

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

ANNEE: 2017

THESE N°: 80

TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE :  
APPLICATION EN INFECTIOLOGIE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le : .....

PAR

Mr. Ali OUANDAF

Né le 11 Mai 1991 à Tizmit

Pharmacien Interne du CHU Ibn Sina Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : TDR – Application – Infectiologie – Sensibilité – Spécificité.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

RAPPORTEUR

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

Mme. M. CHADLI

Professeur de Microbiologie

JUGES

Mme. M. NAZIH

Professeur d'Hématologie

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا  
إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ  
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT

### FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

#### **DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969 : Professeur 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  
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



#### **ADMINISTRATION :**

**Doyen** : Professeur Mohamed ADNAOUI  
**Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes**  
Professeur Mohammed AHALLAT  
**Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**  
Professeur Taoufiq DAKKA  
**Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**  
Professeur Jamal TAOUFIK  
**Secrétaire Général** : Mr. Mohamed KARRA

## 1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

#### **PROFESSEURS :**

##### **Décembre 1984**

|                          |   |
|--------------------------|---|
| Pr. MAAOUNI Abdelaziz    | Médecine Interne – <u>Clinique Royale</u> |
| Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi | Anesthésie -Réanimation                   |
| Pr. SETTAF Abdellatif    | pathologie Chirurgicale                   |

##### **Novembre et Décembre 1985**

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| Pr. BENSAID Younes | Pathologie Chirurgicale |
|--------------------|-------------------------|

##### **Janvier, Février et Décembre 1987**

|                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| Pr. CHAHED OUZZANI Houria | Gastro-Entérologie |
| Pr. LACHKAR Hassan        | Médecine Interne   |
| Pr. YAHYAOUI Mohamed      | Neurologie         |

##### **Décembre 1988**

|                                |                       |
|--------------------------------|-----------------------|
| Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| Pr. DAFIRI Rachida             | Radiologie            |

##### **Décembre 1989**

|                     |  |
|---------------------|--|
| Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne – <u>Doyen de la FMPR</u> |
| Pr. CHAD Bouziane   | Pathologie Chirurgicale                    |

Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

**Janvier et Novembre 1990**

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

**Février Avril Juillet et Décembre 1991**

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

**Décembre 1992**

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUDA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

**Mars 1994**

Pr. BENJAAFAR Noureddine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika

Neurologie

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation –**Doyen de la FMPO**  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**  
Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir du CE-  
DOC**

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la  
FMPA**  
Gynécologie Obstétrique  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**  
Immunologie



Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbas  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

### **Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. ERREIMI Naima

Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Gynécologie – Obstétrique  
Dermatologie

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - *Directeur HMI Med V*  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie



Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Noureddine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

### Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*

### Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

### Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. ROUIMI Abdelhadi\*

### Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

### Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJLIL Maria

Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie  
Neurologie – Doyen de la FMP Abulcassis  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Hématologie  
Cardiologie

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie- Dir. Hop. Av. Marr.  
Anesthésie-Réanimation Inspecteur du SSM  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne



Neurologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie Directeur Hop. Chekikh Zaied  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Neurologie

ORL

Anesthésie-Réanimation  
Neurologie

Pr. BENAMAR Loubna

Pr. BENAMOR Jouda  
 Pr. BENELBARHDADI Imane  
 Pr. BENNANI Rajae  
 Pr. BENOUACHANE Thami  
 Pr. BEZZA Ahmed\*  
 Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
 Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
 Pr. CHAT Latifa  
 Pr. DAALI Mustapha\*  
 Pr. DRISSI Sidi Mourad\*  
 Pr. EL HIJRI Ahmed  
 Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
 Pr. EL MADHI Tarik  
 Pr. EL OUNANI Mohamed  
 Pr. ETTAIR Said  
 Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
 Pr. HRORA Abdelmalek  
 Pr. KABBAJ Saad  
 Pr. KABIRI EL Hassane\*  
 Pr. LAMRANI Moulay Omar  
 Pr. LEKEHAL Brahim  
 Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
 Pr. MEDARHRI Jalil  
 Pr. MIKDAME Mohammed\*  
 Pr. MOHSINE Raouf  
 Pr. NOUINI Yassine  
 Pr. SABBABH Farid  
 Pr. SEFIANI Yasser  
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

### Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
 Pr. AMEUR Ahmed \*  
 Pr. AMRI Rachida  
 Pr. AOURARH Aziz\*  
 Pr. BAMOU Youssef \*  
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
 Pr. BENZEKRI Laila  
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
 Pr. BERNOUSSI Zakiya  
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya\*  
 Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
 Pr. CHKIRATE Bouchra  
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
 Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
 Pr. HAJJI Zakia  
 Pr. IKEN Ali

Néphrologie

Pneumo-phtisiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Rhumatologie  
 Anatomie  
 Radiologie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Anesthésie-Réanimation  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie-Pédiatrique  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie-Réanimation  
 Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Médecine Interne  
 Chirurgie Générale  
 Hématologie Clinique  
 Chirurgie Générale  
 Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Pédiatrie



Anatomie Pathologique  
 Urologie  
 Cardiologie  
 Gastro-Entérologie  
 Biochimie-Chimie  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Dermatologie  
 Gastro-Entérologie  
 Anatomie Pathologique  
 Psychiatrie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Dermatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Ophtalmologie  
 Urologie

Pr. JAAFAR Abdelouhab\*  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. LAGHMARI Mina  
Pr. MABROUK Hfid\*  
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAOUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*

Traumatologie Orthopédie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gynécologie Obstétrique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

Ophtalmologie  
Anatomie Pathologique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Radiologie



(mise en disponibilité)

Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

### Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

### Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Said\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

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

### Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AOUI Sarra  
Pr. BAITE Abdelouahed\*  
Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
Pr. BENZIANE Hamid\*  
Pr. BOUTIMZINE Nourdine

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie



Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
Pr. ELABSI Mohamed  
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
Pr. EL OMARI Fatima  
Pr. GHARIB Noureddine  
Pr. HADADI Khalid\*  
Pr. ICHOU Mohamed\*  
Pr. ISMAILI Nadia  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
Pr. LOUZI Lhoussain\*  
Pr. MADANI Naoufel  
Pr. MAHI Mohamed\*  
Pr. MARC Karima  
Pr. MASRAR Azlarab  
Pr. MRABET Mustapha\*  
Pr. MRANI Saad\*  
Pr. OUZZIF Ez zohra\*  
Pr. RABHI Monsef\*  
Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
Pr. SEFFAR Myriame  
Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
Pr. SIFAT Hassan\*  
Pr. TABERKANET Mustafa\*  
Pr. TACHFOUTI Samira  
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
Pr. TANANE Mansour\*  
Pr. TLIGUI Houssain  
Pr. TOUATI Zakia

### **Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
Pr TAHIRI My El Hassan\*

### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. ARKHA Yassir  
Pr. BELYAMANI Lahcen\*

Pharmacie galénique  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
Radiothérapie  
Anesthésie réanimation  
Microbiologie  
Réanimation médicale  
Radiologie  
Pneumo phtisiologie  
Hématologique  
Médecine préventive santé publique et hygiène  
Virologie  
Biochimie-chimie  
Médecine interne  
Radiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Radiothérapie  
Chirurgie vasculaire périphérique  
Ophtalmologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
Parasitologie  
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale  
Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Neuro-chirurgie  
Anesthésie Réanimation



Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamya  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
 Pr. MARMADE Lahcen  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*  
 Pr. CHEMSI Mohamed\*  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. EL SAYEGH Hachem  
 Pr. ERRABIH Ikram  
 Pr. LAMALMI Najat  
 Pr. MOSADIK Ahlam  
 Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
 Pr. NAZIH Mouna\*  
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

**Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed

Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Hématologie clinique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Médecine interne  
 Gynécologie obstétrique  
 Rhumatologie  
 Gastro-entérologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Microbiologie *Directeur Hôpital My Ismail*  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Pédiatrie  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Cardiologie  
 Pneumo-phtisiologie

Anesthésie réanimation  
 Médecine interne  
 Physiologie  
 ORL  
 Microbiologie  
 Médecine aéronautique  
 Biochimie chimie  
 Radiologie  
 Chirurgie pédiatrique  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Urologie  
 Gastro entérologie  
 Anatomie pathologique  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie générale  
 Hématologie  
 Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique

Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

### **Février 2013**

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
0.  
Pr. BENSGHIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad  
Pr. EL JOUDI Rachid\*  
Pr. EL KABABRI Maria  
Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
Pr. EL KHLOUFI Samir  
Pr. EL KORAICHI Alae  
Pr. EN-NOUALI Hassane\*  
Pr. ERGUIG Laila  
Pr. FIKRI Meryim  
Pr. GHFIR Imade  
Pr. IMANE Zineb  
Pr. IRAQI Hind

Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

Pharmacologie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique  
Toxicologie  
Pédiatrie  
Anatomie Pathologie  
Anatomie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Physiologie  
Radiologie  
Médecine Nucléaire  
Pédiatrie  
Endocrinologie et maladies métaboliques



Pr. KABBAJ Hakima  
Pr. KADIRI Mohamed\*  
Pr. LATIB Rachida  
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra  
Pr. MEDDAH Bouchra  
Pr. MELHAOUI Adyl  
Pr. MRABTI Hind  
Pr. NEJJARI Rachid  
Pr. OUBEJJA Houda  
Pr. OUKABLI Mohamed\*  
Pr. RAHALI Younes  
Pr. RATBI Ilham  
Pr. RAHMANI Mounia  
Pr. REDA Karim\*  
Pr. REGRAGUI Wafa  
Pr. RKAIN Hanan  
Pr. ROSTOM Samira  
Pr. ROUAS Lamiaa  
Pr. ROUIBAA Fedoua\*  
Pr. SALIHOUN Mouna  
Pr. SAYAH Rochde  
Pr. SEDDIK Hassan\*  
Pr. ZERHOUNI Hicham  
Pr. ZINE Ali\*

**Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim\*  
Pr. GHOUNDALE Omar\*  
Pr. ZYANI Mohammad\*

Microbiologie  
Psychiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Pharmacologie  
Neuro-chirurgie  
Oncologie Médicale  
Pharmacognosie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie Pathologique  
Pharmacie Galénique  
Génétique  
Neurologie  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Physiologie  
Rhumatologie  
Anatomie Pathologique  
Gastro-Entérologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Urologie  
Médecine Interne



Abdelilah KHALIL  
Chef de Service des Maladies  
Internes

**\*Enseignants Militaires**

### MARS 2014

ACHIR ABDELLAH  
BENCHAKROUN MOHAMMED  
BOUCHIKH MOHAMMED  
EL KABBAJ DRISS  
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA  
HARDIZI HOUYAM  
HASSANI AMALE  
HERRAK LAILA  
JANANE ABDELLA TIF  
JEAIDI ANASS  
KOUACH JAOUAD  
LEMNOUER ABDELHAY  
MAKRAM SANAA  
OULAHYANE RACHID  
RHISSASSI MOHAMED JMFAR  
SABRY MOHAMED  
SEKKACH YOUSSEF  
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

Chirurgie Thoracique  
Traumatologie- Orthopédie  
Chirurgie Thoracique  
Néphrologie  
Biochimie-Chimie  
Histologie- Embryologie-Cytogénétique  
Pédiatrie  
Pneumologie  
Urologie  
Hématologie Biologique  
Généologie-Obstétrique  
Microbiologie  
Pharmacologie  
Chirurgie Pédiatrique  
CCV  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Généologie-Obstétrique

#### **\*Enseignants Militaires**

### DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'  
AIT BOUGHIMA FADILA  
BEKKALI HICHAM  
BENAZZOU SALMA  
BOUABDELLAH MOUNYA  
BOUCHRIK MOURAD  
DERRAJI SOUFIANE  
DOBLALI TAOUFIK  
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI  
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM  
EL MARJANY MOHAMMED  
FEJJAL NAWFAL  
JAHIDI MOHAMED  
LAKHAL ZOUHAIR  
OUDGHIRI NEZHA  
Rami Mohamed  
SABIR MARIA  
SBAI IDRISSE KARIM

Pédiatrie  
Médecine Légale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Maxillo-Faciale  
Biochimie-Chimie  
Parasitologie  
Pharmacie Clinique  
Microbiologie  
Anatomie  
Anesthésie-Réanimation  
Radiothérapie  
Chirurgie Réparatrice et Plastique  
O.R.L  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Psychiatrie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

#### **\*Enseignants Militaires**



## AOÛT 2015

Meziane meryem  
Tahri latifa

Dermatologie  
Rhumatologie

## JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE  
EL ASRI FOUAD  
ERRAMI NOUREDDINE  
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
O.R.L  
O.R.L

## **2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES**

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

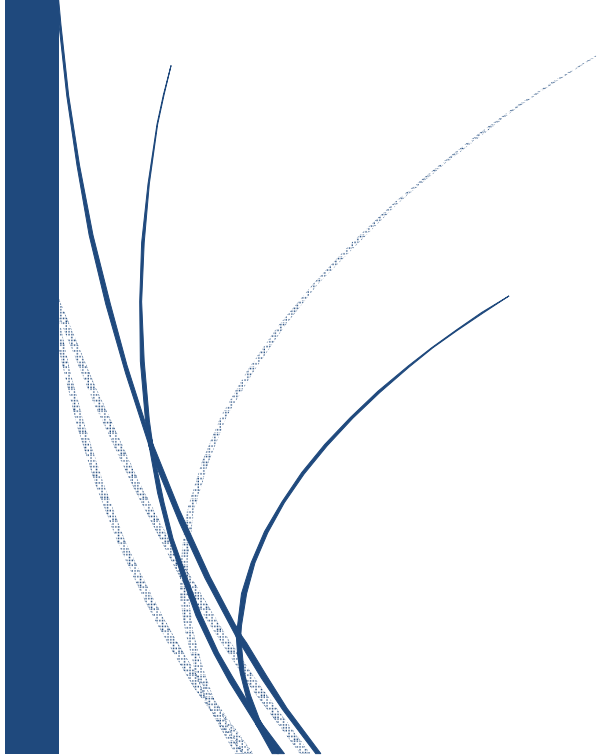
|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| Pr. ABOUDRAR Saadia             | Physiologie                            |
| Pr. ALAMI OUHABI Naima          | Biochimie – chimie                     |
| Pr. ALAOUI KATIM                | Pharmacologie                          |
| Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma  | Histologie-Embryologie                 |
| Pr. ANSAR M'hammed              | Chimie Organique et Pharmacie Chimique |
| Pr. BOUHOUCHE Ahmed             | Génétique Humaine                      |
| Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz         | Applications Pharmaceutiques           |
| Pr. BOURJOUANE Mohamed          | Microbiologie                          |
| Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia | Biochimie – chimie                     |
| Pr. DAKKA Taoufiq               | Physiologie                            |
| Pr. DRAOUI Mustapha             | Chimie Analytique                      |
| Pr. EL GUESSABI Lahcen          | Pharmacognosie                         |
| Pr. ETTAIB Abdelkader           | Zootéchnie                             |
| Pr. FAOUZI Moulay El Abbas      | Pharmacologie                          |
| Pr. HAMZAOUI Laila              | Biophysique                            |
| Pr. HMAMOUCHE Mohamed           | Chimie Organique                       |
| Pr. IBRAHIMI Azeddine           | Biologie moléculaire                   |
| Pr. KHANFRI Jamal Eddine        | Biologie                               |
| Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med  | Chimie Organique                       |
| Pr. REDHA Ahlam                 | Chimie                                 |
| Pr. TOUATI Driss                | Pharmacognosie                         |
| Pr. ZAHIDI Ahmed                | Pharmacologie                          |
| Pr. ZELLOU Amina                | Chimie Organique                       |

*Mise à jour le 14/12/2016 par le  
Service des Ressources Humaines*





# *Remerciements*



*A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :*

*Monsieur MIMOUN ZOUHDI*

*Professeur de MICROBIOLOGIE*

*A la faculté de médecine et de pharmacie de rabat*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de thèse. Vous nous avez accueillis avec simplicité, bonté et gentillesse. Vous serez, pour nous, l'exemple de droiture et de sérieux dans l'exercice de la profession.*

*Votre compétence, votre dynamisme, votre rigueur et vos qualités humaines ont suscité en nous une grande admiration et sont pour vos élèves un exemple à suivre.*

*Veillez accepter, cher Maître, l'assurance de notre estime et notre profond respect.*

*A NOTRE MAÎTRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE*

*MONSIEUR Y. SEKHSOKH*

*Professeur de Microbiologie*

*A l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V Rabat*

*Nous tenons à vous exprimer toute notre reconnaissance, pour  
l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail.*

*Vos conseils et vos orientations nous ont été très précieux. Nous  
espérons être dignes de votre confiance.*

*Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de nos vifs  
remerciements et de notre estime.*

*A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE*

*Madame SAKINA ELHAMZAOUI*

*Professeur de Microbiologie*

*A l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V Rabat*

*Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège  
en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse.*

*Vous avez fait preuve d'une grande disponibilité et d'une grande  
gentillesse.*

*Veillez trouver, cher Maître, dans ce modeste travail le  
témoignage de notre haute considération, de notre profonde  
reconnaissance et de notre sincère respect.*

*A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE*

*Madame Chadli Mariama*

*Professeur de microbiologie*

*A l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V Rabat*

*Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous  
nous faites en siégeant dans ce jury.*

*Que votre sérieux et votre rigueur de travail, ainsi  
que votre dévouement professionnel sans limites soient  
pour nous un exemple à suivre.*

*Veillez trouver, cher Maître, le témoignage de notre grande  
estime et de notre sincère reconnaissance.*

*A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE*

*Madame MONA NAZIH*

*Professeur d'Hématologie*

*A l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V Rabat*

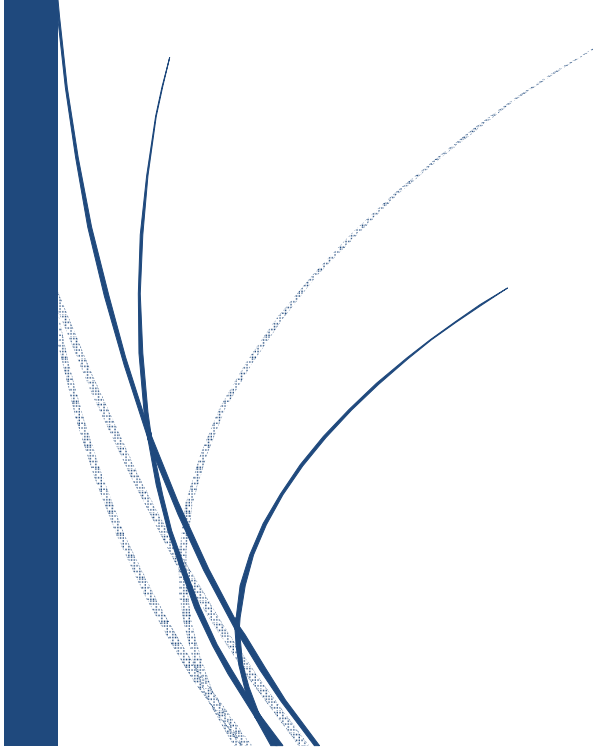
*Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège  
en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse.*

*Vous avez fait preuve d'une grande disponibilité et d'une  
grande gentillesse.*

*Veillez trouver, cher Maître, dans ce modeste travail le  
témoignage de notre haute considération, de notre profonde  
reconnaissance et de notre sincère respect.*



# *Dédicaces*



*Je dédie ce travail..*

*A ma chère mère :*

*A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans.  
A qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon  
profond amour, ma gratitude, ni mon infinie reconnaissance pour  
l'ampleur des sacrifices et des souffrances que vous avez enduré  
afin de pouvoir nous éduquer et pour nous voir heureux,  
Vous avez été et vous serez toujours un exemple à suivre pour  
qualités humaines, votre générosité et votre grand cœur.  
Vous m'avez appris le sens du travail, de l'honnêteté  
et de la responsabilité.*

*Vos encouragements et vos prières m'ont toujours soutenu et guidé.  
Je souhaite que cette thèse vous apporte la joie de voir aboutir vos es-  
poirs et j'espère ne jamais vous décevoir.*

*Puisse dieu tout puissant vous protège, vous procurer longue vie,  
santé et bonheur afin que je puisse vous rendre  
un minimum de ce que je vous dois.*

*Que dieu vous garde pour que demeuriez le flambeau  
illuminant mon chemin*

*Je vous dédie ce travail qui grâce à vous a pu voir le jour.*

*Je vous adore*

*Que dieu vous protège*

## *A mon cher père*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect,  
mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices  
que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.  
Vous avez été pour moi durant toute ma vie le père exemplaire,  
L'ami et le conseiller.*

*Vous m'avez appris le sens du travail, d'honnêteté,  
de l'engagement, du sérieux et de la responsabilité.  
Vos encouragements m'ont toujours soutenu et guidé.  
Vos prières pour moi étaient d'un grand soutien tout  
au long de mes études.*

*J'espère réaliser ce jour un de vos rêves et être digne  
de votre nom, de votre éducation, de votre confiance  
et des hautes valeurs que vous m'avez inculqué.*

*Je ferai de mon mieux afin que vous soyez toujours fier de moi.  
J'implore dieu qu'il vous garde, vous procure santé, prospérité, bonheur  
et longue vie pour que vous demeuriez  
le flambeau illuminant mon chemin*

*Je vous dédie ce travail qui grâce à vous a pu voir le jour*

*Je vous adore*

*Que dieu vous protège*

*A mon cher frère*

*Je vous dédie ce travail en témoignage  
de ma grande affection et attachement.*

*Puisse nos fraternels liens se pérenniser et consolider  
encore. Et que nous restions unis et fidèles à l'éducation  
que nos chers parents nous ont inculqué.*

*Que ce travail soit le symbole de toute l'affection  
et tout le respect que je vous porte.*

*Je suis et je serai toujours fière de vous.*

*Que dieu vous protège*

*A ma chère sœur*

*J'implore dieu qu'il vous apporte le bonheur  
et vous aide à réaliser vos vœux.*

*Que ce travail soit le symbole de toute l'affection  
que je vous porte.*

*Je suis et je serai toujours fier de vous,  
et je serai toujours à vos côtés pour vous soutenir.*

*Que dieu vous protège*

### *A la mémoire de mes chers grands parents*

*J'aurais bien voulu qu'ils soient auprès de moi en ce moment,  
mais le destin en a voulu autrement.*

*J'espère que, du monde qui est leur maintenant,  
ils apprécient cet humble geste comme preuve de reconnaissance  
de la part d'une chère qui a toujours prié pour le salut de leurs âmes.  
Puisse dieu, le tout puissant, les accorde sa clémence et sa miséricorde.  
Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon amour éternel.*

### *A ma grande famille*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression dans ma gratitude  
et reconnaissance avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

*Acceptez-la, l'expression de ma gratitude et mon respect.  
Puissent nos liens nouveaux se pérennisent et se consolident.*

*Fière d'être des vôtres.*

*A mes chers amis*

*J'ai le plaisir de dédier à chacun de vous ce modeste travail.*

*J'espère que vous y trouverez l'expression  
de mes sentiments les plus sincères.*

*Merci pour votre présence votre compréhension  
votre patience et vos encouragements.*

*Permettez-moi de saisir cette occasion pour exprimer  
mon profond respect et gratitude.*

*Puisse dieu vous comble de bonheur, de santé et de réussite*

*A tous mes enseignants*

*A tous ceux qui ont contribué de près  
ou de loin à l'élaboration de ce travail*

*A tous ceux qui m'ont dispensée le savoir,*

*A tous les patients qui me seront confiés, j  
'espère ne jamais les décevoir, ni trahir leur confiance.*

*A tous ceux et celles qui me sont chers  
Et que j'ai involontairement omis de citer  
Qu'ils me pardonnent...*

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

**Ac** : Anticorps

**AcM** : Anticorps monoclonal

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AI** : Aspergillose invasive

**ANAES** : Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé

**ARN** : Acide ribonucléique

**CPK** : Créatine phosphokinase

**CRP** : C Reactive Protein

**DOR** : Diagnostic odds ratio

**EDTA** : Ethylenediaminetetra-acetic acid

**EFS** : Etablissement français du sang

**EIA** Enzyme immunosorbent assay

**ELISA** : enzyme-linked immunosorbent assay

**ERV** : Entérocoques résistant à la vancomycine

**FAb** : Fragment antigen-binding

**FN** : Faux négatif

**FP** : Faux positif

**GM** : Galactomannanes

**ICT** : Immuno-Chromatographic Technics

**IFD** : Immunofluorescence directe

**IFI** : Immunofluorescence indirect

**LA** : Latex agglutination

**LBA** : Lavage broncho-alvéolaire

**LCR** : Liquide Céphalo-Rachidien

**LD** : Limite de détection

**LFA** : Lateral Flow Assay

**LFD** : Lateral-flow device

**LV** : Leishmaniose viscérale

**MSF** : Médecins Sans Frontières

**OMS** : l'organisation mondiale de la santé

**PfHRP2** : Plasmodium falciparum Histidine Rich Protein 2

**pLDH** : Plasmodium lactate deshydrogenase  
**PLP2a** : Protien de liaison à la pénicilline, :  
**PvLDH** : Plasmodium vivax lactate déshydrogénase  
**RT-PCR** : Reverse transcription polymerase chain reaction  
**RTT** : Rapide Trehalose Test  
**RVN** : Rapports de Vraisemblance Négatif  
**RVP** : Rapports de Vraisemblance Positif  
**Se** : Sensibilité  
**Sp** : Spécificité  
**Stx** : Shiga toxin  
**TDR** : Tests de Diagnostic Rapide  
**VN** : Vrai négatif  
**VP** : Vrai positif  
**VPN** : Valeur Prédictive Négative  
**VPP** : Valeur Prédictive Positive  
**VRS** : Virus respiratoire syncytial  
**VVC** : Vulvo-vaginites candidosiques

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1:</b> Nomogramme de Fagan permettant la détermination graphique de la probabilité post-test à partir de la probabilité pré-test..... | 9  |
| <b>Figure 2:</b> Schéma descriptif du principe de fonctionnement des TDR du paludisme. ....   | 13 |
| <b>Figure 3:</b> Schéma descriptif du principe de l'immunochromatographie. ....   | 48 |
| <b>Figure 4:</b> Distribution des virus des gastroentérites. ....   | 56 |
| <b>Figure 5:</b> Cinétique des marqueurs biologiques au cours d'une infection par le DENV. ....   | 63 |

## LISTE DES TABLEAUX

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau I:</b> Protéines plasmodiales associés au diagnostic des différentes espèces de Plasmodium. ....  | 16 |
| <b>Tableau II:</b> Sensibilité et Spécificité des techniques classiques utilisées dans le diagnostic des VVC.....  | 33 |
| <b>Tableau III:</b> Sensibilité et Spécificité du ICM albi-dubli test pour l'identification et la différenciation de <i>C. albicans</i> et <i>C. dubliniensis</i> . .... | 34 |
| <b>Tableau IV:</b> Sensibilité et Spécificité du Glabrata RTT (Rapide Trehalose Test). ....  | 36 |
| <b>Tableau V:</b> Sensibilité et Spécificité du CrAg® LFA (ICM) contre CrAg®-LA.....   | 37 |
| <b>Tableau VI:</b> Sensibilité et Spécificité des LFD, culture et ELISA sur un LBA pour le diagnostic biologique d'AI.....   | 40 |
| <b>Tableau VII:</b> Sensibilité et Spécificité des LA test, DOT blot et ELISA pour le diagnostic de la pénicilliose. ....  | 43 |
| <b>Tableau VIII:</b> TDR Grippe (liste non exhaustive). ....   | 50 |
| <b>Tableau IX:</b> TDR VRS (liste non exhaustive).....   | 54 |
| <b>Tableau X:</b> TDR Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus (liste non exhaustive). ....  | 58 |
| <b>Tableau XI:</b> Principaux arboviroses humains. ....  | 60 |
| <b>Tableau XII:</b> : Sensibilité, Spécificité, VPP et VPN du kit AgNS1-IgM/IgG et du kit AgNS1. ....  | 68 |
| <b>Tableau XIII:</b> Sensibilité et Spécificité du TDR Pastorex sur un LCR.....  | 86 |
| <b>Tableau XIV:</b> Evaluation des performances de Pastorex selon le taux de prévalence (situation épidémique ou non). ....  | 86 |
| <b>Tableau XV:</b> Caractéristiques des TDR pour le diagnostic des shigelloses.....  | 91 |
| <b>Tableau XVI:</b> Caractéristiques des TDR pour la détection des Shiga toxines. ....   | 93 |

# TABLE DES MATIERES

|   |    |
|---|----|
| Introduction :  | 1  |
| I. Tests du diagnostic rapide :   | 4  |
| 1. Définition et historique :   | 5  |
| 2. Évaluation des performances des TDR  | 6  |
| 2-1- Valeurs diagnostiques des TDR.....                                       | 6  |
| 2-2- Utilité diagnostique des TDR.....  | 6  |
| 2.3. Impact des TDR .....   | 8  |
| 2.4. Applicabilité des TDR .....  | 8  |
| 3. Validation sur le terrain des TDR: Etape difficile mais indispensable..... | 10 |
| II. Applications en parasitologie:.....                                       | 11 |
| 1. Principe:.....   | 12 |
| 2. Applications :   | 14 |
| 2.1. TDR pour le diagnostic du paludisme .....                                | 14 |
| 2.2. TDR pour le diagnostic de la filariose.....                              | 21 |
| 2.3. TDR pour le diagnostic de la trypanosomose américaine.....               | 22 |
| 2.4. TDR pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale.....                 | 24 |
| 2.5. TDR pour le diagnostic d de la Bilharziose .....                         | 25 |
| III. Application en mycologie médicale :                                      | 27 |
| 1. Principe:.....   | 28 |
| 2. Applications :   | 31 |
| 2.1. TDR pour le diagnostic des candidoses invasives.....                     | 31 |
| 2.2. TDR pour le diagnostic des candidoses vaginales :.....                   | 32 |
| 2.3. TDR pour l'identification des levures genre <i>Candida</i> .....         | 33 |
| 2.4. TDR pour le diagnostic de la cryptococcose.....                          | 36 |
| 2.5. TDR pour le diagnostic des Aspergilloses .....                           | 38 |
| 2.6. TDR pour le diagnostic des mycoses exotiques :.....                      | 41 |
| IV. Applications en virologie :   | 46 |
| 1. Principe:.....   | 47 |
| 2. Applications des TDR dans les infections respiratoires virales .....       | 49 |

|  |     |
|--|-----|
| 2.1. La grippe.....  | 49  |
| 2.2. Infections à virus respiratoire syncytial (VRS).....      | 52  |
| 2.3. Infections respiratoires à adénovirus.....                | 54  |
| 3. Applications des TDR dans les gastroentérites virales.....  | 55  |
| 4. Application des TDR dans le diagnostic des arboviroses..... | 59  |
| 4.1. TDR du diagnostic la dengue :.....                        | 61  |
| 4.2. TDR du diagnostic de Chikungunya.....                     | 68  |
| 4.3. TDR du diagnostic de West Nile Virus.....                 | 71  |
| V. Applications en bactériologie :.....                        | 74  |
| 1. Principe et méthodes.....                                   | 75  |
| 1.1. Techniques biochimiques.....                              | 75  |
| 1.2. Techniques immunologiques.....                            | 75  |
| 2.3. Biologie moléculaire.....                                 | 77  |
| 2.4. Spectrométrie de masse.....                               | 78  |
| 2. Applications des TDR aux pathologies à pneumocoque.....     | 79  |
| 2.1. Généralités sur le <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....  | 79  |
| 2.2. Intérêts du TDR des pneumocoques.....                     | 80  |
| 2.3. Limites du TDR des pneumocoques.....                      | 80  |
| 3. Applications des TDR à la légionellose.....                 | 81  |
| 3.1. Généralités sur la légionellose.....                      | 81  |
| 3.2. Intérêts du TDR de <i>Legionella</i> .....                | 82  |
| 3.3. Limite du TDR de <i>Legionella</i> .....                  | 83  |
| 4. Application des TDR aux méningites.....                     | 83  |
| 5. Application des TDR au choléra.....                         | 87  |
| 6. Application des TDR à la shigellose.....                    | 89  |
| VI. Conclusion générale.....                                   | 95  |
| Résumés.....   | 98  |
| Références.....  | 101 |



*Introduction:*

Depuis ces dernières années, les tests de diagnostic rapide (TDR) connaissent un réel essor en biologie. Leurs principales caractéristiques comme l'indique leur nom, c'est leur rapidité. Ils sont conçus pour les situations d'urgence (le résultat peut être donné en quelques minutes) notamment dans des lieux où il n'y a pas de laboratoire de proximité équipé pour ces examens. De même, leur simplicité d'utilisation par leur format unique et nécessitant un personnel peu qualifié permet leur réalisation « au lit même du patient ».

Ces tests sont basés pour la plupart sur des techniques immuno-chromatographiques (ICT) ou immuno-enzymatiques mettant en évidence des antigènes caractéristiques notamment de l'agent infectieux concerné, ou parfois des anticorps spécifiques. Leur spécificité est en général bonne, mais loin d'être optimale, ce qui nécessite souvent un examen de confirmation.

Les TDR sont surtout conçus pour être utilisés hors « laboratoire », ce qui interpelle légitimement le biologiste pour leur validation. L'inconvénient majeur de ces tests c'est qu'ils doivent être réalisés par un personnel a priori souvent peu aguerri aux techniques et à l'interprétation biologique. Leur réalisation peut conduire, en raison d'erreurs de lecture ou de manipulation, à des résultats erronés (faux positifs ou faux négatifs).

Dans ce travail de synthèse, le sujet sera traité suivant deux grands axes; le premier va concerner des généralités sur les TDR et le deuxième les applications de ces TDR dans le domaine de l'infectiologie. L'objectif n'est pas d'énumérer une liste exhaustive des TDR actuellement disponibles mais de présenter des exemples, puisés en parasitologie, mycologie, bactériologie et virologie, qui ont été analysés et validés par les spécialistes en infectiologie

En parasitologie, concernant le paludisme qui en est la principale application, les auteurs insistent sur l'importance et la place des TDR dans le diagnostic d'urgence à partir de la recherche d'antigènes plasmodiaux. Ces TDR complètent efficacement les méthodes microscopiques (goutte épaisse et frottis sanguin) qui restent les méthodes de référence, mais peuvent les remplacer quand celles-ci font défaut ou ne peuvent être réalisées faute de microscopistes confirmés. C'est un avantage majeur de rapidité, permettant un traitement spécifique sans retard, évitant aussi un grand nombre de traitements antipaludiques inutiles en cas de négativité

En mycologie médicale, l'application des TDR est bien admise actuellement dans la démarche du diagnostic mycologique. Ces tests s'appliquent surtout aux mycoses communautaires ou nosocomiales (candidoses, cryptococcoses et aspergilloses) et quelques mycoses « exotiques » (histoplasmoses, coccidioïdomycoses et paracoccidioïdomycoses); ils sont basés sur des recherches d'anticorps ou d'antigènes.

En virologie, deux chapitres seront abordés : les TDR appliqués au dépistage rapide de viroses respiratoires (grippe, virus syncytial) et digestives (gastroentérites à Rotavirus), et l'intérêt des TDR pour les trois principales arboviroses qui frappent régulièrement les populations des régions tropicales : dengue, West Nile virus et chikungunya. Ces tests très attendus dépistent les anticorps spécifiques et leurs différents isotypes et souvent en plus des antigènes viraux. Toutefois, ils font l'objet d'études d'évaluation sur le « terrain » dans le cadre de diagnostic rapide de ces fièvres tropicales.

En bactériologie, l'intérêt des TDR dans les infections à pneumocoque (sur urine et liquide céphalo-rachidien (LCR)) et à légionnelles (sur urines) sera détaillé. Concernant les grandes endémies bactériennes, les TDR de la peste, du choléra, des shigelloses et des méningites seront traité également.



*Tests du diagnostic rapide:*

# **I. TESTS DU DIAGNOSTIC RAPIDE :**

## **1. Définition et historique :**

Un TDR est un test qui permet d'établir rapidement (en quelques minutes) le diagnostic d'une maladie, le plus souvent grâce à des réactions chimiques par immuno-précipitation sur membranes ou immunochromatographie sur bandelettes (*Lateral Flow Test*) qui font apparaître une coloration particulière permettant d'interpréter immédiatement le résultat. S'agissant d'une technique simple, rapide et peu coûteuse, ce type de tests est utilisable au cabinet du médecin mais aussi au chevet du patient ou sur le terrain.

Il existe des TDR pour de nombreuses maladies infectieuses (angine, paludisme) mais de tels tests sont aussi utilisés pour dépister des conditions médicales particulières qu'elles soient pathologiques ou non (grossesse). Par ailleurs, des tests rapides sont disponibles pour applications non médicales notamment pour l'analyse de paramètres biochimiques dans l'eau (par ex. piscines), l'air, les aliments, etc.

Il est utile de rappeler les critères de l'organisation mondiale de la santé (OMS) définissant un TDR : c'est un test précis, simple, peu coûteux, facile à interpréter, stable dans des conditions extrêmes, ne nécessitant que peu ou pas de traitements spéciaux au préalable et peu d'échantillons biologiques [1].

Les premiers tests immunographiques de l'histoire peuvent être attribués au papyrus de Berlin, datant de 1350 av. J.-C. Dans ce papyrus, un test de grossesse primitif comportant de l'orge et du blé sur lequel de l'urine de femme présumant enceinte était déposé ; si les grains d'orge germaient, la femme était réputée comme attendant un enfant mâle ; si les grains de blé germaient, la femme était réputée comme attendant un enfant femelle ; finalement, si les grains ne germaient pas, elle était réputée comme n'étant pas enceinte. Ces résultats furent répliqués par des scientifiques et ce test donna des résultats valides à 70 %.

Les premiers véritables TDR sont apparus dans les années 1950. Sans surprise, la seconde zone d'innovation pour ce genre de tests fut l'invention du test immunographiques afin de détecter la grossesse chez la femme. Par contre, l'innovation du principe est restée relativement stable depuis la fin des années 1990. Selon les méta-analyses, les innovations stagnent dans ce domaine [2].

## **2. Évaluation des performances des TDR**

### **2-1- Valeurs diagnostiques des TDR**

Elles comportent en premier lieu la sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) qui évaluent le caractère discriminant du test, c'est-à-dire sa capacité à distinguer les malades et les non malades. La Se est la fréquence des tests positifs chez les malades et la Sp est la fréquence des tests négatifs chez les non malades.

De nombreux TDR sont des tests semi-quantitatifs dont le choix de la valeur seuil, classant la réponse en normale ou pathologique, doit offrir le meilleur compromis entre Se et Sp selon les qualités recherchées pour ce test. Une bonne Se est requise lorsqu'il est dangereux de ne pas repérer un malade, et les tests ayant une bonne Se sont très informatifs quand leurs résultats sont négatifs. Une bonne Sp est requise dans les affections où les faux positifs sont dangereux (un faux positif peut aboutir à une prescription à tort d'un traitement), et les tests spécifiques sont très informatifs quand les résultats sont positifs. La Se, qualité intrinsèque du test, peut être influencée par la qualité du prélèvement, par exemple en modifiant la quantité d'agent pathogène d'un prélèvement de gorge pour détection du streptocoque A. Ces 2 valeurs ne sont pas influencées par la prévalence de la maladie dans la population étudiée.

Leur intérêt décisionnel est faible car elles ne permettent pas de déterminer la probabilité que le sujet soit malade si le test est positif : valeur prédictive positive (VPP), et la probabilité que la personne ne soit pas malade si le test est négatif : valeur prédictive négative (VPN). Ces valeurs prédictives utiles à la décision médicale dépendent de la Se et de la Sp du test, mais aussi de la prévalence de l'affection dans la population, et varient donc d'une population à l'autre. Une prévalence élevée augmente la VPP et diminue la VPN, et inversement [3].

### **2-2- Utilité diagnostique des TDR**

L'utilité diagnostique est la capacité du test à donner une décision fondée sur une modification pertinente du diagnostic avant et après le résultat du test, elle permet de passer d'une zone de probabilité incertaine avant le TDR à une zone décisionnelle après le test.

### 2-2-1. Rapports de vraisemblance

Le raisonnement probabiliste règne dans les décisions en urgence : le résultat d'un TDR renforce ou diminue l'hypothèse diagnostique, mais permet rarement un diagnostic de certitude. Lorsque nous utilisons un test diagnostique, nous partons d'un diagnostic clinique, c'est-à-dire d'une probabilité (probabilité pré-test) que la maladie soit présente.

Le test doit confirmer ou exclure cette maladie avec la plus grande certitude possible. Un résultat considéré positif devra donner la plus grande probabilité en post-test, alors qu'un résultat considéré négatif devra donner la plus faible probabilité en post-test. La détermination des rapports de vraisemblance positif (RVP) et négatif (RVN) est ainsi particulièrement utile car ceux-ci englobent dans un même chiffre les qualités de Se et Sp du test ( $RVP = Se/1-Sp$  ;  $RVN = [1-Se]/Sp$ ), et mesurent l'apport diagnostique du test de façon globale tout en étant indépendants de la prévalence. Le RVP, ou rapport de la cote vrai positif (VP)/faux positif (FP) sur la cote malades (M)/non malades (NM), ( $RVP = [VP/FP] / [M/NM]$ ), mesure combien de fois il y a de malades que de non malades en cas de test positif que dans la population globale (Le RVP est supérieur à 1 et le test positif est considéré souvent très contributif quand  $RVP > 10$ ). Le rapport de vraisemblance négatif (RVN), ou rapport de la cote faux négatif (FN)/ vrai négatif (VN) sur la cote malades/non malades ( $RVN = [FN/VN] / [M/NM]$ ), mesure combien de fois il y a moins de malades que de non malades en cas de test négatif que dans la population globale (le RVN est inférieur à 1 et le test négatif est considéré souvent très contributif quand  $RVN < 0,1$ ). Le nomogramme de Fagan permet de se passer des calculs des rapports de vraisemblance en probabilité pour évaluer facilement de façon graphique la probabilité post-test en tirant une ligne depuis la valeur de la probabilité pré-test et passant par la valeur du RVP ou du RVN (Fig. 1) [3].

### 2-2-2. Utilité du test

L'utilité diagnostique d'un TDR varie selon la prévalence de l'affection dans la population. Ainsi le test de dosage rapide de la C reactive protein (CRP) n'a aucune utilité dans une population à risque très élevé d'infection bactérienne (prévalence élevée) et rapidement évolutive (notion de gravité et d'urgence) comme celle des nourrissons fébriles du 2<sup>ème</sup> mois de vie

présentant un aspect «toxique ». Ces sujets auront de toute façon les prélèvements bactériologiques nécessaires et une antibiothérapie.

La prévalence élevée d'infections bactériennes chez cette population entraîne de plus une VPN faible du test, c'est-à-dire un pourcentage plus élevé de faux négatifs, avec un risque de retarder une antibiothérapie.

L'utilité diagnostique d'un TDR varie aussi d'un sujet à un autre selon sa probabilité pré-test. L'étude de l'utilité du test dans une population où la probabilité pré-test des enfants est très variable (ex.: CRP rapide réalisée dans une population d'enfants fébriles tous âges confondus) montre une utilité très différente chez un enfant à haut risque (moins de 2 mois et/ou aspect toxique) et à bas risque (plus de 6 mois, vacciné par Prévenar®, avec contexte clinique de virose). L'utilité pour cet enfant réside dans le fait de passer d'une zone de probabilité incertaine à une zone décisionnelle [3].

### **2.3. Impact des TDR**

Il se mesure en termes d'autres examens complémentaires éventuellement évités, de traitements évités (par exemple d'antibiotiques pour les TDR du streptocoque A dans les angines) ou au contraire plus précocement mis en route, d'amélioration du délai de prise en charge (par exemple aux urgences), de gain de santé pour l'enfant, de rapport coût/bénéfice et coût/ utilité du TDR. Les mesures de ces indicateurs nécessitent des études d'impact comparant la stratégie avec le TDR à une stratégie sans TDR [4].

### **2.4. Applicabilité des TDR**

Quelle que soit l'utilité diagnostique d'un TDR, son applicabilité va nécessiter que soient présentes les qualités suivantes :

- facilité d'utilisation mesurable par le besoin ou non d'une formation et sa durée ;
- Rapidité du résultat (en minutes) ;
- Coût de l'examen et son remboursement ;
- Rémunération éventuelle de l'acte si celui-ci est trop consommateur de temps

En conclusion, la prescription du TDR ne doit le plus souvent pas être conçue pour éliminer ou affirmer un diagnostic, mais pour corroborer ou rendre moins probable une hypothèse diagnostique. L'apport du résultat d'un TDR est interprété en fonction de la clinique, et si possible de la détermination d'une probabilité pré-test fonction de la prévalence de la maladie dans la population étudiée et des caractéristiques cliniques du patient, voire du résultat d'autres examens.

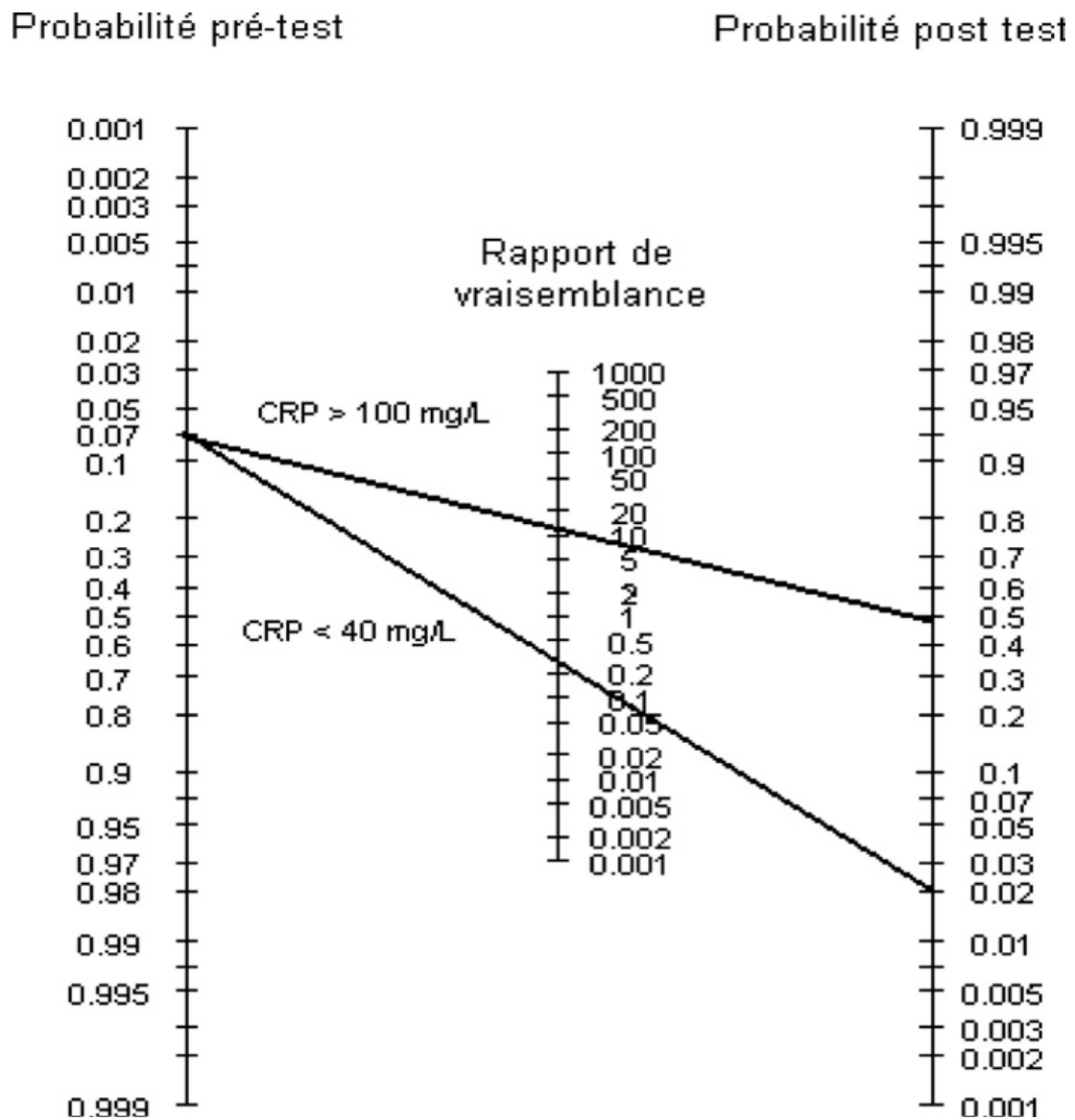


Figure 1: Nomogramme de Fagan permettant la détermination graphique de la probabilité post-test à partir de la probabilité pré-test [3].

Dans l'exemple, une CRP inférieure à 40 mg/l fait passer d'une probabilité de 7 à 2 % (pour un RVN = 0,26) alors qu'une CRP supérieure à 100 mg/l fait passer d'une probabilité de 7 à 50 % (pour un RVP à 14,5).

### **3. Validation sur le terrain des TDR: Etape difficile mais indispensable**

En absence d'une réglementation stricte et harmonisée dans le domaine du diagnostic, les TDR ne bénéficient souvent que d'évaluations de laboratoire sur des échantillons pré-caractérisés avant leur mise sur le marché. Bien que certaines de ces évaluations, telles que celles mises en place par l'OMS, soient faites sur un nombre important d'échantillons provenant d'origines différentes, elles ne reflètent pas la réalité de terrain dans laquelle les tests seront finalement utilisés.

Les validations du terrain sont considérées une étape indispensable car elles permettent de valider ou non les tests dans leurs conditions d'utilisation finale, tant du côté de l'utilisateur que de la population cible. Elles permettent donc de détecter de potentiels problèmes d'utilisation ou de performances qui ne seraient pas détectées dans les laboratoires de référence.

Ces évaluations ne sont toutefois pas faciles à organiser, puisqu'elles nécessitent d'avoir accès à des populations atteintes des maladies en question, en nombre suffisant car les tailles d'échantillons peuvent être élevées, et d'avoir ou de mettre en place les conditions requises pour une recherche clinique, en termes de rigueur dans les procédures et de laboratoire pour les tests de référence. [5]



*Applications en parasitologie*

## II. APPLICATIONS EN PARASITOLOGIE:

### 1. Principe:

Les tests immunochromatographiques combinent les propriétés immunologiques d'un produit basé sur la reconnaissance antigènes-anticorps et la chromatographie sur un test de diagnostic. Le test se compose d'une membrane de nitrocellulose sur laquelle sont déposés des anticorps monoclonaux, le plus souvent dirigés contre les antigènes recherchés.

À une extrémité de la membrane, un composant absorbant est fixé qui permet de créer un flux de migration. À l'autre extrémité, une zone où le conjugué est déposé et la zone de dépôt de l'échantillon située en dessous ou en dessus. Le conjugué est un anticorps monoclonal en général, dirigé contre l'analyte recherché et sur lequel est fixé un composé (microparticules d'or, microbilles de latex, ...) qui permettra la visualisation de la réaction antigène-anticorps.

Chaque anticorps de détection est déposé selon une ligne « test » dont le résultat indiquera la présence ou l'absence de l'analyte, il y a systématiquement, en plus, une ligne « contrôle » dont le résultat permet la validation d'une bonne migration. Pour qu'il y ait une réaction sur cette zone, l'anticorps fixé sur la membrane au niveau de la « ligne contrôle » est dirigé contre le conjugué.

Après dépôt du prélèvement, l'ajout d'un tampon de migration permet le flux de migration et la remise en solution du conjugué déposé [6].

Un test ne présentant pas de réaction sur la zone contrôle est invalide alors que la zone test soit marquée ou non. En revanche, le dépôt du conjugué seul sans dépôt d'un échantillon permet d'observer une réaction positive sur la zone contrôle. Les échantillons peuvent être du sang total, du sérum, de l'urine, de la salive... [7]

Il existe deux types de tests : ceux détectant des antigènes (paludisme, toxine bactérienne) et ceux détectant des anticorps (maladie de Chagas). La quantité d'échantillon testée doit respecter les préconisations du fabricant au risque d'une perte de sensibilité si l'échantillon est insuffisant, et de difficulté de lecture si le volume de l'échantillon est trop important (sang total) ou être en défaut de conjugué avec un risque de prozone [8]

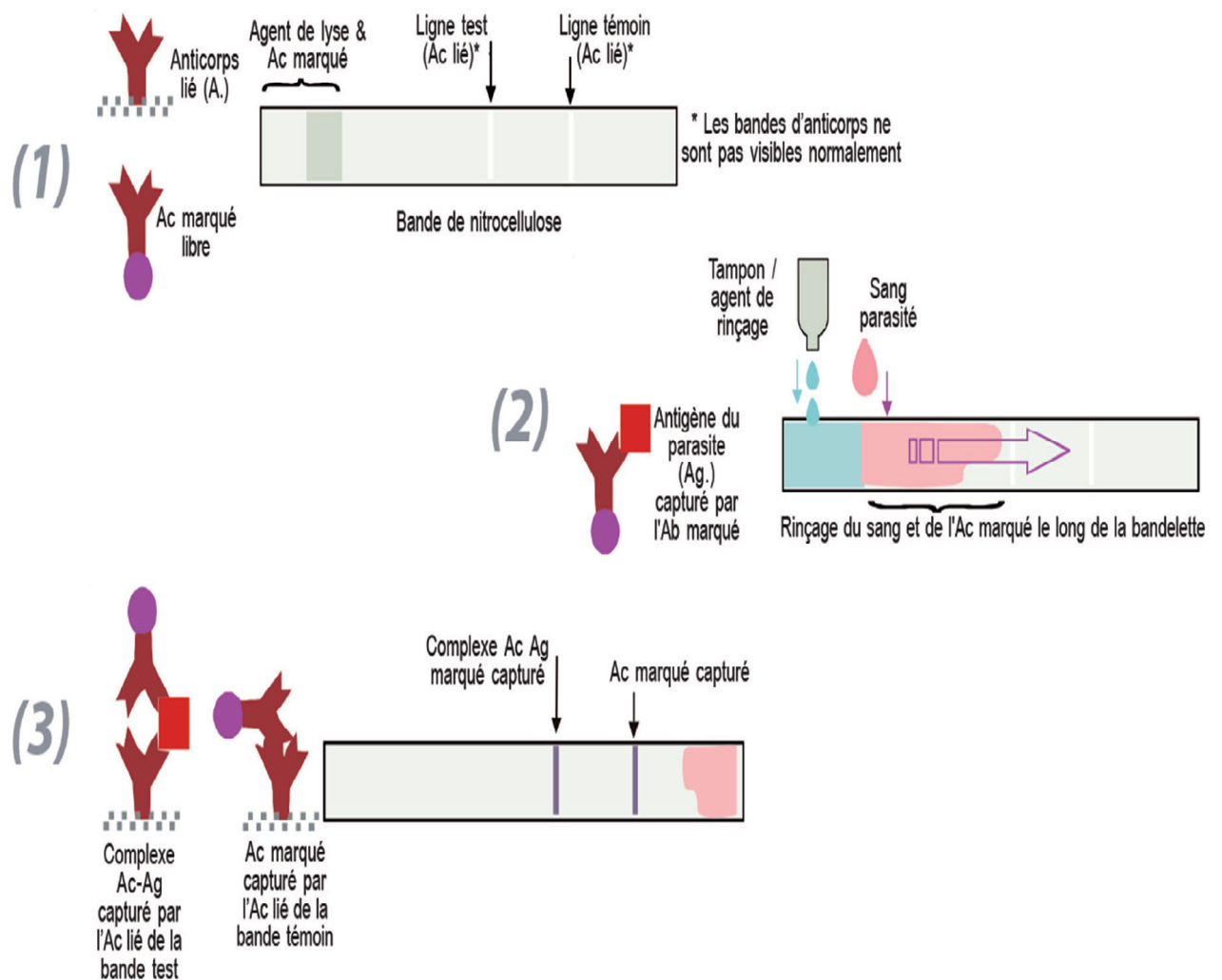


Figure 2: Schéma descriptif du principe de fonctionnement des TDR du paludisme [7].

## 2. Applications :

Les tests de diagnostic rapide en parasitologie ont deux applications majeures : la recherche d'antigènes parasitaires, avec la détection d'antigènes plasmodiaux comme aide au diagnostic du paludisme et la détection d'antigènes de filaire pour le diagnostic de la filariose lymphatique. La détection d'anticorps dirigés contre une parasitose par TDR a été développée dans le cas de la trypanosomiase américaine (maladie de Chagas) et de la leishmaniose.

### 2.1. TDR pour le diagnostic du paludisme

Le paludisme reste la première endémie parasitaire mondiale malgré des progrès notables dans la lutte contre ce fléau. En 2014, 97 régions tropicales et intertropicales du globe ont été encore considérées comme endémiques. Cinq espèces de *Plasmodium* peuvent être à l'origine d'un accès palustre chez l'homme : *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*), le plus redouté par son caractère létal ; *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), aussi répandu que le précédent et également à l'origine d'accès graves ; *Plasmodium ovale* et *Plasmodium malariae* (*P. malariae*), moins fréquemment observés. La cinquième espèce est *Plasmodium knowlesi* (*P. knowlesi*) parasite habituel du singe macaque, récemment diagnostiquée chez l'homme et pouvant occasionner des accès graves.

Au Maroc, aucun cas local n'a été signalé depuis 2005, ce qui lui a permis d'être certifié exempt de paludisme par l'Organisation Mondiale de la Santé en 2010. Pour préserver cet acquis, le ministère œuvre avec ses partenaires depuis 2012 à mettre en œuvre des mesures de prévention concernant principalement le diagnostic et la prise en charge rapide et gratuite de tous les cas importés, à renforcer les mesures de surveillance épidémiologique et la lutte contre les vecteurs et à fournir des services de prévention aux voyageurs se rendant dans des pays endémiques. Lors des 5 dernières années, un total de 400 cas de paludisme importés, par des voyageurs en provenance de pays touchés, ont été enregistrés au Maroc. Citant des chiffres de l'OMS, le ministère souligne que 214 millions de cas de paludisme et 438 mille décès ont été enregistrés en 2015, notant que 3,2 milliards de personnes sont exposées au risque du paludisme dans le monde. (MAP-25/04/2016)

Le diagnostic biologique de confirmation repose toujours sur la mise en évidence microscopique du parasite sur goutte épaisse ou frottis mince colorés qui permet l'identification de l'espèce en cause et l'évaluation de la charge parasitaire.

#### • TDR pour le diagnostic du paludisme

Les TDR, qui détectent des protéines plasmodiales en 10- 20 minutes en moyenne à partir d'une goutte de sang, facilitent ce diagnostic. Ces TDR sont répandus et leur usage recommandé en zone d'endémie, en l'absence de moyens suffisants pour un diagnostic microscopique, permettant un diagnostic parasitologique avant l'administration d'un traitement spécifique, dans l'objectif de limiter l'administration de traitements présomptifs non justifiés. Différents tests de diagnostic rapide sont disponibles sur le marché selon les protéines détectées, et leurs formats de présentation.

Ces tests reposent sur la détection de protéines enzymatiques synthétisées par les *Plasmodiums* en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques des antigènes détectés, immobilisés sur une bandelette. Sur une même bandelette, on peut classiquement rechercher jusqu'à 3 antigènes différents. Le test est réalisé sur un prélèvement de sang total capillaire ou veineux. Le sang total déposé sur le TDR est lysé par l'addition d'un tampon de lyse dont la composition est spécifique au test. Au niveau de la fenêtre réactionnelle, les anticorps monoclonaux conjugués à l'or colloïdal par exemple vont former un complexe antigène- anticorps (Ag-Ac) avec les antigènes s'ils sont présents dans l'échantillon testé. Les complexes Ag-Ac migrent le long de la bandelette et seront stoppés par l'anticorps immobilisé. Une bande colorée traduira la fixation du complexe antigène-anticorps.

De nombreux fabricants produisent des TDR pour le paludisme : si les anticorps monoclonaux ont une même origine, en revanche la fabrication des tests (concentration, conjugué, qualité de la nitrocellulose) est propre à chacun. Sur le site de l'OMS de nombreux dispositifs sont répertoriés. Leur mode de production et leur composition sont diverses selon le ou les antigènes détectés ; les présentations des tests sont également variables en termes de dispositif (cassette, bandelette, carte-réactionnelle), d'antigènes détectés (1 à 3), de système de révélation (marquage du conjugué) [7].

- **Antigènes détectés par les TDR dans le diagnostic du paludisme**

Les TDR détectent des protéines synthétisées par les *plasmodiums*, soit spécifiques d'une seule espèce, soit commune à plusieurs espèces (tableau I). Par simplicité, on les désigne sous le terme d'antigènes car elles sont détectées par l'utilisation d'anticorps monoclonaux mais elles n'ont pas toutes des propriétés antigéniques chez l'homme.

**Tableau I: Protéines plasmodiales associés au diagnostic des différentes espèces de *Plasmodium* [7].**

| Espèce du plasmodium | Antigène commun | Antigène spécifique | Commentaire        |
|----------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| <i>P. falciparum</i> | Aldolase, pLDH  | PfHPR2              |                    |
| <i>P. vivax</i>      | Aldolase, pLDH  | PvLDH               |                    |
| <i>P. ovale</i>      | Aldolase, pLDH  |                     | Sensibilité < 50%  |
| <i>P. malariae</i>   | Aldolase, pLDH  |                     |                    |
| <i>P. knowlesi</i>   | Aldolase, pLDH  |                     | Faux positif PvLDH |

Les deux protéines pan-plasmodiales sont détectées selon le TDR : l'aldolase plasmodiale et la pLDH plasmodiale. Ces deux protéines qui possèdent des propriétés enzymatiques chez le *Plasmodium* sont produites par les cinq espèces de parasites potentiellement retrouvées chez l'homme.

- **Aldolase**

C'est une enzyme clé du cycle du glucose, commune aux cinq espèces de *Plasmodium*. Une étude réalisée sur différents isolats de *P. falciparum* et de *P. vivax* a montré que le gène de l'aldolase était hautement conservé au sein de ces deux espèces. L'aldolase est retrouvée dans les membranes des stades schizontes. Il n'a pas été observé de souches non sécrétrices d'aldolase [9].

Cet antigène commun aux cinq espèces de *Plasmodium* est une cible détectée par certains tests de diagnostic rapide combinée à la recherche de l'antigène PfHPR2. De nombreuses études ont montré sa capacité de détecter *P. falciparum* et *P. vivax* mais sa réactivité est fréquemment en défaut avec *P. ovale* alors que sa sensibilité est modérée dans la détection de *P. malariae* [10].

#### • pLDH : lactate déshydrogénase plasmodiale

La Plasmodium lactate déshydrogénase (pLDH) est une enzyme présente chez tous les *Plasmodiums*. Cette enzyme qui est la dernière enzyme impliquée dans le cycle du glucose est synthétisée par les stades érythrocytaires asexués et par les gamétocytes. Les isoformes des lactate-déshydrogénases (LDH) plasmodiales peuvent être différenciées des LDH humaines sur leurs épitopes antigéniques ainsi que sur leurs caractéristiques enzymatiques. Cela a été démontré pour *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. vivax* qui synthétisent des isoformes de pLDH avec des épitopes propres à chaque espèce et des épitopes communs aux différentes espèces. Les études génétiques ont montré que le gène de la pLDH était constitué de séquences conservées entre les espèces et de séquences variables entre espèces, voire entre sous-espèces : ces variabilités expliquent l'efficacité variable de la détection de la pLDH selon les espèces pour un même anticorps monoclonal [7].

La pLDH est produite par les parasites viables, par conséquent sa recherche peut être utilisée pour suivre l'efficacité d'un traitement antimalarique.

La détection de la pLDH et/ou selon les tests, d'une isoforme spécifique d'une espèce plasmodiale par l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques est mise à profit dans de nombreux TDR pour le diagnostic du paludisme, associées éventuellement à la détection de la PfHRP2. L'intérêt étant de permettre le diagnostic des accès palustres dus aux cinq espèces de *Plasmodium* et d'aller jusqu'au diagnostic de ou des espèces en cause par l'emploi d'anticorps spécifiques (*P. vivax*, *P. falciparum*, par exemple) [11].

### • **Plasmodium falciparum Histidine Rich Protein 2 (PfHRP2 ou HRP2)**

Les hématies infectées par *P. falciparum* synthétisent plusieurs protéines riches en histidine. Au moins trois protéines, dénommées PfHRP1, PfHRP2 et PfHRP3 dans l'ordre de leur découverte, sont produites par les stades sanguins du parasite. PfHRP1 est associé à l'expression des « knobs » à la surface des hématies infectées par une souche de *P. falciparum* « knobs + » : la protéine est retrouvée dans la membrane des globules rouges au niveau du cytosquelette. Les knobs sont des protubérances de la membrane érythrocytaire impliquées dans la physiopathologie de l'accès palustre grave. PfHRP2 est exprimée par toutes les souches « knobs + » et « knobs- » de *P. falciparum*. PfHRP3 a été la dernière protéine découverte. Ces trois protéines semblent jouer un rôle mal connu dans les interactions entre les formes parasitaires érythrocytaires et l'hôte vertébré.

PfHRP2 est synthétisée et produite au cours de la croissance parasitaire pendant la totalité du cycle cellulaire de *P. falciparum* par tous les stades asexués et par les gamétocytes jeunes. Elle est exportée dans le cytoplasme érythrocytaire puis dans le milieu extérieur à travers la membrane érythrocytaire. Elle est caractérisée par plusieurs répétitions continues de motifs d'acides aminés dont le nombre est génétiquement déterminé, ainsi la taille de la protéine varie entre les différentes souches de *P. falciparum*. Le rôle exact de la protéine est inconnu mais elle semble agir comme une hème-polymérase qui détoxifie l'hème libre en la polymérisant en hémozoïne inactive dans la vacuole digestive du parasite. La protéine PfHRP3 aurait également un rôle dans la formation de l'hémozoïne.

PfHRP2 et PfHRP3 ne seraient pas des protéines essentielles à la survie du parasite: des isolats dont les gènes pour l'une ou l'autre des protéines, voire les deux, étaient délétés, ont été décrits en zone d'endémie (Amérique du Sud, Afrique) mettant en défaut les tests basés sur leurs détections [12].

La principale application de la connaissance de PfHRP2 est son utilisation dans le diagnostic du paludisme par détection de l'antigène PfHRP2 avec des tests de diagnostic rapide ou par enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Le premier TDR développé pour la détection de cette protéine était le Parasight® puis rapidement de nombreux tests se sont dé-

veloppés. D'autres tests ont été proposés ultérieurement qui associaient la recherche de la PfHRP2 et la détection d'un autre antigène comme l'aldolase tel l'immunochromatographic test (ICT) [7].

En pratique les TDR développés pour la détection des antigènes plasmodiaux sont indiqués pour le diagnostic du paludisme en complément des méthodes microscopiques en dehors des zones d'endémie palustre, ou en remplacement quand celles-ci font défaut sur le terrain.

Depuis le développement des premiers tests qui détectaient uniquement la PfHRP2, de nombreuses études ont été entreprises pour évaluer les performances de ces tests, sensibilité et spécificité, pour le diagnostic du paludisme selon le contexte épidémiologique.

Dans les pays hors zone d'endémie palustre, les études réalisées sur la détection des antigènes plasmodiaux dans le diagnostic du paludisme d'importation rapportent des sensibilités comprises entre 96 et 100 % pour la détection de la PfHRP2 et de 84 % pour l'aldolase avec une spécificité de 99 % environ. Les tests détectant la pLDH ont montré des sensibilités comprises entre 79 et 98 % pour des spécificités évaluées entre 98 et 100 %.

L'adjonction de la détection de la PfLDH peut être complémentaire et permettre le diagnostic de souches non productrices de PfHRP2 ou répondant partiellement avec les anticorps utilisés. L'OMS mène depuis plusieurs années des études comparatives des différents réactifs présents sur le marché mondial sur des échantillons calibrés : une détection d'au moins 95 % des échantillons avec une parasitémie de 200 parasites/ $\mu$ l (soit une parasitémie de 0,05 % environ) est exigée pour que le test soit jugé compatible avec les exigences du diagnostic [13]. La liste des fabricants de TDR qui sont certifiés ISO 13485/2003 est également disponible sur le site de l'OMS : ceci garantit la qualité de fabrication des produits.

Cependant, ces différentes études confirment que pour un échantillon donné, un TDR peut être négatif alors que le diagnostic microscopique de l'accès palustre pourra être réalisé par observation de parasites sur goutte épaisse (soit une parasitémie inférieure à 100 p/ $\mu$ l) : dans ces cas, la quantité d'HRP2 circulante produite par les parasites, est inférieure au seuil de détection du TDR. Le risque réside surtout dans l'interprétation qu'un test négatif exclue définitivement un diagnostic de paludisme : en cas de forte suspicion diagnostique, le prélèvement peut être refait dans les 48 heures permettant à la parasitémie d'augmenter et d'atteindre le seuil de détection des tests [7].

D'autres phénomènes peuvent être à l'origine également d'un faux diagnostic négatif comme l'absence totale ou partielle de production de l'aPfHRP2 par certains isolats de *P. falciparum*. Dans ce cas, si la protéine PfHRP3 est produite par l'isolat, en raison d'une homologie partielle entre les deux protéines, les anticorps reconnaissant la PfHRP2 peuvent également détecter la PfHRP2 permettant la détection de cette protéine plasmodiale et poser le diagnostic d'accès palustre à *P. falciparum* mais avec une sensibilité moindre, qui peut être à l'origine d'un défaut de détection des parasites en cas de faible charge parasitaire.

La variabilité dans la composition en acides aminés des protéines plasmodiales détectées aura également des conséquences dans l'affinité entre les antigènes exprimés par les *Plasmodiums* et les anticorps monoclonaux mis en œuvre dans les réactifs. La détection de la pLDH, voire de la PfLDH est alors recommandée [14].

À l'opposé, des résultats faussement positifs ont également été décrits : d'une part, après un traitement antipalustre bien conduit, la PfHRP2 persiste dans le sang du patient efficacement traité alors que les tests microscopiques sont négatifs traduisant la guérison. Ces tests de diagnostic ne doivent donc pas être utilisés dans le but de suivre l'efficacité thérapeutique des antimalariques: cette persistance a été décrite jusqu'à 30 jours après le début du traitement [7].

Par ailleurs, des faux positifs ont été observés chez des patients n'ayant pas contracté le paludisme mais chez qui un diagnostic d'infection virale, bactérienne ou de maladie inflammatoire avait été porté [11].

La détection de l'aldolase permet en théorie le diagnostic des accès palustres quelle que soit l'espèce plasmodiale. Pour autant, sa sensibilité est moindre que la PfHRP2 pour les infections à *P. falciparum*, et reste modérée pour les autres espèces, entre 40 et 60 % [10]. Peu de réactifs sur le marché détectent cette protéine avec un nombre restreint d'études. Son évolution sous traitement n'a pas été étudiée [7].

L'intérêt de la détection de la pLDH est qu'elle permet le diagnostic de toutes les espèces plasmodiales, dont *P. knowlesi*, et que la possibilité de détection des isoformes spécifiques d'espèces, la PfLDH spécifique de *P. falciparum* et PvLDH, spécifique de *P. vivax* ouvre la possibilité du diagnostic spécifique de ces deux espèces et éventuellement de leurs associations.

Dans le cas des infections à *Plasmodium knowlesi*, il y a fréquemment une réaction faussement positive sur la bande PvLDH pour les tests qui permettent cette recherche : ainsi une réaction PvLDH positive avec l'observation de formes microscopiquement en faveur d'une infection par *P. knowlesi* peut faire évoquer un diagnostic d'accès à *P. knowlesi* si le contexte du séjour est compatible [15].

La disparition de la pLDH sous traitement est également un élément intéressant pour la détection d'une rechute éventuelle. Malheureusement, son seuil de sensibilité est relativement modéré, de l'ordre de 85 à 95 % pour *P. falciparum*, 60 % pour *P. malariae*, et moins de 50 % pour *P. ovale*. Pour *P. vivax*, la détection de la *P. vivax lactate déshydrogénase* (PvLDH) montre des sensibilités d'environ 80 %. Ces sensibilités sont de plus variables selon la qualité des réactifs considérés. De plus, les TDR reposant sur la détection de ces protéines sont sensibles à l'humidité et à la chaleur, imposant des conditions strictes de conservation [7].

## **2.2. TDR pour le diagnostic de la filariose**

La filariose lymphatique est due à une infection par des nématodes de la famille des

Filaridés. *Wuchereria bancrofti* (*W. bancrofti*) est l'espèce majoritairement responsable (90 % des cas), *Brugia malayi* (*B. malayi*), étant responsable de la plupart des cas restants ; *Brugia timori* (*B. timori*) est responsable de rares cas.

Les vers adultes vivent dans le système lymphatique ; ils ont une longévité de 6 à 8 ans et émettent des embryons ou microfilaries qui se retrouvent dans le sang circulant. La parasitose est vectorielle, transmise par des moustiques des genres *Culex*, *Aedes* ou *Anopheles*. Actuellement, alors que plus de 1,4 milliard de personnes dans 73 pays tropicaux et intertropicaux sont menacées par la maladie, les experts estiment que 40 millions d'individus présentent des complications dues à la maladie à type de lymphoedème.

Le diagnostic parasitologique repose sur la mise en évidence des microfilaries sur goutte épaisse ou leucoconcentration à partir de sang périphérique prélevé au milieu de la nuit pour la filariose à périodicité nocturne [16].

Pratiquement un TDR est disponible pour la détection des antigènes de *W. bancrofti* : ce test détecte les antigènes des vers adultes et présente l'avantage de pouvoir être réalisé sur des échantillons prélevés à n'importe quel moment de la journée. Ce test a un intérêt diagnostique

mais ne permet pas de suivre l'efficacité thérapeutique car l'antigène peut être détecté des mois voire des années chez les patients traités tant que les filaires adultes sont présentes. Les TDR pour le diagnostic de la filariose ne se conservent que 3 mois à 30 °C mais peuvent être conservés jusqu'à 9 mois s'ils sont stockés à +4 °C. La détection de l'antigène de *W. bancrofti* se fait sur 100 µl de sang total. Un test détectant les anticorps dirigés contre *B. malayi* ou *B. timori* est réalisable à partir de sang total ou de sérum/plasma [7].

La sensibilité du test détectant les antigènes est de 97 % et sa sensibilité est de 100 %, ce test est donc recommandé pour le diagnostic de la filariose lymphatique et particulièrement c'est un très bon test d'exclusion [17].

### **2.3. TDR pour le diagnostic de la trypanosomose américaine**

La trypanosomose américaine ou maladie de Chagas est une protozoose due à *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). L'hôte définitif est un mammifère (dont l'homme), le vecteur hôte intermédiaire un insecte de la famille des *Reduviidae* (punaise). Cette maladie est endémique en Amérique du Sud y compris la Guyane française, seule région où existe une transmission vectorielle ; c'est une pathologie émergente hors de sa zone d'endémie du fait des migrations de population [18].

Les risques posés par cette émergence sont les risques directs pour les patients en raison de l'évolution naturelle de la maladie et des conditions intercurrentes (réactivation en cas de déficit immunitaire), la transmission verticale chez les migrantes en âge de procréer et les risques indirects liés à la transmission par transfusion ou par des greffons. L'existence du risque transfusionnel a conduit à la mise en place à partir de 2007 du dépistage pour tous les sujets à risque dans les Etablissement français du sang (EFS). Ce dépistage se fait actuellement par une seule méthode de type ELISA.

Les recommandations de l'OMS dans son rapport de 2002 restent la base du diagnostic de la maladie de Chagas ; elles prévoient une sérologie par deux techniques de principe différent. En pratique, en France métropolitaine en 2015, il est possible d'utiliser une méthode ELISA et l'immunofluorescence indirecte, ou à défaut deux méthodes ELISA : une avec un antigène natif, l'autre avec un antigène recombinant (au moins 2 épitopes) [7].

Le besoin de TDR anticorps Chagas en zone d'endémie, où la majorité des patients vivent dans des environnements biologiquement pauvres, a été souligné par l'OMS. De nombreux réactifs existent, pas toujours marqués CE, ni disponibles en Europe. Tous ces tests ont fait l'objet d'une évaluation indépendante conduite par Médecins Sans Frontières (MSF) avec le soutien de l'OMS à la fois en (Argentine, Brésil, Colombie, Costa Rica et Mexique), et hors (Espagne, France, Japon, USA) zone d'endémie, publiée en 2014 [19].

Les résultats obtenus sur plasma sont très insuffisants en matière de sensibilité et de spécificité. Tous ces réactifs doivent être utilisés sur sérum. Si on exclut les réactifs dont les caractéristiques ne répondent pas à la définition d'un TDR (délai de lecture supérieur à 60 minutes, nécessité de chaîne du froid pour la conservation), six réactifs semblent utilisables pour le screening en hors de la zone d'endémie. Les résultats doivent toutefois être confirmés par les méthodes classiques. La variabilité génétique des trypanosomes ne semble pas influencer sensiblement ces performances. Cette grande étude MSF/ OMS ne confirme pas certaines données spécifiques publiées par ailleurs donnant des sensibilités et spécificités meilleures pour certains réactifs. Une étude au moins signale (élément non évalué dans l'étude OMS) l'absence de réactions croisées avec la leishmaniose viscérale alors que 27,9 % des cas de paludisme donnaient un faux résultat positif avec un TDR Chagas [20]. Enfin dans une étude spécifique menée sur les sangs de cordon en zone d'endémie avec le Stat-Pack, a apporté des résultats permettent de considérer ce réactif comme satisfaisant dans cette indication précise en zone d'endémie.

En pratique, en France, la place de ces TDR semble limitée en dehors de cas d'urgence. Pourraient entrer dans ce cadre les donneurs d'organe (mais il n'y a pas actuellement de recommandation de dépistage en greffe) ou une parturiente à risque venant accoucher au terme d'une grossesse non suivie. Dans tous les autres cas, il n'y a pas de notion d'urgence et les prélèvements peuvent être acheminés vers les laboratoires disposant des moyens sérologiques classiques [7].

#### **2.4. TDR pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale**

La leishmaniose viscérale (LV) au Maroc est connue depuis plusieurs décennies. Le premier cas du kala-azar infantile a été décrit à Tanger en 1921. Alors qu'une LV chez l'adulte a été rapportée chez une infirmière à Meknès en 1922. Cette maladie est surtout localisée dans le Nord du pays, mais des cas sporadiques ont été observés dans d'autres régions, notamment au Sud [21].

Le parasite responsable est *Leishmania infantum*, dont le zymodème MON 1 est le plus commun sur le pourtour méditerranéen. Deux espèces du phlébotome sont incriminées dans la transmission de cette forme au Maroc, *Phlebotomus ariasi* et *Phlebotomus perniciosus*. Le réservoir du parasite est le chien malade ou porteur sain. Il assure la conservation du parasite et sa transmission par le vecteur. La LV est considéré comme étant une zoonose, c'est à -dire que le cycle du parasite implique le phlébotome et le chien. L'homme n'est infesté qu'accidentellement et ne constitue de ce fait qu'une impasse parasitaire. La leishmaniose canine revêt un tableau clinique identique à celui de la LV humaine. Les symptômes d'orientations les plus intéressants sont les symptômes cutanéomuqueux, à savoir la dépilation, les ulcérations crouteuses, une dermite furfuracée, et une kératite interstitielle. Chez l'homme, la LV se manifeste principalement par un syndrome général avec fièvre, anémie et amaigrissement, et par une hyperplasie du système des phagocytes mononuclées : splénomégalie, hépatomégalie et éventuellement adénopathies. Biologiquement, on note une atteinte des lignées cellulaires sanguines et une dysprotéïnémie. La forme infantile, se traduit par la triade symptomatique classique, fièvre, anémie et splénomégalie. L'évolution de la LV est

lente durant de longs mois, parfois plusieurs années avec majoration progressive et aggravation des symptômes cliniques et signes biologiques [21].

Le diagnostic repose sur la mise en évidence du parasite et/ou de son ADN. Dans un contexte clinico-biologique compatible avec le diagnostic (fièvre, splénomégalie, pâleur, pancytopenie), une sérologie positive est un solide argument en faveur du diagnostic. Cette sérologie fait appel à des méthodes classiques (ELISA, IFI, western blot).

De la même façon que pour la trypanosomose américaine, les TDR anticorps ont une importance majeure dans les zones d'endémie des pays en voie de développement dont l'environnement biologique, sur le terrain, est pauvre même si les grands centres disposent de tous les moyens modernes de diagnostic. Les TDR leishmaniose-anticorps sont des tests immunochromatographiques sous forme de cassette ou de bandelette sensibilisée avec un antigène recombinant, soit le rKE16, soit le rK39. L'OMS a publiée une étude sur les performances de ces TDR [22], l'enseignement principal tiré de cette publication est que le choix du réactif doit tenir compte des souches circulantes dans la région considérée, un mauvais choix pouvant entraîner un sous-diagnostic considérable.

Les TDR sont suffisamment spécifiques pour être considérés comme diagnostiques lorsque la définition de cas suspect (2 semaines ou plus de fièvre et splénomégalie) est respectée dans le sous-continent indien. En Afrique de l'Est et au Brésil en revanche, la sensibilité se situe au mieux entre 40 et 90 %. En France l'utilisation d'un test rapide en première intention sur une suspicion de leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum* permet d'avoir rapidement une approche diagnostique qui pourra être confirmée secondairement par les méthodes classiques et la mise en évidence du parasite et de son ADN [7].

## **2.5. TDR pour le diagnostic d de la Bilharziose**

Les bilharzioses représentent un problème de santé publique dans de nombreuses régions du monde. Le gold standard du diagnostic est la mise en évidence des œufs du parasite dans les selles ou les urines en fonction de l'espèce en cause. La sensibilité de ces méthodes reste médiocre en particulier si un seul examen direct est pratiqué. Pour les études épidémiologiques, la sérologie est plus adaptée.

Les premiers résultats obtenus avec un TDR destiné au diagnostic des bilharzioses à *Schistosoma mansoni* et à *Schistosoma haematobium*, semblent intéressants d'une part en santé publique pour apprécier la prévalence de la maladie avant de planifier une intervention, et d'autre part en tant que méthode diagnostique dans une population d'enfants d'âge préscolaire chez qui la sensibilité du TDR est identique à celle d'un examen direct unique, même si elle reste inférieure à la pratique d'examens directs répétés (2 examens par filtration des urines ou 4 examens de selles avec concentration de type Kato-Katz). Ces résultats doivent être confirmés sur des études plus larges ; le test n'est actuellement pas disponible en routine [7].

Les TDR présentent les avantages de fournir un résultat rapidement, d'être réalisables par des personnels non spécialisés. Cependant, la possibilité de résultats faussement négatifs ou positifs impose que l'interprétation des résultats soit faite par des biologistes formés. En ce qui concerne les tests pour le diagnostic du paludisme, l'OMS évalue régulièrement les dispositifs pour aider le biologiste dans le choix de son réactif. Dans les cas litigieux, le dialogue entre cliniciens et biologistes, permet l'interprétation des résultats, et optimise la prise en charge du patient.



*Application en mycologie médicale*

### **III. APPLICATION EN MYCOLOGIE MEDICALE :**

#### **1. Principe:**

Le principe des différents TDR en mycologie médicale, est basé sur une réaction immunologique dans laquelle l'analyte à détecter est généralement pris en sandwich entre deux supports qui sont identiques dans le cas des LA (Latex agglutination) ou différents pour ICM (Immuno-Chromatographic Membrane).

Dans la technique de LA, qui se réalise sur des cartes, les deux supports sont des particules de latex le plus souvent sensibilisées avec le même ligand (antigène ou anticorps). Elles capturent, dans l'échantillon à examiner, l'analyte (anticorps ou antigène) qui forme des ponts entre les particules. Il y a alors apparition d'agglutinats dont la taille augmente au cours de l'agitation de la carte qui permet une visualisation macroscopique, traduisant une réaction positive.

Pour la réalisation des dispositifs d'ICM, deux types de supports sont nécessaires : une membrane sur laquelle la réaction finale se réalise et se visualise sous forme d'un trait ou d'une tache, et des particules colorées (or colloïdal ou particules de latex) qui permettent la visualisation de la réaction positive.

Pour une recherche d'antigène, des particules sensibilisées avec des anticorps, le plus souvent monoclonaux, dirigés contre cet antigène, sont desséchées sur un « réservoir » qui chevauche la membrane. Sur cette dernière sont immobilisés sous forme d'un trait (ligne « réaction »), les mêmes anticorps si l'antigène possède des épitopes répétitifs (exemple les polysaccharides des champignons) ou dans le cas contraire des anticorps reconnaissant un épitope différent de celui correspondant à l'anticorps fixé sur les particules. La membrane comporte un deuxième trait (ligne témoin de migration) avec un anticorps immobilisé reconnaissant les immunoglobulines fixées sur les particules (exemple des anticorps du lapin, anti-immunoglobulines de souris si les particules sont sensibilisées avec des anticorps monoclonaux de souris). Lorsque l'échantillon liquide à analyser est déposé sur le réservoir, la suspen-

sion de particules sensibilisées est reconstituée et ces dernières immuno-capturent les antigènes éventuellement présents.

Les complexes particules-anticorps-antigènes migrent ensuite dans la membrane et se fixent sur les anticorps immobilisés. Nous avons alors le système suivant :

membrane- Anticorps → (antigène anticorps-particules)

La réaction positive se traduit par l'apparition d'un trait colore. En absence d'antigènes, le trait n'est pas visible. Les particules libres continuent leur migration et se fixent sur les anti-immunoglobulines du deuxième trait pour former le système:

membrane-anti-immunoglobuline → anticorps particules

Dans le cas d'une réaction positive deux traits colorés vont apparaitre (ligne réaction et ligne témoin de migration). Si l'échantillon est négatif, seul le trait témoin de migration est présent. Il est possible de concevoir une ICM avec plusieurs lignes « réaction » en fonction du nombre d'antigènes à rechercher.

Pour une recherche d'anticorps plusieurs techniques d'ICM sont utilisées. La plus simple consiste à utiliser des particules (colorées), sensibilisées avec des antigènes, et à immobiliser sur la membrane, ces mêmes antigènes pour la ligne réaction et des anticorps dirigés contre les antigènes pour la ligne témoin de migration. Si l'objectif est de déterminer un isotope (exemple IgM) les particules peuvent être sensibilisées avec des anti-immunoglobulines (exemple des anticorps monoclonaux de souris anti-IgM humaine/anti- $\mu$ ).

Sur la membrane, sont immobilisés pour la ligne réaction des antigènes et pour la ligne témoin de migration, des anticorps dirigés contre les immunoglobulines de l'espèce ayant fourni les anticorps fixés sur les particules (exemple des anticorps de lapin antiimmunoglobulines de souris). Lors d'une réaction positive, la ligne réaction comprend le système:

membrane-antigène → anticorps (IgM) → anti- $\mu$ -particules

Et pour la ligne témoin nous avons :

membrane-anticorps anti-immunoglobulines → anti- $\mu$ -particules.

Le système inverse peut être utilisé: les particules colorées sont sensibilisées avec des antigènes, pour la ligne réaction des anti-immunoglobulines (exemple anti-IgM/anti- $\mu$ ) sont immobilisées et pour la ligne témoin de migration des anticorps dirigés contre les antigènes sont fixés.

La sensibilité, la spécificité et la stabilité des TDR dépendent des ligands (antigènes ou anticorps) utilisés, mais aussi de la nature des supports et du mode de sensibilisation de ces derniers. Des gros progrès ont été réalisés par les fabricants de membrane et de particules. A titre d'exemple sous le terme de latex, nous retrouvons des particules calibrées à base de polymères (polystyrène ou polyvinyltoluène) ou de copolymères (styrène-acrylate, styrènebutadiène, styrène- divinylbenzene). Leur taille comprise entre quelques dizaines de nanomètres et plusieurs micromètres, permet leur utilisation pour l'ICM (nanosphères) et l'agglutination indirecte (microsphères). Les couleurs vives (rouge, bleue) de certaines particules facilitent la lecture des tests. Lors des premières utilisations des particules de latex, la fixation des molécules (antigènes ou anticorps) était obtenue par adsorption simple faisant intervenir des forces de Van der Waals et des interactions hydrophobes. Il existe aujourd'hui des particules avec à leur surface des groupements fonctionnels (- COOH, - CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, - Ar-NH<sub>2</sub>, - CH<sub>2</sub>OH, - SO<sub>3</sub>H, - N+(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, - CONH<sub>2</sub>, - COOCH<sub>3</sub>, - CH<sub>2</sub>CL, - SO<sub>4</sub>H) qui permettent la fixation par liaison covalente, des molécules quelles que soient leur taille et leur nature (peptides synthétiques, protéines natives ou recombinantes, polysaccharides, lipoprotéines...) en conservant leur activité biologique. Pour les membranes, les progrès réalisés concernent la porosité, la vitesse de migration des molécules et/ou des particules et les méthodes de sensibilisation. Les sociétés proposent actuellement une gamme de membranes en nitrocellulose, en nylon, en polyfluorure de vinylidène, en polyethersulfone non active ou active pour une immobilisation des protéines [23].

## 2. Applications :

En mycologie médicale, les applications concernent le diagnostic biologique des mycoses avec : la recherche d'antigènes ou d'anticorps et l'identification rapide des espèces fongiques après culture.

### 2.1. TDR pour le diagnostic des candidoses invasives

Si le diagnostic des candidoses superficielles (candidoses cutanées et candidoses des muqueuses) est de réalisation et d'interprétation facile, il n'en est pas de même pour celui des candidoses profondes ou invasives. Chez le patient agranulocytaire par exemple le pourcentage d'hémoculture positive est inférieur à 50 %. Pour pallier ce manque de sensibilité des méthodes de mise en évidence des *Candida*, des tests pour la recherche d'antigènes ou d'anticorps ont été développés et sont commercialisés.

Pour la mise en évidence des antigènes, les réactifs utilisent soit des anticorps polyclonaux (Unimedi *Candida* monotest) soit des anticorps monoclonaux (Platelia™ *Candida* Ag, Bio-Rad Marnes-la-Coquette, France).

Pour la recherche d'anticorps, diverses techniques sont proposées telles que l'hémagglutination indirecte (Fumouze Diagnostics), l'ELISA avec par exemple le Platelia™ *Candida* Ab (Bio-Rad) et le SERIONR ELISA classic *Candida albicans* IgA/IgG/IgM (Virion- Serion). L'utilisation combinée des techniques ELISA pour la recherche d'antigène et d'anticorps et d'une technique de détection des  $\beta$ -glucanes majore les possibilités du diagnostic des candidoses invasives. Les rares TDR ont disparu ou sont peu ou pas utilisés pour ce diagnostic de candidoses invasives car la sensibilité requise pour la détection des antigènes circulants est très élevée. Exemple du CAND-TEC™ (Ramco Laboratories) qui est un test d'agglutination utilisant des particules de latex recouvertes d'anticorps anti *Candida*) et le « Directigen disseminated candidiasis » (Becton Dickinson) qui est un test d'immunofiltration sur membrane pour la détection de l'enolase de *Candida*. Pour ce test, sur la membrane est fixé sous forme de tache, un anticorps monoclonal (AcM) anti-enolase qui lors de la filtration du sérum à travers cette membrane capture l'antigène enolase éventuellement présent dans l'échantillon. Il est ensuite révélé par la fixation de liposomes, colorés en rouge, sensibilisés

avec des anticorps polyclonaux anti-enolase. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une tache rouge. En absence d'antigène il n'y a pas de coloration. Ce test présentait une bonne spécificité (97,1 %) mais une sensibilité (65 %) relativement faible [23].

## **2.2. TDR pour le diagnostic des candidoses vaginales :**

Dans les années 80-90 des tests de LA (latex agglutination) ont été proposés par de nombreux auteurs pour le diagnostic rapide des candidoses vaginales. Certains permettent la détection simultanée d'autres pathogènes tels que *Trichomonas vaginalis* ou *Gardnerella vaginalis*, c'est le cas du LA FemPure®. La sensibilité de ce test correspond à 106 CFU/mL.

Des tests d'ICM à migration latérale ont été développés comme « docteur tests » pour le diagnostic des vulvo-vaginites candidosiques (VVC). Le réactif CandiVagi est une ICM à migration latérale qui utilise le même anticorps l'AcM 5B2 (IgM) sur la membrane et sur l'or colloïdal. Cet anticorps dirigé contre les mannanes des levures du genre *Candida*, reconnaît notamment ceux de *Candida albicans* (*C. albicans*) et de *Candida glabrata* (*C. glabrata*). C'est une caractéristique importante car cette dernière espèce est de plus en plus souvent la cause des VVC.

Le test est de réalisation facile : après avoir « déchargé » l'écouvillon dans un tube contenant le dissociant, constitue notamment d'une glucanase, la membrane est placée dans la suspension obtenue et la lecture est réalisée après 10 minutes. Deux bandes apparaissent en cas de réaction positive et une seule bande lors d'une réaction négative.

Dans une étude comparative entre les techniques classiques (examen microscopique et culture) et le test CandiVagi, réalisée avec des prélèvements vaginaux provenant de 130 patientes présentant une vaginite, dont 60 VVC, et 75 sujets apparemment sains, les résultats ont montré que la sensibilité pour l'examen direct, pour la culture et pour le CandiVagi était respectivement de 61 %, 100 % et 96,6 %. La spécificité de ces trois méthodes était de 100 %, 82 % et 98,6 % (Tab: II). De plus, une corrélation directe a été mise en évidence entre la sévérité de la VVC et l'intensité de la bande observée avec le CandiVagi. Il est regrettable que ce test ne soit pas actuellement commercialisé en raison d'une baisse de l'activité enzymatique de la glucanase actuellement commercialisée [23].

**Tableau II: Se et Sp des techniques classiques utilisées dans le diagnostic des VVC [23].**

|                        | <b>Examen direct</b> | <b>La culture</b> | <b>Test CandiVagi</b> |
|------------------------|----------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Sensibilité (%)</b> | 61                   | 100               | 96.6                  |
| <b>Spécificité (%)</b> | 100                  | 82                | 98.6                  |

Une autre ICM, le Savvy- Check™ est commercialisée par la société Savyon Diagnostics. Une étude prospective réalisée avec des prélèvements vaginaux de 231 patientes ayant des signes cliniques de vaginites a montré que, par rapport à l'examen direct, le test avait une sensibilité de 93 % et une spécificité de 95 %. Par rapport à la culture, la sensibilité et la spécificité du SavvyCheck™ étaient respectivement de 79 % et 96 % [24].

### **2.3. TDR pour l'identification des levures genre Candida**

Lors du diagnostic mycologique des candidoses invasives et dans le but d'instaurer le plus tôt possible un traitement approprié, il est important d'identifier rapidement les colonies de levures obtenues après culture. Les techniques de LA et d'ICM, avec un rendu des résultats en 5 à 20 minutes, sont donc indiquées pour cette identification rapide. Les espèces qui ont retenu l'attention des sociétés pour le développement de ces TDR sont : *C. albicans* et *C. glabrata* espèces les plus fréquemment isolées dans les prélèvements biologiques, *Candida dubliniensis* (*c. dubliniensis*) très proche phénotypiquement de *C. albicans* et identifiée comme tel jusqu'en 1995, année d'identification, par l'équipe de Coleman de cette espèce ainsi que *Candida krusei* (*C. krusei*) résistant à de nombreux azolés.

Le Bichro-latex albicans est un LA utilisant des particules rouges sensibilisées avec un anticorps monoclonal, l'AcM 3H8, qui à l'époque du développement du test (1994), était considéré comme spécifique de *C. albicans*. Aujourd'hui, ce test est proposé pour l'identification en 5 minutes des colonies du groupe *C. albicans/C. dubliniensis*. Les particules rouges sont

en suspension dans un contre-colorant vert. Lorsque la suspension de couleur marron est mélangée avec des colonies de *C. albicans* ou de *C. dubliniensis*, il y a une coagglutination entre les blastopores, portant l'antigène reconnu par l'anticorps monoclonal, et les particules de latex sensibilisées. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'agglutinats rouges sur fond vert plus ou moins intense. Avec des colonies de levures autres que *C. albicans* et *C. dubliniensis*, aucune agglutination n'est observée. La suspension reste alors homogène et de couleur uniforme marron.

Plusieurs études ont montré que le Bichro-Latex *albicans* avait une sensibilité et une spécificité supérieure ou égale à 99 %. En 2004 une ICM pour l'identification et la différenciation de *C. albicans* et *C. dubliniensis* a été développée. Ce test fait intervenir deux anticorps monoclonaux qui sont spécifiques pour un antigène pariétal de la phase mycélienne de *C. albicans* et de *C. dubliniensis*. Malgré les bons résultats obtenus figurants dans (Tab III): sensibilité et spécificité respectivement de 93,1 et 100 % pour *C. albicans* et 98,3 et 97,9 %, pour *C. dubliniensis*, ce test n'a pas été commercialisé car, si sa réalisation était rapide (25 minutes), il nécessitait au préalable une incubation des blastopores pendant 2 heures dans un milieu synthétique pour l'obtention des tubes germinatifs [23].

**Tableau III: Se et Sp du ICM albi-dubli test pour l'identification et la différenciation de *C. albicans* et *C. dubliniensis* [23].**

|                        | <i>C. albicans</i> | <i>C. dubliniensis</i> |
|------------------------|--------------------|------------------------|
| <b>Sensibilité (%)</b> | 93,1               | 98,3                   |
| <b>Spécificité (%)</b> | 100                | 97,9                   |

Suite à l'obtention d'un anticorps (AcM 12F7-F2) reconnaissant spécifiquement un antigène de surface des blastopores de *C. dubliniensis*, le développement d'un LA, le Bichroducti (Fumouze Diagnostics), pour l'identification de colonies de *C. dubliniensis* a été réalisé. Ce réactif est composé de particules bleues de latex, sensibilisés avec l'anticorps, en suspension dans un contre colorant rouge. En présence de blastopores de *C. dubliniensis*, des agglutinats bleus (coagglutination entre les particules et les blastopores) apparaissent sur un fond rouge. Pour *C. albicans* et les autres espèces, la réaction est négative et la suspension reste homogène et garde sa couleur violette. La sensibilité et la spécificité de ce réactif ont été évaluées respectivement à 97,8 % et à 100 % [25].

Le réactif Krusei-Color (Fumouze Diagnostics) est basé sur le principe de la coagglutination des blastopores de *C. krusei* avec des particules rouges de latex, sensibilisées avec un anticorps monoclonal, l'AcM 6B3, qui reconnaît spécifiquement un antigène localisé à la surface de cette levure. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'agglutinats rouges. Avec des colonies de levures non *Candida krusei*, on n'observe aucune agglutination. La suspension reste alors homogène et rouge. Ce test rapide (5 minutes) présente selon les études une sensibilité de 98,8 à 100 % et une spécificité de 95 à 100 % [23].

Une identification rapide de *C. glabrata* peut être effectuée en utilisant une technique non immunologique dont le principe est basé sur la révélation d'une enzyme : la trehalase qui hydrolyse rapidement le tréhalose. À côté de ce test, il y a ceux qui sont commercialisés tels que le Glabrata (RTT) pour Rapide Trehalose Test (Fumouze Diagnostics). Ce réactif permet une identification en 20 minutes avec une sensibilité et une spécificité, qui en fonction du milieu d'isolement, sont respectivement de 94 à 98 % et de 97 à 99 % (Tab IV) [26]. Le GlabrataQuick™ (Hardy Diagnostics) est aussi un test d'identification de *C. glabrata* basé sur l'assimilation rapide du tréhalose mais la lecture se fait après une à deux heures d'incubation.

**Tableau IV: Se et Sp du Glabrata RTT (Rapide Trehalose Test) [26].**

|                    | Sensibilité (%) | Spécificité (%) |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| <i>C. glabrata</i> | 94-98           | 97-99           |

#### **2.4. TDR pour le diagnostic de la cryptococcose**

La cryptococcose est une mycose grave, rencontrée surtout chez les patients immuno-déprimés, en particulier ceux hébergeant le virus d'immunodéficience humaine (VIH). La forme clinique la plus fréquente est la méningo-encéphalite. Le diagnostic biologique de la cryptococcose comprend un examen microscopique avec l'encre de chine, et notamment la recherche de l'antigène polysaccharidique capsulaire (galactoxyl mannane ou GXM) de *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*), dans différents liquides biologiques : sérum, liquide céphalorachidien (LCR), urines.

Il existe de nombreux TDR pour cette recherche d'antigène cryptococcique. Les techniques de LA sont utilisées depuis de nombreuses années. Les premières ont été développées avec des anticorps polyclonaux (exemples: *Cryptococcus* Antigen Latex Agglutination Test, *Cryptococcus* Antigen Latex Agglutination System (CALAS®)). Actuellement les sociétés proposent des particules de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux (exemple : Murex®, Pastorex™). L'utilisation de ces LA nécessite au préalable un traitement par une protéase et un chauffage de l'échantillon à examiner.

Ces traitements dissocient les complexes immuns ou non et détruisent les constituants, tels que le facteur rhumatoïde, qui peuvent être à l'origine de réactions faussement positives. La sensibilité et la spécificité de ces LA varient (80 à 100 %) en fonction des tests utilisés et de la nature des échantillons (sérum ou LCR). La bonne sensibilité diagnostique des différentes LA est due à la présence en grande quantité de polysaccharides circulants[23].

Ces LA sont actuellement remplacées par des ICM. Une étude sur la détection des GXM (galactoxyl mannane) dans le plasma, le sérum et l'urine de patients atteints de méningite a été réalisée avec l'ELISA et l'ICM en utilisant le même anticorps monoclonal. Les résultats obtenus ont montré une bonne corrélation entre ces deux techniques [27].

Une étude récente, publiée en 2014 par Boulware *et coll.* [28] a montré que CrAg® LFA (Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay) présentait des meilleures performances que les LA utilisées dans cette étude (CrAg®-LA et CALAS®). En effet la sensibilité et la spécificité du CrAg® LFA étaient respectivement de 99,3 et 99,1 %, alors que pour les LA, en fonction des fabricants la sensibilité était de 97 à 97,8 % et la spécificité de 85,9 % à 100 % (Tab : V). Un point important est à souligner pour le CrAg® LFA : c'est l'absence de prétraitement (ni protéase ni chauffage) des échantillons à tester. Cette étude confirme les bons résultats obtenus par d'autres auteurs avec ce TDR [29]. Ces ICM présentent une grande sensibilité pour la détection d'antigène quel que soit le stéréotype (A, B, C ou D) [30].

**Tableau V: Se et Sp du CrAg® LFA (ICM) contre CrAg®-LA [28].**

|                        | CrAg® LFA | CrAg®-LA   |
|------------------------|-----------|------------|
| <b>Sensibilité (%)</b> | 99,3      | 97 à 97,8  |
| <b>Spécificité (%)</b> | 99,1      | 85,9 à 100 |

Récemment le réactif IMMY CrAg® LFA a été évalué pour la détection d'antigène cryptococcique salivaire chez deux groupes de patients infectés par le VIH avec des CD4+ inférieurs à 100 cellules/mm<sup>3</sup>: une population présentant une méningite et l'autre asymptomatique [31]. Dans cette étude, le même TDR a été utilisé pour la recherche d'antigène dans la salive ou dans le sérum. En prenant comme référence la recherche d'antigène sérique, les résultats obtenus pour la détection d'antigène salivaire, ont montré une sensibilité relativement faible (88 %) pour la cohorte «méningite» et médiocre pour la cohorte asymptomatique (27 %). Il est à noter que les patients ayant un test faussement négatif avec la salive présentaient

un titre faible d'antigène avec le sérum. Une amélioration de la sensibilité analytique pour le test salivaire est donc indispensable pour qu'il puisse être utilisé sur le terrain dans des régions aux ressources limitées et à la place des techniques qui nécessitent des méthodes invasives pour l'obtention des échantillons de sang et de LCR.

L'efficacité des TDR pour le diagnostic de la cryptococcose n'est plus à démontrer lorsqu'ils sont réalisés sur le sérum, le LCR ou les urines. Ce sont des outils indispensables pour une détection précoce et rapide des antigènes cryptococciques qui peuvent même dans certains cas être positifs alors que l'isolement du champignon est négatif. Il faut néanmoins signaler que ces tests peuvent détecter, par réaction croisée, d'autres antigènes fongiques tels que ceux présents chez les *Trichosporon* [23].

## **2.5. TDR pour le diagnostic des Aspergilloses**

Les aspergilloses sont dues à des champignons filamenteux cosmopolites, ubiquitaires et opportunistes du genre *Aspergillus*. *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) est l'espèce la plus souvent impliquée en pathologie humaine. La recherche d'anticorps est indispensable et apporte des arguments pour le diagnostic de l'aspergillome et des aspergilloses localisées et immunoallergiques. Elle est réalisée soit avec des techniques de précipitation (immunoélectrophorèse, double diffusion, électrosynérèse), avec caractérisation de l'activité enzymatique (catalasique ou chymotrypsique) de certains arcs précipitants, soit avec des techniques ELISA dont certaines sont commercialisées : SERION ELISA classic *Aspergillus fumigatus* IGA/IgG/IgM (Virion-Serion), Platelia™ *Aspergillus* IgG (Bio-Rad) soit avec des techniques d'hémagglutination indirecte (Fumouze Diagnostics). Ces techniques utilisent des antigènes « bruts » ou partiellement purifiés d'*Aspergillus fumigatus* ou des recombinants.

L'interprétation des résultats de recherche d'anticorps est en revanche difficile dans le cas du diagnostic de l'aspergillose invasive (AI) chez les patients immunodéprimés. Pour cette AI, il faut privilégier la détection d'antigènes circulants tels que les antigènes galactomannanes (GM) ou des glycoprotéines excrétées lors de la croissance du champignon. Ils peuvent être mis en évidence avec des tests ELISA dont le plus utilisé est le Platelia™ *Aspergillus* EIA (Bio-Rad) qui utilise une IgM monoclonale de rat dirigée contre un tétra (1-5)- $\beta$ -D-galactofuranoside qui est l'épitope majeur du galactomannane.

Des réactions faussement positives ont été observées avec ce test chez les patients ayant une cryptococcose et dans d'autres diverses circonstances. Elles ont été analysées par Verweij et Mennink-Kersten dans une revue concernant les problèmes posés par la détection des GM. Elles sont observées avec certains sérums de patients traités avec le piperacilline-tazobactam ou l'amoxicilline-acide clavulanique ou sont dues à des réactions croisées avec : les GM de champignons appartenant à des genres autres que *Aspergillus*, les galactoxylomannanes de *C. neoformans*, l'acide lipoteichoïque des bifidobactéries intestinales de la microflore gastro-intestinale des nouveau-nés, le cyclophosphamide et les GM présents dans les aliments pour nourrissons.

Christopher Thornton a développé des anticorps monoclonaux anti-*Aspergillus fumigatus* avec pour objectif d'en sélectionner un ne reconnaissant pas les GM pour éviter les problèmes observés avec l'anticorps EB-A2. L'anticorps JF5 qui reconnaît une glycoprotéine extracellulaire sécrétée lors de la croissance active d'*A. fumigatus* a été retenu. Il a été utilisé pour le développement d'une ICM ou LFD (lateral-flow device) permettant le diagnostic des AI par détection d'antigènes. La spécificité du JT5 a été démontrée par sa réactivité vis-à-vis de nombreuses espèces d'*Aspergillus* et par sa non réactivité avec des agents responsables d'autres mycoses (*Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium solani*, *Penicillium marneffeii*, *Pseudallescheria boydii* et *Rhizopus oryzae*).

La sensibilité et la spécificité du LFD *Aspergillus* ont été confirmées par une autre étude réalisée chez des patients ayant eu une greffe de cellules souches hématopoïétiques [32]. Les auteurs ont comparé les résultats du test *Aspergillus*-LFD avec ceux obtenus en utilisant le Platelia® *Aspergillus* EIA (GM-EIA). Dans le cas où une seule recherche d'antigène (sur un seul sérum) était réalisée, le LFD présentait des performances diagnostiques comparables à celles du GM-EIA [23].

Récemment deux études ont été réalisées en utilisant comme échantillon à analyser le liquide de LBA. La première effectuée chez les patients présentant une affection des voies respiratoires [33] a montré que la sensibilité et la spécificité du LFD étaient respectivement de 77 et 92 %. Elles étaient de 29 et 97 % pour la culture, de 97 et 81 % pour le galactomannane par ELISA (Tab-VI).

**Tableau VI: Se et Sp des LFD, culture et ELISA sur un LBA pour le diagnostic biologique de l'aspergillose invasive [33].**

|                        | <b>LFD-GM</b> | <b>Culture</b> | <b>ELISA-GM</b> |
|------------------------|---------------|----------------|-----------------|
| <b>Sensibilité (%)</b> | 77            | 29             | 97              |
| <b>Spécificité (%)</b> | 92            | 97             | 81              |

La seconde étude [34] concernait les patients ayant subi une greffe d'organe et dans le but du diagnostic d'une aspergillose pulmonaire invasive probable, la sensibilité et la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives, du test LFD étaient respectivement de 91 %, 83 %, 63 %, et 97 %. Ce LFD serait un bon test complémentaire pour la PCR. Une sensibilité et une spécificité de 100 % étaient obtenues en combinant les deux tests (PCR et LFD).

Une autre ICM a été développée avec une IgM monoclonale (AcM 476) [35]. Ce LFD a été utilisé pour la détection du GM dans les urines de cobayes expérimentalement infectés avec *A. fumigatus* et chez des patients présentant une AI. Les bons résultats obtenus avec ces LFD devront être confirmés par d'autres études.

## **2.6. TDR pour le diagnostic des mycoses exotiques :**

- **Recherche d'anticorps**

Aujourd'hui les techniques d'ELISA se substituent aux classiques techniques de fixation du complément et d'immunodiffusion, pour le diagnostic des histoplasmoses, de la blastomycose, de la coccidioidomycose, de la paracoccidioidomycose et de la penicilliose.

Pour les TDR seules les techniques de LA, qui sont utilisées depuis de nombreuses années, ont été développées pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre les agents de ces mycoses.

Pour les histoplasmoses la sensibilité et la spécificité des LA varient en fonction des antigènes utilisés. Il a été noté que ces tests pouvaient être à l'origine de réactions faussement positives dues au facteur rhumatoïde ou chez certains patients atteints de tuberculose [23].

Les mêmes observations peuvent être faites pour les LA utilisées pour le diagnostic de la paracoccidioidomycose qui pressentent une sensibilité et une spécificité de 80 à 90 % [36]. Des réactions croisées ont été observées avec les sérums de patients atteints d'affections pulmonaires d'origine fongique telles que l'aspergillose, l'histoplasmosse ou d'origine bactériennes. Des études [37] ont montré que l'inactivation des sérums (56 °C, 30 minutes) ou leur pré-incubation à 37 °C pendant 30 minutes dans un tampon adéquat améliorerait les performances du LA. En effet dans ces études, la sensibilité et la spécificité, qui étaient de 83 % et de 90 % après inactivation et de 90 % après traitement par le tampon.

Pour la coccidioidomycose, la sensibilité et la spécificité des LA ont été évaluées respectivement à 75 et 84,6 % dans une étude comparative avec une technique d'ELISA. Selon Pappagianis, le diagnostic de la coccidioidomycose évolutive serait plus facile avec le LA, qui détecte facilement les IgM, qu'avec la réaction de fixation du complément, qui révèle surtout les IgG [23].

- **Recherche d'antigènes**

La détection d'antigènes pour le diagnostic de l'histoplasmosse a été effectuée la première fois en 1986 avec une technique radio-immunologique. Actuellement pour le diagnostic

des histoplasmoses disséminées, la recherche d'antigènes est réalisée sur le sérum et les urines à l'aide de diverses techniques d'ELISA développées dans les laboratoires de référence. Leur manque de standardisation peut être résolu avec des réactifs commercialisés tels que le test IMMY ALPHA *Histoplasma* antigen EIA (IMMY) [23].

Une étude comparative avec une technique ELISA d'un laboratoire de référence a montré que la sensibilité et la spécificité du test IMMY, pour la détection des antigènes urinaires, étaient respectivement de 64,5 % et de 99,8 % [38]. Une étude multicentrique [39] a montré que la sensibilité de ce réactif était plus élevée chez les patients immunodéprimés que chez l'immunocompétent.

Malgré les études récentes réalisées sur la recherche d'antigènes non seulement dans le sérum et les urines mais aussi dans le liquide de LBA, il n'y a pas aujourd'hui, de TDR pour le diagnostic de l'histoplasmosse par recherche d'antigènes [23]. La production des anticorps monoclonaux devrait dans un proche avenir permettre le développement des TDR.

La recherche d'antigènes par ELISA est aussi très utilisée pour le diagnostic de la blastomycose. La sensibilité de l'antigène urinaire est d'environ 90 %. La spécificité peut atteindre 99 % chez les patients ayant une infection non mycosique ou chez des sujets sains. En revanche, le test est positif chez plus de 95 % des sujets atteints d'histoplasmosse [40].

Pour augmenter la sensibilité et la spécificité certains auteurs ont proposé, pour le diagnostic de la paracoccidioïdomycose, la détection des glycoprotéines majeures (GP 43 et

GP 70) de *Paracoccidioides brasiliensis*, dans différents liquides biologiques, avec une technique d'inhibition de l'ELISA (Inh-ELISA).

Pour ces mycoses exotiques les antigènes recherchés sont généralement des polysaccharides qui sont thermorésistants. Aussi le chauffage à 100 °C des échantillons, associé au traitement avec l'EDTA, permet la dissociation des complexes et augmente la sensibilité et la spécificité des techniques d'ELISA. A titre d'exemple lors d'une étude pour la détection des antigènes de *Coccidioides immitis* il a été montré que l'antigenémie qui était de 28,6 % chez les patients avec le sérum non traité, passait à 73 % après EDTA et chauffage des sérums.

Une technique de LA a été développée pour le diagnostic de la pénicilliose par recherche d'antigènes urinaires. Une étude comparative avec deux autres techniques : dot blot et ELISA, utilisant les mêmes anticorps polyclonaux a montré que le LA avait une sensibilité et une spécificité au moins égales à celle obtenues avec le dot blot ou l'ELISA. Les anticorps monoclonaux utilisés avec succès en ELISA pourraient être testés pour le développement d'ICM [23].

**Tableau VII: Sensibilité et Spécificité des LA test, DOT blot et ELISA pour le diagnostic de la pénicilliose [23].**

|                      | <b>Test LA</b> | <b>DOT BLOT</b> | <b>ELISA</b> |
|----------------------|----------------|-----------------|--------------|
| <b>Sensibilité %</b> | 100            | 94,6            | 97,3         |
| <b>Spécificité %</b> | 99,3           | 97,3            | 98           |

Les mycoses invasives (MI) sont des infections graves, en particulier chez les patients immunodéprimés et un diagnostic retardé ou un résultat erroné (exemple une mauvaise identification de l'espece) contribue à leur forte morbidité et à leur mortalité. Pour le diagnostic mycologique, la mise en évidence du pathogène n'est pas toujours facile.

La faible sensibilité de l'hémoculture dans le diagnostic des candidoses invasives est un exemple. Les TDR pour la détection des marqueurs de l'infection (antigènes, anticorps ou autres éléments biologiques) fournissent, au même titre que les techniques classiques, des résultats permettant de préciser la nature et la cause de la mycose.

Dans le domaine d'identification des levures post culture, l'efficacité des TDR et notamment celle des LA n'est plus à démontrer. Ces TDR sont actuellement remplacés par la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF qui permet aussi une identification rapide.

Pour le diagnostic indirect par recherche d'anticorps et/ou d'antigènes, le développement des TDR doit se poursuivre en alliant simplicité de réalisation avec sensibilité et spécificité. Des problèmes restent à résoudre pour la recherche d'anticorps :

Comment augmenter les VPP et VPN des TDR ? La solution pourrait être:

- L'utilisation d'antigènes remarquables natifs : l'enolase de *C. albicans*, les enzymes d'*A. Fumigatus* (catalase – chymotrypsine), la protéine de surface BDA-1 de *Blastomyces dermatitidis* [41] ;
- L'utilisation des peptides ou des antigènes recombinants. Il faut cependant rappeler qu'un grand nombre de protéines fongiques sont glycosylées et portent des épitopes conformationnels. Le choix de la cellule hôte pour la production de ces recombinants est donc important.

Certains composants présents dans les prélèvements à étudier peuvent être à l'origine de réactions faussement positives avec toutes les techniques de recherche d'antigènes, utilisant des anticorps pour l'immunocapture et pour la révélation, y compris les TDR. C'est le cas des facteurs rhumatoïdes (FR). Ces auto-anticorps sont le plus souvent des IgM anti IgG. Ils reconnaissent les IgG immobilisées (sous forme d'immunocomplexes ou sur un support) et peuvent faire le pont (i) entre les particules de latex sensibilisées avec des IgG et provoquer leur agglutination ou le pont (ii) pour les ICM, entre les IgG qui sont sur la membrane et celles des particules d'or sensibilisées, avec pour résultat un trait coloré pour la ligne réaction.

Pour éviter ce problème, si l'antigène recherché est thermostable, un chauffage de l'échantillon à 100 °C modifie la conformation de ces FR qui ne peuvent plus se fixer sur les IgG. Cette solution n'est pas compatible avec un « docteur test » ou un test au lit du patient ou un test réalisé sur le terrain. Il est préférable de développer des TDR en utilisant des anticorps de type IgM ou des FAb (fragment antigen-binding) ou encore avec des anticorps non reconnus par les FR tels que les Immunoglobulines de jaune d'œuf de poule ou IgY (Ig Yolk).

Pour accroître les possibilités du diagnostic biologique des mycoses, les ICM pour la recherche d'antigènes doivent présenter des sensibilités et des spécificités analytiques et diagnostiques supérieures à 90 %. Leur développement devrait être accompagné de celui des anticorps monoclonaux ou d'autres systèmes d'affinité tels que ceux utilisant des aptamères ou des nanofitines. Une forte affinité et une haute spécificité de ces ligands pour les affinités du pathogène concerné permettraient le développement des TDR ayant la sensibilité requise

pour la détection des composants fongiques présents à des très faibles concentrations dans les liquides biologiques et ayant une VPN élevée.

Les TDR sont des tests unitaires, faciles à mettre en œuvre, donc compatibles avec la fréquence, relativement élevée, des demandes de recherche d'antigènes et/ou d'anticorps pour un même patient. Des améliorations et des innovations devront être réalisées pour qu'ils deviennent des outils permettant la détection précoce de la mycose et voire avant l'apparition des manifestations cliniques pour le suivi des patients immunodéprimés et/ou en réanimation.



*Applications en virologie*

## IV. APPLICATIONS EN VIROLOGIE :

### 1. Principe:

Les TDR développés pour le diagnostic des infections virales reposent essentiellement sur la technique d'immunochromatographie. La technique est basée sur la migration de l'antigène viral présent dans l'échantillon par capillarité sur un support solide de type nitrocellulose. Cet antigène est capturé par un anticorps spécifique immobilisé sur la membrane sous forme d'une fine bande. Le complexe antigène anticorps est révélé par un second anticorps (présent lui aussi au départ sur la membrane et migrant pendant la réaction) marqué à l'or colloïdal ou par des particules de latex colorées. La fixation de cet anticorps marqué sur le complexe antigène anticorps se traduit par l'apparition d'une bande colorée. Une bande contrôle basée sur la capture des anticorps marqués permet de valider le résultat. La lecture se fait directement à l'œil nu (*figure 3*).

Ces TDR se présentent sous forme de bandelettes dont la base est immergée dans l'échantillon ou sous forme de cassettes communément désignées sous le terme de « savonnette ». À côté de ces TDR à lecture directe visuelle, sont développés des tests donnant un résultat rapide mais nécessitant un appareillage de détection, tels que les tests Sofia™ (Ingen) ou BD Veritor™ system (Becton Dickinson) basés sur une technique d'immunochromatographie avec utilisation d'anticorps fluorescent et qui paraissent plus sensibles que les tests à lecture visuelle. Il convient de signaler également le développement de tests moléculaires présentés sous forme de cassettes individuelles avec un appareillage de détection adapté et donnant un résultat rapide, de l'ordre de 1 à 2 heures, tels que le système GeneXpert™ [42].

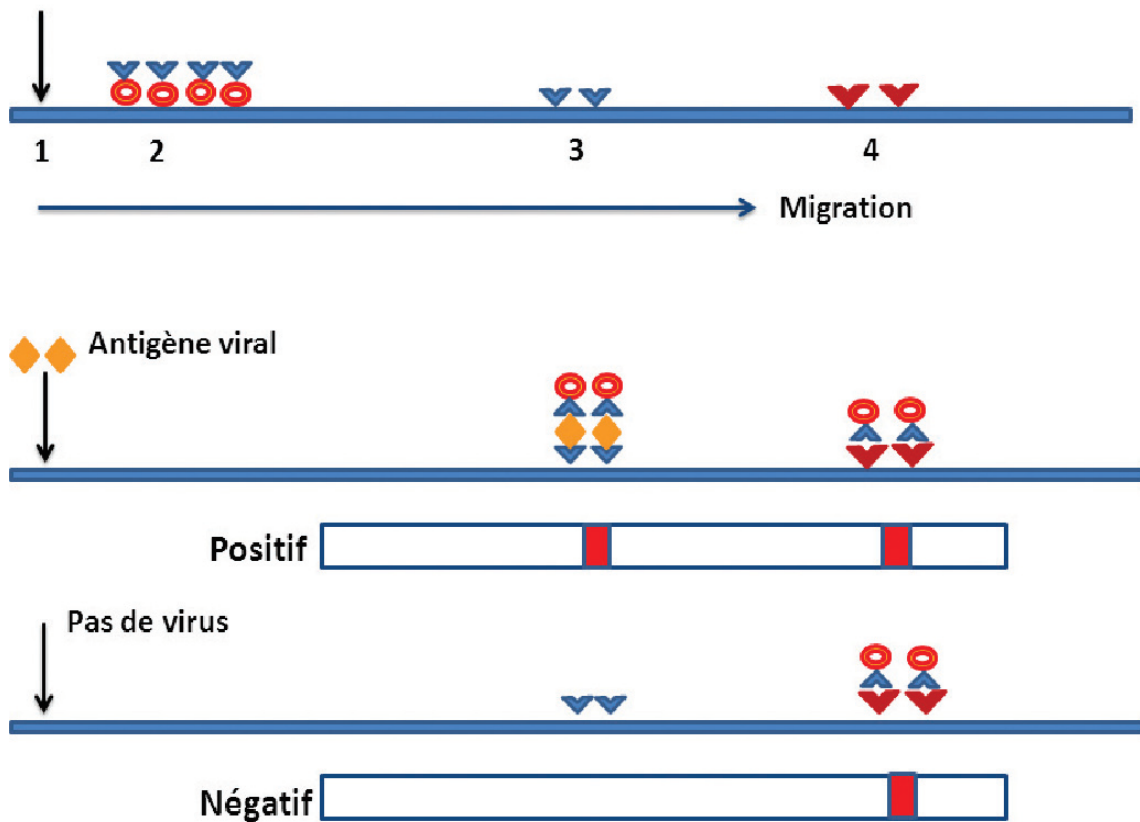


Figure 3: Schéma descriptif du principe de l'immunochromatographie [42].

1. Zone de dépôt de l'échantillon.
2. Anticorps anti-antigène viral marqué (non fixé sur le support).
3. Anticorps de capture de l'antigène viral (fixé sur le support).
4. Anticorps de capture des anticorps marqué (contrôle).

## **2. Applications des TDR dans les infections respiratoires virales**

### **2.1. La grippe**

Parmi les 3 types de virus de la grippe (A, B et C), seuls les types A et B sont responsables de la grippe proprement dite. Le virus de la grippe A est responsable d'épidémies annuelles (grippe saisonnière) touchant 5 à 20 % de la population. L'apparition régulière de nouveaux variants (ou souches) liée la variabilité génétique du virus est à l'origine de ces épidémies annuelles. À côté des épidémies annuelles, surviennent périodiquement des épidémies de grande ampleur (pandémies) liées à l'apparition d'un nouveau sous-type de grippe A dans la population humaine.

Ce sont des recombinaisons entre des souches humaines et des souches animales qui sont à l'origine de l'apparition de ces sous-types pandémiques. Les pandémies survenues depuis le début du XXe siècle ont été la grippe espagnole (sous-type H1N1) en 1918, la grippe asiatique (sous-type H2N2) en 1957, la grippe de Hong-Kong (sous-type H3N2) en 1968 et la grippe mexicaine (sous-type H1N1v) en 2009.

Le virus de la grippe B, spécifiquement humain, présente une variabilité saisonnière moins importante que celle de la grippe A. La grippe B sévit annuellement de manière sporadique et sous forme épidémique à intervalles de quelques années. Les pandémies liées à l'apparition de nouveaux variants n'existent pas avec le virus de la grippe B.

La grippe se caractérise par un début brutal, une fièvre élevée, des douleurs et une atteinte respiratoire. La maladie évolue le plus souvent favorablement, mais les risques de complications et de décès dans les formes graves sont réels. Le risque de formes sévères et de décès s'observe essentiellement chez les sujets âgés, les insuffisants respiratoires, les insuffisants cardiaques, insuffisants rénaux, les sujets porteurs de maladies chroniques, mais également les femmes enceintes et les nourrissons.

En raison de l'importance des épidémies et des risques de formes graves, la grippe est une maladie sous surveillance, en particulier dans les populations à risques : établissements de personnes âgées, services de pédiatrie, de réanimation etc. Les TDR ont un rôle à jouer dans cette surveillance.

• **Tests disponibles**

De nombreuses troussees sont proposees pour le diagnostic rapide de la grippe. Les caracteristiques des principaux tests sont presentees dans le tableau VIII. Dans la plupart des cas, des dispositifs de prelevement (ecouvillons) sont inclus dans le coffret. Des echantillons de controle positifs et negatifs ne sont pas toujours inclus dans les troussees. Il est evidemment tres important de valider le bon fonctionnement de la trousse a l'aide d'echantillons de controle. La disponibilite d'echantillons de controle positifs (grippe A et grippe B) et negatifs est un element important a prendre en compte dans le choix d'un TDR [42].

**Tableau VIII: TDR Grippe (liste non exhaustive) [42].**

| <b>LE TEST</b>                       | <b>Fabriquant/Distributeur</b> | <b>Dispositif de prelevement</b> | <b>Nombre du Test/Coffret</b> |
|--------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| <b>Actim Influenza A et B</b>        | Medix Biochemica               | Oui                              | 20                            |
| <b>BD Directigen EZ Flu A et B</b>   | Becton Dickinson               | Non                              | 30                            |
| <b>Binax Now influenza A &amp; B</b> | card Alere                     | Non                              | 22                            |
| <b>Bionexia Influenza A+B</b>        | BioMerieux                     | Oui                              | 10                            |
| <b>Espline Influenza A &amp; B-N</b> | Fujirebio                      | Oui                              | 10                            |
| <b>Influenza A/B Panel test</b>      | Gecko Pharma/ Eurobio          | Oui                              | 10                            |
| <b>Influenza color</b>               | Coris Bioconcept               | Oui                              | 20                            |

Les performances des TDR pour le diagnostic rapide de la grippe sont variables selon les troussees. Chaque fabricant indique pour sa trousse des valeurs de sensibilite et de specificite mais cela ne permet pas de comparer directement les differentes troussees entre elles. En effet, selon les cas, les troussees sont evaluees par rapport a la culture cellulaire, voire par rapport a un autre TDR, plus rarement par rapport a la PCR qui est la technique la plus sensible. Par ailleurs, la selection d'echantillons pour la realisation de ces etudes varie en termes de nombre et de proportion d'echantillons positifs.

La plupart des trousses sont présentées comme ayant une sensibilité supérieure à 80% et une spécificité supérieure à 95 %. Une méta-analyse prenant en compte 159 études publiées sur 26 trousses a rapporté une sensibilité globale 62,3 % et une spécificité globale de 98,2 %. Il ressortait de ces données que :

- La sensibilité était plus élevée pour les prélèvements effectués chez les enfants par rapport à ceux effectués chez l'adulte (66,6 % vs 53,9 %)
- La sensibilité était globalement plus élevée pour le virus Influenza A que pour le virus Influenza B (64,6 % vs 52,2 %).
- La sensibilité des tests était plus élevée lorsque le test était effectué 24 à 48 heures après le début des symptômes, avec une sensibilité plus faible le premier jour des symptômes et une perte rapide de sensibilité au-delà du troisième jour.
- La sensibilité globale de ces tests était de 72,3 % par rapport à la culture cellulaire, mais de seulement 53,9 % par rapport à la PCR [43].

La variabilité antigénique du virus A peut poser problème en termes de détection des antigènes viraux par les TDR. Toutefois, ces tests ciblent généralement des antigènes internes spécifiques de type, beaucoup plus stables que les antigènes d'enveloppe. Il a toutefois été montré que la sensibilité des tests était variable selon les types et sous-types de virus de la grippe [44] et il est extrêmement important que la performance de ces tests soit évaluée de manière approfondie lors de l'émergence de nouveaux sous-types.

Le Centre national de référence des virus Influenza à Lyon en France a entrepris une étude comparative des différentes trousses disponibles en analysant la détection de dilutions successives de 4 souches de virus : 1 souche A H1N1, une souche AH3N2 et 2 souches de grippe B. Le rapport final de cette étude [45] montre que les 2 tests avec dispositif de lecture [Sofia Influenza A+B IFA (Quidel/Ingen) et BD Veritor Flu A+B (Becton Dickinson)] sont les plus sensibles. Parmi les tests à lecture visuelle, la sensibilité des tests était très variable selon les trousses. Ce sont les tests Espline Influenza A & B-N (Fujirebio) et BD Directigen EZ Flu A+B qui se sont révélés les plus sensibles. La praticabilité des différentes trousses a également été évaluée dans ce rapport.

En raison de la sensibilité relativement faible des tests, les TDR de la grippe ne peuvent être recommandés comme un test de diagnostic mais ils représentent un atout dans la surveillance épidémiologique et le dépistage de l'infection dans certaines conditions. En France, les TDR grippe font partie des tests qui peuvent être réalisés « par un médecin, ou sous sa responsabilité par un autre professionnel de santé, ou par des pharmaciens d'officine dans un espace de confidentialité ». Sur le plan épidémiologique, des TDR de la grippe sont réalisés en particulier par les médecins sentinelles des réseaux de surveillance de la grippe.

Concernant le dépistage des infections grippales, la réalisation de TDR est préconisée dans les établissements d'hébergement des personnes âgées dépendantes (EHPAD). Ces tests doivent être réalisés chez au moins 3 patients, idéalement 24 à 48 heures après l'apparition des symptômes. Un seul test positif permet de confirmer la circulation du virus dans l'établissement et de prendre les mesures préventives et curatives qui s'imposent [46]. Toutefois, la négativité des TDR dans ce contexte ne permet pas d'exclure le diagnostic car leur sensibilité est d'autant plus faible que les sujets sont âgés. Les TDR de la grippe présentent l'intérêt de leur rapidité et d'une bonne spécificité. En cas de positivité, le sujet peut être considéré comme, infecté et orienté en conséquence.

Les TDR grippe peuvent donc être utilisés dans les services d'urgence, de pédiatrie, de réanimation etc. Il importe cependant que les patients négatifs soient contrôlés en deuxième intention par un test moléculaire beaucoup plus sensible [42].

## **2.2. Infections à virus respiratoire syncytial (VRS)**

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est un virus responsable d'infections respiratoires sévères chez le nourrisson. C'est l'agent le plus fréquemment responsable des bronchiolites du nourrisson. Il existe deux types, A et B, de VRS qui présentent le même pouvoir pathogène.

Les infections à VRS sévissent chaque année sous forme épidémique pendant la saison hivernale, avec un pic généralement observé en décembre ou janvier. Ces épidémies sont d'intensité sensiblement comparable d'une année sur l'autre. Les experts estiment qu'environ 50 % des nourrissons sont infectés par le VRS au cours de leur première année de vie et que

pratiquement tous les enfants ont été en contact avec le VRS à l'âge de 2 ans. La première infection à VRS chez le nourrisson entraîne une atteinte respiratoire basse (bronchiolite, pneumonie) dans environ 40 % des cas. Une hospitalisation est nécessaire dans 1 à 2 % des cas et la majorité des enfants hospitalisés ont moins de 6 mois. Il existe un risque de mortalité chez les enfants immunodéprimés ou porteurs d'une cardiopathie ou d'une maladie pulmonaire sous-jacente. Les infections à VRS du nourrisson peuvent avoir un retentissement à long terme avec le développement d'un asthme ou la persistance d'anomalies respiratoires.

Les réinfections à VRS sont fréquentes chez l'enfant et l'adulte et sont en règle générale moins sévères, sous forme de rhinites ou de trachéo-bronchites. Des infections sévères sont toutefois observées chez les sujets âgés ou immunodéprimés. Le VRS étant très contagieux, il existe un risque élevé d'infection nosocomiale dans les services de pédiatrie. Il y a donc un intérêt évident à dépister rapidement les enfants infectés [42].

#### • Tests disponibles

De nombreuses troussees basées sur l'immunochromatographie existent sur le marché (Tableau IX). Il s'agit souvent des mêmes fabricants que pour les TDR grippe et la présentation des troussees est le plus souvent identique.

La sensibilité et la spécificité de ces tests annoncées par les fabricants sont souvent élevées, mais il s'agit généralement de comparaisons par rapport à la culture et les résultats, surtout en ce qui concerne la sensibilité, sont moins favorables lorsque la comparaison est effectuée par rapport à la PCR. Dans ce cas des sensibilités allant de 50 à 85 % ont été rapportées. Comme pour les virus de la grippe, la sensibilité diminue avec l'âge des patients et une sensibilité de 80 % avec une spécificité de 97 % par rapport à la PCR ont été rapportés chez les enfants de moins de 3 ans. La sensibilité varie aussi selon la durée d'évolution des symptômes et peut être impactée par le type (A ou B) de VRS en cause [47].

**Tableau IX: TDR VRS (liste non exhaustive) [42].**

| <b>Test</b>                           | <b>Fabricant/Distributeur</b> |
|---------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Actim RSV</b>                      | Medix Biochemica/Fumouze      |
| <b>Binax Now RSV</b>                  | Alere                         |
| <b>VRSTOP Optima</b>                  | All.Diag                      |
| <b>CerTest RSV + Adenovirus Resp.</b> | CerTest Biotec                |
| <b>Clearview RSV</b>                  | Alere                         |
| <b>Rapidiag VRS</b>                   | Theradiag                     |
| <b>Rapid VRS</b>                      | DiaMondial/Eurobio            |

Le VRS étant essentiellement pathogène pour le nourrisson, c'est dans cette population que les TDR trouvent leur utilité, d'autant plus que c'est la tranche d'âge pour laquelle ces tests présentent la meilleure sensibilité.

De par leur bonne spécificité, les TDR, en cas de positivité, permettent d'identifier rapidement avec une forte probabilité les enfants infectés, ce qui permet d'optimiser leur prise en charge et d'éviter des traitements antibiotiques inutiles. C'est donc essentiellement dans les services de pédiatrie que ces tests trouvent leur plus grande utilité. Il faut toutefois garder à l'esprit que leur sensibilité restant modérée, un TDR négatif ne peut en aucun cas exclure le diagnostic d'infection à VRS.

### **2.3. Infections respiratoires à adénovirus**

Les adénovirus humains comportent plus de 50 types subdivisés en 6 sous-groupes présentant des pouvoirs pathogènes différents. Ce sont essentiellement les adénovirus des sous-groupes B (en particulier les types 3, 7, 14, 16, 21) et C (types 1, 2, 5, 6) qui sont impliqués dans les infections respiratoires. Des pneumonies virales sévères à adénovirus peuvent être observées chez l'enfant, ces formes sévères sont surtout associées au type 7.

Les tests immunochromatographiques disponibles pour la détection des adénovirus dans les infections respiratoires sont peu nombreux, on peut citer le test Adeno Respi Color (Servibio) et les tests combinés VRS/Adénovirus (tableau IX).

La littérature, peu abondante, sur ces tests paraît indiquer des sensibilités et spécificités variables selon les techniques utilisées comparativement. Comme pour les TDR grippe et VRS, un test négatif ne peut exclure une infection respiratoire à adénovirus [48].

### **3. Applications des TDR dans les gastroentérites virales**

Les gastroentérites, sévissant souvent sous un mode épidémique, sont dans plus des deux tiers des cas d'origine virale. Les gastroentérites virales sont des affections fréquentes touchant principalement les nourrissons et jeunes enfants. Elles sont le plus souvent bénignes mais il existe des formes sévères et un risque de mortalité lié à la déshydratation du nourrisson.

Environ 500 000 nourrissons et jeunes enfants meurent chaque année de ces gastroentérites virales, essentiellement dans les pays à bas niveau socio-économique. Dans les pays à haut niveau socio-économique, la mortalité infantile liée à ces infections est une éventualité beaucoup plus rare.

Les virus les plus fréquemment en causes sont de loin les rotavirus (famille des *Reoviridae*) qui représentent environ les trois quarts des cas de gastroentérites infantiles [49]. Ce sont presque exclusivement les rotavirus du groupe A qui sont en cause. Les infections à rotavirus touchent virtuellement tous les enfants avant l'âge de 3 ans. Ces gastroentérites peuvent être sévères et les rotavirus sont la cause essentielle des hospitalisations des enfants pour gastroentérite et ils sont à l'origine de la majeure partie des décès du nourrisson par déshydratation. Les infections à rotavirus sévissent sur un mode saisonnier avec un pic hivernal généralement observé en janvier-février.

Les norovirus (famille des *Caliciviridae*) sont une cause fréquente de gastroentérite. Ils sont subdivisés en 5 génogroupes eux-mêmes subdivisés en génotypes. Ce sont les génogroupes I et II qui sont à l'origine de la majorité des cas de gastroentérites. Contrairement aux rotavirus qui touchent presque exclusivement les jeunes enfants, les norovirus affectent toutes

les classes d'âge et ce sont eux qui sont responsables des épidémies de gastroentérites survenant à intervalles plus ou moins réguliers dans la population. Les norovirus représentent la deuxième cause de gastroentérites infantiles et sont responsables d'environ 15 % des cas (*figure 4*). Ce sont des gastroentérites le plus souvent bénignes, moins sévères en règle générale que celles dues aux rotavirus. Les sapovirus, qui appartiennent également à la famille des *Caliciviridae*, sont bien moins fréquents que les norovirus.

Les adénovirus représentent environ 5 % des gastroentérites virales infantiles (*figure 4*). Ce sont les types 40 et 41 qui sont en cause. Les gastroentérites à adénovirus sévissent sur un mode sporadique sans distribution saisonnière marquée. Ce sont des formes généralement moins sévères que les gastroentérites à rotavirus. Les astrovirus (famille des *Astroviridae*) sont également associés, dans moins de 5 % des cas à des gastroentérites infantiles. Il s'agit de formes habituellement bénignes. Les Aichivirus (famille des *Picornaviridae*) sont retrouvés avec une incidence faible dans les gastroentérites.

Les entérovirus, parechovirus et bocavirus peuvent être assez fréquemment retrouvés dans les selles mais ils ne semblent pas être responsables de la survenue de gastroentérites [42].

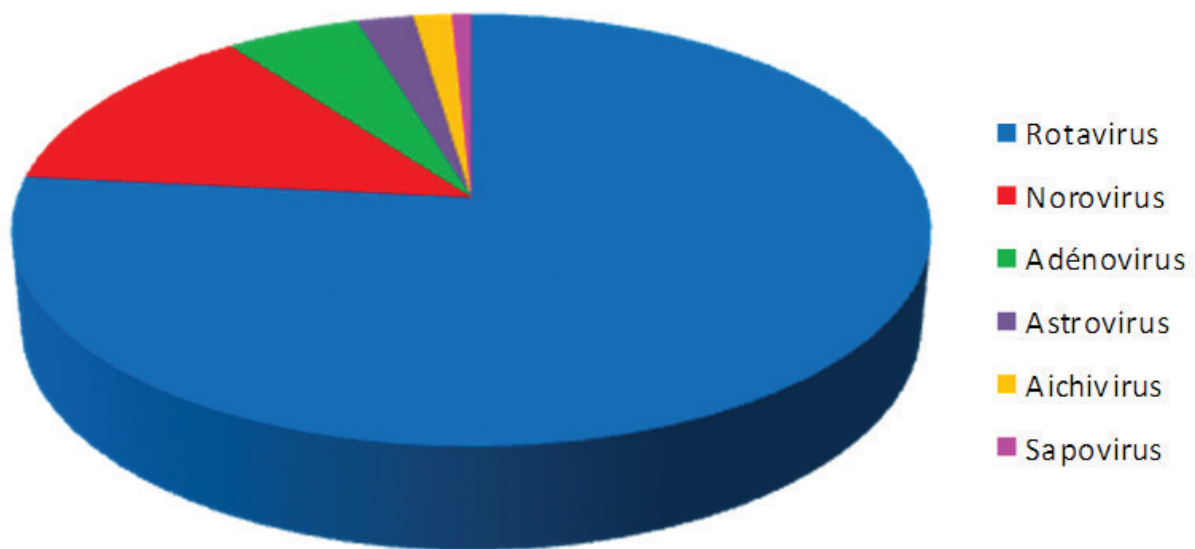


Figure 4: Distribution des virus des gastroentérites [42].

- **Tests disponibles**

De nombreux tests sont disponibles pour la détection des rotavirus et des adénovirus, qui sont généralement proposés sous forme de tests combinés. Des TDR sont également proposés par certains fabricants pour la détection des norovirus et des astrovirus (**tableau X**).

De manière générale, des échantillons de contrôle positifs et négatifs ne sont pas inclus dans les trousseaux mais sont disponibles auprès de certains fournisseurs. Il est important d'utiliser des échantillons de contrôle, au minimum à chaque changement de lot, pour valider les résultats fournis par les trousseaux [42].

Il n'existe pas dans la littérature des études évaluant l'ensemble des trousseaux disponibles. Les valeurs de sensibilité et spécificité indiquées par chaque fabricant sont difficilement comparables entre elles, les études réalisées n'étant pas homogènes en termes de techniques de référence (ELISA ou PCR), d'effectifs ou de populations prises en compte pour les études.

En France, une étude réalisée par le Centre national de référence des virus entériques en 2007, comparant 7 tests d'immunochromatographie pour la détection des rotavirus par rapport à une technique ELISA, avait rapporté des sensibilités de 70 % à 98,8 % selon les trousseaux et une spécificité de 100 % pour toutes les trousseaux évaluées [50].

D'autres études ont montré que par rapport à des techniques de biologie moléculaire, les TDR présentaient une sensibilité élevée pour la détection des rotavirus et astrovirus et une sensibilité réduite pour la détection des adénovirus et des norovirus [51, 52]. Il ressort des différentes études que les TDR utilisables pour le diagnostic des gastroentérites ont une bonne spécificité et que la sensibilité est variable mais souvent élevée pour la détection des rotavirus.

Ces TDR sont indiqués dans les cas de gastro-entérites aiguës. L'indication principale est la gastro-entérite du nourrisson. Ces tests sont pratiqués essentiellement devant les formes sévères faisant l'objet d'une hospitalisation. Dans le cas des gastro-entérites à rotavirus, les TDR présentent des performances souvent proches des tests moléculaires en termes de sensibilité et spécificité, donc ces TDR peuvent être considérés comme des tests de diagnostic et ils

sont très répandus dans les laboratoires. Il convient toutefois de préciser qu'ils ne peuvent être utilisés que sous la responsabilité d'un biologiste.

Dans les infections à adénovirus, norovirus et astrovirus, les TDR présentent l'intérêt d'une bonne spécificité mais, en raison d'une sensibilité plus faible, un test négatif ne peut éliminer le diagnostic.

**Tableau X: TDR Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, Astrovirus (liste non exhaustive) [42].**

| <b>Test</b>                        | <b>Fabricant/Distributeur</b> |
|------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Rotavirus + Adenovirus</b>      |                               |
| Adeno-Rota color                   | Servibio                      |
| Biorapid Rota/adeno                | Biokit                        |
| CerTtest Rota-Adeno duo antigen    | CerTest/Théradiag             |
| Combi-Strip Coris                  | Bioconcept                    |
| Combo Rota/Adeno                   | All.Diag                      |
| Easy RotaAdeno                     | Fumouze                       |
| Nadal Rota-Adenovirus              | Nal von Minden                |
| Rapid Rota-Adenovirus              | DiaMondial/Eurobio            |
| Rapids trip Rota/Adeno             | Meridian                      |
| RidaQuick Rotavirus/Adenovirus     | R-biopharm                    |
| Combi                              | Alere                         |
| SD bioline Rota/Adeno Ag rapid kit | bioMérieux                    |
| Vikia Rota-Adeno kit               |                               |
| <b>Norovirus</b>                   |                               |
| Actim Noro Medix                   | Biochemica/Fumouze            |
| CerTest Norovirus GI-GII           | CerTest/Theradiag             |
| Nadal Norovirus                    | Nal von Minden                |
| Norocolor                          | Servibio                      |
| Ridaquick Norovirus                | R-Biopharm                    |
| SD Bioline Norovirus Ag Test       | Alere                         |
| <b>Astrovirus</b>                  |                               |
| Adeno-Rota-Astrovirus Color        | Servibio                      |
| CerTest Astrovirus                 | CerTest/Theradiag             |
| Nadal Astrovirus                   | Nal von Minden                |

## 4. Application des TDR dans le diagnostic des arboviroses

Les arbovirus, contraction de l'expression anglo-saxonne « arthropod borne virus », sont des virus transmis à un hôte vertébré par un arthropode hématophage (moustique, tique, phlébotome ou culicoïdes). Ces virus se multiplient dans l'arthropode vecteur avant d'être transmis. Le virus est entretenu dans le milieu naturel grâce à un cycle entre le vecteur et l'hôte. La fièvre jaune fut associée à la piqûre de moustique en 1865 par Carlos Finlay et le virus causal fut découvert en 1901 par Walter Reed. Depuis, plus de 500 arbovirus ont été décrits, dont plus d'une cinquantaine sont pathogènes chez l'homme. Ils appartiennent à sept familles différentes dont quatre principales (**tableau XI**), elles-mêmes divisées en plusieurs genres, dont *Flavivirus* (fièvre jaune, dengue, virus du Nil occidentale, encéphalite japonaise), *Alphavirus* (chikungunya), *Bunyavirus* ou encore *Phlebovirus* (fièvre de la vallée du Rift) [53].

Les arboviroses sévissent majoritairement dans les zones tropicales infestées par les vecteurs, avec souvent un mode épidémique sur fond d'endémie ou après émergence. Les manifestations cliniques sont souvent asymptomatiques ou paucisymptomatiques, avec un syndrome fébrile aigu spontanément résolutif. Des formes d'évolution plus graves sont possibles, se caractérisant principalement par la survenue de fièvres hémorragiques, de méningo-encéphalites ou d'hépatites.

Le diagnostic biologique des arboviroses fait appel à la détection du virus ou de son génome, d'antigènes viraux ou d'anticorps, selon le stade précoce ou plus tardif de la maladie. L'isolement viral par culture cellulaire est trop long et trop laborieux pour un diagnostic d'urgence. Les techniques de biologie moléculaire se sont imposées comme l'outil de choix pour le diagnostic des arboviroses pendant la phase aiguë. Les techniques RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) conventionnelles sont de plus en plus remplacées par les RT-PCR temps réel, plus rapides et limitant le risque de contamination. Des trousseaux sont commercialisés pour les arbovirus les plus fréquents. Il en est de même sur le versant de la détection antigénique dans le cas de la dengue. Les tests sérologiques peuvent être utiles au diagnostic en phase tardive de l'infection. À ce jour, le diagnostic des arboviroses reste limité à des laboratoires spécialisés.

Les tests de détection rapide (TDR), qu'ils soient de types « immunochromatographiques » ou « immunofiltration », sont récemment apparus dans le champ du diagnostic des arboviroses. En raison de leur format, ils pourraient être utiles dans plusieurs contextes : diagnostic rapide d'une forme sévère hospitalisée ; diagnostic unitaire d'un cas importé dans une région non endémique ; accessibilité aux régions dépourvues de plateaux techniques de laboratoire [54].

Le traitement n'est que symptomatique et si l'évolution est le plus souvent favorable, elle est parfois fatale. La prévention repose sur la lutte antivectorielle et la protection contre les vecteurs. Un problème posé aux cliniciens est le diagnostic différentiel : grippe, leptospirose, syndrome rétroviral aigu, paludisme. Le diagnostic virologique est aussi nécessaire à la surveillance épidémiologique.

**Tableau XI: Principaux arboviroses humains [53].**

| <b>Famille</b>             | <b>Genre</b>   | <b>Espec</b>   |
|----------------------------|--|--|
| <b><i>Bunyaviridae</i></b> | <i>Bunyavirus</i><br><i>Nairovirus</i><br><i>Phlebovirus</i><br><br><i>Orthobunyavirus</i> | Bunyamwera (M), Bwamba (M) Guam (M), Tahina (M)<br>Fièvre hémorragique Crimée-Congo (T)<br>Fièvre de la Vallée du Rift (M et T)<br>Fièvre des trois jours (P)<br>Virus Toscana (P) Encéphalite de Californie (M)   |
| <b><i>Flaviridae</i></b>   | <i>Flavivirus</i>  | Encéphalite japonaise (M) et Saint-Louis (M)<br>Encéphalites à tiques européennes (T)<br>Dengue 1, 2,3, 4 (M) et Fièvre jaune (M)<br>Virus de la Fièvre de la forêt de Kyasanur (T)<br>Fièvre hémorragique d'Omsk (T)<br>Virus de l'encéphalite de la Murray valley (M)<br>Virus du Nil occidental (virus West Nile) (M)<br>Fièvre Zika (M), Virus Usutu (M) |
| <b><i>Togaviridae</i></b>  | <i>Alphavirus</i>  | Chikungunya (M) O'Nyong-Nyong (M)<br>Sindbis (M), Fièvre de Mayaro (M)<br>Encéphalites équines Est, Ouest, du Venezuela (M)<br>Virus de la fièvre de la Ross River (M)<br>Virus de la forêt de Barmah (M)<br>Virus de la forêt de Semliki (M)<br>La maladie de Pogosta (M)   |
| <b><i>Reoviridae</i></b>   | <i>Coltivirus</i><br><i>Orbivirus</i>  | Fièvre à tiques du Colorado (T)<br>Kemerovo (T), Lebongo (M), Orungo (M)   |

#### 4.1. TDR du diagnostic la dengue :

Le virus de la dengue (DENV) appartient à la famille des *Flaviviridae* et au genre *Flavivirus*. C'est un virus enveloppé de 50 nm de diamètre. Son génome est constitué par d'acide ribonucléique (ARN) monocaténaire d'environ 11 000 nucléotides, linéaire et de polarité positive. Le génome code une polyprotéine précurseur des protéines structurales de capsid (C), de membrane (M) et d'enveloppe (E) et non structurales. Associée à l'ARN génomique, la protéine C forme une nucléocapside icosaédrique. Cette dernière est entourée d'une bicouche phospholipidique dans laquelle sont ancrées les protéines M et E. Il existe 4 sérotypes distincts (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4). L'homologie protéique inter-sérotypique est de 60 à 80 %. Chaque sérotype comprend plusieurs sous-types ou génotypes.

Le terme « dengue primaire » désigne une première infection chez un hôte naïf par l'un des quatre sérotypes du DENV. Le terme de « dengue secondaire » est employé pour toute infection ultérieure du même organisme par un autre sérotype.

La dengue est la plus répandue des arboviroses humaines. Selon l'OMS, parmi les 2,5 milliards de personnes vivant dans les régions intertropicales, la dengue affecte cliniquement annuellement près de 100 millions de personnes [55] et est responsable selon l'OMS de 20 000 à 30 000 décès.

Le principal vecteur du DENV est l'*Aedes aegypti*. D'autres espèces, telles qu'*Aedes albopictus* (en phase d'expansion dans le sud de l'Europe), peuvent transmettre ce virus. La dengue est classée parmi les maladies émergentes en raison de l'accroissement ces vingt dernières années, de sa prévalence, sa morbidité et sa distribution géographique. Après avoir principalement sévi en Asie du Sud-est dans les années 1950, cette maladie s'est considérablement développée en Amérique du Sud et centrale, ainsi que dans la Caraïbe. La dengue touche aujourd'hui des régions à climat plus tempéré comme le sud des États-Unis et de l'Europe, ou encore l'Australie.

La majorité des infections sont asymptomatiques. Dans la forme commune, dite «fièvre dengue classique » (dengue fever, DF), les symptômes associent généralement une fièvre élevée d'apparition brutale (souvent supérieure à 39 °C) à des arthralgies et des myalgies. Des manifestations hémorragiques mineures, tel que pétéchies, gingivorragies et épistaxis, ne sont pas rares. L'évolution est le plus souvent favorable, avec un retour à l'apyrexie en moins d'une semaine. Parfois, l'infection revêt un caractère sévère avec mise en jeu du pronostic vital par syndrome de fuite plasmatique ; on parle alors de « dengue hémorragique avec ou sans syndrome de choc » (dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome, DHF/DSS).

Selon la théorie de facilitation immunitaire (*antibody-dependent enhancement [ADE]*), lors d'une première dengue, on acquiert des anticorps (Ac) neutralisant définitivement les virus du sérotype infectant, mais favorisant lors d'une infection secondaire l'entrée des virus des autres sérotypes dans les cellules cibles monocytes-macrophages, prédisposant ainsi à une maladie plus sévère [56]. La difficulté majeure pour l'obtention d'un vaccin contre la dengue est la nécessité d'une tétravalence. Un candidat vaccin a montré des résultats encourageants lors d'évaluations de phase 3 [57].

Un diagnostic biologique précoce, rapide et fiable, est essentiel pour la prise en charge des cas cliniques suspects de forme sévère de dengue. Le diagnostic virologique est également nécessaire à la surveillance épidémiologique et l'orientation de la lutte antivectorielle. La période d'incubation de 3 à 7 jours (14 jours maximum). La virémie débute 2 jours avant l'apparition des signes cliniques et se poursuit pendant 4 à 8 jours (**figure 5**). Ensuite, la réponse immunitaire de l'hôte diffère si l'on est en présence d'une dengue primaire ou d'une dengue secondaire. Lors d'une infection primaire, les IgM apparaissent environ 5 jours après le début de la fièvre (J5), puis elles augmentent rapidement avec un pic à J14, et elles diminuent progressivement pour disparaître en 2 à 3 mois. Les IgG apparaissent quelques jours après les IgM et persistent à des taux modérés. Au cours d'une infection secondaire, les IgG apparaissent précocement (J2) et leur taux augmente rapidement. Les IgM ont une cinétique proche de l'infection primaire, mais les taux sont plus modérés et elles disparaissent plus rapidement. Cependant, chez un tiers des patients, ces IgM ne sont pas détectées.

Les IgA sont détectables au cours d'une infection primaire 3 à 6 jours après le début de la maladie et décroissent plus rapidement que les IgM, disparaissant en 40 jours. Les méthodes de diagnostic doivent prendre en compte le délai entre le prélèvement et l'apparition des signes cliniques. Pendant la phase précoce de la maladie (prélèvement  $\leq$  J5), les techniques de diagnostic direct de l'infection virale sont à privilégier. La détection du génome viral par RT-PCR est une méthode sensible et spécifique, qui permet l'identification du sérotype. La détection spécifique de l'antigène NS1 (Ag NS1) a ouvert une nouvelle voie dans le diagnostic précoce de la dengue.

L'Ag NS1 est une glycoprotéine virale de 46 à 50kDa, hautement conservée avec un haut degré de réactivité croisée entre les quatre sérotypes. Elle est membranaire ou est sécrétée de la cellule infectée. Elle est détectable dans le sérum des patients à la phase précoce. Si le prélèvement a lieu plus tardivement ( $\geq$  J5), les techniques de diagnostic indirect peuvent être utilisées.

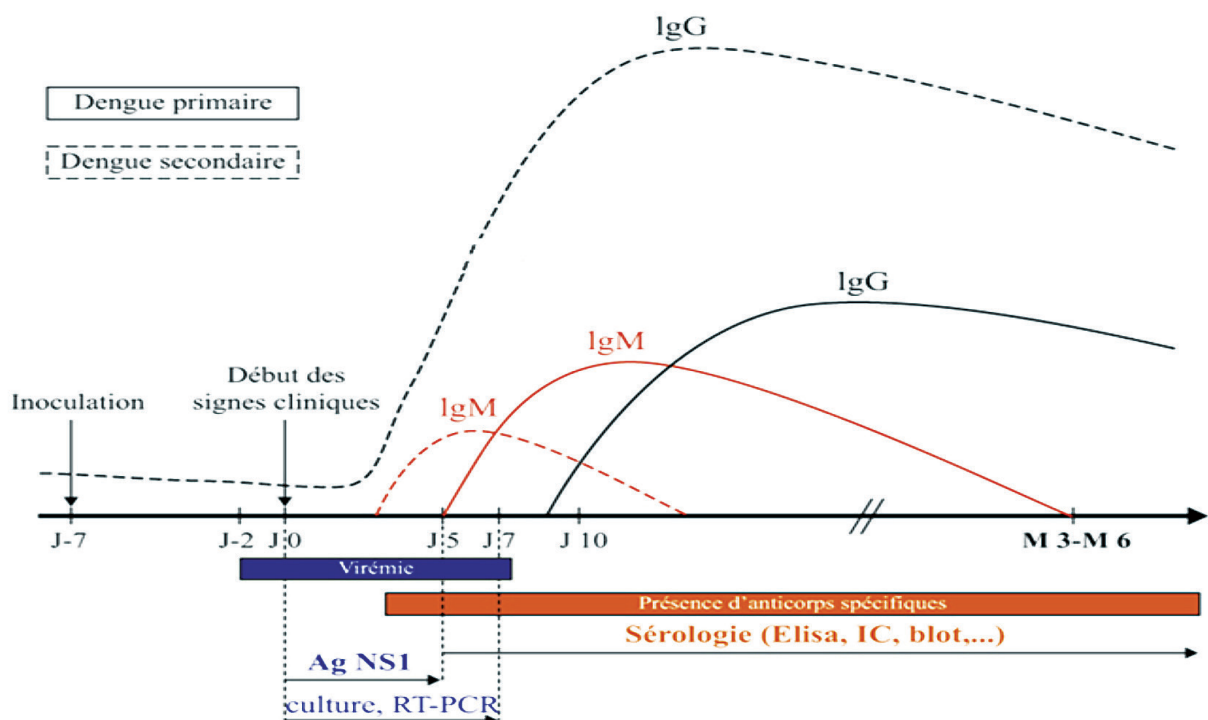


Figure 5: cinétique des marqueurs biologiques au cours d'une infection par le DENV [54].

De nombreux kits de diagnostic rapide utilisant l'immunochromatographie ont été commercialisés sous forme de bandelettes ou cassette pour permettre la détection des IgG, des IgM et IgA spécifiques de la dengue et de l'antigénémie NS1 à partir de sang total, de sérum ou de plasma. Les TDR dengue utilisent un mélange d'antigènes viraux ou d'anticorps monoclonaux marqués à l'or colloïdal (spécifique pour l'antigène NS1 ou les anticorps IgG,

IgM et IgA) présents à l'extrémité d'une membrane de nitrocellulose ; celle-ci est imprégnée avec des anticorps anti-NS1, ou anti-IG humaines de capture. Ainsi, la détection rapide d'antigènes ou d'anticorps par immunochromatographie sur cassette consiste à déposer l'échantillon à tester à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support plastique ou carton. Si l'antigène ou l'anticorps recherché est présent, il se lie avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal. Sous l'effet d'un tampon de lyse et de migration, les complexes antigènes-anticorps 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. L'excès de complexe conjugué continue à migrer et est immobilisé par un anticorps (anti-lapin ou anti-souris), l'accumulation des complexes colorés entraîne l'apparition d'une ligne colorée, cette seconde ligne ou ligne de contrôle valide le bon fonctionnement de la réaction. En cas de réaction négative, seule la ligne contrôle est colorée. L'apparition des bandes est rapide : en 15 à

20 min. Le principe de la détection rapide d'anticorps par immunochromatographie sur bandelette est identique.

#### • TDR dengue antigène NS1

En 2006, un premier test ELISA basé sur la détection de l'antigène NS1 (AgNS1) par immunocapture a été commercialisé. L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-NS1 a permis d'améliorer la spécificité en diminuant les réactions croisées entre les différents *flavivirus*. Les principaux fabricants Panbio, Bio-Rad et Standard Diagnostic ont récemment développé des TDR immunochromatographiques qui ont chacun leur équivalent ELISA. Plusieurs études ont évalué la sensibilité et la spécificité des tests rapides NS1 (**tableau XII**), dont la plupart concernent la bandelette Bio-Rad (Biorad Strip).

La synthèse montre une variation considérable en termes de sensibilité (49,8 % à 98,7 %), les spécificités rapportées étant plus constantes et toutes supérieures à 90 %. Les performances des TDR NS1 restent inférieures à celles des tests immunoenzymatiques NS1. La sensibilité est meilleure dans les échantillons collectés dans les 3 jours après le début des signes cliniques.

La présence d'IgG dans l'échantillon, une faible virémie et une infection secondaire sont des facteurs majeurs associés à une sensibilité réduite de l'antigénémie NS1. La sensibilité serait réduite dans l'infection secondaire par formation de complexe entre des anticorps

anti-NS1 résultant d'une précédente infection. Cet inconvénient a conduit le Haut Conseil de la Santé Publique de France à recommander pour les zones d'endémie avec une forte probabilité de survenue d'infections secondaires et en période épidémique le recours au diagnostic direct par RT-PCR lorsque celui-ci est possible.

En France, la Haute Autorité de Santé (HAS) considère que la détection de l'Ag NS1, par technique immunoenzymatique ou immunochromatographique, est indiquée dans le diagnostic de la dengue, de J1 à J5 après l'apparition des signes cliniques. Un résultat positif permet ainsi de poser un diagnostic plus précoce qu'avec la sérologie et une meilleure prise en charge médicale. Cependant, un résultat négatif doit donc conduire à la poursuite du diagnostic par l'utilisation des techniques de biologie moléculaire, car le risque de «faux négatifs» n'est pas négligeable.

#### • TDR dengue IgM/IgG

Les limites des tests sérologiques ELISA de la dengue sont leur incapacité à identifier le sérotype, les réactions croisées potentielles avec d'autres *flavivirus* et de fausses positivité des IgM (contexte inflammatoire, présence de facteurs rhumatoïdes ou d'autres auto-anticorps).

En outre, les IgM persistent plus de 60 jours et les IgG plusieurs années, la sérologie ne fournit qu'un résultat présomptif de l'infection par le virus de la dengue : pour confirmer une infection aigüe par le virus de la dengue, une séroconversion des IgM ou une augmentation significative du titre des IgG sur des sérums appariés doit être montrée, ce qui est peu réalisé en pratique. Les examens sérologiques constituent cependant des tests utiles en conjonction avec les symptômes cliniques, l'histoire médicale et le contexte épidémique.

Des techniques ELISA sont utilisées en recherche clinique pour différencier les dengues primaires et secondaires, que ce soit en fonction du rapport IgM/IgG, de l'avidité des IgG ou grâce aux kits ELISA capture qui ne détectent qu'un taux élevé d'IgG correspondant à des infections secondaires selon certaines études.

Une étude prospective a évalué 8 tests de diagnostic rapides commerciaux détectant les IgM et IgG sur des échantillons prélevés à l'admission (en moyenne 5 jours après le début des signes) et en phase de convalescence. Le diagnostic d'infection aiguë est établi à la fois sur des résultats de RT-PCR et sérologie ELISA capture ; les résultats montrent une sensibilité faible des différents kits allant de 60,4 % à 65,3 % en tenant compte de l'ensemble des sérums précoces et tardifs : un seul de ces kits donnait une sensibilité supérieure à 50 % avec une spécificité acceptable (Panbio Dengue Duo Rapid Test Strip). Ceci a confirmé le caractère inapproprié de la plupart de ces tests pour le diagnostic d'une infection aiguë par le virus de la dengue. Avec la trousse Panbio (Dengue Duo Cassette kit), la sensibilité est supérieure à

80 % sur des sérums recueillis plus de 5 jours après le début des signes.

La littérature a rapporté de fausses positivités en lien avec des infections à leptospires et à d'autres flavivirus. Une évaluation des TDR et des tests ELISA capture sur la performance de détection des IgM a montré un manque de spécificité particulièrement pour les échantillons de patients atteints d'autres infections, en particulier le paludisme. Aucun des tests ICT ne montre une performance acceptable [54].

#### • TDR dengue IgA

La décroissance plus rapide du titre d'IgA dengue fait que ce marqueur pourrait représenter un intérêt dans les pays où plusieurs sérotypes co-circulent: une valeur prédictive négative élevée est démontrée entre J6 et J25. Cependant la négativité de ce paramètre ne peut écarter le diagnostic d'infection par le virus de la dengue et son utilisation est surtout envisagée en association d'autres tests (IgM ou antigénémie NS1). L'interprétation conjointe pourrait améliorer la sensibilité globale du diagnostic d'infection lors de la phase aiguë de la maladie avec un seul échantillon de sérum ; cependant, des réactions sérologiques croisées avec

d'autres *flavivirus* responsables d'arboviroses sont observées en particulier vis-à-vis du virus de l'encéphalite japonaise.

Le test commercial immunochromatographique (Assure dengue IgA rapid test) a été évalué sur des échantillons positifs caractérisés par RT-PCR : la sensibilité était de 33 % pour les sérums collectés le jour d'apparition de la fièvre (J0) et 82,1 % pour ceux prélevés 5 jours après (J5), contre 25 % à J0 et 96,4 % à J5 pour les IgM (Panbio IgM Elisa). Les IgA apparaissent davantage détectables que les IgM sur les sérums prélevés entre J0 et J3 [58].

#### • TDR dengue combiné AgNS1-IgM/IgG

Si aucun test détectant l'Ag NS1 seul ou les IgG/IgM seuls ne possèdent une sensibilité suffisante pour affirmer ou infirmer à lui seul le diagnostic de la dengue, leur combinaison permettrait en théorie d'apporter une réponse dans la majorité des cas. L'adjonction des IgM et IgG a pour objectif d'augmenter la fenêtre diagnostique par une meilleure sensibilité à la phase tardive de la virémie. Un TDR immunochromatographique (One Step Dengue NS1 Ag and IgG/IgM Test, SD Bioline) détecte simultanément l'antigène NS1 (premier test) et les anticorps spécifiques IgM et IgG sur sérum (second test), dans le sérum, le plasma ou le sang total [54].

Le kit AgNS1-IgM/IgG SD Bioline a été évalué dans différentes zones géographiques et contextes épidémiologiques. Une étude prospective au Cambodge [59] rapporte des sensibilités, spécificités, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de 94, 90, 97 et 77 % avec le TDR combiné SD Bioline *versus* 45, 97, 98 et 30 % pour l'antigénémie NS1 SD Bioline seule. La combinaison des deux tests augmente la sensibilité et la valeur prédictive négative [54].

Tableau XII: Se, Sp, VPP et VPN du kit AgNS1-IgM/IgG et du kit AgNS1 [54].

|                                     | TDR AgNS1-IgM/IgG | Antigénémie NS1 |
|-------------------------------------|-------------------|-----------------|
| <b>Sensibilité %</b>                | 94                | 45              |
| <b>Spécificité %</b>                | 90                | 97              |
| <b>Valeur prédictive positive %</b> | 97                | 98              |
| <b>valeur prédictive négative %</b> | 77                | 30              |

L'approche « combinée » a été étudiée également en comparant les performances du TDR AgNS1 Panbio seul et en association avec le TDR IgG/IgM Panbio [60]. Une augmentation de la sensibilité de 62 % à 93 % est obtenue ; toutefois, une spécificité réduite est observée, avec une majorité de fausses positivités provenant du test IgM/IgG.

#### 4.2. TDR du diagnostic de Chikungunya

Le virus chikungunya (CHIKV) appartient à la famille des *Togaviridae* genre *Alphavirus*. Ce sont des virus enveloppés d'environ 60 à 70 nm de diamètre à nucléocapside icosaédrique. Leur génome se compose d'un simple brin d'ARN de polarité positive d'une longueur moyenne de 11 800 bases. Il code une polyprotéine précurseur des protéines structurales de capsid (C) et d'enveloppe (E1 et E2) et une polyprotéine précurseur des protéines non structurales (nsP1, nsP2, nsP3 et nsP4). Des études phylogénétiques ont mis en évidence trois clusters de virus distincts ou génotypes. Le premier regroupe des souches virales originaires d'Afrique de l'Ouest, le second se compose de souches originaires d'Asie, le troisième regroupe des souches d'Afrique centrale, de l'Est et du Sud [61].

Depuis la première épidémie de chikungunya décrite en 1952 en Tanzanie, l'aire de distribution du chikungunya a été à l'origine de poussées épidémiques en Afrique subsaharienne

et en Asie. Les principaux vecteurs du chikungunya sont *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. En 2005, le chikungunya a atteint les Comores, puis la Réunion et Mayotte. Il s'agissait de souches du génotype d'Afrique centrale, de l'Est et du Sud, vraisemblablement importées par des voyageurs en provenance de l'Afrique de l'Est. Elles ont acquis, au cours de l'épidémie réunionnaise, une mutation dans la protéine d'enveloppe E1 (A226V) augmentant la capacité vectorielle d'*Aedes Albopictus* vis-à-vis du virus et donc son potentiel épidémique. L'épidémie de forte ampleur a sévi jusqu'en avril 2007, touchant près de 40 % de la population. Quelques cas importés ont alors été rapportés aux Antilles françaises et en Guyane, mais sans transmission autochtone.

Le chikungunya a émergé dans le Nouveau Monde au dernier trimestre 2013. Des cas groupés de syndromes fébriles avec arthralgies observés à Saint-Martin ont été l'objet d'investigations par la Cellule interrégionale d'épidémiologie (CIRE) Antilles Guyane [62]. Le diagnostic a été confirmé par RT-PCR pour deux cas, 4 autres cas étant classés probable par la présence d'IgM spécifiques [54].

Le Centre national de référence (CNR) des arbovirus en France a montré que la souche virale appartenait au génotype asiatique et était lié à des souches ayant circulé en Indonésie, en Chine et aux Philippines [62]. Le virus s'est propagé aux Antilles françaises puis à l'ensemble de la Caraïbe, la Guyane et les pays voisins d'Amérique centrale et du Sud. Elle s'est terminée fin 2014/début 2015 en Guadeloupe et Martinique, où ils sont enregistrés pour les deux îles près de 150 000 cas cliniquement évocateurs, 70 décès à l'hôpital et 88 certificats de décès en ville. La vulnérabilité de l'Europe vis-à-vis du chikungunya comme de la dengue a été démontrée : une épidémie de chikungunya de 197 cas a été observée en Italie en 2007 et deux cas autochtones ont été recensés en France en 2010 et quatre cas suite à l'émergence aux Antilles et un cluster de 11 cas autochtones dans la ville de Montpellier à l'automne 2014.

Le terme chikungunya provient de la langue Makondé et signifie « marche courbé en avant ». La plupart des cas de chikungunya sont symptomatiques. Précédée par une incubation silencieuse de 4 à 7 jours, la phase aiguë de la maladie se caractérise par une fièvre élevée d'apparition brutale et des poly-arthralgies plus ou moins sévères et invalidantes principale-

ment aux extrémités (chevilles, poignets, phalanges). D'autres signes cliniques sont fréquemment rencontrés : céphalées, myalgies et douleurs lombaires. Sur le plan cutané, on peut observer un exanthème maculopapuleux prédominant sur le thorax qui peut s'accompagner d'un prurit cutané, d'un œdème facial, ou encore chez les enfants d'un rash bulleux avec desquamation intense. La maladie est spontanément résolutive en 7 à 10 jours sauf pour les arthralgies qui peuvent persister plusieurs semaines, mois ou années.

Des complications neurologiques de type méningo-encéphalite, encéphalite et méningite ont été décrites dans la littérature et des infections néonatales sévères ont été observées suite à une transmission du virus proche du terme ou au moment de l'accouchement.

Le diagnostic direct est applicable entre le 1er et le 7e jour de la maladie : la détection de l'ARN viral peut être faite par RT-PCR conventionnelle ou en temps réel. Les IgM apparaissent à partir du 4e jour et les IgG sont détectables à partir du 15e jour. Le diagnostic sérologique est réalisable par des techniques ELISA permettant la détection d'anticorps de type IgM et IgG, mais il n'existe à ce jour que peu de tests commerciaux. La sérologie revêt une importance particulière pour le chikungunya dans le cadre du diagnostic différentiel des arthralgies chroniques post-épidémie [54].

- TDR disponible :

Quatre tests sérologiques, marqués CE, ont été évalués à l'aide de panels de sérums caractérisés par des centres de référence des arboviroses avec une technique MAC ELISA maison et par séroneutralisation. Parmi ces tests, deux étaient des TDR détectant les IgM :

SD Bioline chikungunya IgM (Standard Diagnostics Inc.) et OnSite chikungunya IgM Combo Rapid Test (CTK Biotech Inc.).

Le test SD Bioline RDT a montré une faible sensibilité de 30 % et une spécificité de 73 %. Le kit CTK a montré une sensibilité de 20 % et une spécificité de 93 %. Les deux tests ELISA qui ont été testés avaient une meilleure sensibilité et spécificité que les tests de diagnostic rapide, mais insuffisantes comparés aux tests ELISA du CNR des Arbovirus. Bien que cette étude pilote n'ait porté que sur un petit nombre d'échantillons, les résultats montrent l'importance de l'évaluation des trousseaux de diagnostic commerciaux avant leur utilisation clinique [63].

Deux autres études d'évaluation confirment ces résultats médiocres à partir d'un nombre plus important d'échantillons: en Indonésie, une étude montre une sensibilité de 20,5 % et de 50,8 % respectivement avec les trousse IgM CTK Biotech et SD Bioline sur la souche asiatique [64].

La sensibilité augmente avec délai entre prélèvement et début des signes cliniques dans les échantillons recueillis les 3 premières semaines. En Thaïlande, une sensibilité de 37 % est rapportée avec la trousse IgM SD Bioline.

Enfin, la performance des trousse serait aussi fonction des souches utilisées pour la confection du kit et les variants chikungunya impliqués. Une étude suggère une baisse de la sensibilité de l'IgM CTK Biotech avec l'apparition de la mutation A226V [54].

### **4.3. TDR du diagnostic de West Nile Virus**

Le virus West Nile (WNV) ou virus du Nil occidental a été isolé en 1937 dans la province West Nile de l'Ouganda. Il appartient à la famille des *Flaviviridae* genre *Flavivirus*. Il fait partie d'un complexe de virus comprenant principalement les virus de l'encéphalite japonaise, de l'encéphalite de Saint-Louis, de l'encéphalite de Murray Valley. Sa structure et son organisation génomique sont proches de celle des autres *Flavivirus* dont celui de la dengue [65].

Le cycle naturel du WNV fait intervenir des moustiques ornithophiles du genre *Culex* et des oiseaux. Les mammifères (bétail, chevaux, homme) sont des hôtes accidentels et des impasses épidémiologiques. Le WNV était principalement connu en santé animale, causant des épizooties équine. Les premières épidémies ont été observées au Proche-Orient dans les années 1950. Le WNV a ensuite diffusé dans le pourtour méditerranéen et en Europe centrale. Au début des années 1960, le WNV a été détecté dans le sud-est de la France, avec une épizootie chez les chevaux de Camargue et le recensement de quelques cas humains d'encéphalite. En 1999, le WNV a émergé dans le Nouveau Monde. Un cluster de cas de méningo-encéphalites a été identifié à New York, parallèlement à une atteinte d'élevages de chevaux et à une hécatombe parmi les corvidés. Le WNV a diffusé d'Est en Ouest, pour de venir endémique dans la quasi-totalité des États-Unis (à l'exception de l'Alaska, d'Hawaii) et au Canada. L'épidémie nord-américaine a permis de mettre en évidence la transmission par

transfusion sanguine, greffe d'organe et verticale par passage transplacentaire voire allaitement. Du nord vers le sud, le WNV a dans le même temps atteint l'Amérique centrale et du Sud et plusieurs îles de la Caraïbe. Le WNV est aujourd'hui présent sur 6 continents.

La plupart des infections à WNV sont inapparentes. Seuls 20 % des personnes infectées développent des symptômes, après 2 à 14 jours d'incubation. Il s'agit généralement d'un syndrome fébrile aigu pseudo-grippal. Les atteintes viscérales sont très rares : myocardite, pancréatite, hépatite fulminante, rhabdomyolyse, orchite, chorioretinite, uvéite. Les principales complications sont neurologiques, à type de méningite, encéphalite ou paralysies flasques, mais se rencontrent chez moins de 1 % des sujets infectés.

Le diagnostic doit être évoqué devant un syndrome fébrile aigu ou une atteinte neurologique associé à un séjour en région enzootique. Le diagnostic direct repose sur la détection du génome viral par RT-PCR. L'intérêt en est limité par le fait que la virémie n'est détectable que dans les premiers jours de la maladie et rarement au stade où apparaissent les signes neurologiques. Dans le LCR, le génome viral n'est détecté que dans un peu plus de la moitié des cas de méningo-encéphalite aiguë à WNV sérologiquement confirmés. Les tests sérologiques permettent la détection d'anticorps spécifiques du WNV dans le sérum ou le LCR. Le critère le plus probant est la séroconversion ou l'augmentation d'un facteur 4 du titre d'anticorps entre des échantillons sériques obtenus dans les premiers jours de la maladie et trois semaines plus tard.

La détection d'IgM anti-WNV suggère une infection récente. La recherche des IgM dans le LCR est indiquée en cas de suspicion de méningo-encéphalite à WNV. La principale limite de la sérologie est l'existence de réactions croisées avec des *Flavivirus* appartenant au même complexe antigénique mais aussi avec les virus de la dengue [54].

- TDR West Nile disponible

La FDA a récemment approuvé un test de diagnostic rapide pour le diagnostic de l'infection à WNV [66]: des anticorps anti-WNV éventuellement présents dans le sérum du patient forment un complexe tertiaire avec des IgM antihumaines biotinylées, la protéine d'enveloppe E, et un anticorps anti E qui est couplé à des particules d'or colloïdal ; ce complexe est ensuite immobilisé par la streptavidine contenue dans la bandelette de nitrocellulose et forme une ligne colorée.

Ce test montre des performances équivalentes en termes de sensibilité aux dispositifs ELISA couramment utilisés (IgM WNV CDC et Focus technologies West Nile virus IgM capture) et une concordance de 100 % avec les résultats de neutralisation par réduction des plages de lyse [34]. Dans cette étude, aucune réaction croisée n'est observée avec le virus de l'encéphalite japonaise, l'encéphalite de Saint-Louis, l'encéphalite équine de l'Est, tandis que

10 % de faux positifs sont obtenus par rapport au virus de la dengue. Les auteurs mentionnent que ce test rapide serait utilisable sur LCR, mais ne montrent pas les données [54].

Les TDR constituent un nouvel outil pour le diagnostic étiologique des syndromes fébriles aigus. Ils sont par leur format rapide et unitaire adaptés aux situations d'urgence. Ils ne nécessitent pas de personnels spécialisés ni d'équipements de laboratoire et sont accessibles aux pays en développement particulièrement touchés par les arboviroses. Ils pourraient aussi contribuer à une rapidité d'alerte pour les arboviroses à potentiel épidémique. Cependant, des limites en termes de sensibilité et spécificité ont été étayées par de nombreuses études, en particulier concernant la dengue pour laquelle des TDR existent depuis quelques années. L'intérêt de la sérologie est limité par les réactions croisées en particulier sur les IgM, mais aussi pour la dengue par la persistance des IgG issus d'une infection antérieure. Les TDR antigéniques aujourd'hui disponibles pour la dengue paraissent plus pertinents. Leur spécificité et valeur prédictive positive sont excellentes. En revanche, en raison d'une sensibilité médiocre leur négativité ne permet pas d'exclure le diagnostic. Un TDR AgNS1 négatif doit donc conduire à la poursuite du diagnostic par l'utilisation des techniques de biologie moléculaire. Les performances sont à appréhender en fonction de la situation épidémiologique, suivant que l'on se situe en zone endémique, phase épidémique ou face à des cas sporadiques.



# *Applications en bactériologie*

## **V. APPLICATIONS EN BACTERIOLOGIE :**

### **1. Principe et méthodes**

#### **1.1. Techniques biochimiques**

Les techniques biochimiques, basées sur la mise en évidence d'une activité enzymatique bactérienne, ont permis le développement de tests chromogènes. Les milieux de culture chromogènes, développés dès 1989, se multiplient et permettent une identification simplifiée et rapide, de pathogènes de plus en plus nombreux (Gamme ChromID® de Biomérieux, Brillance® chez Oxoid, Select® chez Biorad. . .) [67].

Ce principe est aussi exploité pour la mise en évidence précoce de mécanismes de résistance aux bêta-lactamines. En effet, la sécrétion de bêta-lactamase par une souche bactérienne peut être mise en évidence par virage coloré d'une bêta-lactamine chromogène hydrolysée. Ainsi les disques de nitrocéfine (pénicilline chromogène) sont couramment utilisés pour identifier une résistance à la pénicilline lors de l'isolement de souches d'*Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*. Plus récemment, ce principe a été étendu à l'identification de résistance aux céphalosporines de troisième génération [68] et aux carbapénèmes [69]. Leur application directe sur les prélèvements (urines à examen direct positif, hémocultures positives à bacilles à Gram négatif) est en cours d'évaluation. Celle-ci permettrait d'identifier précocement les syndromes infectieux dus à des germes résistants, ce qui favoriserait une adaptation précoce de l'antibiothérapie probabiliste avec, d'une part, un gain de chance pour le patient (élargissement du spectre en présence de résistance) et, d'autre part, un moindre impact écologique (réduction du spectre en absence de résistance).

#### **1.2. Techniques immunologiques**

Les tests immunologiques, basés sur la mise en évidence d'une réaction antigène anticorps, par agglutination de particules de latex sensibilisées, révélation enzymatique ou marquage à l'or colloïdal, ont une place privilégiée en infectiologie. En particulier, les tests immunochromatographiques permettant la détection d'antigènes bactériens après migration d'un échantillon sur membrane de nitrocellulose sont en plein essor grâce à leur simplicité de réalisation et à leurs performances analytiques en constante amélioration. Ne nécessitant aucun équipement spécial ni conditions de stockage rigoureuses, ils sont aussi particulièrement adaptés aux situations d'urgence et de précarité dans les pays en voie de développement.

Les tests de diagnostic rapide (TDR) de l'angine à streptocoque A sont les plus connus de cette catégorie. Leur classement selon leur sensibilité (variant de 60 à 100 %) et leur praticabilité a été établi en 2002 et depuis 2005 en France, le Streptatest® (Société Dectra Pharm) est mis gratuitement à disposition des médecins généralistes, pédiatres et ORL par la Caisse nationale d'assurance maladie. Au centre de la stratégie de prise en charge des angines aiguës, il permet de limiter la prescription d'antibiotiques aux seules angines à TDR positif et de préserver ainsi l'efficacité des antibiotiques. Il a en effet été montré que son utilisation pouvait permettre de réduire la consommation d'antibiotiques de près de 50 % en cas d'angine [67].

De nombreux tests immunoenzymatiques ou immuno-chromatographiques ont aussi été développés pour le diagnostic direct à partir des selles des agents infectieux responsables de diarrhées (*Clostridium difficile* (*C. difficile*) toxigène, *Campylobacter* [70], *Escherichia coli* entérohémorragique). En fonction des caractéristiques de ces tests (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et coût) et de la population concernée (prévalence de l'agent infectieux, terrain, urgence du diagnostic), il revient au biologiste de les intégrer dans une stratégie diagnostique globale.

Pour le diagnostic des infections respiratoires, des tests permettant la détection des antigènes solubles de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) et de *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) dans les urines, donc à distance du foyer infectieux, sont disponibles depuis quelques années. Ce nouveau moyen diagnostique, plus rapide, plus sensible et plus facile à réaliser que la culture sur géloses spécifiques, a permis d'améliorer considérablement l'identification des cas de légionellose en France et de renforcer la surveillance de cette maladie à déclaration obligatoire. Cependant, seul l'antigène de *L. pneumophila* du sérotype 1 est détecté par cette technique et un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic pour les autres sérotypes. Aussi chez un patient pour lequel la recherche d'antigènes solubles dans les urines est négative alors que les signes cliniques orientent vers une légionellose, il est recommandé de réaliser en complément une culture et/ou une PCR à la recherche de *L. pneumophila* sur un prélèvement pulmonaire [71].

Plus récemment, sont apparus sur le marché des tests immunochromatographiques à réaliser directement sur colonie, pour assurer une identification bactérienne (ex. : AgMPT64 de *Mycobacterium tuberculosis complex* [72]) ou pour détecter un mécanisme de résistance (ex. : détection de la PLP2a conférant la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* [73]).

### **1.3. Biologie moléculaire**

L'introduction de la biologie moléculaire dans les laboratoires de bactériologie a elle aussi permis des progrès considérables dans la réduction des délais diagnostiques.

La PCR en temps réel, au cours de laquelle l'ADN cible est détecté au fur et à mesure de son amplification par hybridation à une sonde fluorescente, ne requiert aucune manipulation post-amplification, ce qui présente l'avantage de réduire les risques de contamination. La manipulation technique ne nécessite en effet que quelques minutes, grâce à l'utilisation de cartouches à usage unique, où se font toutes les étapes de la réaction (préparation de l'échantillon, extraction de l'ADN, amplification, détection) ainsi que les contrôles internes. La saisie des données est réalisée par la lecture du code-barres de chaque cartouche et peut être reliée au système informatique du laboratoire. L'interprétation des résultats est assurée par le logiciel de l'automate. Ne nécessitant aucune compétence particulière en biologie moléculaire, ce système peut être utilisé en biologie délocalisée [74].

Les contextes pouvant bénéficier d'un diagnostic par PCR sont variés : situations d'urgence (colite à *C. difficile*, dépistage d'un portage de streptocoque B au cours de l'accouchement, identification précoce de *S. aureus* dans un flacon d'hémoculture positif), identification précoce de germes à croissance lente (mycobactéries), diagnostic d'une infection à germe non cultivable sur gélose (bactéries intracellulaires : *Mycoplasma pneumoniae*, Chlamydiae) ou d'une infection décapitée. Pour l'hygiène hospitalière, l'identification précoce par PCR d'un portage de bactéries multirésistantes favorisera une prévention efficace de la transmission croisée par la mise en place immédiate de mesures adaptées (*S. aureus* résistant à la méticilline, *C. difficile*, entérocoques résistant à la vancomycine ERV).

Dans le cadre de la lutte contre la diffusion des ERV, ces mesures sont particulièrement coûteuses pour l'hôpital puisqu'il est recommandé lorsqu'un patient est détecté porteur d'ERV de faire un dépistage chez tous les patients pris en charge par la même équipe de soin (patients dits « contacts ») et d'arrêter les transferts et admissions dans le service le temps de cette enquête. La PCR, en permettant de réduire les délais de ce dépistage (résultat obtenu en une à deux heures au lieu de 48 heures), permet de minimiser l'impact de ces mesures sur l'activité du service et la perte de recettes pour l'hôpital.

En plus de la PCR en temps réel, la PCR hybridation, où l'amplification des gènes cibles est révélée par hybridation à des sondes spécifiques sur bandelette avec réaction colorimétrique, apporte un gain de temps considérable pour certains diagnostics, en particulier pour l'identification des mycobactéries et de certaines de leurs résistances [75].

#### **1.4. Spectrométrie de masse**

Enfin, la spectrométrie de masse de type MALDI TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight), mise au point depuis le début des années 2000, est à l'origine d'une véritable révolution dans les laboratoires de microbiologie. Simple et peu coûteuse (hors achat de l'appareil), elle permet d'identifier un microorganisme en quelques minutes seulement grâce à l'obtention d'un spectre de ses protéines ribosomales et de membrane en fonction de leur poids et comparaison de ce spectre à une base de données. Les résultats obtenus à partir de colonies isolées sur milieux gélosés s'avèrent plus précis et plus fiables que ceux des techniques traditionnelles pour la plupart des espèces. Le gain de temps réalisé est encore plus évident pour les espèces à croissance fastidieuse ou d'identification difficile avec un moindre recours à la biologie moléculaire. Cependant, des progrès doivent encore être faits pour certains types de microorganismes (anaérobies, mycobactéries).

L'utilisation de la spectrométrie de masse directement à partir des prélèvements (hémocultures, urines) permettrait de réduire encore davantage les délais diagnostiques. Cependant, celle-ci nécessite un traitement préalable des échantillons et les protocoles actuels paraissent difficilement applicables en routine [76].

Dans une optique similaire, l'identification anticipée d'un mécanisme de résistance permettrait l'adaptation précoce d'une antibiothérapie probabiliste. Des recherches sont effectuées en ce sens, en particulier par la mise en évidence d'une activité enzymatique. Ainsi, la présence d'une bêta-lactamase pourrait être détectée en introduisant une bêta lactamine dans la culture étudiée et en suivant les variations apparaissant sur le spectre protéique, suite à l'hydrolyse de l'antibiotique et à l'apparition de ses produits de dégradation [67].

## **2. Applications des TDR aux pathologies à pneumocoque**

### **2.1. Généralités sur le *Streptococcus pneumoniae***

Le pneumocoque appartient au genre *Streptococcus*. Il s'agit d'un cocci à gram positif, anaérobie aérotoleérant, capsulé et le plus souvent groupé en diplocoques d'aspect lancéolé en « flamme de bougie » ou en courtes chaînettes à l'examen direct de prélèvements.

Il possède de nombreux facteurs de virulence avec notamment la capsule (qui s'oppose à la phagocytose), la pneumolysine (puissante toxine), la CbpA (choline binding protein), l'autolysine (responsable de l'aspect ombiliqué de la colonie), l'adhésine, et les neuraminidases.

Le pneumocoque est strictement humain. Commensal des voies aériennes supérieures, son réservoir est le rhinopharynx. Le taux de colonisation est maximal chez l'enfant, avec 50 % des enfants de moins de 2 ans colonisés, puis diminue pour atteindre 10 % chez l'adolescent puis 2 % chez l'adulte. La transmission est interhumaine par voie aérienne (gouttelettes de Pflügge). Les infections à pneumocoque sont essentiellement communautaires et sporadiques avec une recrudescence hivernale [77].

Les facteurs favorisant l'infection sont les âges extrêmes de la vie (après 65 ans et avant 2 ans et la prématurité). Les brèches méningées, les méningites récidivantes, les valvulopathies, les cardiopathies congénitales cyanogènes, les traumatismes crâniens, les implants cochléaires, la drépanocytose, les asplénies, les corticostéroïdes et les déficits immunitaires sont les facteurs de risque médicaux retrouvés lors des méningites. D'autres terrains peuvent favoriser les infections invasives à pneumocoque comme le syndrome néphrotique, l'insuffisance cardiaque, les néoplasies évolutives, l'insuffisance respiratoire chronique, le diabète, l'éthylisme chronique, un antécédent d'infection pulmonaire ou invasive à pneumocoque.

Les infections invasives à pneumocoque constituent un problème important de santé publique. Il occupe actuellement la première place dans les infections bactériennes invasives de l'enfant âgé de 3 mois à 2 ans [78]

Parmi les formes graves figurent la pneumonie, la méningite (le pneumocoque étant la première cause bactérienne de méningite) et la bactériémie fébrile. L'otite moyenne aiguë, la sinusite et la bronchite sont des formes plus courantes, pouvant se compliquer.

## **2.2. Intérêts du TDR des pneumocoques**

Le test **BinaxNOW®** présente une spécificité élevée, supérieure à 90 % (98,8 % dans l'étude de Lartigolle). Contrairement aux enfants, le portage chez l'adulte n'engendrerait pas de faux positifs. Des réactions croisées ont été observées avec *Streptococcus mitis* (*S. mitis*). Ce résultat était attendu car ce streptocoque possède également l'antigène contre lequel le test est dirigé. Néanmoins, les manifestations cliniques des infections à *S. mitis* étant différentes (endocardite), le TDR pneumocoque n'est pas indiqué dans cette pathologie [79].

La culture du pneumocoque est relativement lente, en regard de la flore de colonisation des prélèvements respiratoires ou d'autres germes pathogènes pouvant être impliqués dans une pneumopathie. Ainsi, les colonies d'intérêt peuvent être masquées lorsque le prélèvement est de mauvaise qualité ou lorsqu'un autre pathogène est associé. À titre d'exemple, dans l'étude réalisée par *Lartigolle*, l'antigénurie pneumococcique a permis de mettre en évidence une co-infection bactérienne : l'examen cytotactériologique des crachats avait isolé *Pseudomonas aeruginosa* en quantité importante et l'antigénurie pneumococcique était positive.

La sensibilité du test est élevée en regard des autres examens diagnostiques des pneumopathies. Elle est globalement supérieure à 60 % si les prélèvements bactériologiques sont positifs, de l'ordre de 50 % si les prélèvements pulmonaires seuls sont positifs (hémocultures négatives) et supérieure à 75 % en cas de bactériémie (hémoculture positive).

## **2.3. Limites du TDR des pneumocoques**

Le TDR pneumocoque ne peut pas être utilisé chez l'enfant, le portage engendrant un résultat positif. Par ailleurs, la vaccination anti-pneumococcique peut également interférer sur le résultat du test, celui-ci ne devant pas être effectué dans les 5 jours qui suivent l'administration du vaccin.

Les faux positifs sont rares. Ils peuvent être notamment liés à une pneumopathie ancienne ce qui était le cas d'un des 3 faux positifs de l'étude de Lartigolle. En France Dubrous a également rapporté 2 faux positifs sur 46 patients ne présentant pas les critères de pneumopathie de l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES).

En cas de pneumopathie récurrente, le TDR ne présente donc pas d'intérêt et un résultat de TDR positif dans ce contexte doit être interprété prudemment. Bien que la sensibilité du TDR BinaxNOW® soit comparable à celle des techniques classiques de diagnostic des pneumopathies, elle reste faible. Ainsi, un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic. Quel que soit le résultat du test, les examens microbiologiques (prélèvements respiratoires et hémocultures) restent indispensables et complémentaires. D'une part, ils permettent d'augmenter la sensibilité diagnostique si le test est négatif, d'autre part, ils permettent l'isolement de la souche, la réalisation d'un antibiogramme, l'étude épidémiologique.

L'adaptation de l'antibiothérapie pour les patients présentant une pneumopathie admis en réanimation (c'est-à-dire les seuls pour lesquels la réalisation du TDR est recommandée), lorsque la recherche d'antigène soluble urinaire est positive, doit être relativisée. En effet, le plus souvent, l'éventualité de la présence d'un autre agent pathogène n'est pas exclue et la désescalade de l'antibiothérapie à large spectre initiale n'est généralement effectuée qu'après les résultats des examens bactériologiques, à 48 heures de l'admission.

Par ailleurs, la prescription de ce test est loin de se limiter aux recommandations. Les sociétés savantes réservent la prescription de l'antigénurie pneumococcique aux pneumopathies aiguës graves, nécessitant une hospitalisation [79].

### **3. Applications des TDR à la légionellose**

#### **3.1. Généralités sur la légionellose**

La première épidémie de légionellose a été décrite parmi les légionnaires américains en 1976 qui ont donné son nom à la maladie et au genre bactérien en cause : *Legionella* [71].

*Legionella* est une bactérie à gram négatif, aérobie strict, intracellulaire qui compte 53 espèces comprenant 70 sérogroupes. Son réservoir est environnemental, essentiellement au niveau des réseaux d'eau avec 2 réservoirs : les protozoaires aquatiques (amibes) et le biofilm.

La transmission à l'homme est directe, par inhalation d'aérosols contenant des *Legionella*. Les cas peuvent être sporadiques ou groupés, 91 % des infections sont communautaires et 9 % nosocomiales. Les facteurs favorisant l'infection sont le tabac, l'âge avancé et toute situation d'immunodépression (cancer, hémopathie, diabète, infection par le VIH, corticothérapie et traitement immunosuppresseur).

Cliniquement, la légionellose se manifeste par une pneumonie d'évolution progressive et sévère, sans atteinte ORL, associée dans 30 % des cas à des signes extra-respiratoires : céphalées, confusion, diarrhée, myalgies ou encore insuffisance rénale aiguë. En comparaison avec le tableau clinique d'une pneumopathie à pneumocoque, la fièvre élevée supérieure à 39 °C et l'échec d'un traitement probabiliste par les bêta-lactamines sont des facteurs orientant vers la légionellose. Les examens d'imagerie pulmonaire retrouvent souvent une atteinte bilatérale, systématisée ou non, asymétrique et alvéolo-interstitielle.

Au niveau biologique, on retrouve une hyponatrémie dans la moitié des cas, une cytolyse hépatique et une augmentation de la créatine phosphokinase (CPK). L'hypophosphatémie est évocatrice du diagnostic. La certitude diagnostique est apportée par les examens microbiologiques : recherche d'antigènes solubles urinaires par TDR, culture des prélèvements respiratoires sur milieux spécifiques comme le BCYE (buffered charcoal yeast extract), PCR sur prélèvements respiratoires et sérologie.

### **3.2. Intérêts du TDR de *Legionella***

La spécificité du TDR *Legionella* est proche de 100 % et ce test entre dans la définition des cas confirmés de légionellose. Ainsi, entre 1998 et 2008, 84 % des 11 147 cas déclarés en France ; ont été diagnostiqués par un test d'antigénurie positif.

L'antigénurie est rapidement positive, dès 24h à 48h après le début des symptômes, tandis que la séroconversion est tardive (10 jours à 5 semaines) et doit être confirmée par un second prélèvement effectué 3 à 4 semaines après le premier. La séroconversion peut également ne jamais être observée alors que le diagnostic de la maladie est certain. Ainsi, le TDR *Legionella* a permis une amélioration de la surveillance de cette maladie à déclaration obligatoire

[67]. En permettant la mise en œuvre d'une antibiothérapie adaptée précocement, il a contribué à réduire la mortalité liée à cette pathologie.

La sensibilité est élevée, de l'ordre de 80 %, et peut être augmentée en cas d'ultrafiltration sélective préalable des urines, sans diminuer la spécificité (proche de 100 %) tandis que sensibilité de la culture varie de 25 à 80 % et celle de la sérologie est de 64 % pour l'ELISA et de 61 % pour l'immunofluorescence. La sensibilité de la détection des antigènes urinaires est associée à la sévérité clinique de la maladie.

### **3.3. Limite du TDR de Legionella**

Le TDR BinaxNOW® *Legionella* est spécifique du sérotype 1 de *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*). Un résultat négatif n'exclut pas le diagnostic de légionellose liée à un autre sérotype ou une autre espèce de *Legionella*. Aussi chez un patient pour lequel le test est négatif alors que la présomption clinique est forte, il est recommandé de réaliser une culture et/ou une PCR sur un prélèvement respiratoire. Il n'est pas opportun de réaliser un second TDR. Lorsque le TDR est positif, il est néanmoins recommandé d'effectuer la culture sur des prélèvements respiratoires pour enrichir la collection de souches du centre de référence et permettre leur caractérisation. La culture est également indispensable pour les études en cas d'épidémie [79].

## **4. Application des TDR aux méningites**

Les méningites restent un problème de santé publique préoccupant avec 1 million de cas par an dans le monde et une forte mortalité. Trois agents étiologiques dominent cette maladie : *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*), *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*. L'Afrique regroupe à elle seule 50 % des cas. Le méningocoque de par son mode de transmission est responsable d'épidémies saisonnières meurtrières dans toute la région sahélienne qui va du Sénégal à l'Éthiopie formant l'historique ceinture de la méningite de Lapeyssonie, touchant 22 pays et 430 million d'habitants. Si le séro groupe A reste dominant à 80 %, d'autres circulent également et notamment le séro groupe W135 introduit en Afrique depuis 2002 mais aussi X et Y.

Pour faire face à ces épidémies, l'OMS a mis en place une stratégie qui consiste en une détection précoce de l'épidémie et la mise en œuvre rapide d'une vaccination de masse avec un vaccin approprié. Pendant très longtemps, les épidémies étaient dues à *N. meningitidis* A, la réponse faisait alors appel au vaccin polysaccharidique largement disponible. L'émergence des autres sérogroupes a modifié cette stratégie et conduit les laboratoires à l'élaboration d'autres valences vaccinales avec le vaccin W135. Par ailleurs, des vaccins conjugués du fait de leur efficacité durable ont vu le jour avec le C en Europe mais surtout le A conjugué plus destiné à l'Afrique (MenAfriVac®). Du fait de leur coût de fabrication et de leur utilisation plus conjoncturelle, leur disponibilité est moindre. Il est donc indispensable à l'échelon le plus périphérique des structures de santé d'avoir les moyens d'une surveillance des sérogroupes circulant afin d'adapter la réponse vaccinale.

En Afrique, le diagnostic biologique des méningites est souvent limité. L'examen direct du LCR nécessite des moyens (microscope, colorants), de l'expérience et reste difficile. Dans l'étude de Borel [83], 42 % des résultats sont rendus douteux.

Si les techniques de référence restent la culture puis le sérogroupage par immun sérum et maintenant la PCR (polymerase chain reaction), ces analyses ne sont mises en œuvre que dans les capitales, les grandes villes ou les rares centres de référence. La culture est difficile: bactérie fragile, délais d'acheminement trop longs, contamination des prélèvements, traitements antibiotiques préalables [82].

La PCR (diagnostic, sérogroupage) s'est imposée dans les centres de référence : elle permet le diagnostic des autres agents des méningites, présente des performances excellentes notamment avec les techniques de Nested PCR et elle s'affranchit des délais et des conditions de température lors de l'acheminement des prélèvements [84].

Pour pallier le défaut d'accessibilité des techniques de référence et pour un diagnostic au niveau des centres de santé les plus périphériques, deux tests de diagnostic rapide existent actuellement mettant en œuvre une technique d'agglutination de particules de latex ou une technique d'immunochromatographie sur membrane. Dans les deux cas, la cible est le polysaccharide capsulaire qui est à la fois le plus abondant dans le liquide céphalorachidien (LCR) mais aussi celui qui détermine le séro groupe de *N. meningitidis*.

Le test Pastorex (Bio-Rad) est une technique bien connue des hôpitaux. Ses indications restent très limitées même exceptionnelles pour un diagnostic individuel du fait de sa faible sensibilité et spécificité. Le problème est différent dans le cadre d'un diagnostic en situation épidémique. La technique consiste à porter à ébullition le LCR pendant 3 min puis, après centrifugation, réaliser l'agglutination avec le surnageant. Elle permet le diagnostic des autres agents des méningites et notamment le pneumocoque fréquent au cours des épidémies à *N. meningitidis* mais ne permet pas de différencier les sérogroupes W135 et Y même si ce dernier reste rare. La technique peut être réalisée facilement en 30 min par un opérateur non spécialisé. L'agglutination est parfois difficile à interpréter [85]. Cette technique nécessite cependant un minimum de matériel souvent absent même si le coût est modéré : centrifugeuse et bain-marie. Les inconvénients majeurs sont le respect de la chaîne du froid difficile à assurer en zone sahélienne, le délai de péremption après ouverture et le coût de ces réactifs.

Les études de performances lors d'une utilisation sur le terrain sont rares et toujours réalisées dans des laboratoires de référence.

Au Niger, lors d'une épidémie en 2006 où le séro-groupe A représentait 99 % de souches de *N. meningitidis*, la technique a révélé une sensibilité (Se) à 88 % et une spécificité (Sp) à 93 % pour *N. meningitidis* A sur 484 LCR. Une autre étude sur LCR congelés et collectés entre 2002 et 2004 au Niger et Burkina Faso, permettant le recrutement du séro-groupe W135, a montré des résultats équivalents pour *N. meningitidis* A; Se : 87 % ; Sp : 93 % (**tableau XIII**). Les valeurs prédictives positives et négatives ont été évaluées en fonction du séro-groupe et du taux de prévalence de *N. meningitidis* dans les méningites (**tableau XVI**). [82]

L'absence de matériel pour prétraiter le LCR a conduit dans certaines circonstances à l'utilisation du réactif Pastorex directement sur le LCR. On observe alors une chute des performances avec une Se à 69 % et une Sp à 81 % rappelant la nécessité absolue du prétraitement dont l'objectif est d'extraire le polysaccharide capsulaire de la bactérie [82].

Tableau XIII: Se et Sp du TDR Pastorex sur un LCR [82].

|                                | <i>N. meningitidis</i> A | <i>N. meningitidis</i> W135 |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <b>Sensibilité (Se) en (%)</b> | 88                       | 87                          |
| <b>Spécificité (Sp) en (%)</b> | 93                       | 93                          |

Tableau XIV: Evaluation des performances de Pastorex selon le taux de prévalence (situation épidémique ou non) [82].

|                | Situation épidémique (70 % de <i>N. meningitidis</i> ) |                             | Hors situation épidémique 20% de <i>N. meningitidis</i> |                             |
|----------------|--|-----------------------------|---|-----------------------------|
|                | <i>N. meningitidis</i> A                               | <i>N. meningitidis</i> W135 | <i>N. meningitidis</i> A                                | <i>N. meningitidis</i> W135 |
| <b>VPP (%)</b> | 97   | 99                          | 75  | 89                          |
| <b>VPN (%)</b> | 75   | 73                          | 97  | 96                          |

**VPP** : Valeur prédictive positive

**VPN**: Valeur prédictive négative

## 5. Application des TDR au choléra

Le choléra est une diarrhée hydrique sévère volontiers épidémique, causée par des

*Vibrio cholerae* O1 (*V. cholerae* O1), (ou O139, rarement retrouvé en Asie du Sud) producteurs de la toxine cholérique.

Selon les estimations hautes les plus fréquemment citées, il occasionnerait de 3 à 5 millions de cas et de 100 000 à 120 000 décès dans les pays où l'accès à une eau potable et à l'assainissement ne sont pas assurés [86, 87]. La réalité se situe très probablement au-delà de ces chiffres mais bien au-delà des quelques centaines de milliers de cas et quelques milliers de décès suspects officiellement notifiés à l'OMS, essentiellement en provenance du continent africain et, depuis 2010, d'Haïti. Estimer l'incidence du choléra est d'autant plus compliqué qu'une partie des cas échappe aux systèmes de surveillance de ces pays, ou bien, comme dans divers pays d'Asie, ne sont pas déclarés [88].

Le diagnostic des cas de choléra repose généralement sur une définition syndromique peu spécifique. Par exemple, à peine 62 % des 2 703 cultures de selles réalisées au Laboratoire national de Santé publique d'Haïti au cours des 2 premières années de l'épidémie se sont avérées positives pour le *V. cholerae* O1 [89] montrant ainsi que même en phase épidémique, le diagnostic clinique de choléra est souvent posé en excès. La culture de selles réalisée sur un milieu de type TCBS (thiosulfate- citrate-bile-saccharose) suivie de l'isolement des *V. cholerae* suspects, de leur identification phénotypique (sérogroupage O1/O139, biotypage, puis stéréotypage) et d'un antibiogramme, constitue en effet la méthode de référence. Malheureusement, celle-ci s'avère difficile à réaliser faute de laboratoires spécialisés opérationnels en nombre suffisant dans les pays affectés par le choléra [82].

Pour pallier ce déficit, des tests de diagnostic rapide (TDR) réalisables au lit du malade et fournissant un résultat en quelques minutes ont été développés au cours des vingt dernières années. Compte-tenu de leurs caractéristiques intrinsèques non optimales, ces tests ne sont pas destinés à remplacer la confirmation du choléra par culture.

La plupart des TDR-choléra disponibles sur le marché sont des bandelettes fonctionnant selon le principe de l'immunochromatographie (CIA). Ces tests n'utilisent qu'un seul réactif, sont d'utilisation facile et du coût raisonnable. Il existe aussi des tests basés sur la coagglutination (COAT) ou sur l'immunofluorescence directe (IFD). Ces différents TDR ont essentiellement été développés par l'Institut Pasteur (France) puis l'entreprise Span Diagnostics Ltd qui commercialise les Crystal VCTM, ainsi que la firme New Horizon Diagnostics Co.

Une vingtaine de publications présentent l'évaluation de leurs performances selon des protocoles variés souvent problématiques [90, 91]. Selon les études, les sensibilités et spécificités mentionnées pour les tests CIA s'échelonnent respectivement de 65,6 % à 100 % et de 43,8 % à 100 %. Notons que les valeurs de 100 % de sensibilité et de spécificité ne sont atteintes que dans de petites séries, et généralement après une étape d'enrichissement des échantillons difficilement applicable sur le terrain. Après méta-analyse portant sur 4 386 échantillons cliniques, la sensibilité (Se) globale des tests CIA apparaît bonne 92,7 % mais leur spécificité est moyenne 78,3 %, soit un diagnostic odds ratio (DOR) globalement bon à 52,3.

Ces performances apparaissent significativement meilleures pour les *V. cholerae* O139 que pour les O1 et lorsque les TDR sont réalisés après enrichissement des prélèvements (notamment des écouvillons) dans de l'eau peptonée. La spécificité des tests CIA s'est montrée significativement supérieure lorsqu'effectués par des techniciens au laboratoire 89,4 % plutôt que par des cliniciens au lit du malade 63,9 %. D'autres TDR immunochromatographiques (CIA) sont également disponibles sur le marché. Cependant, en l'absence de données d'évaluation satisfaisantes présentées, l'utilisation de la plupart d'entre eux sur le terrain doit être considérée avec réserve.

Du fait des faibles performances de ces tests, en particulier lorsqu'ils sont réalisés au lit du malade, le résultat d'un TDR ne permet ni d'affirmer, ni d'éliminer un diagnostic de choléra chez un individu donné. De plus, l'utilisation à large échelle des TDR pour suivre l'évolution d'une épidémie pose, en pratique, un certain nombre de problèmes sur le terrain. L'achat, le stockage et la diffusion des tests, la formation des prestataires, et le recueil des

résultats peuvent s'avérer complexes et coûteux. Un stockage non optimal et une formation insuffisante peuvent être la source de résultats souvent aberrants: tests invalides, nombre inapproprié de tests positifs O139, etc. L'interprétation d'un résultat positif avec la bande O139, s'avère difficile dans les contextes d'épidémies à *V. cholerae* O1 [82].

Tenant compte de ces limites, quelques indications peuvent être cependant retenues. Réalisés de manière groupée lors de l'investigation de l'émergence d'une flambée suspectée, ils peuvent fournir des premiers arguments en faveur ou en défaveur du choléra en attendant la confirmation par culture. Ainsi, en cas de flambée de diarrhée aiguë aqueuse, le résultat cumulé d'une dizaine de TDR peut permettre de retenir ( $\geq 8$  positifs) ou de rejeter ( $\leq$

4 positifs) le diagnostic de choléra avec une probabilité acceptable, en attendant le résultat des cultures [92].

## 6. Application des TDR à la shigellose

La shigellose est une infection intestinale invasive aiguë provoquée par des entérobactéries appartenant au genre *Shigella* qui se manifeste cliniquement par une diarrhée souvent sanglante. Il existe quatre espèces, chacune subdivisée en sérotypes. Les espèces les plus importantes sont *Shigella flexneri* (*S. flexneri*) sérotype 2a, responsable des formes endémiques et *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) sérotype 1, responsable d'épidémies brutales et graves, dans les pays en développement. *Shigella sonnei* (*S. sonnei*), moins virulente, est prévalente dans les pays développés.

Si elle n'est pas la plus fréquente des maladies diarrhéiques, la shigellose dans sa forme dysentérique est la plus sévère. L'OMS estime le nombre de cas annuels à 164,7 million, dont 163,2 million dans les pays en développement et 1,5 M dans les pays industrialisés. Les shigelloses tuent chaque année 1,3 million de personnes dans les pays en développement dont 61 % d'enfants de moins de 5 ans [82].

Les shigelles sont transmises par voie oro-fécale. Ce sont des bactéries particulièrement virulentes : 10 à 100 bacilles suffisent à provoquer la maladie. L'homme est le seul réservoir et la transmission inter-humaine est le plus souvent directe.

Les manifestations cliniques des shigelles sont liées à un phénomène invasif auquel s'ajoute pour *S. dysenteriae* sérotype 1 la sécrétion d'une toxine (Shiga toxine), cytotoxique, responsable de complications telles que le syndrome hémolytique et urémique [93].

Les selles diarrhéiques contiennent de 106 à 108 *Shigella* par gramme. Une fois excréte, le bacille est très sensible aux conditions environnementales et meurt rapidement, surtout s'il est exposé à la dessiccation ou à la lumière solaire directe, au changement de température et de pH. C'est pourquoi, l'analyse bactériologique des prélèvements par des méthodes conventionnelles (isolement et identification des shigelles par coproculture) doit être effectuée dans les 2 à 4 heures suivant leur recueil. Si les échantillons doivent être conservés, ils seront placés dans un milieu de transport (glycérol tamponné en soluté salin ou milieu de Carry-Blair). Ceci nécessite de disposer d'un laboratoire de bactériologie, situation rare en zone tropicale. Par ailleurs, le diagnostic nécessite un délai de 48 heures [82].

L'intérêt de disposer de tests de diagnostic rapide (TDR), simples, fiables, facilement utilisables sur le terrain est donc majeur, notamment pour orienter le praticien vers le traitement adéquat dans les meilleurs délais et limiter ainsi la propagation d'une épidémie.

C'est pourquoi, l'Institut Pasteur a développé des TDR basés sur une technique d'immunochromatographie sur membrane [95]. Ils se présentent sous forme d'une bandelette directement introduite dans un tube contenant les selles du malade (diluées dans de l'eau distillée pour les selles non liquides). Il est aussi possible de travailler à partir d'un écouvillonnage rectal déchargé 2 minutes dans un tube contenant 500 µL d'eau distillée. Au bout de 5 à 15 minutes, l'apparition ou non de deux traits rouges signe la présence ou l'absence de la bactérie, chaque bandelette comprenant une zone contrôle constituée d'Immunoglobulines G anti-souris permettant de valider la migration et une zone spécifique de la shigelle à détecter. Il existe actuellement des TDR pour le diagnostic des shigelloses à *S. flexneri* sérotype 2a, à *S. dysenteriae* sérotype 1 et à *S. sonnei*. Ils sont basés sur la détection du lipopolysaccharide et plus particulièrement de l'antigène somatique O, constitué d'unités répétées d'oligosaccharides définissant le sérotype dont la variabilité est liée à la nature des sucres, leur arrangement et les liens entre les différentes unités [96]. La détection de cet antigène se fait à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques couplés à des particules d'or colloïdal. Les principales caractéristiques de ces 3 tests sont présentées dans le **tableau XV**.

**Tableau XV: caractéristiques des TDR pour le diagnostic des shigelloses [82].**

| TDR                     | Echantillon           | Temps de lecture (min) | Limite de Détection en UFC/ml | Sensibilité en% | Spécificité en% | VPP % | VPN % |
|-------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|-------|-------|
| <i>S. dysenteriae 1</i> | Selles                | 10                     | 4,9x10 <sup>6</sup>           | 91,7            | 98,7            | 73,3  | 99,7  |
| <i>S. flexneri 2a</i>   | Selles                | 5                      | 5x10 <sup>7</sup>             | 91,5            | 99,2            | 79,6  | 97    |
| <i>S. sonnei</i>        | Ecouvillonnage Rectal | 6                      | 4x10 <sup>6</sup>             | 100             | 95,3            | 77    | 100   |
|                         | Selles                |                        |                               | 100             | 96              | 72,4  | 100   |

VPP : Valeur prédictive positive,  
 VPN : Valeur prédictive négative.

En termes de sensibilité, les études effectuées sur le terrain (en zone d'endémie ou non), ont montré une sensibilité élevée, supérieure à 91 %. Les méthodes de bactériologie conventionnelle manquent souvent de sensibilité en raison du faible nombre de shigelles excrétées dans les selles par rapport à la flore commensale, de l'effet délétère des changements de température et de pH durant le transport des selles et de la prise éventuelle d'antibiotiques. De plus, ces TDR présentent à la fois une limite de détection très faible, sans effet prozone (Dans des conditions optimales, la formation de complexes antigènes-anticorps se produit quand les sites antigéniques et les molécules d'anticorps sont approximativement en quantité égale. C'est la zone d'équivalence. Si les anticorps sont en excès, le complexe a du mal à se faire, pouvant rendre la réaction négative, car il y a compétition entre les anticorps pour occuper les sites antigéniques disponibles. La saturation des sites empêche la visualisation du complexe antigène-anticorps. C'est le phénomène de prozone.), ce qui permet d'éviter les faux négatifs avec les échantillons contenant une forte concentration en antigènes somatiques [82].

La spécificité a été évaluée en testant différents sérotypes de shigelles et différentes espèces de bactéries entéropathogènes (*Salmonella*, *Vibrio*, *Escherichia coli* entérotoxigènes, entéropathogènes, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia*...). Sur le terrain (en

zone d'endémie ou non), les TDR ont montré une spécificité élevée, supérieure à 95 %. Avec le test permettant la détection de *S. dysenteriae* 1, aucune réaction croisée n'a été observée avec *Escherichia coli* O148 :H28, cause la plus courante de diarrhées chez l'enfant et les voyageurs dans les pays en voie de développement alors que la structure de leur antigène O ne diffère que par un glucose remplacée par un galactose [97].

D'un point de vue pratique, des études de stabilité accélérée effectuées après conservation des tests plusieurs semaines à température ambiante et à 56 ou 60 °C dans un incubateur ont montré que la limite de détection (LD) était toujours aussi basse. Ainsi, ces tests peuvent être stockés à température ambiante pendant 2 ans. Suite à la baisse de sensibilité observée en raison de l'humidité pour la détection de *S. flexneri* 2a, chaque bandelette est désormais conditionnée en sachet individuel avec un dessicant [82].

De plus, ces TDR en dehors de fournir une réponse rapide (en moins de 15 minutes), sont faciles à réaliser avec un minimum de formation et ne présentent pas de difficultés de lecture particulière. Enfin, ils ne nécessitent aucun réactif (en dehors de l'eau distillée), ni d'équipement de laboratoire à la différence des méthodes de bactériologie conventionnelle ou de biologie moléculaire.

Une autre approche indirecte du diagnostic des shigelles est d'identifier la Shiga toxine de *S. dysenterie* sérotype 1, quasiment identique à la toxine Stx1 produite par *Escherichia coli*. Or il existe des tests pour détecter les toxines (Stx1 et Stx2) des *Escherichia coli* entéro-hémorragiques. Ces derniers sont responsables de diarrhées hémorragiques et hydriques qui, en absence de diagnostic, peuvent évoluer en colite hémorragique et/ou en syndrome urémique et hémolytique. Différents tests immunologiques sont disponibles sur le marché et présentés dans le tableau XVI [98]. Seuls les tests se faisant par immunochromatographie ou par immunoassay optique directement sur selles sans phase d'enrichissement (et non sur culture) seraient utilisables sur le terrain. Ainsi, deux tests allient praticabilité et rapidité.

**Tableau XVI: caractéristiques des TDR pour la détection des Shiga toxines [98].**

| TDR                                      | Principe              | Cible                         | Echantillon   | Temps de lecture | sensibilité              | Spécificité              |
|--|-----------------------|-------------------------------|---|------------------|--------------------------|--------------------------|
| BioStar OIA SHIGATOX (Inverness Medical) | Immunoassay optique   | Shiga toxines sans différence | Selles directes ou en Cary Blair Milieu Enrichi Culture | 15 min           | 100                      | 98                       |
| SHIGA TOXIN QUIK CHEK (Alere)            | Immunochromatographie | Stx1<br>Stx2                  | Selles directes ou en Cary-Blair Culture                | 25 min           | 98,0(Stx1)<br>98,0(Stx2) | 99,8(Stx1)<br>100 (Stx2) |

Le test Shiga Toxin Quik Chek comprend 2 étapes de 15 et 10 minutes. La première étape consiste à déposer l'échantillon de selles mélangé avec un diluant et un conjugué. Les complexes toxine-anticorps-péroxydase migrent à travers une membrane et sont capturés par les anticorps monoclonaux fixés, spécifiques de Stx1 et Stx2. La deuxième étape comporte un lavage et l'ajout du substrat permettant de visualiser la réaction antigène-anticorps sous forme d'une bande bleue. Les performances du test ont été comparées au test de la cytotoxine anti-cellules Vero (avec neutralisation), considéré comme la méthode de référence, sur 873 échantillons frais de selles et 14 échantillons congelés.

La toxine produite par *S. dysenteriae*, si elle est présente à des taux détectables, produit un résultat positif au niveau de la zone Stx1. Ce test présente pour la toxine Stx1, une sensibilité de 98,0 %, une Spécificité de 99,8 %, une VPP de 96,0 % et une VPN de 99,9 % avec une corrélation totale de 99,7 % avec le test de la cytotoxine. Aucune réactivité croisée n'a été trouvée avec *S. sonnei* et *S. flexneri* [98].

Le test BioStar OIA SHIGATOX comporte une surface optique recouverte d'anticorps antitoxines se liant à la toxine stx1 et/ou stx2 de l'échantillon. L'ajout d'anticorps anti-stx1 et anti-stx2 augmente l'épaisseur de la surface, modifiant ainsi la réflexion de la lumière perçue visuellement par un changement de couleur. L'évaluation du test sur 742 échantillons de

selles a montré une sensibilité de 96,8 % et une spécificité de 99,4 %. La sensibilité est supérieure à celle du kit Premier EHEC évaluée en parallèle (83,9 %) avec un temps de réalisation bien inférieur (20 minutes contre 2,5 heures). Après une phase d'enrichissement, la sensibilité et la spécificité ont atteint 100 % (avec aucune différence significative entre les deux tests évalués) [82].

Ainsi, ces deux TDR donnent des résultats rapidement à partir de selles fraîchement émises, avec des performances satisfaisantes en termes de sensibilité et spécificité et sont facilement réalisables sur le terrain sans matériel, ni réactif autres que ceux fournis dans le kit. Ils présentent cependant deux inconvénients majeurs : ils doivent être conservés entre 2 et 8 °C et ne permettent que le diagnostic indirect de *S. dysenteriae* 1.

Les TDR s'ils sont suffisamment sensibles et spécifiques contribuent à la fois au diagnostic individuel et collectif, en apportant des bénéfices au malade mais aussi d'un point de vue épidémiologique. Leur objectif n'est pas de remplacer les méthodes de bactériologie conventionnelles qui resteront indispensables notamment pour évaluer l'antibio-résistance et pour caractériser les souches. Ils trouvent leur place en première ligne, au chevet du malade, sur le terrain, dans les pays où les moyens de laboratoire sont limités et parce qu'un retard de diagnostic est la principale cause de décès et de propagation d'une épidémie.



## VI. CONCLUSION

Les TDR sont développés pour un diagnostic immédiat rapide au plus près du patient pour guider sa prise en charge et son traitement. C'est le cas de la recherche des antigènes solubles du pneumocoque ou des légionelles dans les urines par exemple. Dans les pays en développement, pour des maladies à fort potentiel épidémique, les TDR prennent une autre dimension, celle de la collectivité. Leur premier intérêt devient le diagnostic rapide d'une épidémie ou la détection précoce des cas afin de prendre rapidement les mesures prophylactiques : lutte antivectorielle, vaccination, traitement des sujets contact. Dès lors les exigences peuvent être différentes même si une grande sensibilité reste souhaitable.

Les avantages logistiques de ces TDR sont indéniables : simplicité d'utilisation avec une formation minimale, stabilité des réactifs avec une conservation à température ambiante, faible encombrement. Malgré cela, les performances sont au rendez-vous même si d'importantes variations sont notées selon les études probablement en rapport avec le caractère artisanal de leur production et les difficultés des études de terrain.

Étant donné le déficit chronique des structures de diagnostic, les besoins en développement de nouveaux TDR sont importants. Malheureusement la réponse des industriels n'est pas à la hauteur et même quasiment inexistante malgré les efforts de certains centres de recherches et notamment des Instituts Pasteur pour développer les techniques et produire des anticorps monoclonaux performants. Seuls les industriels pourront par leur expérience dans la production de réactifs, mettre sur le marché des TDR de qualité constante et stable dans le temps et surtout accessibles au plus grand nombre. La commercialisation de tels tests permettrait également de compléter les études de performance encore trop rares et réalisées presque uniquement par les laboratoires les produisant.

Enfin, avec le développement des techniques de PCR plus accessibles, notamment par amplification isotherme, la biologie moléculaire pourrait à terme s'approcher du patient dans les zones les plus reculées. Malgré un coût supérieur, pouvant être atténué par des subventions dans les pays en développement, la PCR pourrait supplanter les TDR avant qu'ils n'aient pu réellement voir le jour.



## *Résumés*

## RESUME

**Titre :** TDR, applications en infectiologie

**Auteur :** OUANDAF ALI

**Mots clés :** TDR, Application, Infectiologie, Sensibilité, Spécificité.

Les tests de diagnostic rapide, selon l’OMS, sont des examens précis, simples, peu coûteux, faciles à interpréter, stable dans des conditions extrêmes, ne nécessitant que peu ou pas de traitements spéciaux au préalable et peu d’échantillons biologiques. L’évaluation de ces tests étudie les qualités de tout examen biologique : précision de la mesure, reproductibilité, valeurs diagnostiques, utilité diagnostique, applicabilité et le coût. Leur utilisation présente les avantages de fournir rapidement un résultat et de favoriser l’accès à une documentation microbiologique précoce et donc une prise en charge adaptée du patient. Cependant, ces tests ont aussi des limites en termes de sensibilité qui est généralement réduite par rapport aux méthodes de référence.

## SUMMARY

**Title:** TDR, infectiology applications

**Author:** OUANDAF ALI

**Key words:** TDR, Application, Infectiology, Sensitivity, Specificity.

Rapid diagnostic tests, according to the WHO, are accurate, simple, inexpensive, easy to interpret, stable under extreme conditions, requiring little or no special treatment in advance and few biological samples. The evaluation of these tests examines the qualities of any biological examination: accuracy of measurement, reproducibility, diagnostic values, diagnostic utility, applicability and cost. Their use has the advantages of rapidly providing a result and facilitating access to early microbiological documentation and therefore adequate patient management. However, these tests also have limits in terms of sensitivity which is generally reduced compared to the reference methods.

## ملخص

العنوان: اختبارات التشخيص السريع وتطبيقاتها في تشخيص الأمراض المعدية

الكاتب: علي ونضيف

كلمات البحث: اختبارات التشخيص السريع، تطبيق، الأمراض المعدية، الحساسية والنوعية.

إختبارات التشخيص السريع، وفقا لمنظمة الصحة العالمية، هي اختبارات دقيقة، بسيطة، غير مكلفة، سهلة التأويل، مستقرة في الظروف المناخية القاسية، كما أنها لا تحتاج سوى كمية قليلة من العينات البيولوجية. تقييم اختبارات التشخيص السريع يتجلى في دراسة الصفات المميزة لها: دقة القياس، قابلية اعادة الإنتاج، قيم التشخيص، الوظيفية التشخيصية، قابلية التطبيق والتكلفة. مزايا استخدام هذه الاختبارات تتمثل أساسا في كونها توفر؛ وبشكل سريع؛ نتائج التحليل المخبري مما يعزز فرص الحصول على الوثائق الميكروبيولوجية مبكرا وبالتالي إختيار العلاج المناسب للمريض. ومع ذلك، فإن لهذه الاختبارات حساسية تكون عموما ضعيفة بالمقارنة مع الطرق المرجعية.



1. **Chabasse D.** Avant-Propos: Tests de Diagnostic Rapide en biologie 1. Applications en infectiologie. *Revue Francophone des Laboratoires*; 474(2015): 27-8.
2. **Ghalioungui P, Khalil S, Ammar A.** an ancient Egyptian method of diagnosing pregnancy and determining foetal sex. *Medical history* 1963; 7(03): 241-6.
3. **Martinot A, Aurel M, Dubos F.** Évaluation des performances des tests de diagnostic rapide. *Archives de pédiatrie* 2007; 14(6): 524-6.
4. **Bonner A.** Impact of the rapid diagnosis of influenza on physician decision-making and patient management in the pediatric emergency department: results of a randomized, prospective, controlled trial. *Pediatrics* 2003 ; 112(2): 363-7.
5. **Ronat J et al.** Journée de la Société de pathologie exotique du 28 mai 2014, Institut Pasteur, Paris: Tests de diagnostic rapide (TDR) en infectiologie tropicale. Quels besoins? Quelles disponibilités? Quelles bonnes pratiques? (Résumés de Séances et de Congrès/Congress Reviews). *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 2014 ; 107: 204-9.
6. **D'Acremont V, Greub G, Genton B.** Tests diagnostiques rapides (TDR): la panacée pour le praticien. *Rev Med Suisse* 2011; 7: 984-90.
7. **Houzé S, Paris L.** Apport des tests de diagnostic rapide en parasitologie: intérêt et limites. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015 ; 2015(474): 29-36.
8. **Gillet P, et al.** Prozone in malaria rapid diagnostics tests: how many cases are missed. *Malaria journal* 2011; 10(1): 1.
9. **Lee N, et al.** Assessing the genetic diversity of the aldolase genes of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* and its potential effect on performance of aldolase-detecting rapid diagnostic tests. *Journal of clinical microbiology* 2006; 44(12): 4547-9.
10. **Houzé S, et al.** Performance of rapid diagnostic tests for imported malaria in clinical practice: results of a national multicenter study. *PloS one* 2013; 8(9): e75486.

11. **Maltha J, Gillet P, Jacobs J.** Malaria rapid diagnostic tests in travel medicine. *Clinical Microbiology and Infection* 2013; 19(5): 408-15.
12. **Gamboa D, et al.** A large proportion of *P. falciparum* isolates in the Amazon region of Peru lack pfrp2 and pfrp3: implications for malaria rapid diagnostic tests. *PLoS One* 2010 ; 5(1): e8091.
13. **Organisation mondiale de la Santé.** Orientations sur les mesures temporaires de lutte antipaludique dans les pays affectés par le virus Ebola 2014.
14. **Cheng Q, et al.** Plasmodium falciparum parasites lacking histidine-rich protein 2 and 3: a review and recommendations for accurate reporting. *Malaria journal* 2014; 13(1): 1.
15. **Singh B, Daneshvar C.** Human infections and detection of Plasmodium knowlesi. *Clinical microbiology reviews* 2013; 26(2): 165-84.
16. **OMS.** *Filariose lymphatique: Aide-mémoire* 2014; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/fr/>.
17. **El-Moamly A, El-Sweify A, Hafez M.** Using the AD12-ICT rapid-format test to detect *Wuchereria bancrofti* circulating antigens in comparison to Og4C3-ELISA and nucleopore membrane filtration and microscopy techniques. *Parasitology research* 2012; 111(3):1379-83.
18. **World Health Organization** 2010. Control and prevention of Chagas disease in Europe: report of a WHO informal consultation Geneva, Switzerland, 17 to 18 December 2009.
19. **Sanchez-Camargo L, et al.** Comparative evaluation of 11 commercialized rapid diagnostic tests for detecting *Trypanosoma cruzi* antibodies in serum banks in areas of endemicity and nonendemicity. *Journal of clinical microbiology* 2014; 52(7): 2506-12.

20. **Flores-Chavez M, et al.** Sensitivity and specificity of an operon immunochromatographic test in serum and whole-blood samples for the diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in Spain, an area of nonendemicity. *Clinical and Vaccine Immunology* 2012; 19(9): 1353-59.
21. **Rhajaoui M.** Les leishmanioses humaines au Maroc: une diversité nosogéographique. *Pathologie Biologie* 2011; 59(4): 226-29.
22. **Cunningham J, et al.** Visceral Leishmaniasis Laboratory Network: A global comparative evaluation of commercial immunochromatographic rapid diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 2012; 55:1312-19.
23. **Robert R, Nail-Billaud S, Clément N.** Les tests de diagnostic rapide en mycologie médicale. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 2015(474): 37-44.
24. **Dan M, Leshem Y, Yeshaya A.** Performance of a rapid yeast test in detecting *Candida spp.* in the vagina. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2010; 67(1): 52-5.
25. **Marot-Leblond A, et al.** Development and evaluation of a rapid latex agglutination test using a monoclonal antibody to identify *Candida dubliniensis* colonies. *Journal of clinical microbiology* 2006; 44(1): 138-42.
26. **Fraser M, Borman AM, Johnson EM.** Evaluation of the commercial rapid trehalose test (GLABRATA RTT) for the point of isolation identification of *Candida glabrata* isolates in primary cultures. *Mycopathologia* 2012; 173(4): 259-64.
27. **Jarvis JN, et al.** Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis. *Clinical infectious diseases* 2011: cir613.
28. **Boulware DR, et al.** Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. *Emerg Infect Dis* 2014; 20(1): 45-53.

29. **Escandon P, et al.** Evaluation of a rapid lateral flow immunoassay for the detection of cryptococcal antigen for the early diagnosis of cryptococcosis in HIV patients in Colombia. *Medical mycology* 2013; 51(7): 765-8.
30. **Gates-Hollingsworth MA, Kozel TR.** Serotype sensitivity of a lateral flow immunoassay for cryptococcal antigen. *Clinical and Vaccine Immunology* 2013; 20(4): 634-35.
31. **Kwizera R, et al.** Performance of cryptococcal antigen lateral flow assay using saliva in Ugandans with CD4< 100. *PloS one* 2014; 9(7): e103156.
32. **Held J, et al.** Comparison of a novel *Aspergillus* lateral-flow device and the Platelia® galactomannan assay for the diagnosis of invasive aspergillosis following haematopoietic stem cell transplantation. *Infection* 2013; 41(6): 1163-69.
33. **Prattes J, et al.** Novel tests for diagnosis of invasive aspergillosis in patients with underlying respiratory diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2014; 190(8): 922-9.
34. **Willinger B, et al.** Bronchoalveolar lavage lateral-flow device test for invasive pulmonary aspergillosis in solid organ transplant patients: a semiprospective multicenter study. *Transplantation* 2014; 98(8): 898-902.
35. **Dufresne SF, et al.** Detection of urinary excreted fungal galactomannan-like antigens for diagnosis of invasive aspergillosis. *PLoS One* 2012; 7(8): e42736.
36. **Silveira-Gomes F, et al.** Development and evaluation of a latex agglutination test for the serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *Clinical and Vaccine Immunology* 2011; 18(4): 604-8.
37. **Silveira-Gomes F, Marques-da-Silva SH.** Effect of serum sample inactivation on the performance of latex agglutination test for paracoccidioidomycosis serodiagnosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2012; 107(4): 510-12.
38. **Theel ES, Ramanan P.** Clinical significance of low-positive histoplasma urine antigen results. *Journal of clinical microbiology* 2014; 52(9): 3444-46.

39. **Assi M, et al.** Histoplasmosis after solid organ transplant. *Clinical infectious diseases* 2013; cit593.
40. **Bariola J R, et al.** Detection of *Blastomyces dermatitidis* antigen in patients with newly diagnosed blastomycosis. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2011; 69(2): 187-91.
41. **Richer S M, et al.** Development of a highly sensitive and specific blastomycosis antibody enzyme immunoassay using *Blastomyces dermatitidis* surface protein BAD-1. *Clinical and Vaccine Immunology* 2014; 21(2): 143-46.
42. **Segondy M.** Les tests de diagnostic rapide des viroses respiratoires et des gastroentérites virales: intérêts et limites. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 2015(474): 45-50.
43. **Chartrand C, et al.** Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Annals of internal medicine* 2012; 156(7): 500-11.
44. **Taylor J, et al.** Evaluation of twenty rapid antigen tests for the detection of human influenza A H5N1, H3N2, H1N1, and B viruses. *Journal of medical virology* 2009; 81(11): 1918-22.
45. **Bouscambert M.** Rapport final d'évaluation des tests rapides d'orientation diagnostique TROD des virus *influenza* A et B. 2014.
46. **Manuguerra J, et al.** Comité de lutte contre la grippe et la pandémie 2009: retour d'expérience. *La Presse Médicale* 2012. 41(9): 783-92.
47. **Papenburg J, et al.** Host and viral factors affecting clinical performance of a rapid diagnostic test for respiratory syncytial virus in hospitalized children. *The Journal of pediatrics* 2013; 163(3): 911-13.
48. **Romero-Gómez MP, et al.** *Immunochromatographic* test for detection of adenovirus from respiratory samples: Is it a real solution for pediatric emergency department? *Journal of virological methods* 2014; 195: 236-39.

49. **Lorrot M, et al.** Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children: prospective survey during a 2-year period in a Parisian hospital, France. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* 2011; 30(3): 361-68.
50. **Bon F, et al.** Évaluation de sept réactifs d'immunochromatographie pour détecter les rotavirus humains dans les selles. *Pathologie Biologie* 2007; 55(3):149-53.
51. **Rovida F, et al.** Comparison of immunologic and molecular assays for the diagnosis of gastrointestinal viral infections. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2013; 75(1): p. 110-11.
52. **Bruggink LD, Catton MG, Marshall JA.** Evaluation of the Bioline Standard Diagnostics SD immunochromatographic norovirus detection kit using fecal specimens from Australian gastroenteritis incidents. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2013. 76(2): 147-52.
53. **Dussart P, R Cesaire, A Sall.** Dengue, fièvre jaune et autres arboviroses. *EMC Maladies infectieuses* 2012; 9(2): 1-24.
54. **Fagour L, Santamaria C, Cesaire R.** Les tests de diagnostic rapide dans le diagnostic des arboviroses. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 2015(474): 51-62.
55. **Bhatt S, et al.** The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013; 496(7446): 504-7.
56. **Simmons CP, et al.** *Dengue*. *New England Journal of Medicine* 2012; 366(15): 1423-32.
57. **Villar L, et al.** Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in children in Latin America. *New England Journal of Medicine* 2015; 372(2):113-23.
58. **De la Cruz Hernández SI, et al.** Evaluation of a novel commercial rapid test for dengue diagnosis based on specific IgA detection. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 2012; 72(2): 150-55.

59. **Andries A, et al.** Field evaluation and impact on clinical management of a rapid diagnostic kit that detects dengue NS1, IgM and IgG. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(12):e1993.
60. **Fry SR, et al.** The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(6): e1199.
61. **Burt FJ, et al.** Chikungunya: a re-emerging virus. *The Lancet* 2012; 379(9816): 662-671.
62. **Cassadou S, et al.** Emergence of chikungunya fever on the French side of Saint Martin island, October to December 2013. *Euro Surveill* 2014; 19(13): pii20752.
63. **Prat CM, et al.** Evaluation of commercially available serologic diagnostic tests for chikungunya virus. *Emerging infectious diseases* 2014; 20(12):2129.
64. **Kosasih H, et al.** Evaluation of two IgM rapid immunochromatographic tests during circulation of Asian lineage Chikungunya virus. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 2012; 43(1): 55.
65. **Petersen LR, Brault AC, Nasci RS.** West Nile virus: review of the literature. *Jama* 2013; 310(3): 308-15.
66. **Hobson-Peters J.** Approaches for the development of rapid serological assays for surveillance and diagnosis of infections caused by zoonotic flaviviruses of the Japanese encephalitis virus serocomplex. *BioMed Research International* 2012 ; 2012.
67. **Marcadé G.** Tests de diagnostic rapide en bactériologie. *Immuno-analyse & Biologie* 2013 ; 28(4): 167-73.
68. **Lavigne JP, et al.** Rapid detection of multidrug resistant Gram-negative bacilli by Cica-Beta-Test strips. *Pathologie Biologie* 2011; 59(1): 7-11.
69. **Nordmann P.** Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Disease journal* 2012; 18(9).

70. **Floch P, et al.** Evaluation of the positive predictive value of a rapid immunochromatographic test to detect *Campylobacter* in stools. *Gut pathogens* 2012; 4(1): 17.
71. **Jamilloux Y, et al.** *Legionella*. *Medecine sciences* 2011 ; 28(6-7): 639-45.
72. **Martin A, et al.** Evaluation of the TB Ag MPT64 Rapid test for the identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* 2011; 15(5): 703-5.
73. **Nonhoff C, et al.** Evaluation of Clearview Exact PBP2a, a new immunochromatographic assay, for detection of low-level methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*LL-MRSA*). *Journal of clinical microbiology* 2012; 50(10): 3359-60.
74. **Park JS, et al.** Usefulness of a rapid real-time PCR assay in prenatal screening for group B streptococcus colonization. *Annals of laboratory medicine* 2013; 33(1):39-44.
75. **Ignatyeva O, et al.** Detection of resistance to second-line antituberculosis drugs by use of the genotype MTBDRsl assay: a multicenter evaluation and feasibility study. *Journal of clinical microbiology* 2012 ; 50(5): 1593-97.
76. **Martiny D, Vandenberg O.** Exploitation de la spectrométrie de masse en microbiologie: une révolution. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 2012; 27(4): 177-84.
77. **Denis F, et al.** *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences 2011
78. **Bouskraoui M, et al.** Étude du portage rhinopharyngé de *Streptococcus pneumoniae* et de sa sensibilité aux antibiotiques chez les enfants en bonne santé âgés de moins de 2ans dans la région de Marrakech (Maroc). *Archives de pédiatrie* 2011; 18(12): 1265-70.
79. **Biance-Valero E, Soullié B, Koeck JL.** Les tests de diagnostic rapide et pathologies à pneumocoque et *Legionella*. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 2015(474): 77-82.
80. **Campese C, et al.** Progress in the surveillance and control of *Legionella* infection in France, 1998–2008. *International Journal of Infectious Diseases* 2011; 15(1): 30-7.

81. Legionellose Juillet 2012.pdf/ www.ansm.sante.fr. 2012.
82. **Astier-Théfenne H, et al.** Tests de diagnostic rapide et grandes endémies bactériennes. *Revue Francophone des Laboratoires* 2015; 2015(474): 63-75
83. **Borel T, et al.,** High sensitivity and specificity of the Pastorex® latex agglutination test for *Neisseria meningitidis* serogroup A during a clinical trial in Niger. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2006; 100(10): 964-69.
84. **Rose AM, et al.** Meningitis dipstick rapid test: evaluating diagnostic performance during an urban *Neisseria meningitidis* serogroup A outbreak Burkina Faso 2007. *PLoS One* 2010; 5(6): e11086.
85. **Rose AM, et al.** Field evaluation of two rapid diagnostic tests for *Neisseria meningitidis* serogroup A during the 2006 outbreak in Niger. *PLoS One* 2009; 4(10): e7326.
86. **World Health Organization (WHO).** Cholera fact sheet. [cité 27 mars 2015]. Disponible sur : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/en/>.
87. **Ali M,et al.** The global burden of cholera.*Bulletin of the World Health Organization* 2012; 90(3): 209-18.
88. **Organisation mondiale de la santé,** Section d'hygiène du secrétariat de la Société des Nations. Choléra, *Wkly Epidemiol Rec* 2015; 89(31):345-55.
89. **Barzilay EJ, et al.** Cholera surveillance during the Haiti epidemic: the first 2 years. *New England Journal of Medicine* 2013; 368(7): 599-609.
90. **Dick MH, et al.** Review of two decades of cholera diagnostics: how far have we really come? *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(10): e1845.
91. **George CM, et al.** Evaluation of enrichment method for the detection of *Vibrio cholerae* O1 using a rapid dipstick test in Bangladesh. *Tropical Medicine & International Health* 2014; 19(3): 301-7.
92. Centers for disease control and prevention (CDC). rapid diagnostic test for cholera. *Global disease detection (GDD) Manual [Internet].* [cité 26 mars 2015]. p. 50.

93. **Melton-Celsa A.** Shiga toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology spectrum* 2014; 2(2).
94. **Zaidi MB, and Estrada-García T.** Shigella: a highly virulent and elusive pathogen. *Current tropical medicine reports* 2014; 1(2): 81-7.
95. **Duran C, et al.** Rapid diagnosis of diarrhea caused by *Shigella sonnei* using dipsticks; comparison of rectal swabs, direct stool and stool culture. *PloS one* 2013; 8(11): e80267.
96. **Liu B, et al.** Structure and genetics of *Shigella O* antigens. *FEMS microbiology reviews* 2008; 32(4): 627-53.
97. **Taneja N, et al.** Dipstick test for rapid diagnosis of *Shigella dysenteriae* 1 in bacterial cultures and its potential use on stool samples. *PloS one* 2011; 6(10): e24830.
98. **Boone JT, Dandro AS, et al.** A new rapid immunoassay for the direct detection of Shiga toxin producing *E. coli* in feces: Evaluation of the Shiga toxin Quik Chek; 2012.



## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruite 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 publique, 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 la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne 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 méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

## أقسم بالله العظيم

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفيًا لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبداً في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ 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

جامعة محمد الخامس – الرباط  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 80

سنة : 2017

## اختبارات التشخيص السريع وتطبيقاتها في تشخيص الأمراض المعدية

### أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرفه

**السيد: علي ونصف**

المزاد في: 11 ماي 1991 بتزيت

صيدلاني داخلي بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

### لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

**الكلمات الأساسية:** اختبارات التشخيص السريع – تطبيق – الأمراض المعدية –  
الحساسية – النوعية.

### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: ميمون زوهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيد: ياسين سخسوخ

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: سكيينة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

أعضاء

السيدة: مريم الشادلي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: منى نزيه

أستاذة في علم الدم