γ release assays) (33).

➤ **Description des nouveaux tests : Quantiferon TB Gold™, Cellestis, Australia et T-SPOT.TB™, Oxford Immunotec, Angleterre)**

- Principe

Ils mesurent la réactivité des lymphocytes thymodépendants T CD4 Th1 circulants mis en culture en présence d'antigènes de la région RD1 (région de différence 1) absente de toutes les souches vaccinales, de la plupart des MNT à l'exception de *M. kansasii*, *M. marinum* et *M. szulgai*, mais présentes dans tous les isolats cliniques spécifiques de *M. tuberculosis*, en quantifiant la production *ex vivo* d'interféron gamma (IFN γ) après stimulation des lymphocytes T sensibilisés du patient (33, 37, 47, 48).

Ces techniques utilisent comme substrat antigénique ESAT-6 (*Early secretory antigenic target protein 6*) et CFP-10 (*Culture filtrate protein 10*) qui sont des cibles majeures de la réponse immune avec réponse cellulaire T et synthèse d'IFN- γ participant à la réponse protectrice chez les sujets infectés (37). Les gènes codant pour ESAT-6 et CFP-10 ne sont pas présents dans le génome du BCG, ce qui permet ainsi de faire la différence entre infection par *M. tuberculosis* et vaccination par le BCG, contrairement à la tuberculine (47, 49-51).

Les deux tests sont réalisés à partir d'un prélèvement sanguin, mais ils diffèrent sur le plan du concept de la méthode et de la technique réalisée.

- Le test QuantiFERON-TB Gold™ (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australie)

C'est un système de dosage sur sang total avec détection de l'IFN γ par technique Elisa. Il y a eu trois générations successives de ce test : QuantiFERON tuberculine PPD®, QuantiFERON-TB Gold®, et QuantiFERON- TB Gold in Tube®, dernière version actuellement commercialisée de ce test (47, 51-54).

- Technique

Trois tubes fournis par le laboratoire sont utilisés :

- un premier ne contenant aucun antigène et servant de contrôle négatif ;
- un deuxième tube contenant de la phytohémagglutine A (PHA) jouant un rôle de contrôle interne de la réaction d'activation des lymphocytes T ;
- un troisième tube contenant les antigènes spécifiques ESAT-6 ; CFP-10 ainsi que Tb7.7, antigène également codé par la région RD1.

Trois millilitres de sang (1 ml par tube) seront nécessaires. Les trois tubes sont directement mis à incuber dans une étuve à 37 °C pendant 18 heures. À l'issue de cette incubation, les tubes sont centrifugés, et le surnageant sera utilisé pour le dosage de l'IFN- γ par une méthode Elisa (37).

La dernière version du test (QuantiFERONTB Gold In-tube) ne nécessite plus de transvasement du sang puisque le prélèvement veineux se fait directement dans des tubes avec anti-coagulant, dont le culot est tapissé par les protéines ESAT-6, CFP-10 et TB7.7 (33).

Le taux d'IFN- γ est exprimé en ng/ml, le seuil de positivité est de 0,35 (48).

- **Le test T-SPOT.TBTM (Oxford Immunotec, Angleterre)**

Le second test est une technique Elispot (*enzyme-linked immunospot*), le taux d'IFN- γ est exprimé en « spots », avec un seuil de positivité de six spots/ 10^6 cellules (48).

- **Technique**

Ce test nécessite 10 ml de sang complet prélevé dans un tube spécial fourni par le laboratoire (Vacutainer CPT). Le tube contient une solution dense et un gel permettant, après centrifugation, la séparation des cellules mononucléées circulantes (monocytes, les lymphocytes B et T effectrices et mémoires). Les cellules sont lavées, puis comptées sur cellule de Malassez ou à l'aide d'un automate d'hématologie. Les cellules sont ensuite incubées en présence ou en absence d'antigènes ESAT-6 et CFP-10, et en présence de PHA (contrôle interne) pendant 18 heures. Plusieurs lavages sont réalisés à l'issue de cette incubation avant d'ajouter un anticorps anti-IFN- γ . Chaque cellule qui formera un spot après ajout du substrat, représente un lymphocyte T produisant à sa périphérie de l'IFN- γ . La technique ainsi décrite s'appelle Elispot et consiste à énumérer tous les spots formés à l'issue de l'incubation des cellules mononucléées circulantes avec les antigènes spécifiques. Cette lecture est réalisée manuellement à l'aide d'un microscope, ou à l'aide d'automates Elispot plutôt disponibles dans les laboratoires d'immunologie (37).

Dans les deux tests, deux tubes témoins sont réalisés : un témoin négatif, sans protéine stimulante (tube sans antigène), qui donne le taux basal d'IFN γ libéré après 18 heures d'incubation, et un témoin positif, avec un mitogène polyvalent,

la phytohemagglutinine A, qui évalue la réactivité de tous les lymphocytes T (tube avec mitogène stimulant de façon aspécifique la production d'IFN- γ). Si le témoin au mitogène est négatif, le résultat de l'IGRA est rendu « indéterminé » (48).

Le test QF-TB Gold est beaucoup plus adapté aux enquêtes sur le terrain, notamment dans les pays d'endémie tuberculeuse. Une meilleure sensibilité devrait être logiquement attribuée au T-SPOT.TB car la mesure de l'IFN- γ produit au contact des lymphocytes T est plus sensible que la mesure de l'IFN- γ libéré dans le plasma. Une autre différence notable est la concentration du mitogène (la PHA) utilisée dans chacun des tests, et qui intervient comme contrôle interne de la réaction. Cette concentration est inférieure dans le test QF-TB Gold, donnant donc une valeur plus exacte du degré d'immunocompétence des sujets testés. Cela explique le plus grand nombre de résultats indéterminés avec QF-TB Gold comparativement au T-SPOT.TB. En tout cas, les différences de résultats observés peuvent être liées aux caractéristiques techniques des deux tests sanguins (37).

➤ **Avantages et limites des tests sanguins**

Ces tests ont démontré, grâce à l'emploi d'antigènes spécifiques de *M tuberculosis*, d'une meilleure spécificité et d'une meilleure sensibilité. Ils sont également rapides (résultat obtenu en moins de 24 heures) avec une facilité de réalisation (simple ponction veineuse), ne dépendent d'aucun observateur et produisent des résultats quantitatifs et objectifs. Ils possèdent un contrôle interne, permettant d'évaluer l'immunocompétence du sujet ou sa réponse T non spécifique. Enfin, ces tests ne nécessitent pas une seconde visite, sauf en cas de

positivité pour une réévaluation du patient, et peuvent permettre de suivre l'efficacité du traitement prophylactique ou curatif administré (33, 37, 49, 50).

Les inconvénients sont liés principalement à la nature des antigènes utilisés, ESAT-6 et CFP-10 sont produits par deux autres mycobactéries pathogènes : *M. kansasii* et *M. marinum*. De plus, ces tests ne discriminent pas entre la tuberculose-maladie et la tuberculose-infection. Il est essentiel de définir la tuberculose-infection sur la base de l'exclusion de la tuberculose-maladie, avec absence totale de signes cliniques, en cas de positivité de ces tests. Ces tests ont également des impératifs biologiques, notamment le délai d'acheminement pour le T-SPOT.TB. Ils n'ont pas encore été validés dans trois populations : les enfants, les sujets coïnfectés par le VIH, et les patients mis sous immunosuppresseurs notamment sous anti-TNF. Enfin, le coût des tests peut représenter leur inconvénient majeur. Mais celui-ci doit être comparé aux différents aspects de l'IDR : réalisation technique, seconde visite, et chimioprophylaxie en excès du fait d'une spécificité médiocre (33, 37).

➤ Sensibilité/ spécificité

Depuis 2001, de nombreuses études ont été consacrées à la comparaison des performances diagnostiques de ces nouveaux tests avec l'IDR.

Les conclusions des études publiées sont donc les suivantes : l'interprétation de ces tests n'est pas gênée par la vaccination par le BCG et les deux tests sont plus spécifiques que l'IDR.

- **Dans la tuberculose maladie (TM) :** Que ce soit pour la spécificité ou la sensibilité, les deux tests IGRA se révèlent supérieurs à l'IDR, avec un petit

avantage à l'ELISpot sur l'ELISA (sensibilité de 76 à 100 % pour les deux tests, spécificité de 92 à 99 % pour l'ELISpot et de 85 à 92 % pour l'ELISA, plus particulièrement dans certaines populations, jeunes enfants et patients co-infectés par le VIH. Ils pourraient donc améliorer la démarche diagnostique, notamment chez l'enfant ou le sujet ayant une immunosuppression.

- **Dans l'infection tuberculeuse latente (ITL) :** On retrouve une meilleure sensibilité vis-à-vis de l>IDR. Les résultats indéterminés sont plus fréquents avec l'ELISA, souvent associés à une immunodépression (55).

Ces résultats sont confirmés par la dernière méta-analyse publiée qui donne comme sensibilité moyenne : 78 % (73-80) pour le QuantiFERON-TB Gold, 70 % (63-78) pour le QuantiFERON-TB Gold In-Tube, 90 % (86-93) pour le T-SPOT-TB. pour la spécificité moyenne des deux tests QuantiFERON-TB, les chiffres sont respectivement de 99 % (98-100) chez les sujets vaccinés et 96 % (94-98) chez les sujets non vaccinés. Elle est de 93 % (86-100) pour le T-SPOT-TB. Les résultats de l>IDR sont très hétérogènes, mais la spécificité est constamment élevée, 97 % (95-99), chez les sujets non vaccinés (50, 55).

➤ Indications

Les recommandations de bonnes pratiques varient d'un pays à l'autre. Ainsi, Le NICE (National Institute of Health and Clinical Excellence) les recommande en deuxième intention dans les groupes à très haut risque de progression vers la tuberculose maladie (immunodéprimés quelle qu'en soit la cause) soit pour exploration après des tests cutanés ininterprétables, soit pour confirmation après des tests positifs. Aux États-Unis, le remplacement de l>IDR par

les tests sanguins est désormais préconisé par le Center for Diseases Control (CDC) dans les indications suivantes : sujets contact, immigrants venant de pays de forte endémie, suivi de patients infectés. En France, la HAS a donné un avis favorable en décembre 2006 pour leur utilisation chez l'adulte, en remplacement de l'IDR, dans des populations ciblées : enquête autour d'un cas, professionnel de santé à l'embauche et dans le suivi pour ceux particulièrement exposés, avant mise sous traitement immunomodulateur par anti-TNF α et aide diagnostique dans les formes extra-pulmonaires de tuberculose maladie. Comme dans la plupart des pays, à l'exception des États-Unis, la HAS ne recommande pas l'utilisation de ces tests chez l'enfant compte tenu de la variabilité de la réponse inhérente à la maturation du système immunitaire (44, 49, 55).

C-4. Diagnostic moléculaire

Les tests moléculaires actuellement commercialisés sont encore assez laborieux, longs et nécessitent la mobilisation d'une équipe bien formée à ce type de test ; rendant difficile leur intégration dans le cadre d'une activité de routine (38, 39, 56).

La première technique d'amplification employée, une réaction simple de PCR de la séquence d'insertion IS6110 avec détection du fragment amplifié sur gel d'agarose, a été remplacée par des techniques standardisées utilisant des réactifs prêts à l'emploi : amplification par PCR d'une séquence d'ADN codant pour l'ARN 16S des mycobactéries (Amplicor Mycobacterium Tuberculosis Test[®], Roche), amplification d'une séquence d'ARN ribosomal via un intermédiaire ADN (Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test[®], Gen Probe, Bio

Mérieux) ou amplification par déplacement de brin (BD Probe Tec[®], Becton-Dickinson).

Avec ces méthodes les résultats sont obtenus rapidement (potentiellement en 24 heures) mais, dans la routine, les tests d'amplification génique se sont malheureusement révélés moins performants que la culture. La répartition inhomogène des bacilles dans les prélèvements est probablement une cause importante du manque de sensibilité et la contamination, la source majeure des faux positifs (39).

Parmi les techniques récentes de biologie moléculaire, la PCR en temps réel a fait l'objet de nombreuses évaluations dans le cadre du diagnostic de la tuberculose. Ainsi, un nouveau procédé permettant, en moins d'une heure, l'amplification et la détection en temps réel de l'ARNr 16S de MTB par une technique de transcription inverse (TRC: Transcription Reverse transcription Concerted- TRCRapid *M tuberculosis* – Tosoh Bioscience, Tokyo, Japon) directement dans les échantillons respiratoires a été étudié (57).

Le diagnostic de la tuberculose est un exercice difficile, le développement de tests sanguins in vitro, mesurant la réponse d'hypersensibilité retardée observée à l'issue d'un contage tuberculeux, va progressivement modifier le diagnostic de la tuberculose.

4. Diarrhées

4.1. Problématique

Diarrhée maladie ou diarrhée symptôme ? Parfois accessoire au cours d'une infection systémique, comme dans l'accès palustre de primo-invasion, la diarrhée peut révéler une infection intestinale aiguë.

À l'exception du choléra, le diagnostic direct des diarrhées aiguës bactériennes est limité par la faible quantité d'agents pathogènes présents dans l'échantillon en comparaison avec l'abondance de la flore commensale intestinale. Par ailleurs, les réactions sérologiques sont peu contributives, souvent de faible intensité, d'interprétation délicate ou de positivité tardive.

Parmi les agents pathogènes, les virus sont les moins fréquemment détectés, car bénéficiant de techniques diagnostiques peu consensuelles. Leur mise en évidence fait appel à des techniques souvent coûteuses : culture de cellules, immunofluorescence, ou biologie moléculaire. Le transport des échantillons nécessite une conservation à une température négative parfois difficile à respecter notamment lors d'envois éloignés, en particulier internationaux (58, 59).

Pour les parasites intestinaux, les techniques classiques sont encore utilisées, sachant qu'une telle manipulation (préparation et lecture au microscope) nécessite au moins une heure par selle, et n'est pas automatisable.

Tableau IV : Principaux pathogènes responsables de diarrhées (59).

Bactéries	Virus	Protozoaires
Shigelles Salmonelles Campylobacter <i>E coli</i> entérotoxigène (ETEC) <i>E coli</i> entérohémorragique (EHEC) <i>E coli</i> entéroinvasif (EIEC) <i>E coli</i> entéropathogène (EPEC) <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Clostridium difficile</i> , <i>C perfringens</i> <i>S aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> <i>Vibrios</i> <i>Chlamydiae</i> <i>T pallidum</i> , <i>N gonorrhoe</i>	Rotavirus Norwalk, <i>Norwalk-like</i> Adénovirus Calcivirus Astrovirus SRV “small round viruses” Coronavirus Cytomégalovirus CMV <i>Herpes simplex</i>	<i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba histolytica</i> Cryptosporidies <i>Cyclospora</i> <i>Isospora</i>

4.2. Tests disponibles

4.2.1. Choléra

Le choléra occupe une place tout à fait particulière parmi les maladies infectieuses sévissant de par le monde. Il est souvent associé aux catastrophes humanitaires, qu’il s’agisse des conséquences d’un déplacement ou d’un regroupement de populations lors d’un conflit ou après une catastrophe naturelle (après un tremblement de terre, ...) (60).

C’est le cas de l’épidémie actuelle à Haïti. Ainsi, jusqu’à 20 novembre 2010 le Ministère de la Santé et de la Population (MSPP) de Haïti avait notifié au niveau national un total cumulé de 60 240 cas de choléra, dont 1415 mortels. Le taux de

létalité dans les hôpitaux est de 2,3 % au niveau national, avec 67 % des décès survenant dans les services de santé et 33 % au niveau communautaire (61).

a- Clinique (62)

Le choléra résulte de l'absorption, par voie orale, du vibron cholérique contaminant l'eau ou les aliments. La toxine cholérique induit un dérèglement ionique ce qui entraîne une perte massive d'eau et d'électrolytes dans la lumière intestinale, aboutissant à une déshydratation importante pouvant provoquer un état de choc. Le volume d'eau éliminé peut atteindre 15 L par jour, ce qui explique la gravité de la déshydratation. Après une incubation de quelques heures à quelques jours, le choléra se manifeste brutalement par de violentes diarrhées et des vomissements, sans élévation de la température. Les selles, fécaloïdes au début, deviennent rapidement aqueuses, couleur eau de riz. Les vomissements sont émis d'abord en jet puis s'écoulent sans effort. En l'absence de traitement, il évolue vers un état de grande faiblesse, puis la mort survient en 1 à 3 jours, souvent, par collapsus cardiovasculaire.

b- Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique du choléra nécessite à la fois de la rigueur pour éviter les fausses alertes (maladie à déclaration obligatoire) ou, au contraire, ne pas passer à côté d'un nouveau foyer épidémique, et de la rapidité pour ne pas perdre du temps avant la prise de mesures permettant de limiter l'extension d'une épidémie.

b-1. Tests de diagnostic rapide

Ces tests permettent d'identifier directement dans les selles les vibrions cholériques, en détectant, par immunochromatographie utilisant des anticorps monoclonaux, les lipopolysaccharides O1 ou O139 de *Vibrio cholerae* (Cholera SMART™). Ces tests très simples à utiliser, ne nécessitant aucun équipement, peuvent être pratiqués directement au chevet du malade par un personnel non spécialisé. La lecture est faite en moins de 15 min. La première génération de tests était peu sensible et très coûteuse, ce qui en a fortement limité l'emploi. Une nouvelle génération de tests de diagnostic rapide, mise au point à l'Institut Pasteur, devrait être bientôt commercialisée à un coût abordable pour les pays qui en ont besoin (62, 63, 64).

4.2.2. Autres diarrhées bactériennes

4.2.2.1. Diarrhées à *Escherichia coli* (*E. coli*) (65, 66)

Les *Escherichia coli* (*E. coli*), agents d'entérites, forment un groupe hétérogène au regard des mécanismes de pathogénicité impliqués. Ils représentent une cause importante de diarrhées, particulièrement chez le jeune enfant dans les régions sous-développées. Selon les facteurs de virulence exprimés et le mode d'interaction cellulaire (adhésion, invasion, production de toxines), la maladie revêt divers aspects : syndrome cholériforme, syndrome dysentérique, diarrhée sanglante, diarrhée aiguë ou persistante. Leur classification en pathovars considère d'une part les manifestations cliniques, d'autre part les facteurs de virulence, enfin, certaines interactions cellulaires des souches.

a- Diagnostic biologique

Les épreuves de diagnostic disponibles peuvent être regroupées en techniques immunologiques, génétiques (sondes clonées, oligonucléotides synthétiques ou amplification génique), épreuves sur cultures cellulaires et sur animaux (recherche du pouvoir pathogène expérimental). Au sein de certains pathotypes, le diagnostic reposant sur la recherche de propriétés métaboliques particulières ou sur l'identification des antigènes pariétaux et flagellaires caractérisant certains clones de colibacilles réputés entéropathogènes; cependant, le diagnostic définitif ne peut reposer que sur la mise en évidence des facteurs de pathogénicité.

b- Aspects spécifiques selon certains pathovars

b.1- *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC)

Pour le diagnostic, la recherche des trois toxines (LT, STh, STp) suffit. Les techniques généralement utilisées sont phénotypiques Elisa, GM1-Elisa, Elisa par compétition et génétiques (PCR et PCR en temps réel). Pour les toxines, un multiplexe PCR est possible avec ces amorces.

b.2- *E. coli* entéroadhérents (EAEC)

Le diagnostic rapide repose essentiellement sur les techniques PCR (temps réel, multiplex) détectant les gènes de virulence.

b.3- *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)

Plusieurs méthodes sont disponibles pour la détection des *E. coli* O157 après enrichissement. La séparation immunomagnétique grâce à des billes sensibilisées par des anticorps anti-LPS O157 est efficace.

La méthode de référence pour la recherche des toxines libres (surnageant de culture ou filtrats de selles) de la famille Shiga est la cytotoxicité sur cellules Vero ou HeLa, suivie d'une séroneutralisation par un antisérum anti-Stx.

Diverses épreuves immunologiques (Elisa, tests au latex,...) plus simples à mettre en oeuvre sont décrites; certaines sont commercialisées : Premier EHEC test[®], VTEC RPLA[®], VTEC-Screen RPLA[®].

Des tests immunochromatographiques donnent des résultats en 15 minutes sont d'un grand intérêt en raison de leur simplicité, de leur robustesse, et de la possibilité de tester directement l'échantillon.

Plusieurs systèmes de PCR quantitatives en temps réel (1 à 3 heures), quel que soit le format de réaction (SYBRGreen, « molecular beacons », sondes d'hybridation, sondes de type Taqman) et des multiplex permettent la recherche simultanée de l'ensemble des gènes (principalement *Stx*, *eaeA*, *ehxA*) utiles au diagnostic ont été développés.

Le diagnostic sérologique (Elisa, immunoblot, hémagglutination) repose sur le dosage dans un sérum précoce et un sérum tardif des anticorps dirigés contre les toxines Shiga et le LPS des principaux sérotypes d'EHEC.

Récemment, un test de diagnostic rapide in vitro qui permet la détection de la bactérie *E. coli* O157 dans les matières fécales après une mise en culture d'au minimum 8 heures (RAPIDIAG O157 Coli test, Biomédical diagnostics) a été

commercialisé. Le résultat apparaît dans les 15 minutes sous forme d'une ligne pourpre sur la bandelette.

4.2.2.2. Diarrhée à shigelles

La shigellose constitue la première cause de diarrhée sanglante dans le monde. On estime qu'elle provoque chaque année au moins 80 millions de cas de diarrhée sanglante et 700 000 décès. Quatre-vingt-dix-neuf pour cent des infections dues à *Shigella* surviennent dans les pays en développement, et la plupart des cas (environ 70 %) et des décès (environ 60 %) concernent des enfants de moins de cinq ans (67, 68).

a- Diagnostic biologique

Les techniques PCR dirigées vers les gènes de virulence sont trop coûteuses et ne permettent nullement de déterminer la sensibilité aux antibiotiques. Le sérodiagnostic n'est d'aucune utilité dans les syndromes dysentériques (69, 70).

a.1- Les tests rapides

En 2007, des chercheurs de l'Institut Pasteur de Paris ont développé un test immunochromatographique rapide sous forme de bandelettes de diagnostic de la diarrhée à *Shigella*. Le test consiste à introduire les bandelettes dans un tube contenant les selles du patient, un marquage coloré discriminant en 5 à 15 minutes, selon que la bactérie est présente ou non (71).

4.2.2.3. Diarrhée à *Campylobacter*

Les *Campylobacter jejuni* et *C. coli* sont une des causes bactériennes les plus communes de syndrome diarrhéique. La population infantile est plus affectée, la contamination est essentiellement alimentaire, d'origine diverse, la volaille joue un rôle majeur. Cependant, la symptomatologie peut être atypique et égarer vers un tableau chirurgical en mimant une appendicite aiguë. Cette situation pourrait être plus fréquente chez les enfants, conduisant à un geste chirurgical inutile (72).

a- Diagnostic biologique par les tests rapides

Trois nouveaux tests sont disponibles pour détecter les deux espèces *C. jejuni* et *C. coli* : Ridascreen *Campylobacter* (r-biopharm®) et premier Campy (Mérieux®), deux tests immunoenzymatiques et Immunocard Stat Campy (Mérieux®), test unitaire immunochromatographique. Ils présentent tous les trois l'avantage d'une détection directement sur le prélèvement (73).

L'identification des principales bactéries entéropathogènes nécessite encore la mise en culture des selles sur des milieux spécifiques. Des progrès ont été réalisés dans la rapidité d'identification, mais les progrès les plus importants ont été réalisés avec le développement de techniques moléculaires directes.

4.2.3. Diarrhées virales

Les causes les plus fréquentes des diarrhées aiguës de l'enfant sont les infections virales représentées principalement par les rotavirus et d'autres virus à savoir les calicivirus, les astrovirus, les adénovirus, les entérovirus, les norovirus et les coronavirus (58, 59, 74). La place des autres virus est sous-estimée, faute d'identification de routine et de connaissance de tous les agents viraux de la diarrhée aiguë (74).

4.2.3.1. Diarrhées à rotavirus

Les rotavirus du groupe A, principaux responsables des épidémies communautaires de gastroentérites aiguës (GEA) et de diarrhées sévères avec déshydratation chez le jeune enfant, engendrent de nombreuses hospitalisations, sources d'épidémies d'infections nosocomiales et de dépenses de santé importantes. L'épidémie est hivernale, sur un fond endémique discret, avec des contaminations intrafamiliales et dans les crèches. Chez l'adulte, la prévalence réelle des infections à rotavirus apparaît sous-estimée^a(74, 75).

a- Diagnostic biologique (75, 76-78)

La mise en évidence directe du rotavirus dans les selles peut se faire par la microscopie électronique mais les techniques les plus employées sont immunologiques. Ces techniques reposent sur la détection directe d'antigènes de rotavirus dans les selles, à l'aide d'anticorps spécifiques des rotavirus du groupe A.

b- Les tests de référence

b.1- Elisa

Le test Elisa est réalisé sur microplaque et il permet la détection des rotavirus du groupe A en 1 heure 30 minutes. Ces techniques, bien que très sensibles et spécifiques. En effet, elles ne sont pas adaptées aux analyses unitaires ou aux urgences, car elles requièrent un équipement spécialisé ainsi que du personnel qualifié et ont une durée minimale d'analyse trop longue.

b.2- RT-PCR

Après extraction des acides nucléiques d'une suspension de selles, la détection du génome et la détermination du génotype des rotavirus de groupe A sont effectuées par RT-PCR.

b.3- Les tests immunologiques rapides

Des tests rapides fondés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées sont disponibles, leur format unitaire, leur facilité d'emploi sans équipement spécifique les rendent accessibles à tous les laboratoires. Cependant, la lecture des résultats est parfois délicate et leur sensibilité est parfois inférieure aux tests ELISA. Plus récemment, des tests faisant appel à l'immunochromatographie sont apparus sur le marché. Leur réalisation simple et rapide, leur interprétation aisée par la présence d'une bande spécifique, la

possibilité de rechercher simultanément les adénovirus sont attrayantes pour de nombreux laboratoires.

b.4- Les troussees disponibles

➤ Test VIKIA® Rota-Adéno (bioMérieux)

C'est un test immuno-chromatographique de détection rapide et simultanée de rotavirus et adénovirus dans les échantillons de selles.

➤ Kit Elisa IDEIA™ Rotavirus (Dako)

IDEIA™ Rotavirus (Dakocytomation, Denmark) est un test immunoenzymatique sur microplaque permettant la détection des rotavirus de groupe A en 90 minutes environ. Le test se réalise à partir d'une dilution de selles à 10 % dans le tampon prévu à cet effet dans le coffret. L'interprétation des résultats se fait par le calcul de la différence des densités optiques (DO) entre l'échantillon testé et le témoin négatif fourni dans le coffret et permettant d'établir un seuil de positivité : $\Delta Do = (Do \text{ échantillon} - Do \text{ témoin négatif})$.

Les sensibilités et spécificités du test de détection rapide VIKIA® Rota-Adéno, d'une part, et de la méthode Elisa IDEIA™ Rotavirus, d'autre part, sont très bonnes et comparables.

➤ **La trousse Diarlex[®] MB (Orion Diagnostica-Fumouze-Division Diagnostics, Levallois Perret, France)**

Test immunochromatographique sur membrane, permet la détection qualitative simultanée des rotavirus et des adénovirus dans les selles après 10 minutes de migration.

➤ **Autres trousses**

Un test d'agglutination latex (Slidex Rotakit, bioMérieux) et autres tests d'immunochromatographie (Combo Rota/Adeno Stick [All Diag (Strasbourg, France)], Rota/Adeno Combi Stick [bmd (biomedical diagnostics, France)], Rotascreen[®] Dipstick [Microgen, UK], ROTA Strip quick Test [Cypress Diagnostic, Belgium]).

La sensibilité très élevée et la parfaite praticabilité et rapidité font des techniques immuno-chromatographiques une bonne alternative pour l'analyse occasionnelle de selles aux urgences.

4.3.4. Diarrhées parasitaires

Les protozoaires sont fréquemment à l'origine de diarrhées aiguës, notamment après retour de voyage en zone tropicale. Les principaux parasites responsables de diarrhées aiguës sont *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora* et *isospora*. Ils sont responsables de diarrhées aiguës chez l'immunocompétent et de diarrhées profuses chroniques chez l'immunodéprimé (66, 70).

Dans ce domaine, ce sont les techniques les plus anciennes, reposant sur l'examen microscopique des selles (EPS) à l'état frais et après coloration au lugol et au merthiolate-iode-formol (Mif), ainsi que sur une ou deux méthodes de concentration judicieusement choisies, qui donnent les meilleurs résultats sur le terrain (66, 79- 84).

5. Syndromes neuroméningés

5.1. Problématique

La méningite est responsable d'une mortalité et d'une morbidité lourde dont le pronostic est en partie dépendant du délai s'écoulant entre l'arrivée du patient et le début de l'antibiothérapie. C'est une urgence qui nécessite une démarche diagnostique rigoureuse dans le but d'identifier précocement les situations qui imposent un traitement en urgence. De plus, dans les stades précoces des méningites aiguës, les signes cliniques et les perturbations du LCR sont très souvent non spécifiques ne permettant pas le diagnostic différentiel entre méningites bactériennes et méningites virales. Un diagnostic rapide et précis de l'agent étiologique est capital pour la prise en charge des patients.

En cas de méningite purulente communautaire, les signes cliniques ne permettent pas de différencier les méningites à méningocoque, à *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae*. La culture est la méthode la plus sensible et permet la réalisation ultérieure d'un antibiogramme, mais elle nécessite un délai de 24 heures ou plus. En outre, ses résultats sont de plus en plus souvent compromis par l'administration préalable, souvent justifiée, d'un traitement antibiotique empirique.

Devant des méningites à liquide clair, il faut penser à la méningite tuberculeuse, surtout chez les jeunes enfants et les sujets infectés par le VIH, mais elle prend rarement une allure épidémique. La méningite à *Listeria monocytogenes* doit être évoquée par principe chez les personnes âgées, les femmes enceintes, les patients éthyliques ou immunodéprimés. Des cas groupés peuvent s'observer en

cas de toxiinfection alimentaire collective, mais ils sont le plus souvent dispersés dans le temps et dans l'espace. Les entérovirus sont en cause dans 90 % des méningites aseptiques, l'évolution étant habituellement bénigne (85). Mais le contexte épidémique ne doit pas faire méconnaître la redoutable méningoencéphalite herpétique qui doit bénéficier d'un traitement antiviral devant toute présomption clinique et sans attendre les résultats biologiques.

a- Épidémiologie

Dans 70 à 80 % des cas, les méningites infectieuses sont d'origine virale, généralement bénignes et dans 20 à 25 % des cas d'origine bactérienne, d'évolution spontanée pratiquement toujours mortelle. Dans moins de 5 % des cas, les méningites infectieuses sont dues à des bactéries non pyogènes, à des parasites ou à des processus néoplasiques (86).

Les agents responsables de méningites virales sont dans 80 % des cas les entérovirus (échévirus, coxsackie). Les autres virus impliqués sont le virus des oreillons, les virus du groupe herpès, le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr, le virus varicelle-zona ou le VIH (86).

L'épidémiologie des méningites bactériennes aiguës communautaires s'est modifiée au cours des vingt dernières années, avec d'une part la quasi-disparition des méningites à *Haemophilus influenzae* type b grâce à la vaccination, et avec d'autre part l'émergence de résistance aux antibiotiques (*Neisseria meningitis* et surtout *Streptococcus pneumoniae*) (87).

b- Clinique

Typiquement le syndrome méningé associe céphalées, signes d'irritation méningée, vomissements. L'irritation méningée se manifeste par une raideur méningée, contracture de défense des muscles paravertébraux liée à la douleur secondaire à l'inflammation méningée (86).

c- Diagnostic biologique

Le syndrome méningé sera aisément reconnu dans sa forme typique, mais des formes graves d'emblée et des formes de diagnostic plus difficile sont possibles. La ponction lombaire reste la clé du diagnostic de certitude, l'analyse du LCR permet d'affirmer le diagnostic et son aspect macroscopique guide l'instauration d'une chimiothérapie anti-infectieuse qui sera secondairement adaptée aux résultats des analyses biologiques (85).

d- Examen du LCR (85, 86)

Il doit comporter :

- une étude cytologique, chimique (glycorachie, protéinorachie, chlorurorachie), bactériologique (examen direct, culture et antibiogramme) ;
- la recherche d'antigènes solubles méningococciques, pneumococciques, en particulier quand une antibiothérapie préalable a été administrée ;
- Le LCR normal est limpide, « eau de roche », et contient moins de 5 cellules/mm³. La protéinorachie est comprise entre 0,25 et 0,45 g/l. La glycorachie est à interpréter en fonction de la glycémie qui doit être prélevée dans le même temps, habituellement 60 % de celle-ci.

L'aspect macroscopique du LCR permet d'orienter le diagnostic étiologique :

- En cas de liquide trouble (eau de riz) ou purulent : il s'agit jusqu'à preuve du contraire d'une méningite bactérienne et l'antibiothérapie est débutée immédiatement ;
- En cas de liquide clair : en l'absence de signes de gravité, il est licite d'attendre les résultats de l'examen direct et cytochimique.

5.2. Tests disponibles

5.2.1. Méningites purulentes

Les méningites purulentes communautaires sont définies par l'existence d'un syndrome infectieux avec un liquide céphalorachidien trouble à la ponction lombaire. La présence de signes cliniques méningés est fréquente mais non indispensable au diagnostic, en particulier chez le nourrisson et la personne âgée (88, 89, 90).

a- Diagnostic biologique

a.1- Examen direct après coloration de Gram

La coloration de Gram effectuée sur le frottis de LCR (après centrifugation) permet d'évoquer l'espèce bactérienne en cause. La lecture du frottis doit être très attentive car les bactéries peuvent être rares lorsqu'il s'agit d'un méningocoque, ou prendre un aspect peu typique (morphologie altérée par l'antibiothérapie). L'efficacité de cette technique dépend de la charge

bactérienne présente dans l'échantillon qui peut être considérablement réduite en cas de prise d'antibiotique (86, 87).

a.2- Détection des antigènes solubles

En dehors de l'aide apportée à l'observation de formes atypiques à l'examen direct, la détection d'antigènes solubles est précieuse lorsqu'une antibiothérapie est déjà instaurée, inhibant la culture. La sensibilité de cet examen est cependant assez faible : lorsqu'on n'observe pas de bactéries à l'examen direct, la recherche d'antigènes solubles est très souvent négative, du moins avec les réactifs usuels, basés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisés. La contre-immunoélectrophorèse est très peu utilisée actuellement, car peu adaptée aux tests ponctuels effectués en urgence (90).

➤ Agglutination latex

- Technique classique

Ce test repose sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques à partir de sérum ou d'urine mais pour la confirmation diagnostic de méningite, l'antigène bactérien doit être détecté dans le LCR (87, 90). En effet, cet examen est simple d'exécution et d'interprétation, il est rapide et les résultats ne sont pas ou peu modifiés par un traitement antibiotique préalable. Un des intérêts majeur de ce test est de pouvoir diagnostiquer précocement dans les cas de méningites à méningocoque, le sérogroupe et permettre ainsi de débiter rapidement une vaccination des sujets proches.

Néanmoins, il existe de faux positif et un test d'agglutination au latex négatif n'exclut pas une méningite bactérienne (87).

Les variations importantes des performances du test entre les différentes études (sensibilité entre 50 et 93% qui peut être augmentée par l'utilisation d'ultrasons) s'expliquent en partie par l'utilisation de kits différents dans des contextes cliniques variables (87, 90).

Plusieurs facteurs limitent l'utilisation clinique de ces tests d'agglutination. La spécificité antigénique imparfaite, l'existence de réactions croisées avec d'autres bactéries limitent la justification de ce test.

Une certaine controverse concernant l'utilité de ce test existe, cependant en cas de cellularité élevée dans le LCR, il est dans la grande majorité des cas réalisé dans la plupart des laboratoires malgré son coût.

Les principaux kits commerciaux utilisés permettent ainsi de détecter : *Neisseria meningitidis* A/B/C/Y/W135, *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* (ex : Pastorex® Meningitis Kit, Murex Biotech) (87).

Pour le méningocoque, la performance des réactifs agglutinants (détection des antigènes polysidiques capsulaires) est variable selon le séro groupe en cause. Pour le groupe B, les résultats sont très décevants ; ils sont un peu meilleurs pour les groupes C, W135 et Y, respectivement 28 %, 3% et 3% des isolats, mais restent globalement modestes pour l'aide au diagnostic. La sensibilité pourrait être cinq fois supérieure en effectuant un traitement ultrasonique du mélange latex/LCR (ou latex/sérum), suivi d'une observation au microscope de la réaction, mais il faut disposer d'un équipement à ultrasons. Il y a également des problèmes de spécificité, le plus connu étant la communauté antigénique du groupe B avec *Escherichia coli* K1, responsable de méningites néonatales.

Pour *H influenzae* de sérotype b, devenu exceptionnel depuis la vaccination, l'antigène soluble b peut être recherché par agglutination, dans le LCR, le sérum ou l'urine. Pour les tests urinaires, particulièrement intéressants en cas d'antibiothérapie préalable, la spécificité du test peut être améliorée en diluant l'urine au 1/8 sans altération de la sensibilité (positivité persistante jusqu'au 1/32) (88).

Tableau V : Réactions croisées des tests d'agglutination au latex (87).

Cibles des tests	Réactions croisées
<i>S pneumoniae</i>	Streptocoques a hémolytiques
	<i>S agalactiae</i>
	<i>N meningitidis</i>
	<i>K pneumoniae</i>
<i>S agalactiae</i>	<i>S aureus</i>
	Streptocoques du groupe G
	<i>S pneumoniae</i>
	<i>Proteus sp.</i>
<i>H influenzae</i> type b	<i>S aureus</i>
	<i>S pneumoniae</i>
	<i>N meningitidis</i>
	<i>E coli</i>
<i>N meningitidis</i>	<i>H parainfluenzae</i>
	<i>E coli</i>

- Technique sensibilisée par l'utilisation d'ultrasons

Afin d'augmenter la sensibilité des tests d'agglutination des particules de latex, une nouvelle approche a été développée en utilisant des ultrasons. En effet, il a été démontré que l'utilisation des ultrasons augmente les interactions entre les

antigènes bactériens et les anticorps fixés sur les billes facilitant les contacts entre les particules. Par cette technique, les seuils de sensibilité sont augmentés d'un facteur 16 à 128. Par ailleurs, cette technique n'augmente pas les réactions non spécifiques.

Dans une étude de Sobanski et al., portant sur l'utilisation de trois kits commerciaux différents (Murex[®], Pastorex[®] et Slidex[®]), la technique des ultrasons appliquée à l'identification des échantillons infectés par *N meningitidis* (A, C, Y et W135) augmente la sensibilité avec un gain de l'ordre de 40 % (40 % pour un test classique, 80 % avec les ultrasons) (87).

➤ Immunochromatographie (ICT)

- Détection de *Streptococcus pneumoniae* (BINAX Now *Streptococcus pneumoniae*[®] test)

Ce test repose sur la détection des molécules de polysaccharide-C contenues dans la paroi de tous les *Streptococcus pneumoniae* quels que soient les sérotypes et permet le diagnostic précoce d'infection à pneumocoques. Devant l'émergence de souches résistantes, le diagnostic précoce d'infection à *S pneumoniae* permet une meilleure prise en charge thérapeutique. Initialement utilisé pour le diagnostic des pneumonies à pneumocoque (approuvé par la Food and Drug Administration en 1999) (87, 89, 90).

La détection des antigènes pneumococciques dans le LCR montre une sensibilité et une spécificité proches de 100 % pour le diagnostic de méningite à pneumocoque, comparativement au diagnostic par culture et/ou PCR.

Avec une spécificité et une sensibilité élevées, la pratique de ce test sur le LCR est recommandée lorsque le contexte clinique est fortement évocateur d'une méningite bactérienne, en particulier lorsque l'examen direct est négatif.

D'utilisation très simple et rapide, il est adapté à l'urgence. L'inconvénient de ce test réside dans son coût, environ 20 euros (dix fois supérieur au prix du test agglutinant) (87, 89, 90).

- Détection de *Neisseria meningitidis*

Récemment, un test similaire au test Binax a été développé pour le diagnostic du méningocoque (RDT : Rapid Diagnostic Test). Deux immunochromatographies en duplex permettent de détecter les sérogroupes A, W135 et Y (RDT₁), d'une part, et les sérogroupes C et Y, d'autre part, (RDT₂) (87).

a.3- Détection moléculaire

Elle a pris beaucoup d'importance pour les méningites à méningocoque, bactérie fragile, retrouvée en culture dans moins de 80% des cas. La recherche d'antigènes solubles est également souvent mise en défaut, surtout pour les méningocoques du groupe B.

Actuellement la détection du méningocoque dans le LCR peut se faire par amplification du gène de régulation *crgA*. D'autres cibles peuvent être utilisées, comme les gènes *ctrA*, *dhps*, *porA* et *porB*. Avec le gène *crgA*, la sensibilité et la spécificité, pour le LCR sont, respectivement, de 89,7 et 92,7%. La sensibilité est plus faible pour le sang, et décroît rapidement avec l'antibiothérapie. Il est

également possible de détecter le sérotype par l'amplification des gènes *siaD* (sérotypes B, C, Y, W135) et *mynB/sacC* (sérotype A).

Pour le pneumocoque, divers protocoles de PCR ont été décrits, le plus souvent basés sur la détection du gène de l'autolysine *lytA*, avec divers protocoles de révélation.

Pour *L. monocytogenes*, la PCR en temps réel permet de détecter et quantifier l'ADN dans le LCR. Par ailleurs, une PCR multiplex permettrait de différencier les souches.

Depuis quelques années, des protocoles de PCR multiplex permettent de détecter simultanément *méningocoque*, *pneumocoque* et *H influenzae* dans le LCR, avec une bonne spécificité, et des sensibilités variables selon les agents pathogènes et selon les auteurs : 88 à 93,9% (89).

5.2.2. Méningites à liquide clair

Les méningites aseptiques, caractérisées par un syndrome méningé souvent fébrile, avec un liquide clair à la ponction lombaire, correspondent à une situation clinique fréquente, dont le diagnostic étiologique peut être difficile. Les causes en sont multiples (infectieuses, inflammatoires, auto-immunes, tumorales, médicamenteuses...) (91).

a- Méningites virales

a.1- Méningites entérovirales (92, 93)

Les entérovirus sont les causes majeures des méningites aseptiques, bénignes chez l'immunocompétent. La détection de leur génome dans le LCR apporte la certitude diagnostique.

Depuis 1984, une meilleure connaissance de la structure du génome des entérovirus a autorisé le développement des techniques de détection du génome viral. La RT-PCR est une technique très sensible (entre 10 et 100 copies d'ARN génomique pour 200 µl de liquide biologique) et très spécifique. Elle permet un diagnostic étiologique rapide (en moins de 48 h) des entérovirus. Afin de mieux standardiser et de rendre plus rapide la détection des entérovirus dans les échantillons cliniques, des techniques de RT-PCR en temps réel avec hybridation spécifique des produits d'amplification par hybridation moléculaire ont été développées et permettent de rendre un résultat qualitatif (positif ou négatif), rapide (le délai technique de résultat a été raccourci à trois heures au lieu de 24 heures) ou quantitatif en utilisant une gamme de plasmide standardisée.

a.2- Méningites herpétiques (85, 88, 93).

La détection du virus dans le LCR par PCR multiplex fait le diagnostic. Toutefois, cette méthode n'est pas fiable à 100 % et il est possible de passer à côté du diagnostic de certains herpès virus.

b- Autres Méningites à liquide clair (85, 88, 94)

En seconde intention, il faut évoquer :

- des étiologies bactériennes : tuberculose, syphilis, brucellose, listériose, leptospirose;
- des étiologies mycotiques: cryptococcose, candidose;
- des étiologies parasitaires: paludisme, cysticercose, trypanosomiase, schistosomiase, trichinose.
- des étiologies virales : coxsackies, échovirus, VIH, adénovirus, Epstein-Barr virus, cytomégalovirus, myxovirus, arbovirus, rage ;

Le pronostic vital et fonctionnel des méningites graves de l'adulte, en particulier des méningites purulentes et de la méningoencéphalite herpétique, est lié à la précocité du traitement. Le raccourcissement du délai symptômes/traitement représente actuellement le facteur pronostique sur lequel il est possible d'influer.

6. Angines

6.1. Problématique

La survenue d'une épidémie d'angines aiguës dans une communauté soulève plusieurs questions. Érythémateuses ou érythématopultacées, elles sont d'origine virale dans plus de 90 % des cas, mais on ne doit pas méconnaître et priver d'antibiothérapie les angines streptococciques.

Le diagnostic rapide des angines à streptocoque du groupe A s'est considérablement développé au cours des dernières années dans un contexte de rationalisation des prescriptions d'antibiotiques en pratique communautaire et d'économie de la santé. Largement diffusés auprès des praticiens, ce sont les tests de diagnostic rapide les mieux connus et les plus disponibles en cas d'épidémie.

6.2. Tests disponibles

6.2.1. Angines streptococciques

L'angine est l'une des infections les plus fréquentes des voies aériennes supérieures. Elle est d'origine virale dans 50–90 % des cas. Le streptocoque du groupe A (SGA) est la première cause bactérienne des angines (95, 96). L'angine streptococcique est une maladie généralement bénigne d'évolution le plus souvent favorable. Cependant, non ou mal traitée, elle peut donner lieu à plusieurs complications suppuratives et non suppuratives (97). Le streptocoque A peut être responsable de complications générales potentiellement graves,

notamment le rhumatisme articulaire aigu (RAA), et la glomérulonéphrite aiguë (GNA).

a- Épidémiologie

L'angine représente un motif fréquent de consultation en milieu pédiatrique et en médecine de première ligne. Bien que l'origine bactérienne ne constitue que 10–40 % des cas, les angines sont traitées par des antibiotiques en absence de preuve microbiologique et vu le risque de complications potentiellement graves (97). Le SGA représente 25–40 % des angines de l'enfant et 10–25 % des angines de l'adulte (95, 96, 97). La fréquence d'angine streptococcique est maximale entre cinq et 15 ans. En effet, la vie communautaire, notamment le milieu scolaire, favorise la survenue de petites épidémies d'angines streptococciques (95, 96, 97). Elles sont, le plus souvent, plus fréquentes en hiver et au début du printemps (96, 97).

b- Diagnostic biologique

Le diagnostic étiologique des angines est difficile en se basant sur la clinique seule. En effet, l'analyse des signes cliniques observés chez les patients ne montre pas de différence significative entre le groupe d'angines streptococciques et celui d'angines non streptococciques (95, 96). Les examens microbiologiques dont le test de diagnostic rapide (TDR), sont nécessaires pour le diagnostic de certitude des angines à SGA.

b.2. Le TDR (96)

Le TDR est un test simple et rapide ne nécessitant qu'un bref apprentissage et utilisable en cabinet. Il a fait ses preuves depuis plus de 15 ans aux Etats-Unis et dans les pays du nord de l'Europe. Sa sensibilité et sa spécificité ont été améliorées.

b.2.1. Principes et modalités

Le principe du TDR repose sur la détection, au niveau pharyngé, d'un antigène spécifique de la paroi de SBHA : la protéine M, sans présager de sa pathogénie.

Le test se fait en trois étapes :

- la première est celle du prélèvement de gorge avec un écouvillon censé recueillir les sécrétions susceptibles de contenir l'antigène, à savoir celle des amygdales, des loges amygdaliennes et de la paroi postérieure du pharynx en évitant de toucher la langue, les dents et la bouche afin de limiter les résultats discordants.
- La seconde correspond à l'extraction de l'antigène en plongeant l'écouvillon dans une solution, pendant une minute, contenant deux réactifs.
- La troisième, enfin, consiste à visualiser la réaction Ag-Ac qui s'effectue par une technique immuno-optique (pour les tests les plus récents) en immergeant, dans la solution, une bandelette réactive pendant 5 minutes.

La durée de la réalisation du test est d'environ 7 minutes dont la majorité correspond à un temps d'attente.

b.2.2. Les performances du TDR (97)

Le TDR offre une alternative dans le diagnostic des angines streptococciques. C'est un examen simple, rapide, non invasif qui permet de différencier en quelques minutes les angines virales des angines streptococciques ; ce qui permet de limiter la prescription des antibiotiques aux seules angines streptococciques. Dans les différentes études, les TDR utilisés avaient généralement une excellente spécificité souvent supérieure à 95 % et une sensibilité moins bonne souvent comprise entre 80 et 95 %.

Un TDR positif confirme l'origine streptococcique de l'angine et justifie la prescription d'antibiotiques. En cas de TDR négatif et en absence de facteurs de risque de RAA, aucun traitement antibiotique n'est prescrit. Les TDR sont actuellement largement utilisés dans de nombreux pays, notamment en Amérique du Nord et en Europe où ils occupent une place primordiale dans la prise en charge des angines. Les recommandations actuelles dans la plupart de ces pays ont profité de l'apport du TDR et tendent à limiter l'antibiothérapie aux seules angines streptococciques. Cependant, la place des critères cliniques, du TDR et de la culture bactérienne du prélèvement de gorge diffère d'un pays à l'autre. Ainsi, en France, les dernières recommandations de l'Afssaps (octobre 2005) consistaient à pratiquer un TDR devant une angine érythémateuse ou érythématopultacée chez tous les enfants à partir de trois ans et chez les adultes ayant un score de Mc Isaac supérieur ou égal à 2. Un TDR positif confirme l'origine streptococcique de l'angine et justifie la prescription d'antibiotiques. En cas de TDR négatif et en absence de facteurs de risque de RAA, aucun traitement antibiotique n'est prescrit. Aux États-Unis, la Société américaine des maladies infectieuses (IDSA) recommande de pratiquer un TDR chez tout

patient, quel que soit son âge, suspect d'angine à SGA selon un faisceau de critères cliniques et épidémiologiques présomptifs. En cas de TDR positif, une antibiothérapie est prescrite. Un TDR négatif nécessite une confirmation par une culture bactérienne chez l'enfant. Chez l'adulte, vu la plus faible incidence d'angines streptococciques et le risque très minime de RAA, une confirmation par culture des TDR négatifs n'est pas obligatoire.

La fréquence de l'angine et la charge économique, liée principalement au coût de l'antibiothérapie souvent inutile, sont des arguments en faveur de l'introduction du TDR dans la stratégie de prise en charge des angines. De point de vue budgétaire, le coût d'un TDR est inférieur au coût d'une cure d'antibiotiques pour la plupart des TDR disponibles sur le marché. Il serait intéressant de recommander d'effectuer un TDR avant toute décision thérapeutique afin de limiter l'antibiothérapie aux angines aiguës à SGA.

Ce réactif a une grande importance dans le cadre du diagnostic et du traitement de l'angine. En effet, parmi les différents types d'angines, seule l'angine à Streptocoque bêta-hémolytique du groupe A nécessite un traitement antibiotique en raison de la gravité des complications post-infectieuses potentielles. Ce risque conduit à traiter toutes les angines par antibiotiques en pratique courante. Ceci a pour conséquence de participer au développement de résistances aux antibiotiques et d'entraîner des dépenses de santé inutiles.

CONCLUSION

Le développement des technologies entraîne une multiplication des tests rapides. De plus en plus d'industriels s'orientent vers ces méthodes et essaient d'améliorer ces outils analytiques. L'avenir des tests rapides repose donc sur une augmentation du nombre de pathogènes détectées. En plus de cette augmentation, un regroupement des analyses pourrait être envisagé. Ainsi, à partir d'un seul kit, plusieurs pathogènes pourraient être rapidement recherchés ce qui permettrait un diagnostic différentiel rapide. Cette perspective est envisageable grâce à l'intervention de la biologie moléculaire avec notamment le principe des PCR-multiplex qui en utilisant plusieurs amorces permettent un screening de plusieurs germes à la fois.

Pour certains biologistes, les tests rapides sont coûteux, difficiles à gérer et n'apportent aucun bénéfice aux services médicaux. Pour d'autres, la place de ces méthodes analytiques dans le domaine du diagnostic biologique ne peut que s'accroître.

Les tests rapides présentent encore des faiblesses qui suscitent une certaine méfiance quant à leur utilisation. Le retrait précoce du marché de certains tests de mauvaise qualité et de coût élevé a conforté cette impression. Cependant, l'amélioration des instruments de mesure et la diminution des prix semblent être à présent les objectifs principaux des industriels. Dans les années à venir, de tels progrès permettront la mise au point des tests rapides aussi efficaces et performants que les tests classiques de laboratoire. À l'heure actuelle, la demande de rapidité au niveau du rendu des résultats des

examens biologiques par le milieu médical et les patients, est croissante. Seuls les tests rapides pourront répondre à cette nouvelle exigence. C'est pourquoi ces méthodes devraient trouver logiquement leur place aux côtés des tests classiques de laboratoire.

En conclusion, les tests rapides permettraient de simplifier grandement les procédés actuels d'analyses médicales. Cela aboutirait à une meilleure prise en charge du patient et à une amélioration des conditions de travail du personnel soignant.

Titre : Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique

Auteur : ZAHRA EL HABRI

Mots clés : Épidémie - Diagnostic biologique rapide – Immunochromatographie
- PCR en temps réel.

Résumé :

En contexte épidémique, le diagnostic biologique des maladies infectieuses doit être simple, fiable et rapide. Avec les progrès de la microbiologie et des biotechnologies, cette exigence est réalisable. Deux types de tests, fournissant des résultats en quelques minutes à quelques heures, sont actuellement en plein essor : les tests immunologiques sur carte ou sur bandelette, pour mettre en évidence des antigènes ou des anticorps spécifiques, et les tests moléculaires détectant une région conservée du génome de l'agent pathogène. La PCR en temps réel est maintenant considérée comme un outil valable, rapide, sensible et spécifique pour le diagnostic biologique.

Les performances de ces tests de diagnostic rapide doivent être évaluées de façon rigoureuse dans leurs conditions d'emploi avant leur mise sur le marché. Un algorithme d'utilisation pourrait être proposé aux biologistes appelés à intervenir en situation épidémique, en suivant une approche syndromique (fièvres, syndromes ictérohémorragiques, pneumopathies, diarrhées, affections neuroméningées, angines) afin de l'intégrer dans le processus d'enquête.

Cependant, les méthodes de diagnostic conventionnelles sont et indispensables pour isoler l'agent pathogène en cause quelle que soit la qualité de ces tests.

Title: Rapid biological diagnosis in an epidemic context

Author: ZAHRA EL HABRI

Keywords: Outbreak; Rapid diagnosis; Dipstick; Real time PCR.

Summary:

In an epidemic context, the biological diagnosis of infectious diseases has to be easy to perform, reliable and rapid. Through the progress of microbiology and biotechnologies, this requirement is realizable. Two kinds of tests, providing results within few minutes to few hours, are now being developed: card tests and dipsticks, to detect specific antigens or antibodies, and molecular assays to detect a specific nucleotide sequence of the organism. Real time PCR is now considered a valuable tool, rapid, sensitive and specific for biological diagnosis. Performances of these rapid tests must be evaluated rigorously in real conditions before to be licensed. An algorithm of use could be proposed to the biologists involved in an outbreak investigation, following a syndromic approach (fevers, icterohemorrhagic syndromes, respiratory tract infections, diarrhoeas, cerebrospinal infections, sore throat).

Whatever the performances of these tests, they can replace conventional diagnosis methods. Methods which remain essential for isolation of the infectious agent.

العنوان: التشخيص البيولوجي السريع في سياق وبائي

الكاتبة: زهرة الهبري

الكلمات الأساسية: وباء - تشخيص بيولوجي سريع - تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي - الكروماتوغرافيا المناعية.

ملخص :

في سياق الوباء، يجب أن يتم التشخيص المخبري للأمراض المعدية بكيفية بسيطة، موثوقة وسريعة. مع تقدم علم الأحياء الدقيقة والتكنولوجيا الحيوية، أصبح هذا المطلب ممكناً عملياً. هناك نوعين من الاختبارات التي تقدم النتائج في غضون بضع دقائق إلى بضع ساعات، هي الآن مزدهرة: الاختبارات المناعية على بطاقة أو شريط، من أجل كشف مولدات المضاد أو مضادات الأجسام والاختبارات الجزيئية لكشف منطقة من جينوم العامل الممرض. تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي يعتبر الآن أداة قيمة، سريعة، حساسة ومحددة للتشخيص المخبري.

ينبغي تقييم أداء هذه الاختبارات التشخيصية في ظروف عملها بدقة قبل طرحها في الأسواق. كما يمكن اقتراح نهج خوارزمية لعلماء الأحياء المدعوون للتدخل في حالة ظهور وباء وذلك باتتباع مقارنة المتلازمات (الحمى، الحمى النزفية، الإلتهابات الرئوية، الإسهال، التهاب السحايا، التهاب اللوزتين) وادماجها في جمع المعلومات.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) **Desenclos JC, Vaillant V, Delarocque Astagneau E et al.** Les principes de l'investigation d'une épidémie dans une finalité de santé publique. *Médecine et maladies infectieuses* 2007; 37 (2): 77- 94.
- (2) **Doléans A, Issabré Y, Freney J.** Les tests rapides en bactériologie. *Annales de Biologie Clinique* 2003 ; 61 (4) : 379-92.
- (3) **Chakour M, Koeck JL, Maslin J et al.** Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique : état des lieux, perspectives. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2003 ; 33 (8) : 396-412.
- (4) **Chanteau S, Nato F.** Diagnostic rapide des maladies bactériennes à potentiel épidémique. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2005 ; 35 : 100-102.
- (5) **Lavigne JP, Jeandrot A, Sotto A.** Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires. *Spectra biologie* 2006 ; 151 : 33-41.
- (6) **Agut H, Deback C, Boutolleau D et al.** Aide du laboratoire de virologie en maladies infectieuses. *AKOS (Traité de Médecine)* 2007.
- (7) **Pelletier N, La Scola B.** Détection moléculaire et immunologique des bactéries dans le cadre du bioterrorisme. *Médecine et maladies infectieuses* 2010; 40 (9): 506-516.
- (8) **Prod'hom G, Bille J.** Use of POCT (point of care tests) in the diagnosis of infectious diseases. *Rev Med Suisse* 2008. 4(152): p. 908-13.
- (9) **Chapel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N.** Immunologie clinique- de la théorie à la pratique, avec cas cliniques. 4^e édition. De Boeck 2004. Sciences Médicales. p 328.
- (10) **Prod'hom G, Bille J.** Diagnostic bactériologique rapide : des méthodes conventionnelles aux méthodes moléculaires modernes. *Réanimation* 2006 ; 15 : 180-186.

- (11) **Kaplan JC, Delpech M.** Biologie moléculaire et médecine. 3^e édition. Flammarion Médecine-Sciences 2007. De la biologie à la clinique. 815p.
- (12) **Lamorila J, Bogarde M, Ameziane N et al.** Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007 Généralités - Partie 1. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2007 ; 22 : 5-18.
- (13) **Bourdé-Vacher K, Khenfer D, Martin C et al.** Nouveautés en biologie moléculaire. *État de l'art en biologie* 2009.
- (14) **Mathys V, Lefèvre P, Fontaine V et al.** La PCR en temps réel : principe et application en infectiologie. *Antibiotiques* 2007 ; 9 (3) : 205-211.
- (15) **Martinez V, Caumes E.** Fièvre au retour de voyage. *Médecine d'urgence* 2007.
- (16) **Martinez V, Caumes É.** Fièvre au retour de voyage. *AKOS (Traité de Médecine)* 2006.
- (17) **Boureea P, Alexa S.** Intérêt du test Paracheck PfR pour le diagnostic de paludisme à *Plasmodium falciparum*. *Revue francophone des laboratoires* 2008 ; 399 : 99-103.
- (18) **Moulin F, Gendrel D.** Paludisme d'importation : pièges diagnostiques et tests de diagnostic rapide. *Archives de Pédiatrie* 2009 ; 16 : S89-S92.
- (19) **Berry A, Iriart X, Magnaval J.** Nouvelles méthodes de diagnostic du paludisme. *Revue francophone des laboratoires* 2009 ; 2009 (416) : 65-70.
- (20) **Minodier P.** Dépistage du paludisme : tests rapides. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 2005 ; 18 (8) 386-388.
- (21) **Bourée P, Djibo N.** Intérêt des tests de diagnostic rapide pour le paludisme. *OptionBio* 2009 ; 416 : 22-23.
- (22) **Matheus S, Lacoste V, Labeau B et al.** Techniques de routine et approches innovantes pour le diagnostic biologique de la dengue. *Revue francophone des laboratoires* 2009 ; 2009 (417) : 49-57.

- (23) **Tricou V.** Etude comparative de deux tests de détection rapide de la protéine NS1 pour le diagnostic de la dengue. Thèse. D. Ph. Université Claude Bernard Lyon 1 2010 ispb.univ-lyon.fr/theses
- (24) Haute Autorité de Santé (HAS). Détection de l'antigène NS1 de la dengue 2009 <http://www.has-sante.fr>
- (25) **Parcevaux M, Boisson V, Lemant J et al.** Epidémie de grippe A (H1N1/) 2009: description des cas et expérience de gestion de crise dans un service de réanimation réunionnais. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation (ANNFAR)* 2010; 4412: 1-7.
- (26) **Agut H, Boutolleau D, Deback C.** La grippe est-elle encore le modèle des infections virales émergentes ?. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2010 ; 25 : 241—251.
- (27) **Vabret A, Dina J, Cuvillon-Nimal D.** La grippe saisonnière. *Pathologie Biologie* 2010 ; 58 : 51-57.
- (28) **Lahlou IA, Zouhair S.** Rôle du laboratoire dans le diagnostic virologique de la grippe pandémique A (H1N1) v. *Les technologies de laboratoire* 2009 ; 17 : 20-29.
- (29) **Demeure C, Carniel E.** Yersinia pestis. *Revue francophone des laboratoires* 2009 ; 2009 (415) : 33-39.
- (30) **Tollenaere C.** Génétique et évolution du rat noir, *Rattus rattus*, réservoir de la peste à Madagascar. Thèse Evolution, Ecologie, Ressources génétiques, Paléontologie. Université Montpellier 2 2009 www.mpl.ird.fr
- (31) **Cot S, Bertherat E.** La peste : le vieux fléau se porte bien, Conférence inter-régionale sur la prévention et le contrôle de la peste 7-11 avril 2006, Antananarivo, Madagascar. *Med Trop* 2007 ; 67 : 117-118.
- (32) **Aubry P.** Peste. *Médecine tropicale* 2010.
- (33) **Beauvillaina C, Jeannina P, Renierb G et al.** 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* 2009 ; 410 : 33-41.

(34) **Blanc P, Dubus JC, Garnier JM et al.** Utility of interferon gamma assays for diagnosis of tuberculosis in children. *Archives de Pédiatrie* 2008; 15: 75-82.

(35) Direction générale de la santé. La tuberculose. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 2007 ; 20 : 238-243

(36) **Debertrand N.** Actualités de la tuberculose. *La revue du soignant en santé publique* 2009 ; 30 : 12-13.

(37) **Herrmann JL, Simonney N, Lagrange PH.** Avantages et limites des tests sanguins in vitro lymphocytes T/interféron gamma comparativement au test intradermique à la tuberculine pour le diagnostic de tuberculose. *Archives de Pédiatrie* 2007 ; 14 (2) : 207-211.

(38) **Drouillon V, Houriez F, Buze M et al .** Identification rapide de Mycobacterium tuberculosis complex dans les échantillons respiratoires par amplification d'ARN en temps réel. *Pathologie Biologie* 2006; 54, (8-9): 518-522.

(39) **Truffot-Pernot C, Véziris N, Sougakoff W.** Modern diagnosis of tuberculosis. *La Presse Medicale* 2006 ; 35 suppl 1 : 1737-1744.

(40) Groupe de travail de conseil supérieur d'hygiène publique, France. Diagnostic clinique et bactériologique de la tuberculose. *Médecine et maladies infectieuses* 2004 ; 34 (8-9) : 364-370.

(41) **Martinez V, Gicquel B.** Laboratory diagnosis of mycobacterial infections. *Archives de Pédiatrie* 2005; 12, Suppl 2 : S96-S101.

(42) **Émile C.** Des tests sanguins pour le diagnostic immunologique de la tuberculose. *OptionBio* 2009 ; (412) : 16-17.

(43) **Herrmann JL, Bergeron A, Diderot D.** Le dépistage d'une tuberculose infection latente avant la mise en route d'un traitement par anti-TNF: critique des méthodes. *Revue du Rhumatisme* 2008 ; 75 : 194-197.

(44) **Grare M, Derelle J, Dailloux M et al.** Difficultés du diagnostic de la tuberculose chez l'enfant : intérêt du test QuantiFERON TB GoldW In-Tube. *Archives de pédiatrie* 2010 ; 17 : 77-85.

(45) **Hyem B, Chinet T.** Méthodes diagnostiques de l'infection tuberculeuse en 2007 : intradermoréaction à la tuberculine ou l'interferon γ ? *La Revue de médecine interne* 2007 ; 28 : 147-150.

(46) **Blanc P, Dubus JC, Garnier JM et al.** Utility of interferon gamma assays for diagnosis of tuberculosis in children (Que faut-il penser des tests sanguins in vitro pour le diagnostic de la tuberculose en pédiatrie ?). *Archives de Pédiatrie* 2008; 15:75-82.

(47) Haute Autorité de Santé (HAS, France). Évaluation HAS : test de détection de l'interféron γ pour le diagnostic des infections tuberculeuses. *Médecine et maladies infectieuses* 2007 ; 37 : 689-693.

(48) **Lioté H, Lioté F.** Place des tests à l'interféron (IGRAs) dans le dépistage de la tuberculose latente (TBL) avant prescription d'agents anti-TNF : le point. *Revue du rhumatisme* 2010.

(49) **M. JM.** IGRA + ELISA : une révolution dans le diagnostic de la tuberculose. *Revue francophone des laboratoires* 2010 ; (42216) : 16.

(50) **M. JM** TB et IGRA : la succession de l>IDR est ouverte. *Revue francophone des laboratoires* 2010 ; (423) : 20.

(51) **Bouvet E, Bonnet D.** Nouveaux outils du diagnostic de l'infection tuberculeuse latente. *Pathologie Biologie* 2008 ; 56 : 84-87.

(52) **Greib C, Baronnet L, Duffau P et al.** Expérience d'utilisation du test QuantiFERON-TB Gold® dans différentes situations de diagnostic et de dépistage de la tuberculose. Communications orales / *La Revue de médecine interne* 2008 ; 29S : S294-S336.

(53) **Monguillot P, Soria P, Rhaïem K.** Expérience d'utilisation du test QuantiFERON-TB Gold® dans différentes situations de diagnostic de la

tuberculose. Communications affichées / *La Revue de médecine interne* 2009 ; 30 : S77-S151.

(54) **Chouaid C.** Actualités de la tuberculose. *Pathologie infectieuse* 2006 ; 23 (15) : 80-85.

(55) **Beauvillain C, Jeannin P, Renier G et al.** 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* 2009 ; 2009 (410) : 33-41.

(56) **Marchal G.** La tuberculose : résurgence et nouvelles méthodes de diagnostic. *Revue Francophone des Laboratoires* Février 2008 ; suppl au n°399 : 32-35.

(57) **Blanc P, Dubus JC, Garnier JM et al.** Que faut-il penser des tests sanguins in vitro pour le diagnostic de la tuberculose en pédiatrie. *Archives de Pédiatrie* 2008 ; 15 (1) : 75-82.

(58) **Maslin J, Kohli E, Leveque N et al.** Caractérisation des virus agents potentiels des diarrhées chez l'adulte à DJIBOUTI. *Med Trop* 2007 ; 67 : 249-255.

(59) **Truchis PD, Truchis AD.** Diarrhées aiguës infectieuses. *La Presse Médicale* 2007 ; 36 (4) Part 2 : 695-705.

(60) **Piarroux R.** Le choléra : épidémiologie et transmission. Expérience tirée de plusieurs interventions humanitaires réalisées en Afrique, dans l'Océan Indien et en Amérique Centrale. *Bull Soc Pathol Exot* 2002 ; 95 (5) : 345-350.

(61) **OMS.** Choléra en Haïti – bulletin n°4 2010 www.who.int

(62) **Fournier JM, Quilici ML.** Choléra. *La Presse Médicale* 2007 ; 36 (4) Part 2 : 727-739.

(63) **OMS.** Choléra 2010 www.who.int

(64) **Morillon M, Garnotel E.** Choléra. *Maladies Infectieuses* 2004 ; 1 : 67-80.

- (65) Notice technique, RAPIDIAG O157 Coli. Test de Diagnostique Rapide in vitro pour la détection de la bactérie E.Coli O157 dans les matières fécales après un enrichissement dans un milieu de culture. *biomedical diagnostics* 2009 ;1-6.
- (66) **Pelletier G.** Physiopathologie des diarrhées tropicales. *La Presse Medicale* 2007 ; 36 (4) Part 2 : 687-693.
- (67) **OMS.** Directives pour la lutte contre la shigellose, y compris lors d'épidémies dues à *Shigella dysenteriae* type 1 2008 : 1-68.
- (68) **Alain S, Denis F.** Epidémiologie des diarrhées aiguës infectieuses en France et en Europe. *Journal de pédiatrie et de périculture* 2007; 20 : 295-302.
- (69) **Nicolas X, Granier H, Le Guen P.** Shigellose ou dysenterie bacillaire. *La Presse Médicale* 2007 ; 36 (11) Part 2 :1606-1618.
- (70) **Dupont C.** Diarrhées aiguës de l'enfant. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 2010 ; 23 : 84-95.
- (71) **M. JJ** Bandelettes pour le diagnostic de la diarrhée à *Shigella*. *Revue Francophone des Laboratoires* Juin 2007 ; n° 393.
- (72) **Aumaître H, Lecaillon E, Ollivier S et al.** Diarrhées bactériennes. *EMC - Chirurgie* 2004 ; 1 (5) : 437-454.
- (73) **Keller L, Cohen-Bacrie S, Prère MF.** Évaluation de trois tests de diagnostic rapide de *Campylobacter jejuni* et coli à partir d'échantillons fécaux. *Pathologie Biologie* 2010.
- (74) **Olives JP, Mas E.** Viral acute diarrhea : clinical and evolutive aspects. *Archives de Pédiatrie* 2007 ; 14 Suppl 3 : S152-S155.
- (75) **Regagnon C, Chambon M, Archimbaud C et al.** Diagnostic rapide des infections à rotavirus : étude prospective comparative de deux techniques de détection d'antigènes dans les selles. *Pathologie Biologie* 2006 ; 54 (6) : 343-346.

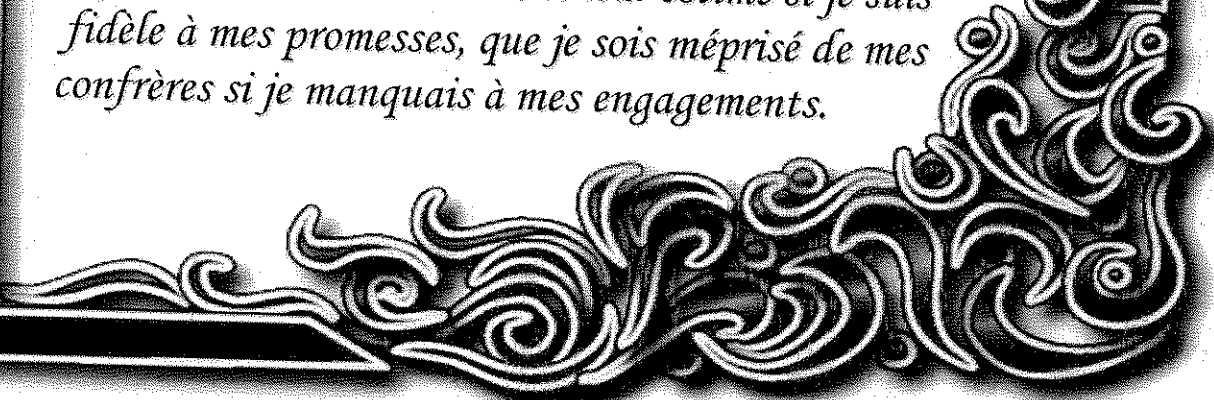
- (76) **De Rougemont A, Kaplon J, Billaud G et al.** Sensibilité et spécificité du test immuno-chromatographique VIKIA1 Rota-Adéno (bioMérieux) et du kit Elisa IDEIATM Rotavirus (Dako) par rapport aux techniques de génotypage. *Pathologie Biologie* 2009 ; 57 : 86-89.
- (77) **Bon F, Kaplon J, Metzger MH et al.** Évaluation de sept réactifs d'immunochromatographie pour détecter les rotavirus humains dans les selles. *Pathologie Biologie* 2007 ; 55 (3-4) : 149-153.
- (78) **Regagnon C, Chambon M, Archimbaud C et al.** Diagnostic rapide des infections à rotavirus : étude prospective comparative de deux techniques de détection d'antigènes dans les selles. *Pathologie Biologie* 2006; 54 (6) : 343-346.
- (79) **Bourée P, Bisaro F.** Diarrhées parasitaires. *La Presse Medicale* 2007 ; 36 (4) Part 2 : 706-716.
- (80) **Faussart A, Thellier M.** Parasitoses intestinales. *AKOS* (Traité de Médecine) 2007.
- (81) **Bourée P.** Amœbose intestinale. *Gastro-entérologie* 2010.
- (82) **Rey P, Bredin C, Lemant N.** Grêle parasitaire. *Gastro-entérologie* 2008.
- (83) **Bourée P, Lançon A, Resende P.** Parasitoses intestinales émergentes. *Revue Francophone des Laboratoires* 2008 ; 2008 (399) : 23-28.
- (84) **Gétaz L, Chappuis F, Loutan L.** La prise en charge de la diarrhée des voyageurs. *Médecine et maladies infectieuses* 2007 ; 37 (12) : 781-786.
- (85) **Desmettre T, Manzon C, Capellier G.** Syndrome méningé de l'adulte. Orientation diagnostique et conduite à tenir en urgence. *Médecine d'urgence* 2009.
- (86) **Desmettre T, Rusterholtz T, Capellier G.** Méningite infectieuse aiguë de l'adulte : prise en charge initiale en urgence. *Médecine d'urgence* 2007.

- (87) **Carbonnelle E.** Apport des examens biologiques dans le diagnostic positif, la détermination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bactérienne. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2009 ; 39 (7-8) : 581-605.
- (88) **François P, Jan M.** Syndromes méningés. *Médecine d'urgence* 2007.
- (89) **Vu Thien H.** Apport des examens microbiologiques au diagnostic des méningites bactériennes aiguës. *Médecine et maladies infectieuses* juillet 2009 ; 39 (7-8):462-467.
- (90) Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. 17^e conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, 19 Novembre 2008, Paris. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). *Médecine et Maladies Infectieuses* 2008 : 1-65.
- (91) **Faurie P, Pérard L, Hot A et al.** Méningite aseptique récidivante due aux anti-inflammatoires non stéroïdiens chez une patiente lupique. *La Revue de Médecine Interne* October 2010 ; 31 (10) : e1-e3.
- (92) **Andréoletti L.** Entérovirus. *Maladies infectieuses* 2010.
- (93) **Tattevin P.** Méningoencéphalites infectieuses de l'adulte non immunodéprimé. *La revue de médecine interne* Février 2009 ; 30 (2) : 125-134.
- (94) **Segondy M.** Infections virales : grands syndromes et virus responsables. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes Janvier 2007 : 1-4.
- (95) **Buchbindera N, Benzdiraa A, Belgaïda A et al.** Angine streptococcique aux urgences pédiatriques : performances et impact d'un test de diagnostic rapide. *Archives de pédiatrie* 2007 ; 14 : 1057–1061.
- (96) **Chemarin I.** Expériences de prise en charge de l'angine après la diffusion du test de diagnostic rapide chez les médecins généralistes. Thèse D. Méd. Faculté de Médecine PARIS DESCARTES 2010 www.univ-paris5.fr
- (97) **Mezghani Maalej S, Rekik M, Boudaouara M et al.** Les angines aiguës de l'enfant dans la région de Sfax (Tunisie) : épidémiologie et intérêt du test de diagnostic rapide. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2010 ; 40 (4) : 226-231.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله العظمى

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاو مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفيع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



التشخيص البيولوجي السريع

في سياق وبائي

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

الآنسة: زهرة الهبري

المزودة في 1985/01/20 بخنيفة

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: وباء – تشخيص بيولوجي سريع – تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي –
الكروماتوغرافيا المناعية.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس	السيد: عمر شقيري
مشرف	أستاذ في الأنسجة والأجنة
	السيد: ياسن سخسوخ
	أستاذ مبرز في علم الأحياء الدقيقة
	السيد: علي أبو زهير
	أستاذ مبرز في الطب الباطني
أعضاء	السيد: حسين تليكي
	أستاذ مبرز في علم الطفيليات