

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

ANNEE: 2013

THESE N°: 137

QUANTIFERON
MYTHE OU REALITE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mme. Hanane EL OUARDI

Née le 08 Décembre 1986 à Rabat

Médecin Interne du CHU Ibn Sina Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: Interféron-gamma – Intradermoréaction à la tuberculine –

Mycobacterium tuberculosis – Quantiféron.

JURY

Mr. I. ABDERRAHMANI RHORFI

Professeur de Pneumo-phtisiologie

PRESIDENT

Mme. S. EL HAMZAOU

Professeur de Microbiologie

RAPPORTEUR

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. N. MESSAOUDI

Professeur d'Hématologie

Mme. F. JABOURIK

Professeur de Pédiatrie

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

اللَّهُ
صَدِّقُ
الْعَظِيمِ

سورة البقرة: الآية 32





UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
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 par intérim : Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mars, Avril et Septembre 1980

1.

Mai et Octobre 1981

2. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
3. Pr. TAOBANE Hamid*

Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

4. Pr. ABROUQ Ali*
5. Pr. BENSOUHA Mohamed
6. Pr. BENOSMAN Abdellatif
7. Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI

Oto-Rhino-Laryngologie
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

8. Pr. BELLAKHDAR Fouad
9. Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI

Neurochirurgie
Rhumatologie

Décembre 1984

10. Pr. BOUCETTA Mohamed*
11. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil

Neurochirurgie
Radiothérapie

12. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
13. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
14. Pr. SETTAF Abdellatif

Novembre et Décembre 1985

15. Pr. BENJELLOUN Halima
16. Pr. BENS Aid Younes
17. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
18. Pr. IRAQI Ghali
- 19.

Janvier, Février et Décembre 1987

20. Pr. AJANA Ali
21. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
22. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
23. Pr. EL HAITEM Naïma
24. Pr. EL YAACOUBI Moradh
25. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
26. Pr. LACHKAR Hassan
27. Pr. YAHYA OUI Mohamed

Décembre 1988

28. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
29. Pr. DAFIRI Rachida
30. Pr. HERMAS Mohamed
31. Pr. TOLOUNE Farida*

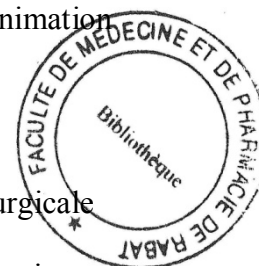
Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

32. Pr. ADNAOUI Mohamed
33. Pr. AOUNI Mohamed
34. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
35. Pr. CHAD Bouziane
36. Pr. CHKOFF Rachid
37. Pr. HACHIM Mohammed*
38. Pr. KHARBACH Aïcha
39. Pr. MANSOURI Fatima
40. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
41. Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

42. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
43. Pr. AZZOUZI Abderrahim
44. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
45. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
46. Pr. BENABDELLAH Chahrazad

Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Chirurgie



Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Pneumo-phtisiologie

Radiologie
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

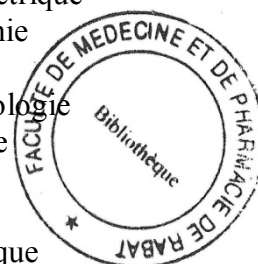
Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

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

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie

47. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
48. Pr. BENSOUDA Yahia
49. Pr. BERRAHO Amina
50. Pr. BEZZAD Rachid
51. Pr. CHABRAOUI Layachi
52. Pr. CHERRAH Yahia
53. Pr. CHOKAIRI Omar
54. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
55. Pr. KHATTAB Mohamed
56. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
57. Pr. TAOUFIK Jamal

Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Pharmacologie
Chimie thérapeutique



Décembre 1992

58. Pr. AHALLAT Mohamed
59. Pr. BENSOUDA Adil
60. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
61. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
62. Pr. CHRAIBI Chafiq
63. Pr. DAOUDI Rajae
64. Pr. DEHAYNI Mohamed*
65. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
66. Pr. FELLAT Rokaya
67. Pr. GHAFIR Driss*
68. Pr. JIDDANE Mohamed
69. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
70. Pr. TAGHY Ahmed
71. Pr. ZOUHDI Mimoun

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

Mars 1994

72. Pr. AGNAOU Lahcen
73. Pr. BENCHERIFA Fatiha
74. Pr. BENJAAFAR Noureddine
75. Pr. BENJELLOUN Samir
76. Pr. BEN RAIS Nozha
77. Pr. CAOUI Malika
78. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
79. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
80. Pr. EL AOUAD Rajae
81. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
82. Pr. EL HASSANI My Rachid
83. Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur
84. Pr. ERROUGANI Abdelkader
85. Pr. ESSAKALI Malika
86. Pr. ETTAYEBI Fouad

Ophtalmologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique

87. Pr. HADRI Larbi*
88. Pr. HASSAM Badredine
89. Pr. IFRINE Lahssan
90. Pr. JELTHI Ahmed
91. Pr. MAHFOUD Mustapha
92. Pr. MOUDENE Ahmed*
93. Pr. OULBACHA Said
94. Pr. RHRAB Brahim
95. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
- 96.

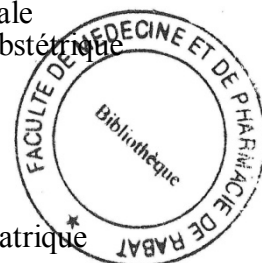
Mars 1994

97. Pr. ABBAR Mohamed*
98. Pr. ABDELHAK M'barek
99. Pr. BELAIDI Halima
100. Pr. BRAHMI Rida Slimane
101. Pr. BENTAHILA Abdelali
102. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
103. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
104. Pr. CHAMI Ilham
105. Pr. CHERKAoui Lalla Ouafae
106. Pr. EL ABBADI Najia
107. Pr. HANINE Ahmed*
108. Pr. JALIL Abdelouahed
109. Pr. LAKHDAR Amina
110. Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

111. Pr. ABOUQUAL Redouane
112. Pr. AMRAoui Mohamed
113. Pr. BAIDADA Abdelaziz
114. Pr. BARGACH Samir
115. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
116. Pr. CHAARI Jilali*
117. Pr. DIMOU M'barek*
118. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
119. Pr. EL MESNAoui Abbas
120. Pr. ESSAKALI HOUSSEINI Leila
121. Pr. FERHATI Driss
122. Pr. HASSOUNI Fadil
123. Pr. HDA Abdelhamid*
124. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
125. Pr. IBRAHIMY Wafaa
126. Pr. MANSOURI Aziz
127. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
128. Pr. SEFIANI Abdelaziz
129. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

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



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

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

Décembre 1996

- 130. Pr. AMIL Touriya*
- 131. Pr. BELKACEM Rachid
- 132. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
- 133. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
- 134. Pr. GAOUZI Ahmed
- 135. Pr. MAHFOUDI M'barek*
- 136. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
- 137. Pr. MOHAMMADI Mohamed
- 138. Pr. MOULINE Soumaya
- 139. Pr. OUADGHIRI Mohamed
- 140. Pr. OUZEDDOUN Naima
- 141. Pr. ZBIR EL Mehdi*

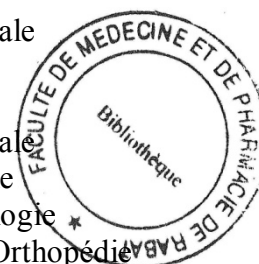
Novembre 1997

- 142. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
- 143. Pr. BEN AMAR Abdesselem
- 144. Pr. BEN SLIMANE Lounis
- 145. Pr. BIROUK Nazha
- 146. Pr. CHAOUIR Souad*
- 147. Pr. DERRAZ Said
- 148. Pr. ERREIMI Naima
- 149. Pr. FELLAT Nadia
- 150. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
- 151. Pr. HAIMEUR Charki*
- 152. Pr. KADDOURI Noureddine
- 153. Pr. KOUTANI Abdellatif
- 154. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
- 155. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
- 156. Pr. NAZI M'barek*
- 157. Pr. OUAHABI Hamid*
- 158. Pr. TAOUFIQ Jallal
- 159. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

- 160. Pr. AFIFI RAJAA
- 161. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
- 162. Pr. ALOUANE Mohammed*
- 163. Pr. BENOMAR ALI
- 164. Pr. BOUGTAB Abdesslam
- 165. Pr. ER RIHANI Hassan
- 166. Pr. EZZAITOUNI Fatima
- 167. Pr. LAZRAK Khalid *

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie



Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

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

Novembre 1998

- 168. Pr. BENKIRANE Majid*
- 169. Pr. KHATOURI ALI*
- 170. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

- 171. Pr. ABID Ahmed*
- 172. Pr. AIT OUMAR Hassan
- 173. Pr. BENCHERIF My Zahid
- 174. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
- 175. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
- 176. Pr. CHAOUI Zineb
- 177. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
- 178. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
- 179. Pr. EL FTOUH Mustapha
- 180. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
- 181. Pr. EL OTMANY Azzedine
- 182. Pr. HAMMANI Lahcen
- 183. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
- 184. Pr. ISMAILI Hassane*
- 185. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
- 186. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
- 187. Pr. TACHINANTE Rajae
- 188. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

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



Novembre 2000

- 189. Pr. AIDI Saadia
- 190. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
- 191. Pr. AJANA Fatima Zohra
- 192. Pr. BENAMR Said
- 193. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
- 194. Pr. CHERTI Mohammed
- 195. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
- 196. Pr. EL HASSANI Amine
- 197. Pr. EL IDGHIRI Hassan
- 198. Pr. EL KHADER Khalid
- 199. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
- 200. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
- 201. Pr. HSSAIDA Rachid*
- 202. Pr. LAHLOU Abdou
- 203. Pr. MAFTAH Mohamed*
- 204. Pr. MAHASSINI Najat
- 205. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
- 206. Pr. NASSIH Mohamed*
- 207. Pr. ROUIMI Abdelhadi

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

Décembre 2001

208. Pr. ABABOU Adil
209. Pr. BALKHI Hicham*
210. Pr. BELMEKKI Mohammed
211. Pr. BENABDELJIL Maria
212. Pr. BENAMAR Loubna
213. Pr. BENAMOR Jouda
214. Pr. BENELBARHDADI Imane
215. Pr. BENNANI Rajae
216. Pr. BENOUACHANE Thami
217. Pr. BENYOUSSEF Khalil
218. Pr. BERRADA Rachid
219. Pr. BEZZA Ahmed*
220. Pr. BOUCHIKHI IDRIS Med Larbi
221. Pr. BOUHOUC Rachida
222. Pr. BOUMDIN El Hassane*
223. Pr. CHAT Latifa
224. Pr. CHELLAOUI Mounia
225. Pr. DAALI Mustapha*
226. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
227. Pr. EL HAJOUJI Ghziel Samira
228. Pr. EL HIJRI Ahmed
229. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
230. Pr. EL MADHI Tarik
231. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
232. Pr. EL OUNANI Mohamed
233. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
234. Pr. ETTAIR Said
235. Pr. GAZZAZ Miloudi*
236. Pr. GOURINDA Hassan
237. Pr. HRORA Abdelmalek
238. Pr. KABBAJ Saad
239. Pr. KABIRI EL Hassane*
240. Pr. LAMRANI Moulay Omar
241. Pr. LEKEHAL Brahim
242. Pr. MAHASSIN Fattouma*
243. Pr. MEDARHRI Jalil
244. Pr. MIKDAME Mohammed*
245. Pr. MOHSINE Raouf
246. Pr. NOUINI Yassine
247. Pr. SABBAH Farid
248. Pr. SEFIANI Yasser
249. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

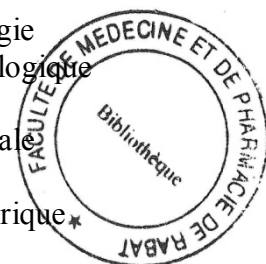
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique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



Décembre 2002

- 250. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
- 251. Pr. AMEUR Ahmed *
- 252. Pr. AMRI Rachida
- 253. Pr. AOURARH Aziz*
- 254. Pr. BAMOU Youssef *
- 255. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
- 256. Pr. BENBOUAZZA Karima
- 257. Pr. BENZEKRI Laila
- 258. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
- 259. Pr. BERNOUSSI Zakiya
- 260. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
- 261. Pr. CHOHO Abdelkrim *
- 262. Pr. CHKIRATE Bouchra
- 263. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
- 264. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
- 265. Pr. EL BARNOUSSI Leila
- 266. Pr. EL HAOURI Mohamed *
- 267. Pr. EL MANSARI Omar*
- 268. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
- 269. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
- 270. Pr. HADDOUR Leila
- 271. Pr. HAJJI Zakia
- 272. Pr. IKEN Ali
- 273. Pr. ISMAEL Farid
- 274. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
- 275. Pr. KRIOUILE Yamina
- 276. Pr. LAGHMARI Mina
- 277. Pr. MABROUK Hfid*
- 278. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
- 279. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
- 280. Pr. MOUSTAINE My Rachid
- 281. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
- 282. Pr. OUJILAL Abdelilah
- 283. Pr. RACHID Khalid *
- 284. Pr. RAISS Mohamed
- 285. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
- 286. Pr. RHOU Hakima
- 287. Pr. SIAH Samir *
- 288. Pr. THIMOU Amal
- 289. Pr. ZENTAR Aziz*

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

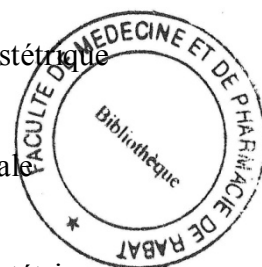


PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

- 290. Pr. ABDELLAH El Hassan
- 291. Pr. AMRANI Mariam
- 292. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
- 293. Pr. BENKIRANE Ahmed*
- 294. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
- 295. Pr. BOULAADAS Malik
- 296. Pr. BOURAZZA Ahmed*
- 297. Pr. CHAGAR Belkacem*
- 298. Pr. CHERRADI Nadia
- 299. Pr. EL FENNI Jamal*
- 300. Pr. EL HANCHI ZAKI
- 301. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
- 302. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
- 303. Pr. HACHI Hafid
- 304. Pr. JABOUIRIK Fatima
- 305. Pr. KARMANE Abdelouahed
- 306. Pr. KHABOUZE Samira
- 307. Pr. KHARMAZ Mohamed
- 308. Pr. LEZREK Mohammed*
- 309. Pr. MOUGHIL Said
- 310. Pr. SASSENOU ISMAIL*
- 311. Pr. TARIB Abdelilah*
- 312. Pr. TIJAMI Fouad
- 313. Pr. ZARZUR Jamila

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



Janvier 2005

- 314. Pr. ABBASSI Abdellah
- 315. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
- 316. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
- 317. Pr. ALLALI Fadoua
- 318. Pr. AMAZOUZI Abdellah
- 319. Pr. AZIZ Noureddine*
- 320. Pr. BAHIRI Rachid
- 321. Pr. BARKAT Amina
- 322. Pr. BENHALIMA Hanane
- 323. Pr. BENHARBIT Mohamed
- 324. Pr. BENYASS Aatif
- 325. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
- 326. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
- 327. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
- 328. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
- 329. Pr. HAJJI Leila

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

330. Pr. HESSISSEN Leila
331. Pr. JIDAL Mohamed*
332. Pr. KARIM Abdelouahed
333. Pr. KENDOSSI Mohamed*
334. Pr. LAAROUSSI Mohamed
335. Pr. LYAGOUBI Mohammed
336. Pr. NIAMANE Radouane*
337. Pr. RAGALA Abdelhak
338. Pr. SBIHI Souad
339. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
340. Pr. ZERAIDI Najia

AVRIL 2006

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

Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique

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



456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458.
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra *
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq *
 473. Pr. GHARIB Nouredine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab
 477. Pr. RABHI Monsef *
 478. Pr. MRABET Mustapha *
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
 480. Pr. SEFFAR Myriame
 481. Pr. LOUZI Lhousain *
 482. Pr. MRANI Saad *
 483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra
 490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *
 492. Pr. ACHACHI Leila
 493. Pr. MARC Karima
 494. Pr. BENZIANE Hamid *
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual *
 496. Pr. EL OMARI Fatima

Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique
 Médecine interne
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Virologie
 Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie
 Pneumo phtisiologie
 Pneumo phtisiologie
 Pharmacie clinique
 Pharmacie galénique
 Psychiatrie



497. Pr. MAHI Mohamed *
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib*
 499. Pr. KEBDANI Tayeb
 500. Pr. SIFAT Hassan *
 501. Pr. HADADI Khalid *
 502. Pr. ABIDI Khalid
 503. Pr. MADANI Naoufel
 504. Pr. TANANE Mansour *
 505. Pr. AMHAJJI Larbi *

Radiologie
 Radiologie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Réanimation médicale
 Réanimation médicale
 Traumatologie orthopédie
 Traumatologie orthopédie

Décembre 2008

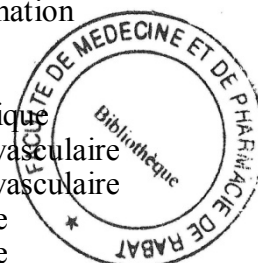
Pr TAHIRI My El Hassan*
 Pr ZOUBIR Mohamed*

Chirurgie Générale
 Anesthésie Réanimation

Mars 2009

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

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



Pr. BASSOU Driss *
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. KADI Said *

Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Rhumatologie
 Traumatologie orthopédique
 Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

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

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

Mai 2012

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

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



ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES **PROFESSEURS**

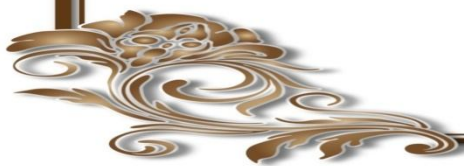
1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI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

*** *Enseignants Militaires***



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

Dédicaces



À ceux qui me sont les plus chers

À ceux qui ont toujours cru en moi

À ceux qui m'ont toujours encouragé

✍ Je dédie cette thèse à ... ✨

A ma chère mère

MOUJAHID M'BARKA

Pour l'affection, la tendresse et l'amour

dont tu m'a toujours entouré,

Pour le sacrifice et le dévouement dont tu as toujours fait preuve,

Pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.

*Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds
d'amour, de respect et de reconnaissance.*

Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers toi.

Puisse le grand puissant te donner

bonne santé et longue vie...



A mon cher père

EL OUARDI TAHAR

Tu m'as toujours incité à étudier et à aller de l'avant.

Grâce à ta bienveillance,

à ton encouragement et à ta générosité,

J'ai pu terminer mes études dans l'enthousiasme.

*Toutes les encres du monde ne me suffisent
pour t'exprimer mon immense gratitude.*

Que ce travail puisse être le résultat de tes efforts et de tes sacrifices.

Puisse le bon dieu te protéger et t'accorder longue vie.



A Mon Adorable et tendre Epoux

Dr. EL KASSIMI ILYAS

*Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments
les plus profonds envers toi.*

*Tes sacrifices, ton soutien, ta gentillesse sans égale,
ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.*

*Je t'assure que sans ton aide,
tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.*

*Que ce travail soit le témoignage
de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*



*A ma très chère sœur Nadia,
A mes très chers frères Khalid, Toufik,
Jaouad, Youssef et Tarik*

Vous avoir tous à mes côtés est le baume de mon existence..

*Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour
et de la gratitude pour l'épaule inconditionnelle
que vous représentez pour moi.*

*Je ne saurais exprimer mes sentiments fraternels et chers
que j'éprouve pour vous tous. Que dieu vous protège et consolide
les liens sacrés qui nous unissent.*



*A Mon Oncle El Ouardi M'barek
A ma Tante Fatna ZOUAOUI (Dada)*

Que dieu vous préserve et vous accorde santé et prospérité.

*A ma tante Rachida Moujahid
A mes cousins et cousines :
Si mohamed, Abdillah, Brahim, Badia, Mouna et Fouad
A la mémoire de mes grands parents*

*Je vous dédie ce modeste travail en guise de remerciement pour vos
conseils et encouragements qui m'ont toujours poussé à donner le
meilleur de moi-même.*



A mes beaux parents :

EL KASSIMI ABDESLAM

Et FATIHA BELAFIA

Et mes beaux frères :

Akram et Ziad

A toute la famille EL OUARDI, EL KASSIMI,

MOUJAHID, et HOUMAD

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect

le plus profond et mon affection la plus sincère.

Avec tous mes vœux de bonheur et santé.



A mes cher amis

*Meryem, Kawtar, Roula, Hajar, Ilham, Jamila, Karima,
Issam, Abdeltif, Abdelhadi, Nabil, Yassyne, Hamza ,
Amal, Fatima , Majda, Narjis, Rim et à tous internes
du CHU Ibn Sina surtout la promotion 2011 .*

*Je ne peux trouver les mots justes
et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées,
vous êtes pour moi des frères et sœurs et des amis sur
qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni
et des souvenirs de tous les moments
que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail
et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*



Remerciements



A notre maître et Président de thèse
Mr Ismail ABDERRAHMANI RHORFI,
Professeur de Pneumo-Phtisiologie

Nous vous remercions pour le grand honneur
que vous nous faites en acceptant de présider cette thèse.

Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités
humaines et professionnelles exemplaires ont toujours
suscité notre admiration.

Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre sincère
reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime.



*A notre maître et Rapporteur de thèse
Mme SAKINA EL HAMZAOUI,
Professeur de Microbiologie*

*Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche
d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation.*

*Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil,
malgré vos obligations professionnelles et familiales.*

*Vos encouragements infatigables, votre amabilité,
votre gentillesse méritent toute admiration.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer
notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*



A notre maître et juge de thèse

Mme SAIDA TELLAL,

Professeur de Biochimie

*Permettez nous de vous remercier pour avoir
si gentiment accepté de faire partie de nos juges.*

*En dehors de vos connaissances claires et précises,
dont nous avons bénéficié, vos remarquables qualités
humaines et professionnelles méritent toute admiration
et tout respect.*

*Veuillez trouver ici le témoignage respectueux
de notre reconnaissance et admiration.*



*À notre maître et juge de thèse
Mme NEZHA MESSAOUDI,
Professeur d'Hématologie*

*Vous nous faites l'honneur d'accepter
avec une très grande amabilité de siéger parmi
notre jury de thèse.*

*Veuillez accepter ce travail maître, en gage
de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.*



A notre maître et juge de thèse

Mme FATIMA JABOURIK

Professeur de Pédiatrie

*C'est pour nous un immense plaisir de vous voir siéger
parmi le jury de notre thèse. Nous avons toujours
été impressionnés par vos qualités humaines et professionnelles.*

*Veuillez agréer, cher maître, nos dévouements
et notre éternelle reconnaissance.*



Sommaire

I- INTRODUCTION :	2
II- <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> :	6
III- HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION TUBERCULEUSE :	11
IV- LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION TUBERCULEUSE PAR LES TESTS CUTANES :	18
V- IGRA : HISTORIQUE	23
VI- IGRA : principe, mise en œuvre et interprétation :	27
1. Principe :.....	27
2. Mise en œuvre : (voir annexe)[39]	29
3. Analyse des résultats :.....	40
VII- ETUDES DE VALIDATION DES TESTS IGRA :	47
1. Méthodologie	47
2. Etudes de sensibilité	48
3. Etudes de spécificité.....	48
4. Estimation de la valeur prédictive négative (VPN)	52
5. Estimation de la valeur prédictive négative pour une progression	52
7. Estimation de la valeur prédictive positive pour une progression	53
8. Concordance entre tests et reproductibilité :.....	55
9. Inconnues :.....	56
VIII- INDICATIONS DES IGRA :	58
IX- STRATEGIES DE DEPISTAGE DANS CERTAINES POPULATIONS A RISQUE	61

1-Dans les populations migrantes originaires de pays d'endémie :	61
2 - Chez les patients avant mise sous traitement par anti-TNF alpha :	63
3 - Sujets contacts d'un cas index contagieux :	65
4 - Professionnels de santé et autres professionnels exposés (y compris stagiaires et étudiants) :	71
5 - Personnes infectées par le VIH :	73
6. Enfants :	75
X- AVANTAGES ET LIMITES DES IGRA :	77
1. Avantages :	77
2. Limites	77
3. IGRA versus IDR :	79
4. Caractéristiques communes	80
5- Délai entre IDR et test IGRA	80
XI- RECOMMANDATIONS PUBLIEES CONCERNANT LE BON USAGE DES IGRA :	82
A. Etats-Unis.....	82
B.CANADA :	84
C. Royaume Uni:	85
D. France :	85
C. Cas particulier des Enfants :	86
XII- CONCLUSION	92
ANNEXE	94
RESUMES	110
BIBLIOGRAPHIE	114

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AAP: American Academy of Pediatrics

AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

ANRS : Agence nationale de recherche sur le sida

ARS : Agence régionale de santé

BAAR : Bacille acido-alcool-résistants

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BK : Bacille de Koch

CD4 : Cluster de différenciation 4

CD8 : Cluster de différenciation 8

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CE : Conformité européenne

CFP-10 : Culture filtrate protein 10

CLAT : Centre de lutte anti-tuberculeuse

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CPT : Vacutainer Cell Preparation Tube

CSHPF : Conseil supérieur d'hygiène publique de France

CV : Coefficient de variation

DGS : *Direction générale de la santé*

DO : Densité optique

DosR : Dormancy regulon

DPP :Dérivé protéique purifié

Elisa : Enzyme-linked immunosorbent assay

ELISpot : Enzyme-linked immunospot

ESAT-6: Early secretory antigenic target 6

FDA: Food and Drug Administration

GD : Green Diluent (Diluant vert)

HA : Haute Altitude

HAS : Haute Autorité de santé

HPA : Health Protection Agency

IDR : Intradermoréaction

IFN- γ : Interféron gamma

IGRA: Interféron-gamma-release assays

IL-2 : Interleukine 2

ITBL : Infections tuberculeuses latentes

LBA : lavage broncho-alvéolaire

LCR : Liquide céphalo-rachidien

M. tuberculosis : *Mycobacterium tuberculosis*

MDR : Multirésistance « multidrug resistance »

MNT : Mycobactéries non tuberculeuses

NABM :Nomenclature des Actes de Biologie Médicale

NICE : National Institute for Health and Clinical Excellence

OMS : Organisation mondiale de la Santé

PBMC : Peripheral blood monocuclear cells

PHA : Phytohémagglutinine

PPD :Purified protein derivative

PPD-S : Purified protein derivative standard

QFT GiT : QuantiFERON-TB Gold In Tube

QFT-G : QuantiFERON-TB Gold

RD-1 : Région de différence 1

R-U : Royaume uni

TB7.7 : Tuberculosis 7.7

Th1 : T helper1

TNF α : Facteur de nécrose des tumeurs alpha

UE : Union européenne

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

XDR : Ultra résistance « extensive or extreme drug resistance »

LISTE DES FIGURES

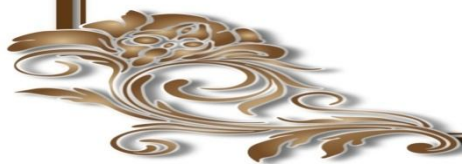
Figure 1 : Présence ou absence de gènes dans la région RD1 des mycobactéries	8
Figure 2 : Immunité antituberculeuse (d'après Hanakom et al. 2007)	12
Figure 3 : Acteurs immunitaires mis en place contre le BK	14
Figure 4 : Histoire naturelle simplifiée de la tuberculose humaine.....	16
Figure 5 : Technique de l'IDR.....	18
Figure 6 : Tests de diagnostic de l'infection tuberculeuse in vivo et in vitro	23
Figure 7 : Principes des tests immunitaires dans l'infection tuberculeuse (IDR à la tuberculine et tests de libération d'interféron).....	28
Figure 8 : Plan recommandé de répartition sur la plaque des échantillons des tubes nuls et antigènes TB du QuantiFERON Gold In Tube.....	100
Figure 9 : Plan recommandé de répartition sur la plaque des échantillons des tubes nuls, antigènes TB, et mitogènes du QuantiFERON Gold In Tube.....	100
Figure 10 : Préparation de la courbe standard pour l'analyse ELISA du QFT GiT.....	101
Figure 11 : Phase préanalytique du test QuantiFERON Gold In Tube	30
Figure 12 : Mise en œuvre du test QuantiFERON Gold In Tube	31
Figure 13 : Mode d'emploi du test QuantiFERON Gold In Tube	32
Figure 14 : Mise en œuvre du test T-Spot-TB : préparation des cellules.....	34
Figure 15 : Mise en œuvre du test T-Spot-TB : révélation des spots.....	35
Figure 16 : Le T-Spot-TB : exemples de sujets témoins et sujets tuberculeux	36

Figure 17 : Principe de la technique ELISpot du T-Spot-TB pour e diagnostic de la tuberculose	37
Figure 18 : mise en œuvre des deux tests IGRA : QuantiFERON Gold In Tube et T-Spot-TB	39
Figure 19 : schéma d'interprétation possible des tests d'infection tuberculeuse...	43
Figure 20 : résultats indéterminés des tests IGRA chez la population saine et immunodéprimée	44
Figure 21 : Sensibilité des tests IGRA pour la détection de la tuberculose active en comparaison avec l'IDR	50
Figure 22 : Spécificité des tests IGRA pour la détection de la tuberculose active en comparaison avec l'IDR chez les personnes vaccinés ou non par le BCG.....	51
Figure 23 : Algorithme de l'enquête d'entourage d'un cas de tuberculose.....	70

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Spécificité d'ESAT-6, CFP-10 et TB 7.7.....	9
Tableau 2 : Interprétation de l'IDR selon le statut vaccinal et l'état d'immunodépression	21
Tableau 3 : Préparation du conjugué pour l'analyse ELISA du QFT GiT	102
Tableau 4 : Tableau d'interprétation du QFT GIT	107
Tableau 5 : Corrélation entre un résultat indéterminé et le statut immunitaire	45
Tableau 6 : Performances diagnostiques des tests IGRA en comparaison avec l'IDR	54
Tableau 7 : Comparaison des deux tests IGRA avec l'intradermoréaction.....	79
Tableau 8 : Recommandations internationales pour le dépistage de l'ITBL chez l'adulte	87
Tableau 9 : Recommandations internationales pour le dépistage de l'infection tuberculeuse chez l'enfant	90
Tableau 10 : Tests IGRA et diagnostic de tuberculose maladie	91

Introduction



I- INTRODUCTION :

La tuberculose est l'une des plus sérieuses menaces sanitaires mondiales, avec deux millions de décès et plus de huit millions de nouveaux cas par an [1,2], C'est la première cause de morbidité _ plus d'un tiers de la population mondiale, estimation fondée sur les résultats des tests cutanés à la tuberculine_ et de mortalité infectieuse [3].

La maladie intéresse principalement les adultes jeunes (15-45 ans), tranche d'âge potentiellement active.

Dans les pays développés, grâce à une politique de prévention structurée, associant vaccination par le bacille de Calmette et Guérin (BCG), réseaux de surveillance et chimiothérapie antituberculeuse, l'incidence de la maladie a diminué au vingtième siècle à partir des années cinquante. Cependant, elle a réaugmenté au début des années quatre-vingt lors de l'explosion de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), atteignant une phase de plateau au milieu des années quatre-vingt dix [4].

La co-infection par le VIH, la malnutrition, l'insalubrité et la promiscuité sont autant de facteurs aggravants l'épidémie. Il faut y ajouter l'apparition dans les années 1990 d'une multirésistance (MDR pour « multidrug resistance») de certaines souches aux antibiotiques anti-mycobactériens due à des mutations que désormais la biologie moléculaire peut identifier plus rapidement que ne le font les cultures classiques [5, 6]. Depuis 2005, cette résistance a franchi un pallier et on parle désormais de souche XDR (pour « extensive or

extreme drug resistance » ou ultra résistance) : il s'agit de souches résistantes non seulement à l'isoniazide et à la rifampicine, mais aussi aux fluoroquinolones et à au moins un des antibiotiques injectables suivants : capréomycine, kanamycine et amikacine. Elles sont retrouvées, principalement en Afrique mais aussi en Asie, par foyers épidémiques chez des sujets co-infectés par le VIH, avec une mortalité proche de 100 % [7, 8].

Les sujets au contact d'un patient infecté par *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) vont développer une réponse immunitaire. Ce n'est qu'au bout d'un délai plus ou moins variable (mois ou année selon le statut immunitaire de l'individu) qu'environ 10 % développeront une tuberculose maladie avec une probabilité maximale dans les deux premières années [9]. Différents facteurs influencent cette progression : l'âge, le sexe, les statuts immunitaire et nutritionnel, le diabète et le tabac [1,10].

La prise en charge de la maladie tuberculeuse dans une perspective de santé publique dépend de l'incidence de la maladie dans la population. En pays de forte endémie, qui sont souvent aussi des zones de moindre développement des structures sanitaires, la priorité est à la détection et au traitement des sujets bacillifères. La situation est différente dans les pays de faible incidence, qui, le plus souvent, bénéficient de structures sanitaires fonctionnelles : la priorité est à la détection des infections tuberculeuses latentes (ITBL) qu'un traitement adapté doit stopper dans leur progression potentielle ultérieure vers une tuberculose maladie. Le dépistage peut se concentrer sur des populations à risque [10], telles que les détenus, les professionnels de santé ou les immigrants en provenance de pays à forte

incidence de tuberculose, ces derniers ayant un risque de développer la maladie multiplié par un facteur de 9,5 [11]. Depuis près d'un siècle, ce dépistage repose sur les tests cutanés à la tuberculine, qui souffrent de certaines imperfections, faible spécificité chez les sujets vaccinés par le BCG et faible sensibilité chez les sujets immunodéprimés [12]. Avec une meilleure compréhension de la réponse immunitaire cellulaire anti-mycobactéries, de nouveaux tests de quantification de la libération d'interféron gamma (IFN- γ) par les lymphocytes T sensibilisés sont apparus depuis quelques années, ce sont les Interféron-gamma-release assays (IGRA).

L'objectif de notre étude est d'une part analyser l'apport des IGRA dans le dépistage et éventuellement le diagnostic de la tuberculose et d'autre part maîtriser leur mise en œuvre.

*Mycobacterium
Tuberculosis*



II- MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS :

Le complexe *tuberculosis* comprend *M. tuberculosis* (ou bacille de Koch [BK]), *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canetti* et *Mycobacterium microti* [13]. Les principales caractéristiques de ces bactéries sont [14] :

- bacille acido-alcool-résistants (BAAR) ;
- aérobie stricte, expliquant le tropisme pulmonaire ;
- croissance aux températures modérées (25 – 41 °C) ;
- absence de spores ;
- pathogène intracellulaire obligatoire qui infecte les macrophages et est capable d'y survivre à l'état quiescent, réplcatif ou non. Parmi les 4000 gènes de *M. tuberculosis*, dont 48 identifiés, ils sont regroupés dans une région appelée DosR (pour dormancy regulon), activement transcrits au cours de l'ITBL et favorisant la survie intracellulaire [9] ;
- croissance lente (temps de dédoublement de 12 à 20 heures), d'où la lenteur des lectures aux milieux solides

A noter que dans chaque population de mycobactéries, il existe des mutants résistants naturels par exemple : vis-à-vis de l'isoniazide, il existe 1.10^{-6} de mutants résistants, alors que pour la rifampicine il en existe 1.10^{-7} , d'où la nécessité d'associer les antibacillaires.

Dans les années quatre-vingt dix, le séquençage du génome de *M. tuberculosis* a permis d'identifier plusieurs régions, baptisées régions de différence (de RD-1 à RD-16) [15] qui sont délétées dans la plupart des autres mycobactéries, notamment le BCG et les mycobactéries atypiques. En ce qui concerne la région RD-1, pour le BCG, cette délétion est la conséquence des repiquages de la souche de *M. bovis* ayant conduit à l'atténuation de la virulence [1].

Trois protéines d'intérêt y sont codées : early secretory antigenic target 6 (ESAT-6), culture filtrate protein 10 (CFP-10), et tuberculosis 7.7 (TB7.7). ESAT-6 et CFP-10 sont sécrétées par les mycobactéries qui se répliquent *in vitro* et *in vivo* [8]. Ces protéines sont les cibles des lymphocytes T CD4 (cluster de différenciation 4) et Th1(T helper1) [12].

Elles sont absentes des souches de *M. bovis* BCG et de la plupart des mycobactéries atypiques, à l'exception de *M. kansasii*, *M. marinum* et *M. szulgai* (tableau 1 et figure 1) [16]. En pratique, seule la première peut poser des problèmes de diagnostic différentiel compte tenu du tableau clinique particulier de *M. marinum* et la très faible incidence de *M. szulgai* [17]. Il est à noter que *M. leprae* possède une protéine homologue d'ESAT-6, source de possible réaction croisée [18].

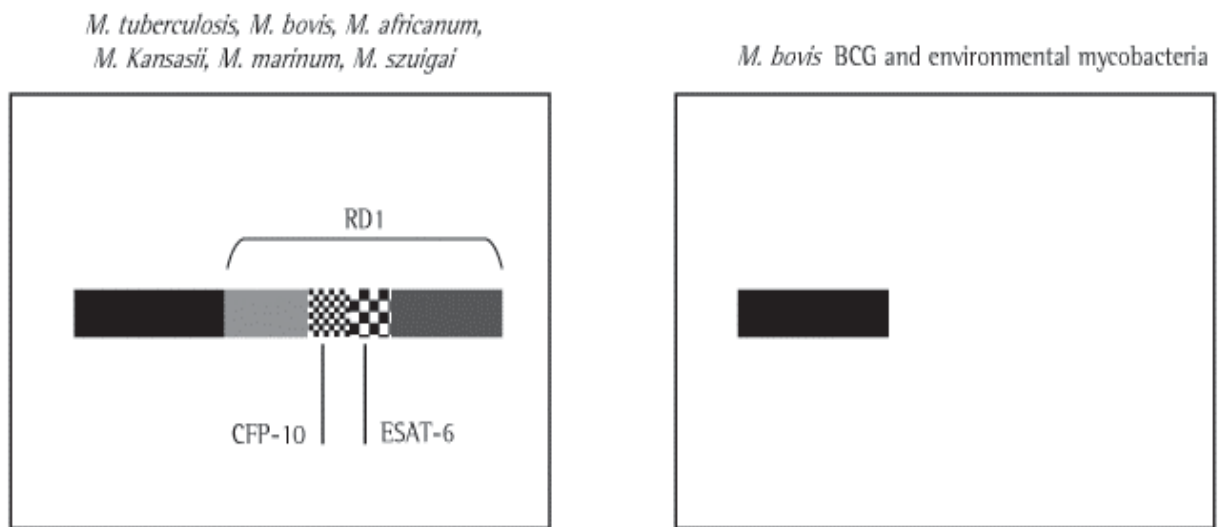


Figure 1 : Présence ou absence de gènes dans la région RD1 des mycobactéries. [16]

CFP-10 : Culture filtrate protein 10

ESAT-6: Early secretory antigenic target 6

RD-1 : Région de différence 1

Complex Tuberculosis	Antigènes			Mycobactéries non -TB	Antigènes		
	ESAT	CFP	TB-7.7		ESAT	CFP	TB-7.7
M tuberculosis	+	+	+	M abcessus	-	-	-
M africanum	+	+	+	M avium	-	-	-
M bovis	+	+	+	M branderi	-	-	-
Souches BCG				M celatum	-	-	-
				M chelonae	-	-	-
				M fortuitum	-	-	-
				M gordonii	-	-	-
				M intracellulare	-	-	-
				M kansasii	+	+	-
				M malmoense	-	-	-
				M marinum	+	+	-
				M oenavense	-	-	-
				M scrofulaceum	-	-	-
				M smegmatis	-	-	-
				M szulgai	+	+	-
gothenburg	-	-	-	M terrae	-	-	-
moreau	-	-	-	M vaccae	-	-	-
tice	-	-	-	M xenopi	-	-	-
tokyo	-	-	-				
danish	-	-	-				
glaxo	-	-	-				
montreal	-	-	-				
pasteur	-	-	-				

Tableau 1 : Spécificité d'ESAT-6, CFP-10 et TB 7.7 [16]

CFP-10 : Culture filtrate protein 10

ESAT-6: Early secretory antigenic target 6

TB7.7 : Tuberculosis 7.7

*Histoire naturelle
de l'infection tuberculeuse*



III- HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION TUBERCULEUSE :

Le devenir d'une infection tuberculeuse dépend de la virulence de *M. tuberculosis* et du statut immunitaire de l'hôte.

Le risque de développer une maladie active après la primo-infection augmente avec le degré d'immunosuppression.

Les mycobactéries sont contenues dans les gouttelettes d'expectoration des patients bacillifères expulsées au cours des efforts de toux ou d'éternuement. Pour peu que le contact soit rapproché, une personne à proximité peut les inhaler. Il se produit une primo-infection, infection aigue asymptomatique et non contagieuse [13]. Après inhalation, les bacilles sont dirigés jusqu'aux alvéoles où ils sont phagocytés par les macrophages alvéolaires. Il s'en suit une réponse immunitaire cellulaire où prédomine les lymphocytes Th1 dont le stade ultime est la formation d'un granulome inflammatoire [14]. Les cellules dendritiques phagocytent les mycobactéries, migrent jusqu'aux ganglions, y présentent les peptides bactériens aux lymphocytes T CD4 naifs, qui après différenciation, retournent dans le poumon orchestrer la réponse anti-infectieuse (figure 2) [19,20].

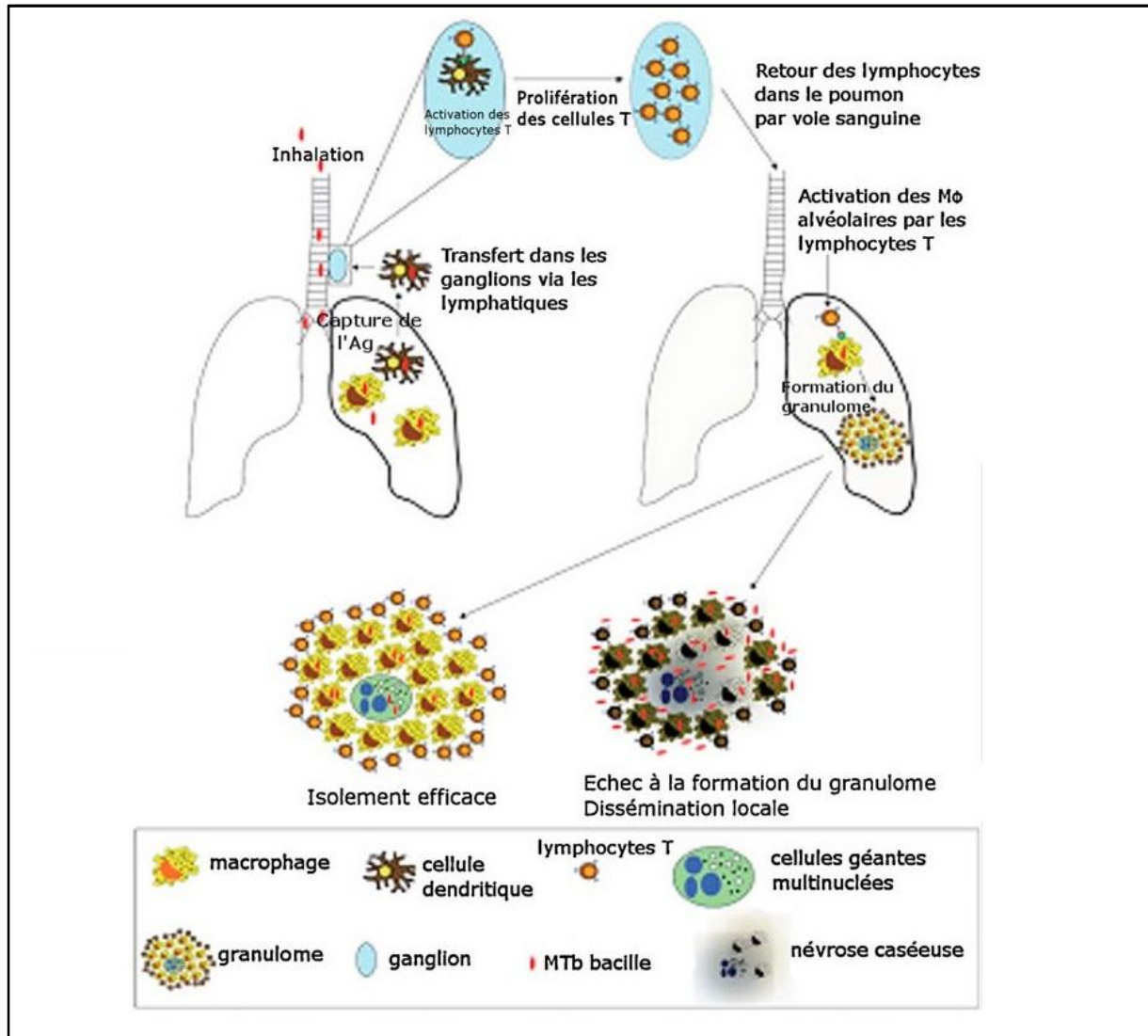


Figure n° 2 : Immunité antituberculeuse (d'après Hanakom et al. 2007) [19,20]

Ag : Antigène

MTB : *Mycobacterium tuberculosis*

On y retrouve les trois types cellulaires indispensables à une réponse protectrice contre le BK : les macrophages, les lymphocytes T CD4 Th1 et les lymphocytes T CD8 (cluster de différenciation 8). Les macrophages phagocytent les mycobactéries et après activation les détruisent. Les lymphocytes T CD4 Th1 sont les principales cellules de la réponse anti-*M. tuberculosis*, et les cytokines majeures sont l'IFN- γ , l'interleukine 2 (IL-2) et le facteur de nécrose des tumeurs alpha (TNF- α). L'IFN- γ a un rôle pivot pour l'activation des macrophages [21]. Les lymphocytes T CD8, capables aussi de produire de l'IFN- γ , ont pour rôle de lyser les macrophages infectés et inefficaces.(figure 3) [22].

Il semblerait que la sensibilité à la survenue de la maladie tuberculeuse et/ou sa sévérité puissent être associées à des polymorphismes isolés ou combinés des promoteurs des gènes soit de l'IFN- γ , soit de son récepteur de type 1 [23].

L'IFN- γ a un rôle paradoxal, en effet Cette cytokine proinflammatoire participe dans le contrôle de l'infection, et aussi à sa propagation. Produite en excès et rappelons que son taux est en corrélation avec la production des protéines ESAT-6 et CFP-10 par les mycobactéries qui prolifèrent_ elle provoque la destruction tissulaire et la cavitation par ses effets immunopathologiques. Autant de facteurs favorisant la dissémination du BK. Tout est donc dans le juste équilibre du taux d'IFN- γ . Dans les modèles animaux c'est la quantité totale de cytokine produite qui est un facteur prédictif de la progression vers la tuberculose maladie et non le nombre de lymphocytes T sensibilisés [9].

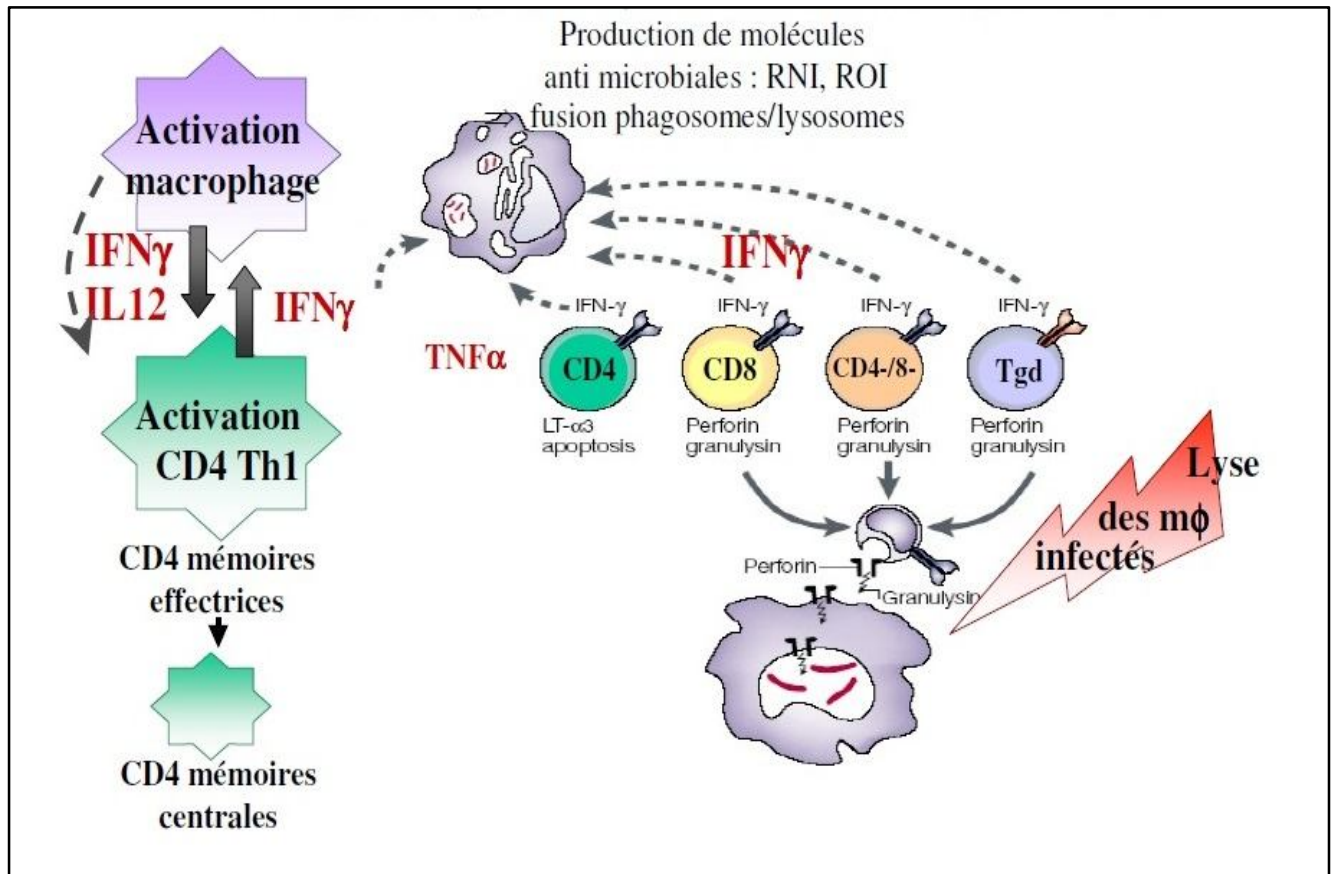


Figure n°3 : Acteurs immunitaires mis en place contre le BK [22]

CD4 : Cluster de différenciation 4

CD8 : Cluster de différenciation 8

IFN- γ : Interféron gamma

IL-12 : Interleukine 12

Th1 : T helper1

TNF α : Facteur de nécrose des tumeurs alpha

m ϕ : macrophages

RNI : reactive nitrogen intermediates

ROI : reactive oxygen intermediates

Tgd : lymphocyte gamma delta

Lors de la primo-infection, et au début de l'ITBL, peu d'antigènes bactériens sont relargués par les macrophages infectés dans le milieu extracellulaire. Ceci explique le faible niveau de la réponse humorale spécifique. Ce n'est qu'à la phase tardive de l'ITBL que peuvent apparaître des anticorps, notamment contre les antigènes de la région DosR [9].

La primo-infection est toujours asymptomatique. Dans 90 % des cas, la réponse immunitaire de l'organisme prévient la prolifération des mycobactéries, mais celles-ci peuvent persister à l'état quiescent dans les macrophages. On parle d'infection tuberculeuse latente. Elle se définit par la positivité des tests cutanés à la tuberculine chez un sujet exposé au BK, mais asymptomatique [12]. L'IDR peut se positiver dès la deuxième semaine après le contage. La tuberculose maladie peut survenir lors d'un deuxième contact avec le BK (réinfection) ou pour toute baisse de l'immunité cellulaire qui favorise le passage à la tuberculose active. Survenant dans 10 % des cas, l'occurrence de cette dernière est majeure dans les deux années qui suivent le contage [2] (figure 4)[24].

Sa localisation en est pulmonaire pour les trois quarts des cas, extra-pulmonaire pour le quart restant, associée ou non à une atteinte pulmonaire [2]. Soupçonné sur des arguments cliniques, radiologiques ou histologiques, le diagnostic de tuberculose maladie repose sur l'isolement et l'identification de *M. tuberculosis* après culture de produits pathologiques (crachats, liquide céphalo-rachidien) [12].

Pour juguler l'épidémie, les priorités sont d'identifier et traiter les tuberculoses maladies, mais aussi les ITBL. Dans les pays de forte prévalence et de faible potentiel économique, l'effort est axé sur la tuberculose-maladie, alors que dans les pays industrialisés de faible prévalence et de fort potentiel économique, c'est l'ITBL qui est la cible prioritaire pour réduire le nombre de passage en forme active [2].

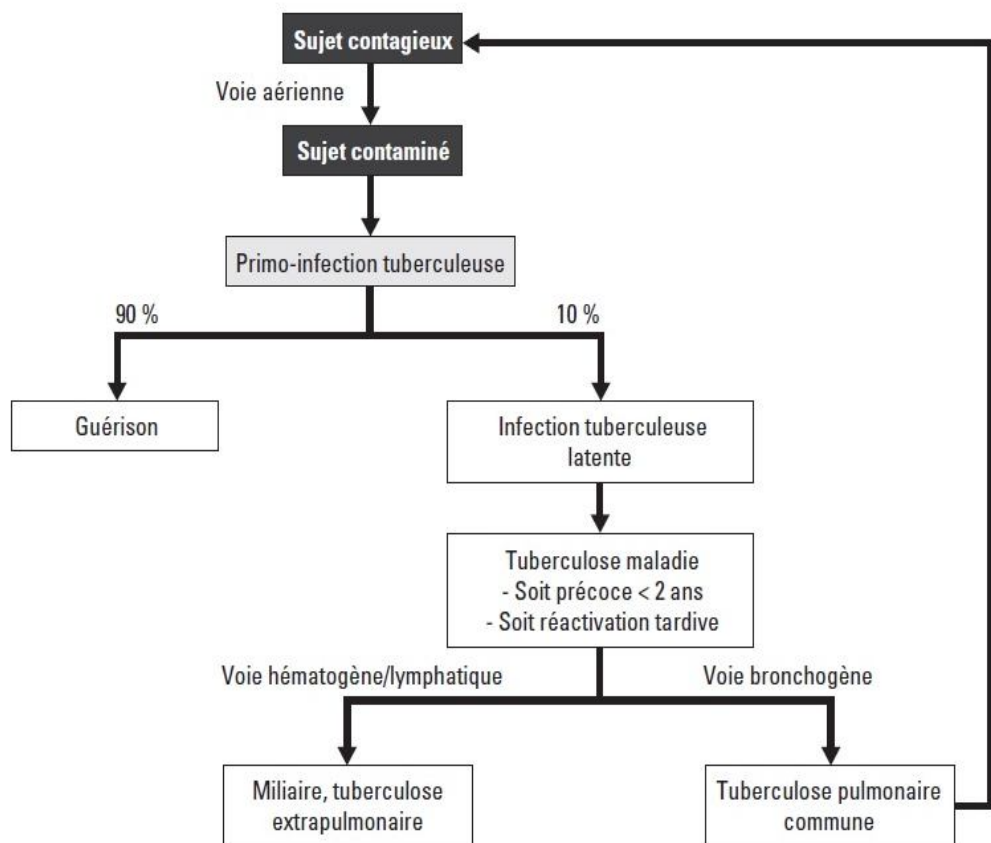


Figure 4 : Histoire naturelle simplifiée de la tuberculose humaine [24]

*Le diagnostic de l'infection
tuberculeuse par
les tests cutanés :*



IV- LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION TUBERCULEUSE PAR LES TESTS CUTANES :

L'intradermoréaction (IDR) à la tuberculine, mise au point par Mantoux en 1910, est donc le plus vieux test diagnostique encore utilisé à ce jour [25]. Elle explore l'hypersensibilité retardée induite par un premier contact avec *M. tuberculosis*.

Mise au point il y a plus de cent ans, elle utilise désormais un extrait antigénique, obtenu à partir de souches de *M. tuberculosis* tuées par la chaleur, appelé dérivé protéique purifié (DPP) (ou purified protein derivative [PPD]). Ce dernier est constitué de plus de 200 protéines plus ou moins dénaturées [12, 17]. Dans les années cinquante, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a standardisé la production et l'utilisation de la tuberculine : un test cutané se définit par le nombre d'unités ou test unit (TU) injectées (5 TU correspondant à 0,0001 mg de PPD-S [PPD standard ou tuberculine RT23 à 20 TU/mL avec du Tween 80]) [2].

Les professionnels de santé doivent maîtriser parfaitement la réalisation de l'IDR pour en assurer la reproductibilité : injection rigoureusement intradermique, exsangue, sur la face antérieure de l'avant-bras de 0,1 mL de tuberculine (figure 5)[26].

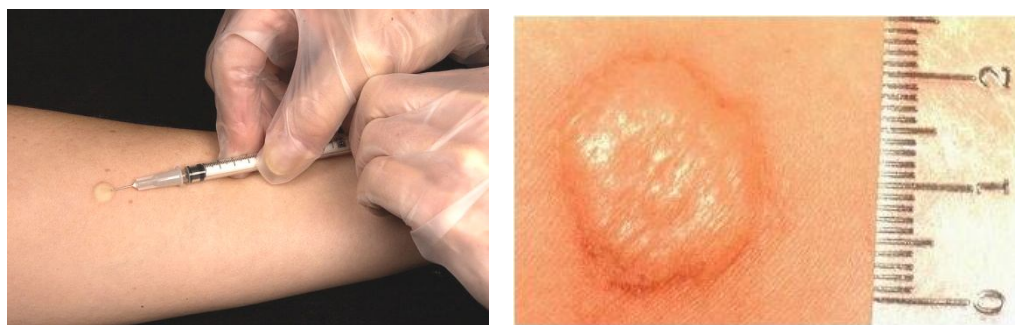


Figure n° 5 : Technique de l'IDR [26]

La lecture se fait à la 72^{ème} heure en mesurant le diamètre d'induration [1].

Le seuil de positivité de l'IDR a été défini dans les recommandations de 2003 de la *Direction générale de la santé* (DGS) en fonction des antécédents de vaccination par le BCG, l'ancienneté de cette vaccination ainsi que la proximité avec le cas index) [27]. (tableau 2)[28].

C'est ainsi que :

- chez l'enfant, le seuil est fixé en l'absence de BCG, à 10 mm voire 5 mm si le risque est très important. En cas de BCG, le seuil est ramené à 15 ou 10 mm ;
- chez l'adulte quel que soit l'antécédent de vaccination, le seuil choisi est de 15 mm, ramené à 10 mm en cas de contact très proche ;
- chez le patient immunodéprimé, le seuil est ramené à 5 mm afin de ne pas passer à côté d'une infection.

La réduction de la tuberculose maladie par le traitement préventif de l'ITBL évaluée par l'IDR est estimée entre 60 et 90 % [9, 13, 29].

Les principaux avantages de l'IDR sont son coût modique et l'apparente simplicité de sa réalisation qui ne nécessite pas d'infrastructure lourde [4].

Ses principaux désavantages sont [14] :

- ✧ réaction croisée avec le bacille BCG conduisant à des faux positifs et expliquant la stimulation observée après des IDR rapprochées « effet booster » ;
- ✧ réactions croisées avec les mycobactéries atypiques de l'environnement conduisant à des faux positifs ;

- ✧ lecture subjective, opérateur dépendante ;
- ✧ fausse négativité par anergie post-infectieuse virale ou post-vaccinale ;
- ✧ fausse négativité ou faible réponse en cas de tuberculose maladie avec forte charge antigénique ;
- ✧ difficulté d'interprétation en cas d'immunosuppression, chez des sujets à fort potentiel évolutif vers une tuberculose maladie ;
- ✧ absence de consensus sur les doses utilisées de tuberculine (5 TU ou 10 TU) ayant un impact sur le diamètre d'induration ;
- ✧ nécessité de deux visites, l'une pour réaliser le test, l'autre pour sa lecture : on estime à environ 30 % les patients non compliant qui ne se représentent pas pour la lecture.

Du fait de l'absence de gold standard pour la définition de l'infection tuberculeuse latente, la sensibilité de l>IDR peut être appréciée chez les patients ayant une tuberculose-maladie.

Globalement, chez l'adulte elle est autour de 70 % avec une large hétérogénéité selon les études (49-90 %). Chez l'enfant, elle est comprise entre 55 et 85 % [30,31,32]. La proportion de faux négatif chez l'adulte non immunodéprimé serait comprise entre 10 et 25 % en fonction du seuil choisi pour l>IDR. La spécificité de l>IDR varie entre 40 à 90 % selon la politique vaccinale et la prévalence des infections mycobactériennes non tuberculeuses [27].

Tableau 2 : Interprétation de l'IDR selon le statut vaccinal et l'état d'immunodépression [28]

Intradermoréaction à la tuberculine						
TI présumée			TI certaine			
Terrain			< 5 mm	5-9 mm	10-14 mm	≥ 15 mm ou phlycténulaire
Enquête autour d'un cas*	Adulte			TI possible	TI présumée	TI certaine
	Enfant < 15 ans	BCG < 10 ANS		**	** TI présumée	** TI certaine
		BCG > 10 ANS		TI présumée	TI certaine	TI certaine
		BCG -		**	TI présumée	TI certaine
Enfant < 15 ans*				TI possible	TI certaine sans BCG	TI certaine si BCG TI certaine sans BCG
Sujet VIH				TI certaine	TI certaine	TI certaine
Avant mise sous Anti TNF				TI certaine	TI certaine	TI certaine

* Infection certaine :

- Passage de l'IDR < 5mm à ≥ 10 mm
- Augmentation de l'IDR de plus de 10 à partir de ≥ 5

** Infection certaine si sujet très contagieux

TI : Tuberculose infection

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

TNF : facteur de nécrose des tumeurs

IGRA : Historique



V- IGRA : Historique

Depuis les années 2000, de nouveaux tests sont créés pour aider au diagnostic de la tuberculose. Ces tests s'appuient sur la mise en évidence de la réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire mise en place contre *M. tuberculosis*. Ils sont réalisés *in vitro* à partir de prélèvements veineux périphériques. Ils utilisent les lymphocytes T pour mesurer la production d'IFN- γ , ils reposent sur le principe suivant lequel les lymphocytes T préalablement sensibilisés à des antigènes tuberculeux produisent des concentrations élevées d'IFN- γ lorsqu'ils sont réexposés aux mêmes antigènes mycobactériens [33](figure 6) [34]. Pour le moment, deux types différents de tests de libération d'IFN- γ sont commercialisés, Il s'agit du test QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australie) et du T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, Angleterre).

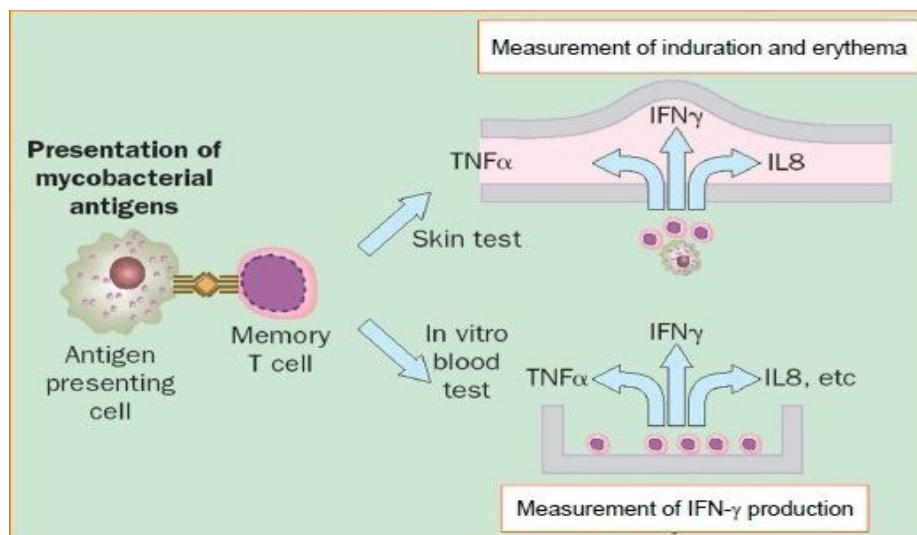


Figure 6 : tests de diagnostic de l'infection tuberculeuse in vivo et in vitro [34]

IFN- γ : interféron gamma ; TNF α : facteur de nécrose des tumeurs alpha ; IL8 interleukine 8

Le premier IGRA commercialisé était le QuantiFERON-TB, et ce test utilisait comme antigène stimulant le DPP. Il a été remplacé par le QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) qui utilise des antigènes spécifiques de la tuberculose. Le test T-SPOT.TB, a également reçu le marquage conformité européenne (CE); cette condition exigée pour mettre en marché un produit au sein de l'Union européenne (UE) indique que le produit respecte les exigences applicables des directives de l'UE. En janvier 2007, le T-SPOT.TB n'avait pas encore été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis. Comme ces tests évoluent rapidement et qu'il existe des variations dans les valeurs limites et les techniques employées, il importe de noter que la présente déclaration se fonde sur les études publiées concernant le test QFT-G, et les versions expérimentales et commerciales du test T-SPOT.TB.

Les IGRA plus récents utilisent des protéines spécifiques de *M. tuberculosis* codées par des gènes situés dans la région RD-1 du génome de *M. tuberculosis*. On ne retrouve pas ces antigènes dans le vaccin BCG ni dans de nombreuses espèces de mycobactéries non tuberculeuses (MNT) [33]. Les antigènes immunogènes codés à l'intérieur de la RD-1 de *M. tuberculosis* sont présents dans *M. leprae*, le type sauvage de *M. bovis* et certaines des MNT (notamment *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai* et *M. flavescens*). En théorie, la présence de ces espèces chez un hôte pourrait entraîner une réaction faussement positive à un IGRA.

En 2005, les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) des états unis ont recommandé que la version du test QFT-G approuvée par la FDA américaine puisse être utilisée au lieu de l'IDR pour toutes les indications, y compris les recherches de contacts, l'évaluation des immigrants et les tests en série effectués chez les travailleurs de la santé [35].

En 2006, les lignes directrices pour la Tuberculose du National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) au Royaume uni (R-U) recommandaient l'adoption d'une approche hybride en deux étapes pour le diagnostic de l'ITBL : un dépistage initial au moyen de l'IDR et un IGRA subséquent, si possible, chez ceux qui étaient positifs à l'IDR (ou chez lesquels l'IDR peut ne pas donner des résultats fiables) afin de confirmer les résultats de l'IDR [36].

*IGRA : principe, mise
en œuvre
et interprétation :*



VI- IGRA : principe, mise en œuvre et interprétation :

1. Principe :

Les deux tests sont réalisés à partir d'un prélèvement sanguin. Ils mesurent la réactivité des lymphocytes thymodépendants circulants mis en culture en présence d'antigènes spécifiques de *M. tuberculosis*. Mais ils diffèrent ensuite sur le plan du concept de la méthode et de la technique réalisée [37] (figure7) [38].

La grande particularité de ces tests est d'utiliser non plus la tuberculine mais des antigènes de deux protéines de virulence, ESAT 6 et CFP 10, qui sont immunodominantes, c'est-à-dire qu'elles sont la cible principale du système immunitaire cellulaire de la grande majorité des individus infectés et spécifiques de région du génome de *M. tuberculosis* (RD1) non partagée par le BCG ou la plupart des mycobactéries atypiques. Un antigène de la protéine TB7.7 codée dans RD1 ayant les mêmes caractéristiques a été incorporé à la nouvelle génération de Quantiféron (QFT Gold-In-Tube®) pour augmenter la sensibilité du test [27].

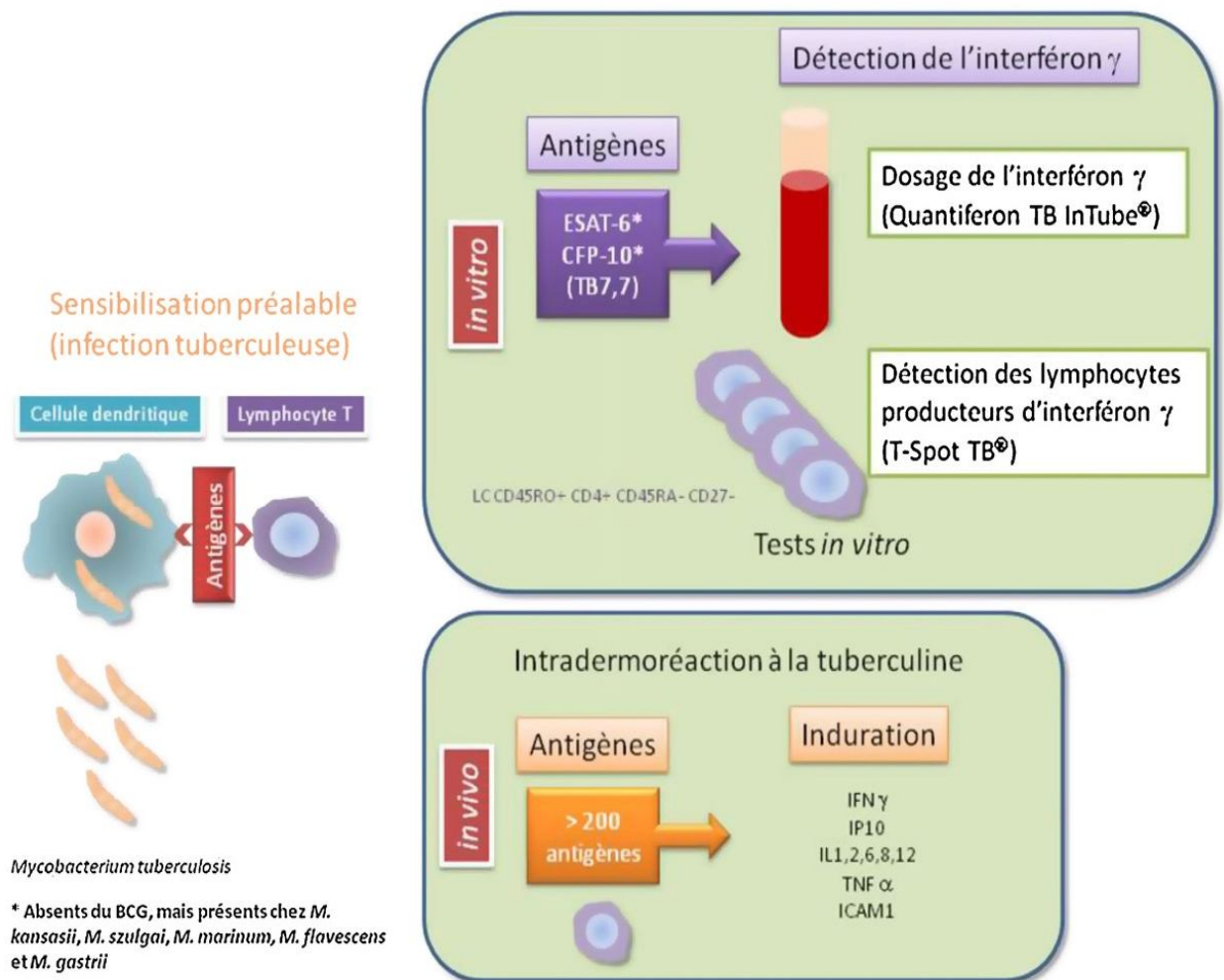


Figure 7 : Principes des tests immunitaires dans l'infection tuberculeuse (IDR à la tuberculine et tests de libération d'interféron).[38]

CFP-10 : Culture filtrate protein 10	IL : Interleukine
ESAT-6: Early secretory antigenic target 6	TNFα : Facteur de nécrose des tumeurs alpha
TB7.7 : Tuberculosis 7.7	IP 10 : induced protein 10
IFN-γ : Interféron gamma	ICAM1 : Intercellular Adhesion Molecule 1

2. Mise en œuvre : (voir annexe)[39]

Ces tests ont des avantages liés à leur technique. Ils nécessitent un simple prélèvement. QFT-Gold In Tube est un test réalisé sur sang total. Trois tubes fournis par le laboratoire sont utilisés [39]:

- ✧ un premier ne contenant aucun antigène et servant de contrôle négatif ;
- ✧ un deuxième tube contenant de la phytohémagglutinine (PHA) jouant un rôle de contrôle interne de la réaction d'activation des lymphocytes T ;
- ✧ un troisième tube contenant les antigènes spécifiques ESAT-6 ; CFP-10 ainsi que TB7.7, antigène également codé par la région RD I.

Trois millilitres de sang (1 ml par tube) seront nécessaires. A l'issue du prélèvement, les tubes sont adressés au laboratoire à température ambiante dans un délai maximum de 16 heures (figure 11)[40]. Les trois tubes sont directement mis à incuber dans une étuve à 37 °C pendant 16 à 24 heures [37]. A l'issue de cette incubation, les tubes sont centrifugés, et le surnageant (représenté en fait par le plasma) sera utilisé pour le dosage de l'IFN- γ par une méthode immunoenzymatique Elisa (enzyme-linked immunosorbent assay), IFN- γ libéré dans le surnageant après activation des lymphocytes T au contact des antigènes présents dans le tube (figure 12 et 13)[40,41].

Le test QuantiFERON®-TB Gold IT

PHASE PREANALYTIQUE (1)

Le prélèvement



Stockage des tubes à température ambiante



- Prélèvement : 3 x 1 mL
- Agitation douce par retournements (x5)
- Incubation à 37°C 16 à 24h

Figure 11 : phase préanalytique du test QuantiFERON Gold In Tube [40]

QuantiFERON®-TB Gold IT

Etape 1: incubation sur sang total hépariné



Etape 2: Dosage ELISA de l'IFN- γ

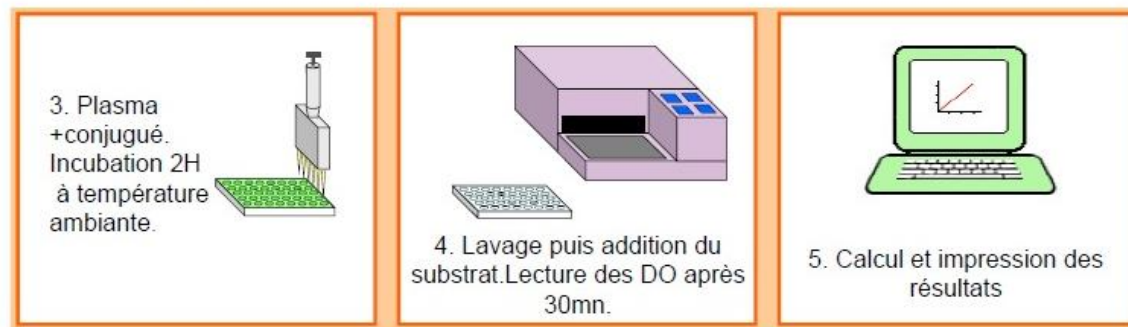


Figure 12 : Mise en œuvre du test QuantiFERON Gold In Tube [40]

CFP-10 : Culture filtrate protein 10

ESAT-6: Early secretory antigenic target 6

DO : Densité optique

IFN- γ : Interféron gamma

Elisa : Enzyme-linked immunosorbent assay



biomnis
BIOLÔGE MÉDICALS SPÉCIALISÉS

Quantiferon-TB GOLD®

MODE D'EMPLOI

ATTENTION, seul ce protocole est valide pour les envois à Biomnis

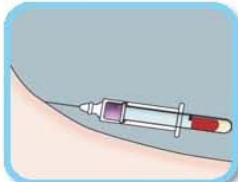


1

Contenu du kit :

3 tubes spécifiques pour prélèvement sanguin :

- Mitogène = tube violet,
- Antigène TB = tube rouge,
- Témoin négatif = tube gris



2

Prélever le sang par ponction veineuse. Remplir les 3 tubes jusqu'à la marque noire.

Noter que le vide est prévu pour un prélèvement de 1ml et que le tube se remplit lentement.

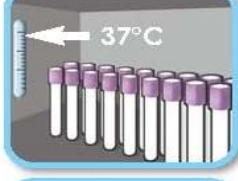
NB : En cas d'utilisation d'une épi crânienne, purger préalablement la tubulure avec un tube sec.



3

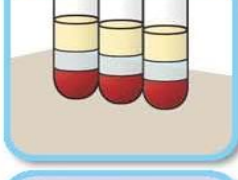
Secouer vigoureusement les tubes 10 fois.

Si vous avez bien secoué le tube, le sang doit mousser. Ceci n'endommage en rien les lymphocytes.



4

Immédiatement après l'agitation, incuber les tubes verticalement à 37°C pendant 16h à 24 heures (non conforme au-delà).



5

Après l'incubation, centrifuger les tubes pendant 15 mn.

(Vérifier que le gel séparateur s'est correctement positionné entre les globules rouges et le plasma).

Ne pas ouvrir ou décanter les tubes.



6

Conserver et envoyer les tubes à +4°C.

(Stabilité 4 semaines à +4°C).

Noter le n° de lot de chacun des tubes sur le bon de demande.

LES TUBES NON INCUBÉS ET/OU NON CENTRIFUGÉS NE SERONT PAS ACCEPTÉS.

K4P
novembre 2012

Figure n° 13 : Mode d'emploi du test QuantiFERON Gold In Tube [41]

Le T-SPOT.TB nécessite 10 ml de sang complet prélevé dans un tube spécial fourni par le laboratoire (Vacutainer Cell Preparation Tube (CPT)). Idéalement, le tube doit être adressé le plus rapidement possible au laboratoire (ne pas dépasser six heures). Le tube contient une solution dense et un gel permettant, après centrifugation, la séparation des cellules mononucléées circulantes (monocytes, les lymphocytes B et T effectrices et mémoires). Les cellules sont lavées, puis comptées sur cellule de Malassez ou à l'aide d'un automate d'hématologie. Les cellules sont ensuite incubées en présence ou en absence d'antigènes ESAT-6 et CFP- 10, et en présence de PHA (contrôle interne) pendant 16 à 24 heures (figure14)[40]. Plusieurs lavages sont réalisés à l'issue de cette incubation avant d'ajouter un anticorps anti-IFN- γ . Chaque cellule qui formera un spot après ajout du substrat, représente un lymphocyte T produisant à sa périphérie de l'IFN- γ (figure 15) [40].

La technique ainsi décrite s'appelle Elispot et consiste à énumérer tous les spots formés à l'issue de l'incubation des cellules mononucléées circulantes avec les antigènes spécifiques (figure 16) [40]. Cette lecture est réalisée manuellement à l'aide d'un microscope, ou à l'aide d'automates Elispot plutôt disponibles dans les laboratoires d'immunologie (figure 17) [42].

LE TEST T-SPOT-TB

Etape 1 Préparation des cellules



- Prélèvement de sang dans un tube Vacutainer CPT™
- centrifugation du tube
- Pipetage de la bande correspondante aux lymphocytes
- Lavage et comptage cellulaire (cellule ou automate d'hématologie)
- Ajout des cellules aux plaques 96 pts
- Ajout des antigènes dans les puits (ESAT-6, CFP-10)
- Incubation 16 à 24h

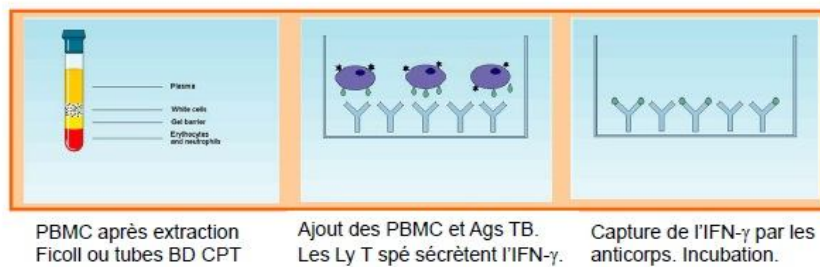


Figure 14 : Mise en œuvre du test T-Spot-TB : préparation des cellules [40]

CFP-10 : Culture filtrate protein 10

CPT : Vacutainer Cell Preparation

Tube

PBMC : Peripheral blood
mononuclear cells

ESAT-6: Early secretory
antigenic target 6

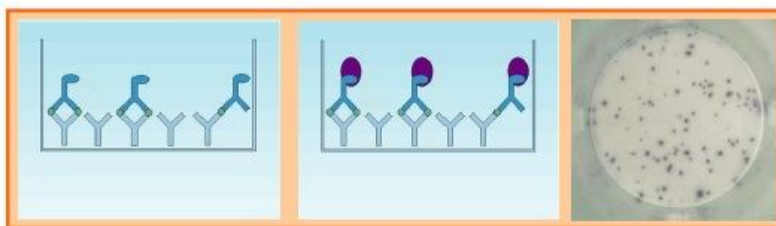
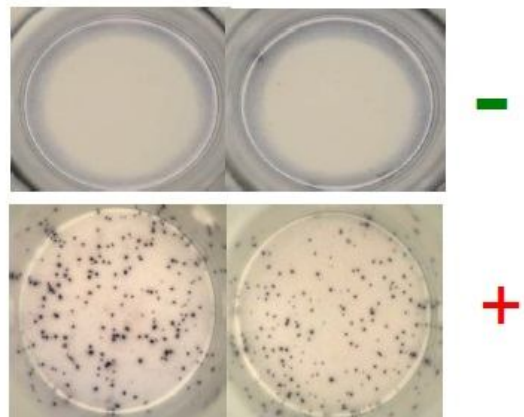
IFN- γ : Interféron gamma

LyT: Lymphocyte T.

LE TEST T-SPOT-TB

Etape 2
Révélation des spots

- Premier lavage des plaques
- Addition de réactif de détection 1h
- Deuxième lavage des plaques
- Addition du substrat : les spots apparaissent en 7 minutes
- Dernier lavage des plaques et séchage



Lavages et ajout de
l'Ac conjugué

Ajout du substrat et
comptage des spots

Chaque spot correspond à
une cellule sécrétrice d'IFN- γ

Figure 15 : Mise en œuvre du test T-Spot-TB : révélation des spots [40]

Ac : anticorps

IFN- γ : Interféron gamma

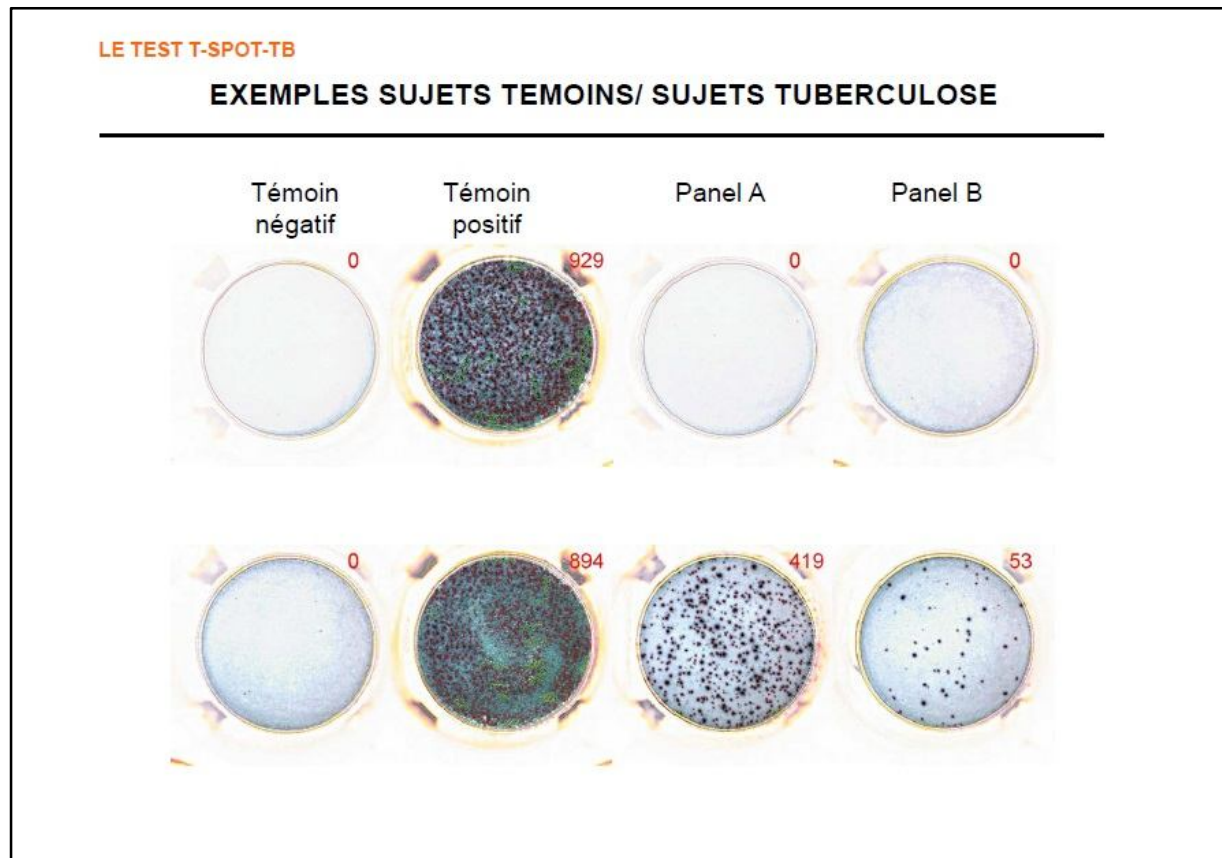
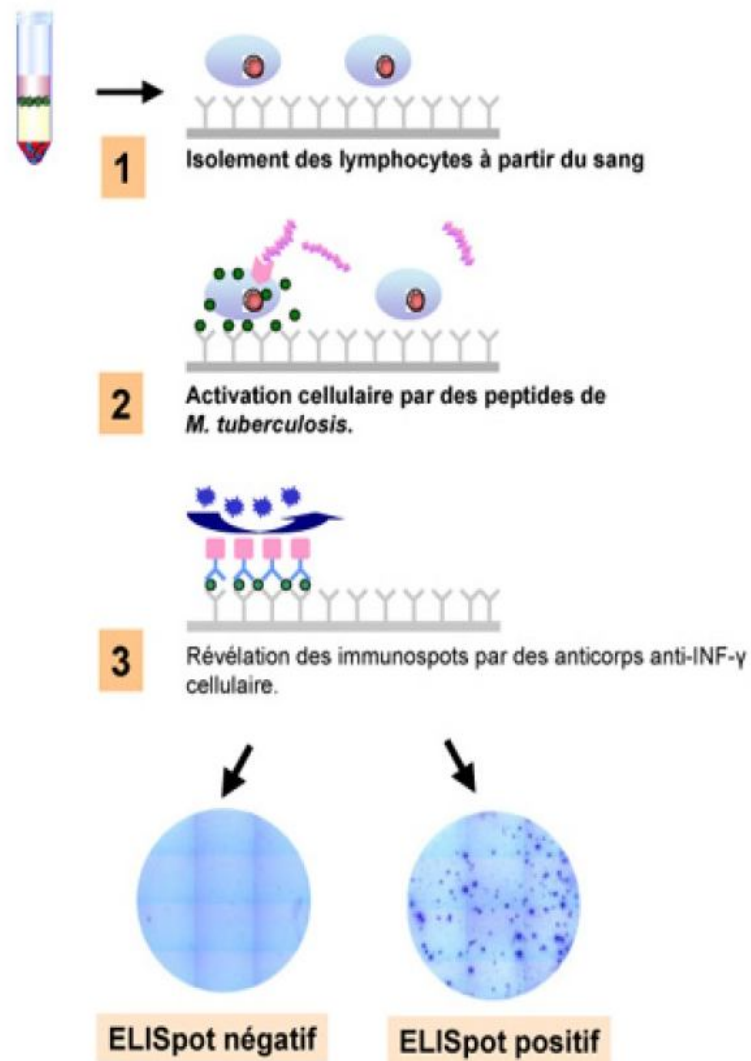


Figure 16 : le T-Spot-TB : exemples de sujets témoins et sujets tuberculeux [40]



Figure° n°17 : Principe de la technique ELISpot du T-Spot-TB pour le diagnostic de la tuberculose [42]

IFN- γ : Interféron gamma

ELISPOT: enzyme-linked immunospot

Chaque test présente des caractéristiques propres (figure 18) [43]. Une approche plus complexe pour le T- SPOT.TB, comparativement au QFT Gold est observée, avec purification préalable des lymphocytes T. QFT Gold est beaucoup plus adapté aux enquêtes sur le terrain, notamment dans les pays d'endémie tuberculeuse. Une meilleure sensibilité devrait être logiquement attribuée T-SPOT.TB car la mesure de l'IFN- γ produit au contact des lymphocytes T est plus sensible que la mesure de l'IFN- γ libéré dans le plasma [37,44]. Nous verrons ci-après qu'il est difficile d'établir une différence en l'absence de gold *standard*.

Une autre différence notable est la concentration du mitogène (la PHA) utilisée dans chacun des tests, et qui intervient comme contrôle interne de la réaction. Cette concentration est inférieure dans le test QFT Gold, donnant donc une valeur plus exacte du degré d'immunocompétence des sujets testés (Lagrange, résultats non publics). Cela explique le plus grand nombre de résultats indéterminés avec QFT Gold comparativement au T-SPOT-TB. En tout cas, les différences de résultats observés peuvent être liées aux caractéristiques techniques des deux tests sanguins.

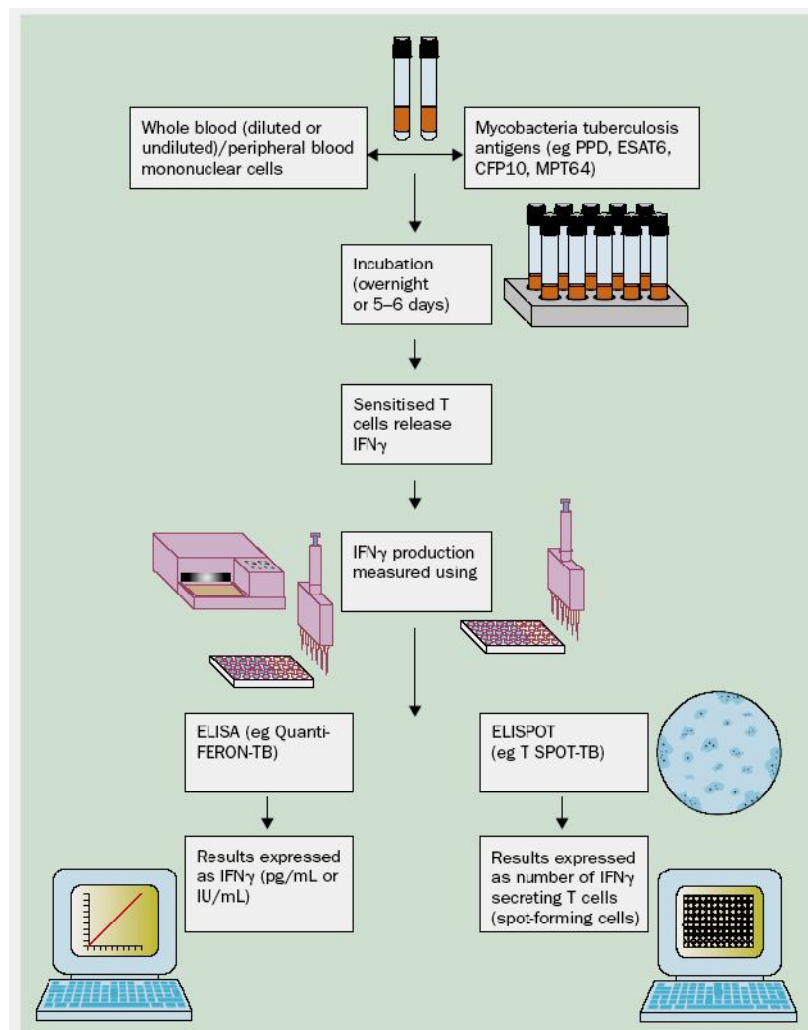


Figure 18 : Mise en œuvre des deux tests IGRA : QuantiFERON Gold In Tube et T-Spot-TB [43]

PPD : Dérivé de Protéines Purifiées

ESAT 6 : Early Secretory Antigenic Target 6

CFP 10: Culture Filtrate Protein 10

MPT 64 :Mycobacterium Tuberculosis Protein

IFN-γ : interféron gamma

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ELISpot: enzyme-linked immunospot

3. Analyse des résultats :

➤ Un test positif peut correspondre à deux situations :

- ✧ un vrai positif, qui traduit la présence dans le sang du sujet de cellules T effectrices mémoire ou effectrices spécifiques de *M. tuberculosis*, reflétant un contage par cette mycobactérie. Cependant, dans cette situation, le résultat du test ne permet pas de faire la différence entre une infection tuberculeuse latente et une tuberculose maladie, ni de définir l'ancienneté de l'infection ou le risque d'évoluer vers une tuberculose maladie (figure19) [38];
- ✧ un résultat positif est rarement un faux positif, Cette situation est principalement observée au cours des rares colonisations ou infections par *M. kansasii*, *M. marinum* ou *M. szulgai* (mycobactéries environnementales exprimant les gènes ESAT-6 et CFP-10). Ou devant une performance erronée de l'analyse [27].

➤ Un résultat négatif traduit une fréquence nulle ou basse de cellules mémoires effectrices ou effectrices spécifiques des antigènes étudiés : vrai négatif (absence de contage par *M. tuberculosis*) ou faux négatif. Les faux négatifs peuvent tenir à l'ancienneté de l'exposition à *M. tuberculosis* (disparition ou diminution de la réponse mémoire effectrice), ou à une non-réponse du système immunitaire du sujet aux antigènes étudiés dans les tests par modification du répertoire antigénique des réponses mémoires spécifiques (dans certaines ethnies, gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) différents de ceux des sujets étudiés pour mettre au point les tests...). Ces situations sont très difficiles à identifier en pratique et limitent la sensibilité de

ces tests. un résultat faussement négatif peut être imputable au stade de l'infection (par ex. les échantillons ont été prélevés avant le développement de la réponse immunitaire des cellules), un état comorbide affectant les fonctions immunitaires, manipulation incorrecte des tubes de prélèvement du sang consécutive à la ponction veineuse, performance erronée de l'analyse ou bien d'autres variables immunologiques [39].

- Enfin, un test est ininterprétable ou indéterminé dans ces situations :
 - ✧ soit la réponse au témoin négatif est positive, ce qui correspond à une activation *in vivo* du système immunitaire avec sécrétion spontanée d'IFN- γ ;
 - ✧ soit la réponse au mitogène est négative, ce qui correspond à une incapacité du système immunitaire du sujet à développer une réponse T fonctionnelle. Ces tests indéterminés sont fréquents chez les sujets recevant une chimiothérapie ou une corticothérapie, les enfants âgés de moins de 2 ans, les personnes âgées de plus de 80 ans et les sujets immunodéprimés (figure20 [38] et tableau 5[45]).
 - ✧ Soit les résultats indéterminés sont dus à des facteurs techniques [39].tels que :
 - un laps de temps supérieur à 16h heures entre le prélèvement de l'échantillon de sang et le début de l'incubation à 37°C.
 - Stockage du sang hors de la plage de températures recommandée (22°C $\pm$ 5°C).
 - Tubes de prélèvement du sang insuffisamment mélangés.
 - Lavage insuffisant de la plaque ELISA.

La variabilité biologique des tests, c'est-à-dire à plusieurs points chez une même personne, a été peu étudiée et pourrait être non négligeable [46]. Du fait de l'imprécision de cette variation biologique des tests, il n'est pas actuellement possible d'avoir une interprétation quantitative des résultats. De même certains auteurs recommandent l'utilisation de zones grises d'interprétation des tests autour du seuil de positivité [47,48].

Enfin, pour que ces tests soient « interprétables » il est important que la technique soit réalisée avec soin à toutes les étapes : prélèvement, conservation, acheminement et manipulation au laboratoire selon les recommandations des fournisseurs *Cellestis* et *Oxford Immunotech*.

Un développement intéressant est l'utilisation des IGRA directement sur des liquides Biologiques tels que le liquide pleural, péricardique ou encore le liquide céphalo-rachidien (LCR) dans le diagnostic des tuberculoses extra-pulmonaires (conjointement aux IGRA sur le sang) ou encore sur le lavage broncho-alvéolaire (LBA). Cependant la plupart de ces études concernent de petites séries et le niveau de preuve est faible

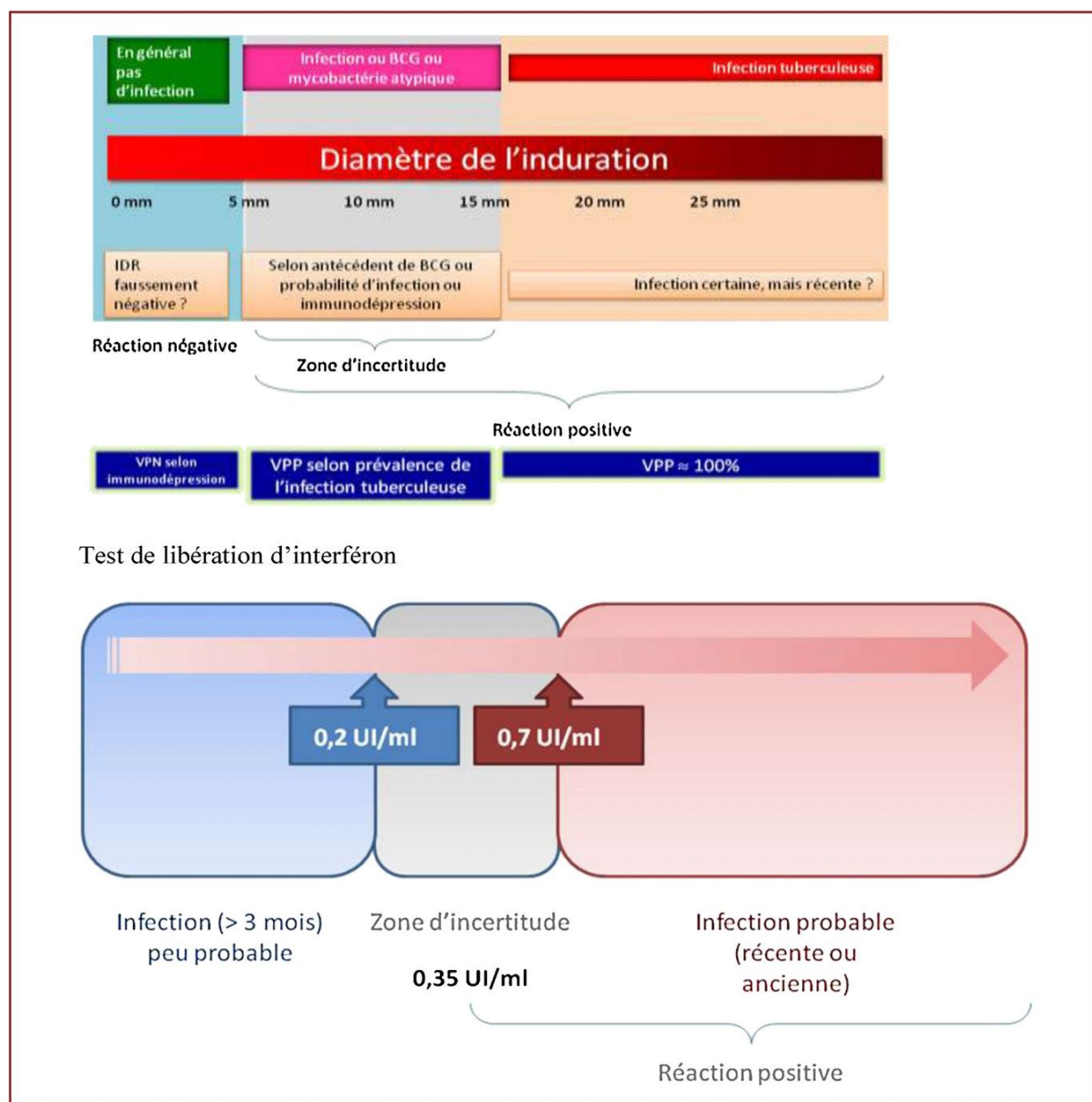


Figure 19 : Schéma d'interprétation possible des tests d'infection tuberculeuse [38]

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

IDR : intradermoréaction

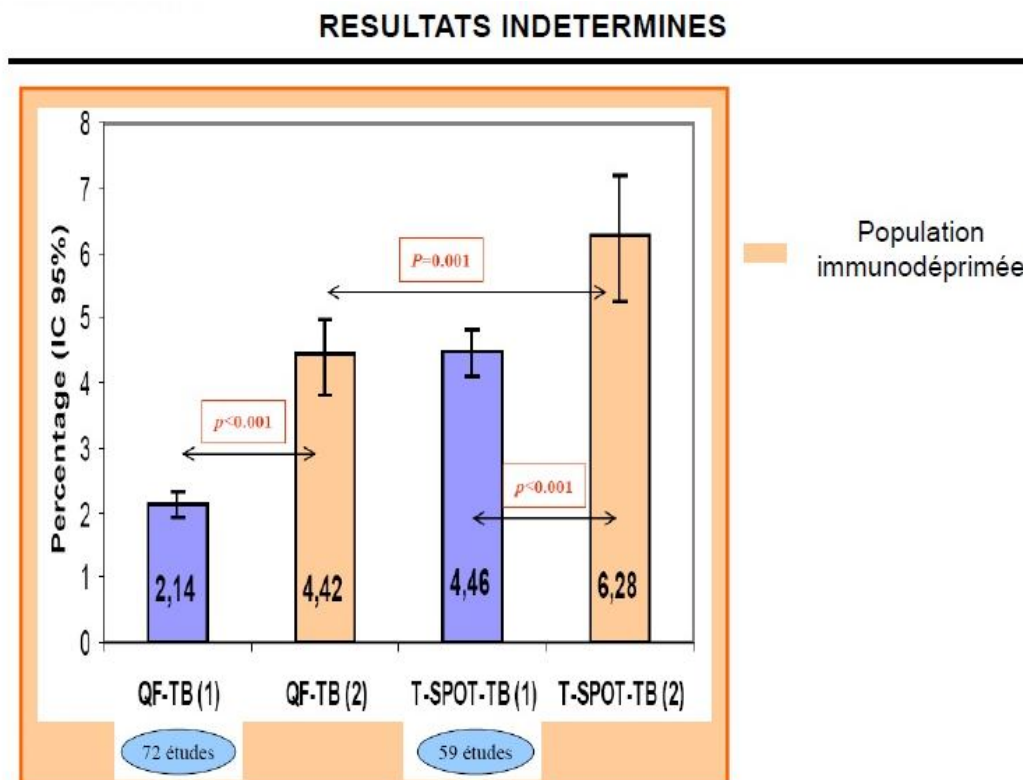


Figure 20 : Résultats indéterminés des tests IGRA chez la population saine et immunodéprimée [38]

QF-TB : Quantiferon - Tuberculose

Tableau 5 : Corrélation entre un résultat indéterminé et le statut immunitaire [45]

Population	Nombre testé	Résultats indéterminés (%)	Commentaires	Référence
Patients sains à bas risque	863	3 (0.3%)	Recrus marine US.	Non publié
Personnels soignants	724	1 (0.1%)	Personnels d'un hôpital rural en Inde	Pai <i>et.al.</i> 2005
Contacts avec TB/ suspects	841	10 (1.2%)	Plusieurs sites aux USA	Non publié
Patients TB active	118	0 (0%)	Two (1.7%) did not respond to Mitogen but did to the TB-specific antigens	Mori <i>et.al.</i> 2004.
Patients HIV positifs	599	22 (3.7%)	Corrélation significative entre des taux bas de CD4 (< 100/ μ L) et des résultats indéterminés ($P < 0.01$ Spearman)	Brock <i>et.al.</i> 2005
Patients dialysés	119	8 (6.8%)	Etudes autour d'un cas aux USA	Non publié
Maladies autoimmunes	142	8 (5.6%)	Résultats significativement associés aux traitements anti TNF- α ($p < 0.001$), mais pas avec autres immunosuppresseurs	Matulis <i>et.al.</i> 2005
Patients hospitalisés	318	68 (21.4%)	Résultats indéterminés significativement associés avec une IDR à 0 mm ($p < 0.0001$) et un traitement immunosuppresseur sévère telle que la chimiothérapie ($p < 0.0001$)	Ferrara <i>et.al.</i> 2005

TB : tuberculose

HIV : Human immunodeficiency virus

CD4: cluster de différenciation 4

TNF- α : facteur de nécrose des tumeurs alpha

IDR: intradermoréaction

*Etudes de validation
des tests IGRA :*



VII- ETUDES DE VALIDATION DES TESTS IGRA :

Il s'est révélé difficile d'estimer la précision (« accuracy ») avec laquelle les *IGRA* sont capables de diagnostiquer une ITBL car on ne dispose pas de test de confirmation fiable.

L'estimation de la validité d'un test passe par une estimation de sa sensibilité (proportion de personnes affectées avec un test positif) et de sa spécificité (proportion de personnes saines avec un test négatif).

1. Méthodologie

Dans l'évaluation des *IGRA* on se heurte au problème de l'absence de « gold standard » pour confirmer une ITBL. Les auteurs des études se sont donc résolus à faire des estimations en testant des populations avec des caractéristiques déterminées.

Ainsi, pour évaluer la sensibilité on a pratiqué le test chez des personnes avec une tuberculose active (censés avoir un test positif) et pour évaluer la spécificité on a réalisé le test dans des populations à très faible risque d'être infectées par le BK (censées avoir un test négatif). Une autre approche a consisté à faire des études longitudinales de suivi en estimant la fréquence d'apparition d'une tuberculose active chez des personnes avec des tests positifs ou négatifs et sans traitement préventif. Il s'agit des valeurs prédictives négatives (VPN) ou positives (VPP) pour une progression.

On dispose de méta-analyses qui résument très bien l'état de la question [49,50,51].

L'analyse de Diel et al. [51] est la plus récente et est particulièrement sélective dans le choix des études retenues en tenant compte notamment du niveau de preuve. Elle a servi de source principale pour la discussion qui suit.

2. Etudes de sensibilité

La sensibilité moyenne du Quantiferon GiT (synthèse de plusieurs études réalisées dans une population de cas de tuberculose culture positive) a été établie à 81-83%, alors que les chiffres correspondants pour l'Elispot et l>IDR ont été de 90-94% et de 89-95% respectivement [51].

L'Elispot qui comporte un comptage direct de cellules productrices d'INF- γ est donc plus Sensible que le Quantiferon. Il faut remarquer que la sensibilité de l>IDR dépend directement du seuil d'induration (« cutoff ») utilisé. Ainsi dans la plus grande étude réalisée sur 270 cas de tuberculose avec culture positive (Singapour) [52] et où le seuil a été fixé à 10 mm, les chiffres de sensibilité ont été respectivement de 83% pour le Quantiferon GiT, 94% pour le T-spot TB et 95% pour l>IDR [52].

3. Etudes de spécificité

Les études publiées ont été faites dans des populations à faible risque d'ITBL.

L'interprétation des études évaluant la spécificité des tests *IGRA* doit être faite avec circonspection car :

- a. les populations étudiées ne sont pas identiques (risque d'infection tuberculeuse latente variable)
- b. la méthodologie et les critères d'interprétation diffèrent
- c. Et la possibilité que des cas classés comme faux positifs appartiennent à des groupes à risque ne peut être écartée.

En résumant les résultats des études de spécificité, on obtient les estimations suivantes:

Quantiferon GiT 99%, T spot Tb 88% et IDR 85-86% [49]. Il y a donc nettement moins de faux positifs avec le Quantiferon GiT. L'effet du BCG sur la spécificité est difficile à estimer étant donné que la vaccination BCG est en principe réalisée chez des personnes appartenant à des groupes à risque.

La spécificité peut être également abordée en étudiant respectivement le degré de concordance entre le résultat du test et la proximité de la durée de contact avec un cas-index. Cette concordance est nettement meilleure pour les *IGRA* que pour l'IDR [$p < 0,0001$ réf. 53].

Enfin R. Diel, R. Loddenkemper et A. Nienhaus ont effectué une méta-analyse des études évaluant les performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) des *IGRA* pour la détection de la tuberculose active en comparaison avec l'IDR (figure 21 et 22) [54]. Cette évaluation a conclu que les *IGRA* sont supérieurs à l'IDR surtout dans les pays développés

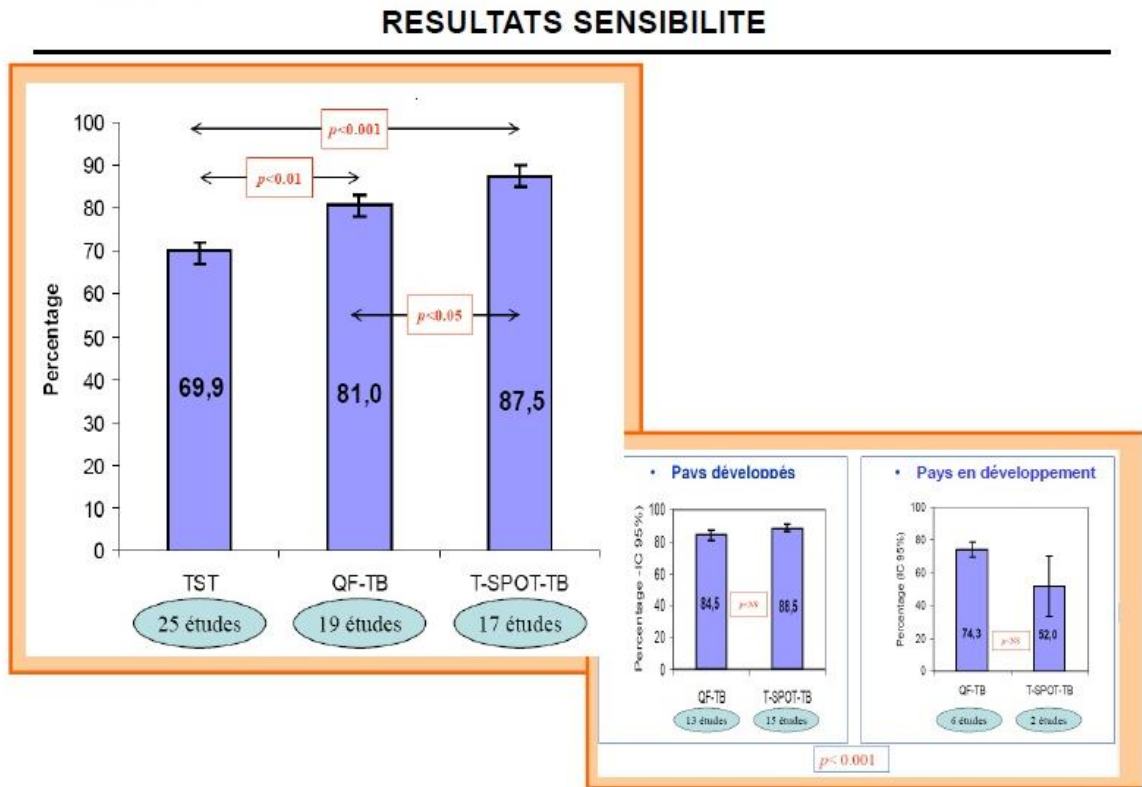


Figure 21 : Sensibilité des tests IGRA pour la détection de la tuberculose active en comparaison avec l'IDR [54]

QF-TB : Quantiferon - TB

TST : Tuberculin Skin test

RESULTATS SPECIFICITE

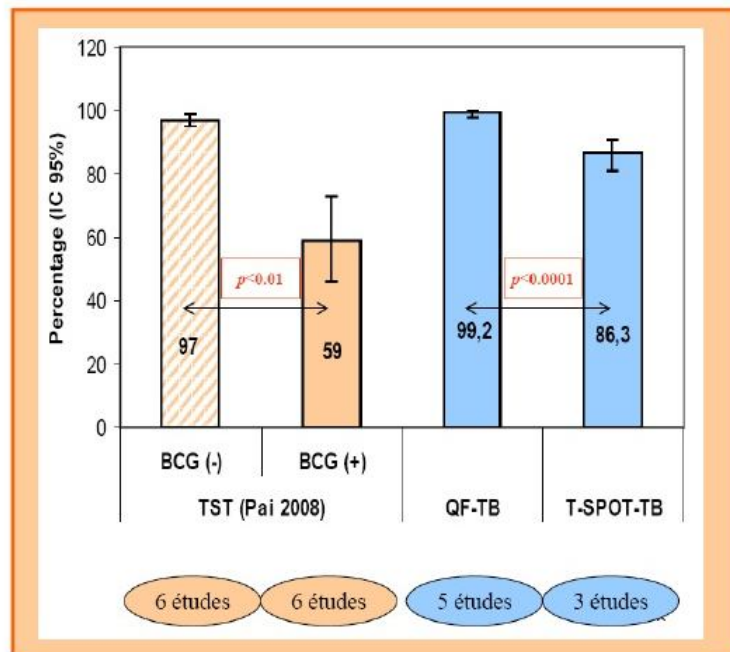


Figure 22 : Spécificité des tests IGRA en comparaison avec l’IDR pour la détection de la tuberculose active chez les personnes vaccinées ou non par le BCG [54]

QF-TB : Quantiferon - Tuberculose

TST : Tuberculin Skin test

BCG : bacille de Calmette et Guérin

4. Estimation de la valeur prédictive négative (VPN)

La plupart des études ont été réalisées chez des personnes suspectées d'avoir une tuberculose active. La VPN correspond au pourcentage de patients avec *IGRA* négatif chez qui on n'a pas diagnostiqué de tuberculose. Les résultats sont très variables d'une étude à l'autre, indépendamment du type de test utilisé et vont de 74 à 100% avec une moyenne pour le QFT-GiT de 88% [49].

5. Estimation de la valeur prédictive négative pour une progression

La VPN pour une progression est la proportion d'individus *IGRA*-négatifs qui ne développent pas de tuberculose active durant une période d'observation donnée, de préférence la plus longue possible. On part du principe que des sujets qui développent une tuberculose ont dû passer par une ITBL. Un sujet tuberculeux chez qui le test *IGRA* a été négatif est alors considéré comme faux négatif. Les chiffres obtenus pour le QFT GiT et l'Elispot sont de respectivement 99,8% et de 97,8% ce qui est remarquable [49].

La plupart des études n'ont pas permis de calculer la valeur correspondante pour l'IDR. Dans l'étude de Diel [53], deux cas de tuberculose se sont déclarées sur un total de 351 contacts IDR négatifs dont le diamètre d'induration < 5 mm, ce qui donne une VPN de 99,4% [53].

7. Estimation de la valeur prédictive positive pour une progression

Quatre études abordent cette question. deux concernent des enquêtes autour d'un cas de tuberculose et deux concernent des populations HIV suivies longitudinalement. Il s'agit du suivi des personnes qui ont refusé un traitement préventif. Les chiffres pour le QFT GiT varient de 2,8 -14,6% et ceux pour l'Elispot de 3,3-10% [49]. On peut donc en conclure que beaucoup de sujets avec un test IGRA positif ne vont pas développer une tuberculose. Dans les deux études où on a aussi réalisé une IDR, la valeur correspondante de l'IDR était de 2,3-3,3%. Une enquête réalisée à Hambourg et publiée tout récemment [53] a établi le taux de progression vers une tuberculose active à 19 cas sur 147 contacts Quantiferon GiT positifs (12,9%) non traités. Le chiffre correspondant pour l'IDR a été de 3,1% en appliquant un seuil de 5 mm et de 4,8% pour un seuil de 10 mm. Dans le sous-groupe des moins de 16 ans on a observé un chiffre pour le Quantiferon nettement plus élevé (28,6%).

En conséquence les *IGRA* ont une valeur prédictive positive pour une progression certes un peu plus élevée que celle de l'IDR mais elle reste faible et variable. Elle semble être plus élevée chez les enfants. Il faut reconnaître qu'on ne dispose toujours pas du test idéal permettant de prédire avec une certaine fiabilité une progression de l'infection tuberculeuse latente vers une tuberculose maladie.

Les performances des IGRA sont résumées dans le Tableau ci-dessous (tableau 6) [49].

Ces nouveaux tests permettent cependant de réduire le nombre de personnes inutilement traitées ce qui est d'autant plus important que le traitement est potentiellement hépatotoxique.

Tableau 6 : Performances diagnostiques des tests IGRA en comparaison avec l'IDR [49]

	QFT GiT	T Spot-TB	IDR
Sensibilité	81-83%	90-94%	89-95%
Spécificité	99%	88%	85-86%
VPN progression	99,8%	97,8%	99,7%
VPP progression	2,8-14,6% (Enfants :28%)	3,3-10%	2,3-3,3%

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

QFT GiT : Quantiféron-TB Gold In Tube

IDR: intradermoréaction

8. Concordance entre tests et reproductibilité :

La concordance entre les différents tests varie beaucoup d'une étude à l'autre. Elle est affectée par des caractéristiques propres aux populations étudiées : la prévalence de l'ITBL, l'estimation de la fréquence de contacts récents ou anciens, l'âge, la vaccination BCG, la comorbidité, une éventuelle séropositivité HIV, la fréquence d'une IDR récente et l'exposition à des mycobactéries non tuberculeuses. Elle dépend aussi de considérations méthodologiques (interprétation du test). L'âge est un facteur à prendre en considération dans le choix de la méthode. Etant donné le risque cumulé plus grand d'une exposition potentielle et le fait d'être né à une époque où la tuberculose était plus fréquente, le fait d'avoir un âge avancé est un facteur de risque indépendant d'ITBL. L'IDR s'est révélée plus sensible chez les personnes âgées que les *IGRA*.

Des études longitudinales ont montré une forte variabilité dans le temps de la réponse IFN- γ . Si une partie de ces fluctuations peut être attribuée à des réinfections tuberculeuses, à l'effet du traitement ou encore à un effet booster d'une IDR, la plupart restent inexplicables [49].

9. Inconnues :

Plusieurs inconnues persistent et nécessitent des études complémentaires. Il s'agit notamment des facteurs susceptibles d'altérer la cinétique de la réponse en IFN-gamma:

- ✧ temps écoulé depuis la primo-infection
- ✧ intensité de l'exposition
- ✧ rôle des mycobactéries non tuberculeuses
- ✧ effet du traitement anti-tuberculeux
- ✧ statut immunitaire
- ✧ effet théorique d'une résolution de l'infection tuberculeuse
- ✧ possibilité d'évaluer la protection induite par le BCG ou de nouveaux vaccins

D'autre part on ignore la signification d'un taux élevé de réponse (par exemple : une valeur $>1,0$ IU/ml versus une valeur $<1,0$ IU/ml).

Indications des IGRÀ



VIII- INDICATIONS DES IGRA :

Le CDC a proposé d'utiliser le test QFT Gold en remplacement de l'IDR, pour le diagnostic de l'infection tuberculeuse [55]. Si le résultat du test est positif, le patient est rapidement pris en charge, de manière similaire à une IDR positive. Les recommandations anglaises (*National collaborating center for chronic conditions* et *NICE* 2006) sont différentes car elles utilisent une stratégie en deux étapes : réalisation d'un test sanguin chez tout sujet présentant une IDR positive.

L'inconvénient majeur est l'absence de détection des sujets IDR négative mais tests sanguins IFN- γ positifs. Une stratégie similaire a été mise en place en Suisse (Ligue pulmonaire Suisse, 2005). La Haute Autorité de santé (HAS, Paris, France) a récemment posé le problème des indications du dosage sanguin de l'IFN - γ . Le remplacement de l'IDR par ces tests serait la règle, avec quatre indications précises [56]:

- ✧ pour réaliser l'enquête (diagnostic de l'ITBL) autour d'un cas, uniquement chez les adultes (de plus de 15 ans) ;
- ✧ lors de leur embauche, pour les professionnels de santé et pour ceux travaillant dans un service à risque dans les mêmes conditions que celles préconisées par les recommandations sur l'IDR ;
- ✧ pour aider au diagnostic des formes extra pulmonaires de la tuberculose maladie souvent difficiles à étiqueter ;
- ✧ avant la mise en route d'un traitement par anti-TNF- α dans les mêmes conditions que les recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) de 2005.

Si le résultat du test est positif, la conséquence est la possible mise en route d'un traitement antituberculeux préventif en fonction des autres éléments disponibles.

Pour ces indications et basé sur son intérêt diagnostique, la HAS a considéré que l'utilité clinique de cet acte est suffisante pour être inscrite à la NABM (Nomenclature des Actes de Biologie Médicale). La mise à disposition de ce test ne saurait avoir lieu sans l'acquisition de nouvelles connaissances absolument nécessaires, au vu d'une part, du peu de données actuellement disponibles sur ce test, et d'autre part, de l'enjeu de santé publique qu'il représente dans la prise en charge de la tuberculose. En conséquence, la HAS émet un avis favorable quant à l'inscription de ce test à la NABM, sous réserve d'un recueil obligatoire de données supplémentaires [57].

*Stratégies de Dépistage
Dans Certaines Populations
à Risque*



IX- STRATEGIES DE DEPISTAGE DANS CERTAINES POPULATIONS A RISQUE

En France, il n'existe pas de stratégie de dépistage généralisée. Il existe des recommandations de dépistage de l'ITBL ou de la tuberculose maladie dans certaines populations considérées à risque d'être infectées ou à risque d'être malades et/ou contagieuses. Le dépistage des sujets contacts autour d'un cas de tuberculose contagieuse fait l'objet de recommandations spécifiques.

1-Dans les populations migrantes originaires de pays d'endémie :

Les différentes études effectuées dans les pays développés basées sur le génotypage des souches (techniques RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ou Miru), semblent montrer que la tuberculose maladie des migrants est surtout liée à la réactivation de l'infection importée acquise dans le pays d'origine et très peu à l'infection contractée dans le pays d'accueil. De plus, le passage de la transmission de la tuberculose maladie de la population migrante vers la population autochtone se fait très peu.

De ce fait, la plupart des pays développés ont adopté une stratégie de dépistage de la tuberculose à l'entrée sur leur territoire et cela quel que soit l'âge. La majorité des pays recommande le dépistage de la tuberculose maladie par radiographie pulmonaire et le dépistage de l'ITBL par IDR chez les enfants âgés de moins de 15 ans comme en France, ou au Canada, âgés de moins de 11 ans comme en Grande Bretagne, ou âgés de moins de 5 ans comme en Belgique. Seuls les Etats-Unis recommandent le dépistage des ITBL auprès de tous les migrants [27].

En France, une radiographie pulmonaire est recommandée pour tous à partir de l'âge de 10 ans à la recherche d'une tuberculose maladie et une IDR est recommandée pour les enfants âgés de moins de 15 ans à la recherche d'une ITBL. Si le résultat de l'IDR est supérieur à 10 mm, il est recommandé de pratiquer une radiographie pulmonaire (Arrêté du 11 janvier 2006) [58]. L'apparition des tests IGRA depuis cinq ans n'a pas modifié les stratégies sus mentionnées. En France, il n'est pas fait mention dans les dernières recommandations de la HAS de l'utilisation des tests IGRA dans les populations migrantes.

Aux Etats-Unis, le remplacement des IDR par les tests IGRA est autorisé dans toutes les indications de l'IDR et donc pour le dépistage des ITBL chez les migrants. Les tests IGRA sont recommandés de préférence à l'IDR, dans les populations ayant bénéficié d'une vaccination antérieure [59].

Au Canada, l'utilisation des tests IGRA et des IDR est autorisée indistinctement dans le dépistage de l'ITBL des migrants à risque d'évoluer vers la maladie : enfants âgés de moins de 15 ans, immunodéprimés et diabétiques [60].

2 - Chez les patients avant mise sous traitement par anti-TNF alpha :

Les traitements par anti-TNF alpha sont associés à une augmentation du risque de tuberculose maladie multiplié par 20 par rapport à la population générale [61,62]. Ce risque est lié à une réactivation plutôt qu'à une tuberculose *de novo* [63]. La plupart des sociétés savantes dans le monde recommandent le dépistage de l'ITBL avant la mise sous traitement. En 2005, l'AFSSAPS préconise ce dépistage par :

- ✧ un interrogatoire à la recherche de facteurs de risque ;
- ✧ une IDR ayant un seuil à 5 mm (quand le BCG date de plus de 10 ans ou en l'absence de BCG) ; et si BCG < 10 ans le seuil est à 10 mm ;
- ✧ une radiographie pulmonaire.

Si une ITBL est diagnostiquée, il est recommandé de mettre en place un traitement prophylactique au minimum trois semaines avant la première prise d'anti-TNF alpha.

Différentes équipes ont étudié l'intérêt des tests IGRA par rapport à l>IDR dans cette population. Lioté H *et al.* [61] ont montré que les meilleures performances (sensibilité et spécificité) des tests IGRA permettent de diminuer le nombre de patients mis sous traitement chimioprophylactique et donc les effets secondaires liés à ces traitements.

L'équipe de rhumatologie de Newcastle utilise ces tests depuis 2004 [63]. Une étude prospective a inclus 101 patients qui ont bénéficié d'un test Quantiferon avant la mise sous traitement par anti-TNF alpha. Sept patients

avaient un test positif et ont reçu un traitement prophylactique. Le suivi a duré de 6 à 30 mois, aucune tuberculose maladie n'a été observée pendant cette période. Ces tests ont permis de diminuer le nombre de patients mis sous traitement et ne semblent pas être affectés par la diminution de l'immunocompétence. Dans le protocole que cette équipe a mis en place, l'utilisation de ces tests est coût-efficace [27].

L'étude de Laffitte [64] conduite auprès de 50 patients atteints de psoriasis, montre qu'une ITBL a été dépistée par T-Spot-TB et traitée chez 20 % d'entre eux.

En France, une étude a été conduite chez des patients d'un service de rhumatologie en 2010 et a montré que dans cette population majoritairement vaccinée, l'utilisation des tests IGRA permettait de traiter moins de patients (23 % *versus* 40 % avec l'IDR) (Données personnelles X. Mariette) [27].

En 2006, la recommandation de la HAS donne la possibilité d'utiliser les tests IGRA à la place de l'IDR.

Actuellement une étude est en cours (Etude ETAT dans le cadre d'un STIC Soutien aux Techniques Innovantes et Coûteuses ou non), dont l'objectif est d'évaluer les performances d'un test par rapport à l'autre (IDR *versus* tests IGRA)[27].

3 - Sujets contacts d'un cas index contagieux :

Les recommandations du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) qui datent de 2003 ont été complétées en 2006. Elles reposent sur le signalement et la déclaration obligatoire du cas de tuberculose au Centre de lutte anti-tuberculeuse (CLAT) depuis 2006 et à l'Agence régionale de santé (ARS) du lieu d'exercice du médecin Déclarant [65].

Ce signalement donne lieu à une enquête auprès du patient dans le but de définir une liste de sujets contacts. Un sujet contact est défini comme une personne ayant passé au moins 8 heures en contact rapproché et/ou répété avec un malade contagieux. Les sujets contact les plus à risque étant ceux qui vivent sous le même toit que le cas index (contacts étroits). Ces sujets pourront faire l'objet d'un dépistage dans le but de découvrir des tuberculoses maladies secondaires ou des ITBL. Ce dépistage est particulièrement important compte tenu de l'incidence élevée ($>1000/100000$ habitants) dans cette population et se fait en trois temps : T0, T3mois et T 12-18 mois.

Il repose sur une radiographie pulmonaire et un examen clinique à la recherche d'une Tuberculose maladie puis un test tuberculinique : IDR dans la majorité des cas ou test IGRA chez les personnes âgées de plus de 15 ans depuis 2006 à la recherche d'une ITBL (voir exemple d'enquête d'entourage en suisse figure 23 [66]).

Le nombre de perdus de vue dans cette population est important (autour de 30 %, données CLAT 75) : pas de présentation au dépistage, perdus de vue entre le test IDR et la lecture, puis entre le 1er et le 2ème. Par conséquent, il semble que tout ce qui facilitera le dépistage améliorera l'adhésion des sujets contacts.

Deux études de suivi ont été réalisées sur les performances des tests IGRA dans l'enquête autour d'un cas dans des pays à faible incidence. Elles concernent principalement des adultes. Il y a peu de données publiées chez les enfants âgés de moins de 6 ans évaluant le risque de développement d'une tuberculose maladie quand la stratégie diagnostique dans l'enquête autour d'un cas repose sur les tests IGRA.

Une étude allemande [67] a porté sur les sujets contacts de tuberculeux ayant refusé la chimioprophylaxie. Sur une période de trois ans 954 cas contacts ont bénéficié d'une IDR et d'un Quantiferon-TB Gold-In-tube. Parmi ceux-ci 21 % avaient un Quantiferon positif contre 63 % pour l'IDR>5mm et 25 % pour l'IDR>10mm. Parmi les 19 qui ont développé une tuberculose maladie dans les deux ans de suivi, 100 % avaient un Quantiferon positif, 90 % avaient une IDR>5mm et 53 % une IDR>10mm.

La proportion de patients ayant développé une tuberculose maladie ultérieure parmi ceux ayant un test positif était de 12,9 % (19/147) pour le Quantiferon, 3,1 % (17/555) pour l'IDR > 5mm et 4,8 % (10/207) pour l'IDR >10mm. La proportion de ceux ayant développé une tuberculose maladie ultérieure parmi ceux ayant un test négatif était de 0 % (0/756) pour le Quantiferon, 0,6 % (2/348) pour l'IDR<5mm et 0,8 % (7/903) pour l'IDR<10 mm.

Une étude néerlandaise [68] a porté sur des migrants, cas contacts de tuberculeux ayant refusé la chimioprophylaxie. Tout ceux ayant une IDR>5mm ont bénéficié d'un test IGRA. Seuls ceux ayant une IDR initiale <5mm ont bénéficié d'un second temps de dépistage. Parmi les 310 ayant une IDR>5mm, 146 (47 %) avaient un Quantiferon positif et 168 (60 %) un T-SPOT TB positif. Parmi les 9 qui ont développé une tuberculose maladie, 8 avaient une IDR positive (un avait une IDR connue positive auparavant qui n'avait pas été refaite), 5 un Quantiferon positif (1 cas n'a pas eu de Quantiferon) et 6 un T-SPOT TB positif (1 cas n'a pas eu de T-SPOT TB). Il faut noter que parmi les trois patients ayant développé une tuberculose maladie avec un ou les deux tests IGRA négatifs, aucun n'a eu de second temps de dépistage et le premier temps de dépistage avait eu lieu respectivement 5, 19 et 34 jours après le diagnostic du cas index.

La proportion de patients ayant développé une tuberculose maladie ultérieure parmi ceux ayant un test positif était de 2,8 % (5/178) pour le Quantiferon, 3,3 % (6/181) pour le T-SPOT TB, 3,8 % (7/184) pour l'IDR > 15mm et 3,1 % (9/288) pour l'IDR >10mm, 2,7 % (9/339) pour l'IDR >5mm. La proportion de ceux ayant développé une tuberculose maladie ultérieure parmi ceux ayant un test négatif était de 2 % (3/149) pour le Quantiferon, 1,7 % (2/118) pour le T-SPOT TB, 0,7 % (1/148) pour l'IDR<15mm et 0 % (0/51) pour l'IDR<10 mm.

Ces deux études ont donc des méthodologies très différentes puisque dans un cas IGRA et IDR sont fait de façon systématique et que dans l'autre la réalisation de l'IGRA dépend du résultat de l'IDR. De plus dans la seconde

étude le délai de réalisation du premier temps de dépistage (qui peut être le seul) est très variable alors que dans la première étude il est fixé à neuf semaines. Enfin la seconde étude porte sur une population d'immigrés pour laquelle l'interprétation des tests IDR ou IGRAs peut être délicate car une positivité peut ne pas être la conséquence du contagage à l'origine de l'enquête mais d'un contagage ancien dans le pays de provenance.

Il ressort que :

1. Le nombre d'études disponibles sur le suivi longitudinal des sujets dépistés positifs est réduit et qu'elles ont des méthodologies différentes. Les deux études présentées concernent des populations très différentes sur le plan épidémiologique.
2. La valeur prédictive négative de ces tests comme de l'IDR est excellente.
3. La valeur prédictive positive des tests IGRAs paraît équivalente à celle de l'IDR dans une étude et supérieure dans l'autre.
4. Le nombre de patients ayant un test positif, et donc susceptibles d'être traités, est réduit avec les tests IGRAs sans que l'on puisse dire toutefois qu'un test négatif exclut le développement d'une tuberculose maladie ultérieure.
5. Les deux études sont très différentes en termes de sensibilité puisque l'une retrouve une sensibilité de 100 % du test IGRAs tandis que l'autre retrouve une sensibilité de 63 à 75 %.

Au total, ces premières données prospectives montrent que ces tests IGRA ont, dans l'enquête autour d'un cas, dans des pays de faible incidence de tuberculose, des performances au moins équivalentes à celles de l>IDR et certainement supérieures dans les populations vaccinées. Ils peuvent permettre d'envisager de proposer des traitements d'ITBL à une population plus réduite que ne le permet l>IDR. Il semble par ailleurs que l'intérêt d'une prise de sang unique (*versus* IDR et lecture en deux séances) puisse permettre de réduire dans certains centres le nombre de sujets perdus de vue.

Toutefois il faut noter que la négativité de ces tests ne semble pas exclure le développement ultérieur d'une tuberculose maladie.

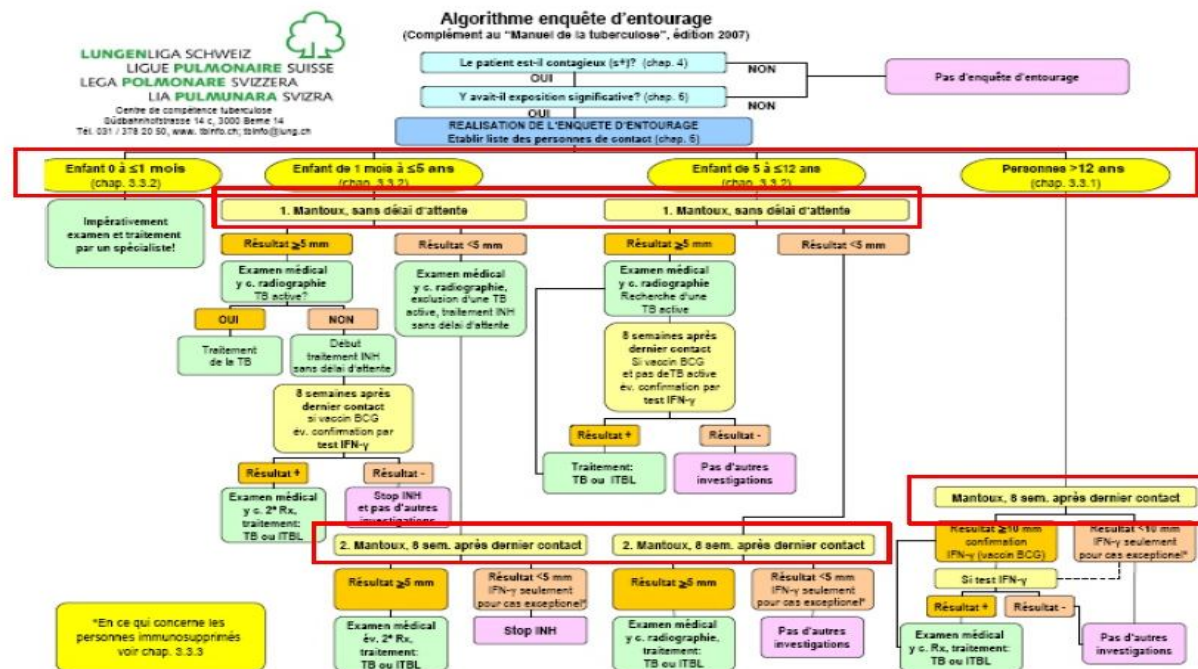


Figure 23 : Algorithme de l'enquête d'entourage d'un cas de tuberculose [66]

BCG : Bacille de Calmette et Guérin
ITBL : Infections tuberculeuses latentes
IFN- γ : Interféron gamma

TB : Tuberculose
INH : Isomiazide

4 Professionnels de santé et autres professionnels exposés (y compris stagiaires et étudiants) :

La surveillance des professionnels de santé fait l'objet de recommandations particulières compte tenu de leur risque d'exposition et du risque de transmission aux malades dont ils ont la charge. Elle a pour objectif :

- ✧ la protection de la collectivité hospitalière (patients et autres professionnels de santé) ;
- ✧ le bénéfice individuel du soignant :
 - en lui proposant si nécessaire une prophylaxie ou une surveillance en cas de dépistage d'une infection tuberculeuse ;
 - en actant par une déclaration de maladie professionnelle le lien avec le travail permettant sa protection médico-légale avec ouverture de droit à indemnisation éventuelle.

Les modalités de cette surveillance ont été rappelées dans l'avis du CSHPF du 15 novembre 2002 [69] qui vise non seulement les personnels de santé mais aussi d'autres professionnels exposés tels les foyers de migrants, le milieu pénitentiaire. A l'embauche :

- ✧ un examen clinique de référence doit être effectué, complété systématiquement d'une radiographie pulmonaire et d'une IDR datant de moins de trois mois ; la radiographie recommandée par le CSHPF, n'est obligatoire que pour la fonction publique hospitalière [Article R 4626-23 du Code de Travail] [27].; en revanche, l'IDR de référence

est obligatoire pour tous (Décret n°2004-635 du 30 juin 2004 relatif à la vaccination par le vaccin antituberculeux BCG et modifiant les articles R. 3112-2 et R. 3112-4 du code de la santé publique (JO 152 du 2/07/04))[27].;

En cours d'activité professionnelle, la surveillance est différente selon le niveau de risques [27] :

- ✧ risque élevé : secteur géographique accueillant au moins 5 tuberculeux bacillifères par an : surveillance tous les 18 mois à 2 ans de la radiographie pulmonaire et de l'IDR si < 10 mm ; risque intermédiaire : secteur géographique accueillant de 2 à 4 tuberculeux bacillifères par an : selon l'évaluation du médecin du travail ;
- ✧ risque faible : secteur géographique accueillant au plus 1 tuberculeux par an chaque année : enquête autour d'un cas contagieux non isolé comme en population générale basée sur radio et IDR à T0, T 3mois et T 12-18 mois. Depuis 2006 selon les recommandations de la HAS, les tests IGRA peuvent être utilisés en remplacement de l'IDR mais ils l'ont été de façon très inégale, sans indication ni conduite à tenir standardisées.

5 - Personnes infectées par le VIH :

En France, 150 000 personnes sont actuellement infectées par le VIH. L'incidence de la tuberculose chez ces patients est particulièrement élevée (> 400/100 000 habitants) même chez les patients sans facteur de risque autre que leur VIH. Le dépistage et le traitement des ITBL quelle soit anciennes ou récentes, diminue l'incidence de la tuberculose maladie dans cette population. Des données récentes sur la cohorte FHDH (base de données hospitalière française sur l'infection à VIH) portant sur plus de 80 000 patients suivis en France montre que l'incidence de la tuberculose dans cette population a tendance à augmenter [70].

Le dépistage et le traitement des ITBL quelle soit anciennes ou récentes, diminue l'incidence de la tuberculose maladie dans cette population [71,72,73].

Le dépistage de l'infection tuberculeuse si possible et le traitement au cours de l'infection VIH sont fortement recommandés par les organisations internationales car le traitement de l'infection latente est l'une des actions prouvées pour contrôler la tuberculose associée au VIH (*The HIV –associated tuberculosis epidemic –when will we act*) [74].

En France, le rapport d'expert (rapport Yeni 2010)[27] insiste sur l'importance du risque de tuberculose dans la population infectée par le VIH et constate la faible performance de l>IDR dans cette population pour dépister l'infection latente. Le traitement de l'infection latente est recommandé mais la place des IGRA n'est pas précisée en l'attente des résultats d'études en cours en France, en particulier une étude ANRS (Agence nationale de recherche sur le sida) (Quantispot) et l'étude STIC [27].

Récemment les recommandations anglaises du NICE insistent sur la nécessité de dépister l'infection chez les patients VIH dont le chiffre de CD4 est inférieur à 500 par mm³. Les recommandations concernant l'outil de dépistage sont différentes selon que les CD4 sont inférieurs ou supérieurs à 200 par mm³.

La fiabilité des tests de dépistage IDR et IGRA est affectée par l'infection par le VIH surtout en cas de CD4 inférieurs à 200/mm³. Plusieurs études montrent que les tests IGRA sont moins affectés que les tests tuberculiniques [75,76,77].

La réalisation systématique du test QFT Gold dans une cohorte de 830 patients adultes infectés par le VIH en Autriche a permis d'identifier 44 patients avec un test positif dont 7 avec une tuberculose active, 47 indéterminés et 739 négatifs. Huit cent vingt-deux patients ont été suivis pour une durée médiane de 20 mois : 3 ont développé une tuberculose maladie pendant cette période parmi les 37 positifs (8,1 %) tandis qu'aucun cas de tuberculose n'est survenu parmi les 738 négatifs. Dans cette étude réalisée dans un pays de faible incidence et à niveau économique élevé, donc de situation comparable à la France, la valeur prédictive négative était très élevée [78].

6. Enfants :

Chez l'enfant âgé de moins de 5 ans, le nombre de tests indéterminés est augmenté et le prélèvement veineux est difficile à réaliser [79]. Le risque accru de développement d'une tuberculose maladie à cet âge et le peu de données prospectives sur l'utilisation des IGRA dans cette classe d'âge conduit le groupe de travail du haut conseil de la santé publique à ne pas recommander l'utilisation des tests IGRA chez l'enfant de moins de 5 ans.

Le groupe recommande de ne pas modifier la stratégie diagnostique actuelle (IDR chez les sujets contact le plus tôt possible, puis à 3 mois).

Chez l'enfant à partir de l'âge de 5 ans et l'adulte, les performances des tests IGRA sont intéressantes surtout en population vaccinée (spécificité et sensibilité >85 %). Les tests IGRA peuvent peut-être permettre de proposer un traitement à une population plus restreinte. Il semble par ailleurs que l'intérêt d'une prise de sang unique (*versus* IDR et lecture en deux séances) puisse permettre de réduire dans certains centres le nombre de sujets perdus de vue [27].

Le groupe propose que la stratégie diagnostique de l'ITBL dans l'enquête autour d'un cas chez l'enfant à partir de 5 ans et l'adulte repose soit sur l'IDR soit sur un des tests IGRA.

Le groupe ne recommande pas l'utilisation préférentielle de l'un ou l'autre des tests IDR ou IGRA.

Sur un plan pratique et compte tenu d'une couverture vaccinale importante par le BCG en France, les tests IGRA pourraient être privilégiés, cependant cette recommandation nécessite des études médico-économiques et prospectives supplémentaires.

*Avantages et limites
des IGRA :*



X- AVANTAGES ET LIMITES DES IGRA :

1. Avantages :

Ces tests ont démontré, grâce à l'emploi d'antigènes spécifiques de *M. tuberculosis*, d'une meilleure spécificité (pas de faux positif en cas de vaccination BCG et/ou de contact avec la plupart des MNT) et d'une meilleure sensibilité. Ils sont également rapides (résultat obtenu en moins de 24 heures), ne dépendent d'aucun observateur et produisent des résultats quantitatifs et objectifs. Ils possèdent un contrôle interne, permettant d'évaluer l'immunocompétence du sujet ou sa réponse T non spécifique.

Comme cité précédemment, la concentration du mitogène PHA diffère entre les deux tests, permettant de préciser que QFT Gold définit mieux l'immunocompétence du sujet testé. Enfin, ces tests ne nécessitent pas une seconde visite, sauf en cas de positivité pour une réévaluation du patient, et peuvent permettre de suivre l'efficacité du traitement prophylactique ou curatif administré [37].

2. Limites

Les inconvénients sont liés principalement à la nature des antigènes utilisés. ESAT-6 et CFP- 10 sont produits par deux autres mycobactéries pathogènes : *M. kansasii* et *M. marinum*. Seule une confusion peut être observée avec une mycobactériose pulmonaire à *M. kansasii*, comme cela a été observé dans certaines populations témoins. De plus, ces tests ne discriminent pas entre la tuberculose maladie et la tuberculose infection. Il est essentiel de définir la tuberculose infection sur la base de l'exclusion de la tuberculose maladie, avec absence totale de signes cliniques, en cas de positivité de ces tests. Par ailleurs, un contrôle devra être réalisé à l'instar de ce qui est préconisé aux Etats-Unis. En

effet, aucun test n'a réellement été étudié sur le plan cinétique (à l'instar de l'étude réalisée au laboratoire chez les enfants), par exemple pour déterminer l'évolution de la réponse en absence de traitement chez les sujets détectés positifs.

Ces tests ont également des impératifs biologiques, notamment le délai d'acheminement pour le T-SPOT.TB comme décrit précédemment. ils n'ont pas encore été validés dans trois populations : les enfants [80,81] ; les sujets coinfectés par le VIH, et les patients mis sous immunosuppresseurs notamment sous anti-TNF- α . Enfin, le coût des tests peut représenter leur inconvénient majeur. Mais celui-ci doit être comparé aux différents aspects de l>IDR : réalisation technique, seconde visite, et chimioprophylaxie en excès du fait d'une spécificité médiocre. Le coût de l>IDR a été évalué aux Etats-Unis entre 41 à 363 \$ pour les centres hospitaliers, et 176 à 264 \$ pour les centres de santé [82] Cela **est** à comparer aux 25 € par test pour le QFT Gold auquel doit être ajoutée la visite du clinicien et le coût du prélèvement.

Par ailleurs, une réduction des coûts, déjà obtenue par la visite et un test biologique, pourrait être renforcée par la mise en place d'un dépistage actif des personnes à haut risque de développer une tuberculose maladie. Selon les dernières données françaises, les populations issues de l'immigration à partir des pays à forte endémie tuberculeuse représentaient près de 44 % des cas de tuberculoses déclarées. Ce pourcentage était de 62 % pour les tranches d'âge de 15 à 39 ans, donnant une incidence 13 fois supérieure à celles des populations du même âge nées en France [83]. Des chiffres similaires sont retrouvés aux Etats-Unis, en Angleterre et en Australie. D'où les recommandations américaines qui prônent principalement le dépistage des sujets à haut risque d'infection ancienne ou récente afin de leur proposer une chimiothérapie antituberculeuse.

3. IGRA versus IDR :

Tableau 7 : comparaison des deux tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés par les antigènes de *M. tuberculosis* avec l'intra-dermoréaction [1,12,25].

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

CFP-10 :culture filtrate protein 10 ; ELISA : enzyme linked immunosorbent assay ;

ELISpot : enzyme linked immunospot ; ESAT-6 : early secretory antigenic target 6 ; IDR: intradermoréaction; NA: non applicable; PPD: purified protein derivative.

4. Caractéristiques communes

Un test immunologique négatif que ce soit une IDR ou un test IGRA, ne peut exclure ni une tuberculose infection ni une tuberculose maladie.

- Aucun de ces tests ne permet de différencier une infection ancienne d'une infection récente.
- Aucun de ces tests lorsqu'il est positif ne peut donner d'indication quant au risque d'évoluer vers une tuberculose maladie
- Ces tests sont dépendants du statut immunitaire du sujet.

5- Délai entre IDR et test IGRA

Treize études ont analysé s'il existait un effet « boost » de l'IDR sur le résultat du test IGRA [84]. Cinq études ne retrouvent pas cet effet pour un test IGRA réalisé 28 jours à 9 mois après l'IDR, alors que sept études retrouvent un effet possible si le test IGRA est réalisé dans les 21 jours suivant l'IDR. Cet effet n'est retrouvé que dans le cas d'IDR positive et ne concerne que des valeurs de positivité de l'IGRA proches du seuil. Les IDR négatives ne « boostent » pas les tests IGRA. En pratique, le test IGRA pourra être réalisé à la lecture de l'IDR.

Recommandations



XI- RECOMMANDATIONS PUBLIEES CONCERNANT LE BON USAGE DES IGRA :

Les *IGRA* sont de plus en plus utilisés dans les pays occidentaux à faible incidence de tuberculose. Plus d'une douzaine de pays ont publié des recommandations sur leur utilisation.

En voici les principales. Pour chacune d'elle nous citons les points essentiels. Bien que les deux tests soient cités, il s'agit pour la plupart du test Quantiferon GiT qui est utilisé :

A. Etats-Unis

Il s'agit des recommandations réactualisées du CDC en 2010 [85].

- ✧ Les critères d'interprétation notamment pour le Quantiferon sont définis avec précision et l'importance d'une catégorie de résultats indéterminés est soulignée.
- ✧ les *IGRA* peuvent être utilisés en remplacement de l'IDR (et pas en supplément) dans toutes les situations où l'IDR était utilisée pour faire un diagnostic d'ITBL. Il s'agit des enquêtes autour d'un cas de tuberculose, de tests durant la grossesse, l'examen du personnel de la santé et d'autres cas nécessitant des tests en série.

Le CDC ne recommande donc pas de « two steps procedure » dans ces cas.

- ✧ L'IGRA est la méthode préférée dans une population vaccinée au BCG et chez les personnes chez qui le risque de non-présentation pour lecture de l'IDR est élevé.

Les IGRA sont aussi proposés chez les enfants de moins de 5 ans. Il faut noter que les guidelines des états unis laissent le choix entre les 2 méthodes (IGRA ou IDR).

- ✧ Les deux tests peuvent être réalisés l'un après l'autre (« two-step testing ») dans les situations où :
 1. le premier test (quel qu'il soit) est négatif et qu'il existe néanmoins un risque élevé de progression (par exemple HIV positifs ou enfants < 5 ans)
 2. et le premier test est positif et qu'on voudrait avoir une confirmation pour augmenter les chances d'adhérence à un traitement préventif (professionnels de santé nés à l'étranger prétendant par exemple que l'IDR positive est secondaire à une vaccination BCG) ou encore en cas de risque très faible d'ITBL.
- ✧ Le CDC attire l'attention sur la fréquence relativement élevée de résultats indéterminés et la possibilité qu'on doive répéter le test ou faire une IDR. Il est aussi noté que des tests IGRA répétés négatifs ne permettent pas d'exclure une ITBL.

B.CANADA :

Publiées par le Canadian Tuberculosis Committee en 2010 [86] :

- ✧ En cas d'IDR positive chez des personnes à faible risque d'ITBL il est recommandé de faire un test IGRA pour confirmation (two-steps).
- ✧ Chez des personnes à haut risque de progression vers une maladie active il est recommandé de faire une IDR. En cas de positivité la personne devrait être considérée comme infectée et un traitement doit être proposé. En cas de négativité il est nécessaire de faire un IGRA (possibilité d'IDR faussement négative)
- ✧ Chez les sujets immunodéprimés : commencer avec IDR. Si positive la personne est à traiter. Si négative, un test IGRA de confirmation est à faire.
- ✧ Chez les enfants un test IGRA peut être utilisé comme aide au diagnostic d'une tuberculose active en association avec les recherches microbiologiques habituelles. Le test IGRA ne peut en aucun cas remplacer la microbiologie (Examen direct, culture)

C. Royaume Uni:

Publiées par la UK Health Protection Agency (HPA) en 2008 [87] :

- ✧ L’IDR devrait être réalisée en premier lieu dans une enquête autour d’un cas et on peut proposer aux individus IDR positive de faire un test IGRA de confirmation en fonction de la disponibilité du test (apparemment pas disponible dans toutes les régions du Royaume Uni).
- ✧ Les IGRA peuvent être utilisés seuls en cas de probabilité élevée d’IDR faussement négative (personnes immunodéprimées) ou dans des enquêtes de large ampleur pour des raisons de logistique.

D. France :

Publiées par la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2006 [88]. Les indications retenues pour réaliser un test IGRA (QFT GiT ou Elispot) sont :

- ✧ Enquête autour d’un cas, uniquement chez les adultes (car en France quasi tout le monde est vacciné par le BCG)
- ✧ Chez les professionnels de la santé à l’embauche et pour ceux travaillant dans un service à risque.
- ✧ Pour aider au diagnostic de tuberculose extra-pulmonaire
- ✧ Avant la mise en route d’un traitement par anticorps anti-TNF- α

D’autres indications décrites comme potentiellement intéressantes n’ont pas été retenues (faute de données suffisantes) telles que les patients HIV positifs ou le dépistage des immigrés.

Le test n’est pas recommandé chez l’enfant de moins de 15 ans

C. Cas particulier des Enfants :

Les recommandations américaines et canadiennes mentionnent l'indication des IGRA chez les enfants. L'American Academy of Pediatrics (AAP) a publié des recommandations en 2009 [89] :

- ✧ Chez les enfants immunocompétents de plus de 5 ans les IGRA peuvent remplacer l>IDR pour confirmer un diagnostic d'ITBL ou de tuberculose active. Le risque de faux positifs est moindre avec les IGRA. Chez les enfants de moins de 5ans on ne dispose pas de données suffisantes.
- ✧ Les enfants IGRA positif doivent être considérés comme infectés par *M. Tuberculosis* (infection latente ou active). Cependant un test négatif ne devrait pas être interprété comme l'absence de tuberculose.
- ✧ Les résultats indéterminés ne devraient pas être interprétés comme l'absence de tuberculose.

Une méta-analyse récente n'a pas trouvé de preuves évidentes que le Quantiferon est supérieur à l>IDR pour le diagnostic de l'ITBL chez l'enfant [90]. Il semblerait cependant que dans les pays à faible incidence de tuberculose, le Quantiferon soit plus sensible que l>IDR pour le diagnostic d'une tuberculose active

Tableau 8 : Recommandations internationales pour le dépistage de l'ITBL chez l'adulte [27]

	Enquête d'entourage	Personnel de santé	ID/VIH	Anti-TNF α	Migrants/SDF
Canada 2010	- en confirmation d'1 TST + si faible risque de contamination - si contact étroit : TST ou IGRA		-TST en 1 ^{er} , si + : diagnostic ITL posé -si TST –et en fonction du risque, un test Igra peut être prescrit (Tspot intéressant dans cette population)		- Pas de dépistage systématique des migrants non recommandé ; - Dépistage ciblé si risque de réactivation et si pathologie associée (VIH, transplantation, diabète ...)
UK 2008/ Nice 2011	-TST doit être utilisé en 1 ^{er} - si + : confirmation par IGRA - IGRA seul si vaccination par BCG	A l'embauche : - IGRA si IDR + chez non vaccinés BCG - IGRA d'emblée si originaire de pays de forte endémie ou si a travaillé dans service à haut risque	- si risque de faux négatif : faire IGRA - si CD4 < 200 : TST + IGRA - si CD4 de 200 à 500 : test IGRA seul ou TST + IGRA	Test IGRA seul	- Migrants : 16-35 ans : test IGRA >35 ans : en fonction des cas
Australie 2007/ 2009	-TST en 1 ^{er} sauf si BCG - seuil TST : 10 mm		- seuil TST =5mm - migrants infectés par VIH, faire 2TST, si négatif orienté vers spécialiste		- tester pour traiter ITL - indifféremment IGRA ou TST
Suisse 2010	- IGRA en confirmation TST + (seuil 10 mm/5 mm en 2011)	IGRA : surveillance régulière	- IGRA en bilan initial	- RP + IGRA	
France HAS 2006	- IGRA possible	- embauche - surveillance si service à risque		Interrogatoire, clinique, RP, IGRA/IDR	

Tableau 8 suite 1

Allemagne 2007/2009/2011	- 2 étapes : TST puis IGRA seuil TST : 5mm - IGRA seul si BCG, risque faux + ou faux-, risque d'inobservance	IGRA à l'embauche et pour le diagnostic d'ITL	Si risque de faux négatif, faire un test IGRA	IGRA	
Italie 2009	TST = test référence Si TST + et BCG : faire IGRA		Faire un test IGRA chez tous les sujets ID ou HIV+ avec un TST négatif		
Espagne 2008	TST = test référence				
Danemark 2010	Faire IGRA chez adultes ou si BCG		Pas de guide	Préférer IGRA, mais faire TST si IGRA impossible	
Hollande 2007	TST initial si >5mm, faire IGRA Groupes à risque TST ou IGRA			Faire TST et s'appuyer sur la clinique	
Norvège 2010	TST, si >6mm, faire IGRA (QFT puis Tspot)	Préférer test IGRA	Si ID, préféré TspotTB		
Japon 2006	-18-49 ans : QFT préféré au TST >50ans : QFT ou TST mais utilisation limitée - dépistage de masse QFT préféré mais TST fait (coût)	Préférer QFT à TST	Dans les groupes à haut risque, préféré le QFT	Préférer QFT	
Corée 2009	IGRA en confirmation TST+ Seuil : 5mm sans BCG , 10mm avec BCG Si TST -, IGRA peut être fait				
Tchéquie 2006	IGRA et groupes à risque			IGRA avant le traitement et en surveillance	
Pologne 2008				IGRA	

Tableau 8 suite 2

Slovaquie 2008	Deux étapes : TST puis IGRA (quand TST +)	En 2 étapes - personnels exposés - militaires		2 étapes : - avant mise sous traitement - puis surveillance annuelle	En 2 étapes pour réfugiés et minorités
USA 2010	- IGRA ou TST sans préférence - dans le cas de vaccination antérieure par BCG : préférer IGRA - quand risque élevé de progression vers la maladie ou pour faciliter l'observance au traitement : faire les 2 tests	IGRA ou TST sans préférence IGRA de préférence si vaccinés BCG	- TST+IGRA : quand risque élevé de progression vers la maladie		- chez les SDF ou usagers drogues : préférer IGRA

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

ITBL : Infections tuberculeuses latentes

IGRA: Interferon-gamma-release assays

HAS : Haute Autorité de santé

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

TST : Tuberculin Skin test

RP : radiographie pulmonaire

ID : Immunodépression

SDF : sans domicile fixe

QFT : Quantiferon

Tableau 9 : recommandations internationales pour le dépistage de l'infection tuberculeuse chez l'enfant [27]

	Enquête autour des cas et migrants		Patients Immunodéprimés
Canada 2010	IGRA en confirmation d'un TST +, évaluer le risque en fonction de la durée et du degré du contact		TST initial, si négatif le clinicien peut décider IGRA
Australie 2009	Tester dans l'intention de traiter, tous les migrants avec TST ou IGRA <5ans seuil TST à 5mm ; >5ans, seuil TST 10mm		Si migrants infectés par VIH ; dépistage en 2 étapes Seuil TST à 5mm
Suisse 2007 / Tchéquie / Pologne / Slovaquie / Allemagne 2007 / Italie 2009 / Espagne 2008 / France 2006 / UK 2008	Pas de recommandation particulière chez l'enfant		
Danemark 2009	Chez les contacts : utiliser indifféremment TST ou IGRA sauf si BCG		
Hollande 2007	Enfants migrants âgés de 4 semaines à 12 ans : faire un TST, si >5mm faire IGRA		
Norvège 2007	2 étapes : TST puis confirmation par IGRA si TST >6mm		
Japon 2006	Non recommandé sauf si aide diagnostic TM	Sujets contacts - 5-12ans : TST ou QFT - 12-18 ans : QFT>TST	
Corée 2009		Contact >6 ans, faire TST Seuil à 5 mm et à 10 mm chez vaccinés par BCG . Si TST+, faire IGRA	
USA 2010	TST de préférence, certains pensent faire TST + IGRA car risque élevé de passage d'ITL vers TM	TST ou IGRA sans préférence	TST+IGRA quand risque élevé de passage ITL vers TM
Royaume-Uni 2011	Migrants âgés de 5 à 15 ans : TST, si positif IGRA Contacts autour d'un cas âgés de 2 à 5 ans : TST		

TM : Tuberculose maladie

Tableau 10 : tests IGRA et diagnostic de tuberculose maladie [27]

	<5 ans	5 ans et plus
Canada 2010		<18 ans : aide au diagnostic de TM
Japon 2006	Aide au diagnostic	
Tchéquie Slovaquie 2008	Diagnostic différentiel de TM pulmonaire et extra pulmonaire	
France HAS 2006 Suisse 2010	Aide au diagnostic de tuberculose extrapulmonaire	

Conclusion



XII- CONCLUSION :

L'objectif d'introduire les tests IGRA dans la stratégie de prise en charge des patients tuberculeux est de diminuer les traitements prophylactiques institués sur l'existence d'IDR positive chez des sujets vaccinés, et de mieux cibler, grâce à une meilleure sensibilité, les sujets ayant une ITBL qui ont une très forte probabilité de progresser vers la tuberculose maladie. Outre les économies de santé (trois mois d'Isoniazide sont évalués à environ 132€), on peut aussi espérer l'éradication des complications iatrogènes. Leur efficacité diagnostique gagnera certainement à leur utilisation adaptée au contexte socio-économique des populations étudiées.

Les critères du choix de leur utilisation en première ou en seconde intention seront : la prévalence de l'infection dans les populations étudiées, le statut vaccinal de ces populations, et la possibilité de mettre en place un suivi sérologique des sujets à risque lorsque cela est économiquement possible.

Elle passera par une évolution des tests vers l'établissement de profils cytokiniques plus Informatifs sur le stade évolutif de l'infection que le dosage du seul IFN- γ . Tout comme ce fut le cas lors de la fondation pratique des premiers concepts de l'immunologie au tournant des années 1900, la meilleure connaissance de la réponse immunitaire anti-*M. tuberculosis* devrait permettre de faire des IGRA un nouvel outil pour la prévention, le diagnostic et le traitement de l'infection, pouvant devenir l'IDR du 21^{ème} siècle.

Annexe



Mise en œuvre du Quantiferon-TB Gold In Tube [39].

1- Phase pré-analytique :

➤ Matériels :

- 3 Tubes spéciaux fournis par le laboratoire :
 - un premier ne contenant aucun antigène et servant de contrôle négatif (bouchon gris);
 - un deuxième tube contenant de la phytohémagglutinine (PHA) jouant un rôle de contrôle interne de la réaction d'activation des lymphocytes T (bouchon pourpre);
 - un troisième tube contenant les antigènes spécifiques ESAT-6 ; CFP-10 ainsi que TB7.7, antigène également codé par la région RD I. (bouchon rouge)
- Incubateur 37 °C . CO2 non nécessaire.
- Pipettes à volume variable étalonnées de 10µl à 1000µl avec embouts jetables.
- Pipettes multicanaux étalonnées d'un volume de 50µl et de 100µl avec embouts jetables.
- Agitateur pour microplaque.
- Eau déionisée ou distillée – 2 litres.
- Laveur de microplaque (laveur automatique recommandé).
- Lecteur de microplaque équipé de filtres de 450 nm et de filtres de référence de 620 à 650 nm.

- Composants pour ELISA :
 - Bandelettes microplaque 24 x 8 puits
 - IFN- γ
 - Standard humain, lyophilisé 1 x flacon
 - Diluant vert (Green Diluent [GD]) 1 x 30ml
 - Concentré 100X de conjugué, lyophilisé 1 x 0,3ml
 - Concentré 20X de tampon de lavage 1 x 100ml
 - Solution de substrat d'enzyme 1 x 30ml
 - Solution de stoppage d'enzyme 1 x 15ml

➤ **Prélèvement :**

Le test nécessite un simple prélèvement, il est réalisé sur sang total.

Pour obtenir des résultats optimums, il faut respecter les procédures suivantes:

1. Pour chaque sujet, prélever par ponction veineuse 1ml de sang directement dans chacun des tubes de prélèvement sanguin QuantiFERON®-TB Gold IT.

• Les tubes de prélèvement sanguin QuantiFERON® standards devraient être utilisés jusqu'à une altitude de 810 mètres. Les tubes de prélèvement sanguin QuantiFERON® Haute Altitude (HA) devraient être utilisés à des altitudes supérieures à 1020 mètres.

Si les tubes de prélèvement sanguin QuantiFERON® sont utilisés à une altitude différente de celles mentionnées ci-dessus ou encore, si le volume de sang prélevé est trop faible, les prélèvements peuvent être effectués au moyen d'une seringue. 1ml de ce sang sera ensuite transféré dans chacun des trois tubes. Pour des raisons de sécurité, il est conseillé d'ôter d'une part, l'aiguille de la seringue et d'autre part, les bouchons des trois tubes QFT-Gold IT – tout en veillant à respecter les procédures de sécurité appropriées - et d'ensuite verser 1 ml de sang dans chacun des trois tubes de prélèvement (jusqu'à la ligne de marquage noire sur le côté de l'étiquette du tube). Remettre les bouchons, s'assurer qu'ils sont bien en place et mélanger comme décrit ci- dessous.

- Vu que les tubes de 1ml aspirent le sang assez lentement, dès qu'un tube semble être plein, maintenir celui-ci sur l'aiguille pendant 2 à 3 secondes afin de prélever le volume exact.

Sur le côté du tube, la ligne noire de marquage correspond à un volume de 1ml. Les tubes de prélèvement sanguin QuantiFERON®-TB Gold sont validés pour une plage de volumes allant de 0,8 à 1,2ml. Si dans un tube, le niveau de sang n'atteint pas presque la ligne de marquage, il est recommandé de refaire un prélèvement sanguin.

- Si le prélèvement est effectué avec une "aiguille butterfly", il y a lieu d'utiliser également un tube purgeur pour assurer que la tubulure est remplie de sang avant d'utiliser les tubes QuantiFERON®-TB Gold.

2. Mélanger le contenu de chaque tube **en secouant vigoureusement pendant 5 secondes** (ou 10 fois) et **s'assurer que toute la surface interne du tube** est parfaitement recouverte de sang.

- Les antigènes ont été appliqués et séchés sur les parois internes des tubes de Prélèvement sanguin, de sorte qu'il est essentiel de bien mélanger le contenu des tubes avec le sang prélevé.

- L'apparition de mousse au niveau du sang est normale lors d'une telle manipulation. Elle n'affecte en aucun cas la performance du test et ne doit pas préoccuper le phlébotomiste.

3. Etiqueter les tubes de manière adéquate.

4. Les tubes doivent ensuite être transférés le plus rapidement possible dans un incubateur à 37°C et au plus tard dans les 16 heures suivant le prélèvement. Ne pas réfrigérer ou congeler les échantillons sanguins.

➤ **Incubation du sang et récolte du plasma**

1. Si le sang n'est pas incubé immédiatement après son prélèvement, les **tubes doivent être immédiatement remélangés avant l'incubation**

2. Incuber les tubes **DEBOUT** à 37°C pendant 16 à 24 heures. L'incubateur ne nécessite pas de CO₂ ou d'humidification.

3. Les tubes de prélèvement du sang peuvent être conservés à une température entre 2°C et 27°C jusqu'à 3 jours avant d'être centrifugés.

4. Après incubation des tubes à 37°C, centrifuger les tubes pendant 15 minutes entre 2000 et 3000 RCF (Relative Centrifugal Force) (g). Le plug de gel séparera les cellules du plasma. Si ce n'est pas le cas, les tubes doivent être centrifugés une nouvelle fois à une vitesse plus élevée.

- Il est possible de récolter le plasma sans centrifugation, cependant il est encore plus délicat de récupérer le plasma sans déranger les cellules.

5. Les échantillons de plasma peuvent être chargés directement à partir des tubes de prélèvement du sang dans la plaque ELISA du test QuantiFERON®-TB Gold, surtout lorsque l'on utilise des postes de travail ELISA automatisés.

6. Alternativement, les échantillons de plasma peuvent être stockés avant d'effectuer l'ELISA, soit dans les tubes centrifugés ou bien recueillis dans des conteneurs déstockage du plasma. Si les échantillons doivent être conservés, recueillir par exemple plus de 150 µl dans les puits d'une microplaque ou bien dans des microtubes sur support en format de 96 puits, scellés pour éviter les éclaboussures et l'évaporation.

- Les échantillons de plasma peuvent être stockés jusqu'à 4 semaines à une température entre 2°C et 8°C ou en-dessous -20°C (de préférence moins de -70°C) pour une période prolongée.

2- Phase analytique : IFN-γ humain ELISA

1. Tous les échantillons de plasma et les réactifs, sauf le concentré 100X de conjugué, doivent être portés à température ambiante (22°C ± 5°C) avant l'emploi. Prévoir au moins 60 minutes pour l'équilibrage.

2. Retirer du cadre les bandelettes superflues, resceller dans la poche en pellicule et restocker au réfrigérateur jusqu'à nouvelle utilisation.

Prévoir au moins une bandelette pour les standards de QuantiFERON®-TB Gold et un nombre suffisant de bandelettes pour les sujets testés (se reporter respectivement aux figures 8 et 9 pour les formats à 2 tubes et à 3 tubes) [39]. Après l'utilisation, conserver le cadre et le couvercle pour les bandelettes restantes.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	5N	9N	13N	17N	S1	S1	25N	29N	33N	37N	41N
B	1A	5A	9A	13A	17A	S2	S2	25A	29A	33A	37A	41A
C	2N	6N	10N	14N	18N	S3	S3	26N	30N	34N	38N	42N
D	2A	6A	10A	14A	18A	S4	S4	26A	30A	34A	38A	42A
E	3N	7N	11N	15N	19N	21N	23N	27N	31N	35N	39N	43N
F	3A	7A	11A	15A	19A	21A	23A	27A	31A	35A	39A	43A
G	4N	8N	12N	16N	20N	22N	24N	28N	32N	36N	40N	44N
H	4A	8A	12A	16A	20A	22A	24A	28A	32A	36A	40A	44A

- S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4).
- 1N (Echantillon 1. plasma de contrôle nul); 1A (Echantillon 1. plasma antigène TB).

Figure 8 : plan recommandé de répartition sur la plaque des échantillons des tubes nuls et antigènes TB du QuantiFERON-TB Gold In Tube (44 tests par plaque) [39]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	1A	1M	S1	S1	S1	13N	13A	13M	21N	21A	21M
B	2N	2A	2M	S2	S2	S2	14N	14A	14M	22N	22A	22M
C	3N	3A	3M	S3	S3	S3	15N	15A	15M	23N	23A	23M
D	4N	4A	4M	S4	S4	S4	16N	16A	16M	24N	24A	24M
E	5N	5A	5M	9N	9A	9M	17N	17A	17M	25N	25A	25M
F	6N	6A	6M	10N	10A	10M	18N	18A	18M	26N	26A	26M
G	7N	7A	7M	11N	11A	11M	19N	19A	19M	27N	27A	27M
H	8N	8A	8M	12N	12A	12M	20N	20A	20M	28N	28A	28M

- S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4).
- 1N (Echantillon 1. plasma de contrôle nul); 1A (Echantillon 1. plasma antigène TB); 1M (Echantillon 1. plasma de contrôle mitogène).

Figure 9 : plan recommandé de répartition sur la plaque des échantillons des tubes nuls, antigènes TB, et mitogènes du QuantiFERON-TB Gold In Tube (28 tests par plaque) [39]

3. Reconstituer le standard lyophilisé du kit avec le volume d'eau déionisée ou distillée indiqué sur l'étiquette du flacon standard. Mélanger doucement pour minimiser la formation de mousse et obtenir une solubilisation complète. La reconstitution du standard dans le volume indiqué produira une solution d'une concentration de 8,0 IU/ml.

Remarque: Le volume de reconstitution du standard du kit diffèrera d'un lot à l'autre.

Utiliser le standard du kit reconstitué pour produire une série de dilutions à 1 pour 4 de l'IFN- γ dans du GD (figure 10) [39]. Les standards doivent être analysés au moins en double.

- Préparer des dilutions fraîches de standard de kit pour chaque analyse ELISA

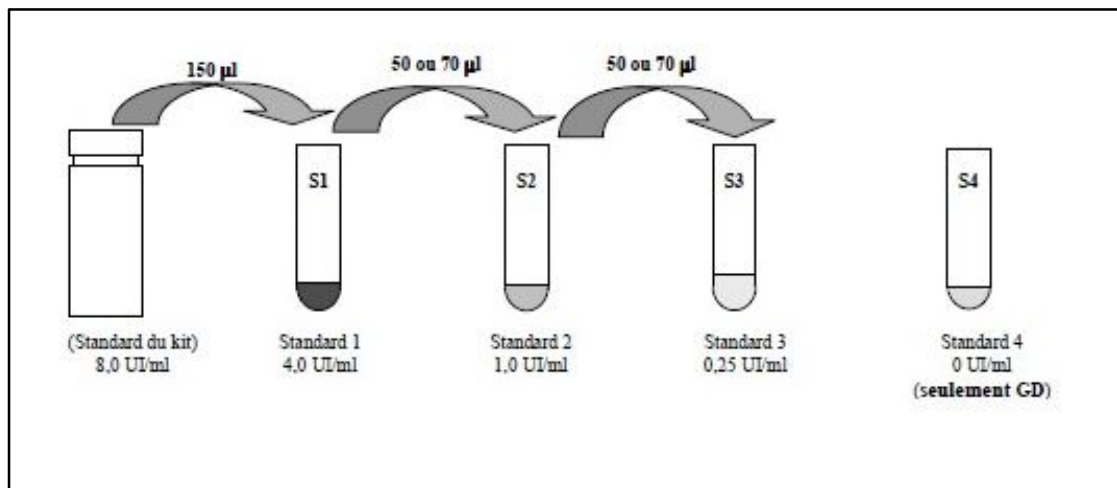


Figure 10 : préparation de la courbe standard pour l'analyse ELISA du QFT-GiT [39]

4. Reconstituer le concentré 100X de conjugué lyophilisé avec 0,3ml d'eau déionisée ou distillée. Mélanger doucement afin de minimiser la formation de mousse et d'obtenir la dissolution complète du conjugué.

Le conjugué prêt à l'emploi se prépare en diluant la quantité requise de concentré 100Xreconstitué dans du GD (comme indiqué au tableau 3) [39].

- Mélanger complètement mais avec douceur pour éviter la formation de mousse.
- Restocker immédiatement le concentré 100X de conjugué non utilisé à une température entre 2°C et 8°C.
- Utiliser uniquement du GD.

Tableau 3 : préparation du conjugué pour l'analyse ELISA du QFT GiT [39]

NOMBRE DE BANDELETTES	VOLUME DE CONCENTRÉ 100X DE CONJUGUÉ	VOLUME DE DILUANT VERT (GD)
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Avant l'analyse, les plasmas doivent être mélangés pour assurer que l'IFN- γ est Réparti de façon homogène dans tout l'échantillon.

6. Ajouter 50ml de conjugué concentré prêt à l'emploi fraîchement préparé aux puits ELISA en utilisant une pipette multicanaux.

7. Ajouter 50 μ l d'échantillons de plasma de tests dans les puits correspondants en Utilisant une pipette multicanaux (Se reporter au plan recommandé de répartition des échantillons sur la plaque dans les figures 8 et 9). Enfin, ajouter 50 μ l à chaque standard de 1 à 4.

8. Mélanger complètement pendant 1 minute les échantillons de conjugué et de plasma/standards en utilisant un agitateur pour microplaque.

9. Couvrir chaque plaque d'un couvercle et incuber à température ambiante ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) pendant 120 ± 5 minutes.

- Mettre les plaques à l'abri de la lumière directe pendant l'incubation.

10. En cours d'incubation, diluer 1 volume de concentré 20X de tampon de lavage avec 19 volumes d'eau déionisée ou distillée et mélanger vigoureusement. La quantité déconcentré 20X de tampon de lavage fournie est suffisante pour préparer 2 litres de tampon de lavage prêt à l'emploi.

Laver les puits avec 400 μ l de tampon de lavage pendant au moins 6 cycles. Il est recommandé d'utiliser un laveur de microplaques automatique.

- Un lavage approfondi est très important pour le bon fonctionnement de l'analyse. Veiller que chaque puits soit **rempli à ras bord** de tampon de lavage avant chaque cycle de lavage. Il est recommandé de laisser tremper pendant au moins 5 secondes entre deux cycles.

- Ajouter un désinfectant standard de laboratoire dans le réservoir d'évacuation des effluents et observer les procédures en vigueur relatives à la décontamination de matériaux potentiellement infectieux.

11. Frapper les plaques retournées sur un linge absorbant pour faire couler les résidus De tampon de lavage. Ajouter 100ml de solution de substrat d'enzyme à chaque puits et mélanger vigoureusement avec un agitateur de microplaque.

12. Couvrir chaque plaque d'un couvercle et incuber à température ambiante ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) pendant 30 minutes.

- Mettre les plaques à l'abri de la lumière directe pendant l'incubation.

13. Après l'incubation de 30 minutes, ajouter dans chaque puits 50ml de solution de Stoppage d'enzyme et bien mélanger.

- Ajouter la solution de stoppage d'enzyme dans les puits selon le même ordre et à peu près au même rythme que le substrat au point 11.

14. Mesurer la densité optique (DO) de chaque puits dans les 5 minutes consécutives au stoppage de la réaction en utilisant un lecteur de microplaque équipé d'un filtre de 450nm et d'un filtre de référence de 620 à 650nm. Les valeurs DO sont utilisées pour Calculer les résultats.

3- Phase post-analytique :

➤ Calculs et interprétation des tests :

Le logiciel d'analyse pour QuantiFERON®-TB Gold IT utilisé pour l'analyse des données brutes et le calcul des résultats est disponible auprès du fournisseur (Cellestis).

Le logiciel effectue une vérification du contrôle de qualité de l'analyse, génère une Courbe standard et fournit un résultat de test pour chaque sujet.

La méthode ci-dessous représente un procédé alternatif à l'utilisation du logiciel d'analyse QuantiFERON®-TB Gold IT pour déterminer les résultats des tests:

- Génération d'une courbe standard (*si le logiciel QuantiFERON®-TB Gold IT n'est pas utilisé*)

Déterminer les valeurs moyennes DO des répliques du standard de kit sur chaque plaque.

Construire une courbe standard $\log(e)$ - $\log(e)$ en traçant plotting le $\log(e)$ de la valeur

Moyenne DO (axe y) contre le $\log(e)$ de la concentration d'IFN- γ des standards en IU/ml (axe x), en omettant dans ces calculs le standard zéro. Calculer la ligne optimale de la courbe standard par analyse de régression.

Utiliser la courbe standard pour déterminer la concentration d'IFN- γ (IU/ml) pour chacun des échantillons de plasma de test en tenant compte de la valeur de chaque échantillon.

Ces calculs peuvent être effectués en utilisant des progiciels livrés avec les lecteurs de microplaques, avec des logiciels standards de feuilles de calcul ou de statistique (comme Microsoft Excel). Il est recommandé d'utiliser ces progiciels pour effectuer l'analyse de régression, calculer le coefficient de variation (%CV) pour les standards, et le coefficient (r) de corrélation de la courbe standard.

➤ **Contrôle de qualité du test :**

L'exactitude des résultats des tests dépend de la génération d'une courbe standard précise.

C'est pourquoi les résultats déduits des standards doivent être examinés avant de pouvoir interpréter les résultats des échantillons de test.

Pour que les résultats de l'analyse ELISA soit valides:

- La valeur moyenne DO pour le standard 1 doit être $\geq 0,600$.
- Le %CV pour les valeurs DO de réplique de standard 1 et le standard 2 doit être $\leq 15\%$.
- Les valeurs DO de réplique pour standard 3 et standard 4 ne doivent pas
- Varier de plus de 0,040 unités de DO de leur valeur moyenne.
- Le coefficient de corrélation (r) calculé à partir des valeurs moyennes d'absorbance des standards doit être $\geq 0,98$.

Le logiciel d'analyse QuantiFERON®-TB Gold IT calcule et rapporte ces paramètres de contrôle de qualité.

Si les critères ci-dessus ne sont pas satisfaits, l'analyse est invalide et doit être répétée

- La valeur moyenne DO pour le zéro standard (diluant vert, GD) doit être $\leq 0,150$. Si la valeur DO moyenne est $> 0,150$, il y a lieu de vérifier le Processus de lavage des plaques.

• **Interprétation des résultats :**

Les résultats du test QuantiFERON®-TB Gold IT sont interprétés sur la base des critères suivants:

Tableau 4. Tableau d'interprétation du QFT GiT [39].

<u>Nul</u> [IU/ml]	<u>Antigène TB moins Nul</u> [IU/ml]	<u>Mitogène moins Nul</u> [IU/ml] ¹	Résultat QuantiFERON®-TB Gold IT	Rapport/Interprétation
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	Négatif	Infection au <i>M. tuberculosis</i> Improbable
	≥ 0,35 et < 25% de la valeur nulle	≥ 0,5		
	≥ 0,35 et ≥ 25% de la valeur nulle	n'importe lequel	Positif²	Infection au <i>M. tuberculosis</i> probable
	< 0,35	< 0,5	Indéterminé³	Résultats sont indéterminés pour la réponse à l'antigène TB
	≥ 0,35 et < 25% de la valeur nulle	< 0,5		
> 8,0 ⁴	n'importe lequel	n'importe lequel		

1 Les réponses au contrôle positif mitogène (et occasionnellement à l'antigène TB) peuvent être situées communément hors de la plage de lecture du lecteur de microplaques. Ceci n'a aucune influence sur les résultats des tests.

2 Dans les cas où une infection au *M. tuberculosis* n'est pas soupçonnée, un résultat initialement positif peut être confirmé en retestant les échantillons de plasma originaux en double par la méthode ELISA QuantiFERON®-TB Gold. Si le test répété de l'une ou des deux répliques s'avère positif, la personne en question doit être considérée comme ayant été testée positivement.

3 Se reporter au chapitre Dépannage pour établir les causes possibles.

4 Dans les études cliniques, moins de 0,25 % des sujets présentaient des niveaux d'IFN-γ > 8,0 IU/ml pour le contrôle nul.

Dépannage ELISA

Coloration non-spécifique

CAUSE POSSIBLE	SOLUTION
Lavage incomplet de la plaque.	Laver la plaque au moins 6 fois avec 400µl/puits de tampon de lavage. Selon le laveur utilisé, plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires. Prévoir de laisser tremper au moins 5 secondes entre les cycles de lavage.
Contamination croisée des puits ELISA.	Pipeter et mélanger avec soin les échantillons pour minimiser les risques.
Le kit / composants ont dépassé la date de péremption.	Veiller à utiliser le kit avant la date de péremption. Veiller à utiliser le standard et le concentré 100X de conjugué reconstitué dans les trois mois à compter de la date de reconstitution.
La solution de substrat d'enzyme est contaminée.	Evacuer le substrat en cas de coloration bleue. Veiller à utiliser des réservoirs de réactifs propres.

Valeurs de lecture des standards de faible densité optique

CAUSE POSSIBLE	SOLUTION
Erreur de dilution du standard.	Veiller à ce que les dilutions du standard de kit soient préparées correctement et conformément à la notice d'emploi.
Erreur de pipettage.	Veiller à ce que les pipettes soient calibrées et utilisées conformément aux instructions du fabricant.
Température d'incubation trop basse.	Incubation du test ELISA doit être effectuée à température ambiante entre 17°C et 27°C.
Temps d'incubation trop court.	L'incubation de la plaque contenant le conjugué, les standards et les échantillons doit durer 120 ± 5 minutes. La solution de substrat d'enzyme est incubée sur la plaque pendant 30 minutes.
Filtre du lecteur de plaque est incorrect.	La plaque doit être lue à 450 nm avec un filtre de référence entre 620 et 650 nm.
Réactifs sont trop froids.	Tous les réactifs, à l'exception du concentré 100X de conjugué, doivent être portés à température ambiante avant de commencer l'analyse. Cette opération dure environ une heure.
Kit / composants ont dépassé la date de péremption.	Veiller à utiliser le kit avant la date de péremption. Veiller à utiliser le standard et le concentré 100X de conjugué reconstitué dans les trois mois à compter de la date de reconstitution.

Forte coloration de fond

CAUSE POSSIBLE	SOLUTION
Lavage incomplet de la plaque.	Laver la plaque au moins 6 fois avec 400µl/puits de tampon de lavage. Selon le laveur utilisé, plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires. Prévoir de laisser tremper au moins 5 secondes entre les cycles de lavage.
Température d'incubation trop élevée.	L'incubation du test ELISA doit être effectuée à température ambiante entre 17°C et 27°C.
Le kit / composants ont dépassé la date de péremption.	Veiller à utiliser le kit avant la date de péremption. Veiller à utiliser le standard et le concentré 100X de conjugué reconstitué dans les trois mois à compter de la date de reconstitution.
La solution de substrat d'enzyme est contaminée.	Evacuer le substrat en cas de coloration bleue. Veiller à utiliser des réservoirs de réactifs propres.

Courbe standard non linéaire et variabilité double

CAUSE POSSIBLE	SOLUTION
Lavage incomplet de la plaque.	Laver la plaque au moins 6 fois avec 400µl/puits de tampon de lavage. Selon le laveur utilisé, plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires. Prévoir de laisser tremper au moins 5 secondes entre les cycles de lavage.
Erreur de dilution du standard.	Veiller à ce que les dilutions du standard de kit soient préparées correctement et conformément à la notice d'emploi.
Mélange insuffisant.	Mélanger complètement les réactifs par inversion ou en les agitant doucement avant de les ajouter sur la plaque.
Technique de pipetage incohérente ou bien interruption pendant la préparation de l'analyse.	L'addition de l'échantillon et du standard doit être effectuée de façon continue. Tous les réactifs doivent être préparés avant de commencer l'analyse.

Résumés



Résumé

Titre de la Thèse : Quantiferon : mythe ou réalité

Auteur : El Ouardi Hanane

Rapporteur : Pr Sakina El Hamzaoui

Mots clés : interféron-gamma, Intradermoréaction à la tuberculine, *Mycobacterium tuberculosis*, Quantiferon

L'intradermoréaction cutanée à la tuberculine (IDR), couramment utilisée depuis un siècle pour le diagnostic d'infection tuberculeuse, présente de nombreux inconvénients.

De nouveaux tests de quantification de la libération d'interféron gamma (IFN- γ) par les lymphocytes T sensibilisés sont apparus depuis quelques années, ce sont les interféron-gamma-release assays (IGRA). Ils mesurent soit la production d' IFN- γ dans le sang total, soit le nombre de lymphocytes T producteurs d' IFN- γ après stimulation in vitro par des protéines spécifiques de *M. tuberculosis* _ Early Secretory Antigenic Target 6 (ESAT 6), Culture Filtrate Protein 10 (CFP 10) et TB7.7 _ absentes du Bacille de Calmette et Guérin (BCG) et de la plupart des mycobactéries atypiques. Deux tests sont à l'heure actuelle commercialisés, le Quantiferon Gold in tube© (QFT) et le T-SPOT-TB©.

Le gain en spécificité permet de réduire les résultats faux positifs chez les sujets vaccinés, évitant ainsi le coût de chimioprophylaxies inutiles et potentiellement toxiques. Le gain en sensibilité, identifiant les infections tuberculeuses latentes parmi les sujets ayant une IDR faussement négative, permet d'accroître les performances diagnostiques dans les populations les plus à risques de progresser vers la tuberculose maladie, à savoir les patients immunodéprimés.

L'évaluation de ces tests doit désormais se focaliser sur certains points qui restent à préciser : leur sensibilité chez l'enfant et le sujet immunodéprimé, leurs valeurs prédictives positive et négative et l'interprétation de leur variation éventuelle au cours du temps, que les patients soient traités ou non.

Summary

Thesis title: Quantiferon: myth or reality

Author: El Ouardi Hanane

Rapporteur : Pr Sakina El Hamzaoui

Keywords: interferon-gamma, tuberculin skin test, *Mycobacterium tuberculosis*, Quantiferon

The tuberculin skin test used to detect latent *Mycobacterium tuberculosis* infection has many drawbacks. New diagnostic assays have recently been introduced, the interferon-gamma-release assays (IGRA). There are two commercial kits available : the QuantiFERON Gold in tube test and the T-SPOT-TB assay.

The former quantitatively measures the amount of interferon γ released by effector T cells after exposure of whole blood to *M. tuberculosis* specific antigens _ Early Secretory Antigenic Target 6 (ESAT 6), Culture Filtrate Protein 10 (CFP 10) et TB7.7_ they are absent in the *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette-Guerin (BCG) , as well as most non tuberculous mycobacteria, The T-SPOT-TB assay is designed to count the number of effector T cells producing interferon γ after stimulating purified peripheral blood mononuclear cells with the same specific antigens overnight. Higher specificity will reduce false-positive assay results in BCG-vaccinated people, thus avoiding the costs associated with unnecessary Chemoprophylaxis and its associated toxicity. More true-positive results in infected people would increase the rate of diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection in the most vulnerable populations before progression to active disease, namely immunocompromised patients. Some controversial issues need longitudinal studies to be resolved: sensitivity in children and immunocompromised patients, the positive and negative predictive values of these blood assays and interpretation of possible changes in test results over time, the subjects being treated or not.

ملخص

عنوان الرسالة: الكونتيفيرون: أسطورة أم واقع

الكاتبة: حنان الوردى

المقرر: الأستاذة سكينّة الحمزاوي

الكلمات الأساسية: انترفيرون غاما، اختبار السل الجلدي، المتفطرة السلية، كونتيفيرون

يتوفر اختبار السل الجلدي، الجاري استعماله منذ قرن لتشخيص عدوى السل، على العديد من السلبيات. في السنوات الأخيرة، ظهرت اختبارات جديدة لقياس إفراز الأنترفيرون جاما من قبل خلايا ت محسنة، هذه الاختبارات تسمى مقاييسات إفراز الأنترفيرون جاما.

هذه الأخيرة تقوم بقياس الأنترفيرون جاما في الدم الكامل أو عدد الخلايا المنتجة للأنترفيرون جاما بعد التحفيز في المختبر بواسطة بروتينات معينة من المتفطرة السلية. هدف الأنتيجين الإفرازي المبكر 6 و البروتين الراشح 10 و السل 7.7. هذه البروتينات غائبة عن عصيات كالميت وغيران وعن معظم المتفطرات غير السلية. حاليا تم تسويق اختبارين: الكونتيفيرون الذهب في أنبوب ت سبوت السل. يمكن الكسب في الخصوصية من التقليل من النتائج الإيجابية الكاذبة لدى الأشخاص الملقحين، وبالتالي تجنب تكاليف

الوقاية الكيميائية الغير ضرورية والسامة. يمكن الكسب في الحساسية لتحديد عدوى السل الكامنة بين الأشخاص ذوي الاختبارات الجلدية السلية السلبية الكاذبة من رفع أداء التشخيص لدى معظم السكان المعرضين لخطر التقدم نحو مرض السل، وهم مرضى نقص المناعة

يجب أن يركز تقييم هذه الاختبارات على بعض القضايا التي لا تزال قائمة تحديدا: الحساسية عند الأطفال و مرضى نقص المناعة، قيمها التنبؤية الإيجابية والسلبية وتفسير الاختلاف المحتمل على مر الزمن سواء تم علاج المرضى أم لا.

Bibliographie



- [1] **Beauvillain C, Jeannin P, Renier G, Chevailler A.** apport des tests de quantification de la libération d'interféron gamma par les lymphocytes T sensibilisés pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Rev Fr Lab. 2009 n° 410. 33-41
- [2] **HAS.** Test de détection de la production d'interféron γ pour le diagnostic des infections tuberculeuses.2006.<http://www.has.sante.fr>
- [3] Anonymous. Tuberculosis. Fact sheet. 2006. <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs104/en/index.html>
- [4] **Madariaga MG, Jalali Z, Swindells S.** clinical utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis. J Am Board Fam Med 2007; 20(6):540-7.
- [5] **Cho SN.** Current issues on molecular and immunological diagnosis of tuberculosis. Yonesi Med J 2007; 48(3): 347-59.
- [6] **Pai M, Kalantri S, Dheda K,** New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: part II. Active tuberculosis and drug resistance. Expert Rev Mol Diagn 2006; 6(3):423-32.
- [7] **Labie D.** Mycobacterium tuberculosis with extensive resistance. Med Sci (paris) 2007; 23(2):205-9.
- [8] **Raviglione MC, Smith IM.** XDR tuberculosis-implications for global public health. N Engl J Med 2007;356(7):656-9.

- [9] **Anderson P, Doherty TM, Pai M, Weldingh K.** The prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? Trends Mol Med 2007; 13(5):175-82.
- [10] **zellweger JP.** Latent tuberculosis: which test in which situation? Swiss Med Wkly 2008; 138(3-4):31-7.
- [11] **Yew WW, Leung CC.** Update in tuberculosis 2007. Am J Respir Crit Care Med 2008; 177(5):479-85.
- [12] **Lalvani A.** Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. Chest 2007; 131(6):1898-906.
- [13] **Heym B, Chinnet T.** Methodes diagnostiques de l'infection tuberculeuse en 2007 : intradermoreaction a la tuberculine ou interferon- γ ? Rev Med Interne 2007;28(3):147-50.
- [14] **Hansted E, Sitkauskiene B, Kevalas R, Tattersall A, Day T.** Research for practice: a new in vitro test for identification of tuberculosis infection. Medicina (Kaunas) 2007;43(7):519-22.
- [15] **Liu XQ, Dosanjh D, Varia H, Ewer K, Cockle P, Pasvol G, et al.**
Evaluation of T-cell responses to novel RD1- and RD2-encoded *Mycobacterium tuberculosis* gene products for specific detection of human tuberculosis infection. Infect Immun 2004;72(5):2574-81.
- [16] **Couto Teixeira H, Abramo C, Emilio Munk M.** Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success. J. bras.pneumol. vol.33 no.3 São Paulo May/June 2007

- [17] **Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM.** Specific immunebased diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356(9235):1099-104.
- [18] **Blanc P, Dubus JC, Garnier JM, Bosdure E, Minodier P.** Que faut-il penser des tests sanguins *in vitro* pour le diagnostic de la tuberculose ?
[Utility of interferon gamma assays for diagnosis of tuberculosis in children].*Arch Pediatr* 2008;15(1):75-82.
- [19] **Lioté H, Lioté F.** place des tests à l'interféron (IGRAs) dans le dépistage de la tuberculose latente (TBL) avant prescription d'agents anti-TNF α .*Rev Rhum*.2011.78.116-121.
- [20] **Hanekom W, Abel B, Scriba T.** Immunological protection against tuberculosis.*SAMJ* 2007;97:973-7.
- [21] **Lalvani A, Millington KA.** T Cells and tuberculosis: beyond interferon-gamma. *J Infect Dis* 2008;197(7):941-3.
- [22] **Carcelain G,** nouveaux tests immunologiques pour le diagnostic de la tuberculose. http://www.anmtph.fr/_documents/21171007.pdf
- [23] **Yew WW, Leung CC.** Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:541-6.
- [24] **Pilly - Préparation ECN - Item 106 - ©CMIT**
http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/ECN/36-ECN-item_106.pdf

- [25] **Richeldi L.** An update on the diagnosis of tuberculosis infection.
Am J Respir Crit Care Med 2006;174(7):736-42.
- [26] **Cozon G.** Exploration de l'immunité cellulaire anti-tuberculinique par le test Quantiféron
http://allergo.lyon.inserm.fr/affiches/2009_Immunit%C3%A9_cellulaire_anti-tuberculose.pdf
- [27] haut conseil de la santé publique.tuberculose et test de détection de l'interféron gamma.2011
http://www.hcsp.fr/explore.cgi/hcspr20110701_interferongamma.pdf
- [28] **Roche A.** Les tests diagnostiques de l'infection tuberculeuse :analyse critique. Rev Mal Respir. (2011) 3, 185-189
- [29] **Jeyakumar D.** Tuberculin reactivity and subsequent development of tuberculosis in a cohort of student nurses. Med J Malaysia 1999;54(4):492-5.
- [30] **Nicol MP, et al.** Comparison of T-SPOT.TB assay and tuberculin skin test for the evaluation of young children at high risk for tuberculosis in a community setting. Pediatrics. 2009 Jan;123(1):38-43.
- [31] **Kampmann B, et al.** Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. Eur Respir J. 2009 Jun; 33(6):1374-82

- [32] **Detjen AK, et al.** Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 2007 Aug 1; 45(3): 322-8. Epub 2007 Jun 15.
- [33] **Anderson P, Munk ME, Pollock S et coll.** *Specific immune-based diagnosis of tuberculosis.* *Lancet* 2000; 356:1099-1104.
- [34] **Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM.** Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356(9235):1099-1104.
- [35] **Mazurek GH, Jereb J, Lobue P et coll.** *Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States.* *MMWR Recomm Rep* 2005; 54(RR-15):49-55.
- [36] **National Collaborating Centre for Chronic Diseases.** *Tuberculosis: clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control.* London. Royal College of Physicians, 2006.
- [37] **Herrmann J-L, Simonney N, Lagrange P-H.** avantages et limites des tests sanguins in vitro lymphocytes T/interféron gamma comparativement au test intradermique à la tuberculine pour le diagnostic de tuberculose. *Arch Pediatr.*14.2007.207-211
- [38] **Fraisse P.** Diagnostic des infections tuberculeuses latentes(sujets sains, sujets immunodéprimés ou amenés à l'être). *Rev Mal Resp* (2012) 29, 277—318

- [39] QuantiFERON®-TBGold(Méthode en tube).Le test IFN-gamma sur sang entier pour la mesure de réponses aux antigènes peptidiques ESAT-6,CFP-10 & TB7.7.NOTICED'EMPLOI
- Pour usage diagnostique in vitro
- <http://www.cellestis.com/IRM/content/pdf/FR%20France%20QFT%20IT%20Package%20insert%20C.pdf>
- [40] **Denis L.** Les tests de détection de l'IFN- γ (IGRAs) dans l'aide au diagnostic de tuberculose
- Le test ELISPOT dans l'hypersensibilité retardée aux médicaments. 2012
- http://allergo.lyon.inserm.fr/2012_DESC/2eDESC_Biologie_JBienvenu_15032012.pdf
- [41] biominis.Quantiféron-TB GOLD® MODE D'EMPLOI tiré de www.biominis.com
- [42] Diagnostic de la tuberculose :deux tests innovants fondés sur la détection de la sécrétion d'interféron. l'hospitalien. newsletter du CHRU de Montpellier pour les professionnels de santé. 2009 n°3
- http://www.chu-montpellier.fr/fr/NewsletterProfSante/newsletter3/newsletter3_elispot.html
- [43] **Zellweger J-P.** Les nouveaux tests de dépistage de l'infection tuberculeuse (tests Interferon-Gamma, IGRA). Journée scientifique ARL. 2007
- <http://www.ar-l.ch/Docs/tuberculose.pdf>

- [44] **Richeldi L.** An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:736-42.
- [45] **CHYDERIOTIS G.** Expérience d'utilisation du test QuantiFERON TB® Gold IT.
http://umr5558-mq1.univ-lyon1.fr/WIKIS/mycobacteries_LYON_2007/attachments/116.pdf
- [46] **van Zyl-Smit RN, et al.** Within-subject variability of interferon-g assay results for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review.
PLoS One. 2009 Dec 30; 4(12):e8517. Review
- [47] **Pai M, et al.** Novel and improved technologies for tuberculosis diagnosis: progress and challenges.*Clin Chest Med*. 2009 Dec; 30(4): 701-16, viii. Review.
- [48] **Schablon A, et al.** Serial testing with an interferon- γ release assay in German healthcare workers. *GMS Krankenhhyg Interdiszip*. 2010 Sep 21; 5(2). pii: Doc05.
- [49] **Faber J.** Le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente par les tests de détection de la production d'interféron gamma(*Interferon- γ release assays* ou *IGRAs*). CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE Section des Maladies Transmissibles.2011
<http://www.sante.public.lu/fr/recommandations/conseil-maladies-infectieuses/tuberculose/2011-diagnostic-infection-tuberculeuse/2011-tuberculose-tests-detection.pdf>

- [50] **Menzies D., Pai M., Comstock G.** Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research *Ann Intern Med* 2007 146 340-354
- [51] **Diel R et al.** Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: a systematic review and meta-analysis *Eur Respir J* 2011 37 88-99
- [52] **Chee CB et al.** Comparison of sensitivities of two commercial gamma interferon release assays for pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2008 46 1935-40
- [53] **Diel R et al.** Negative and Positive Predictive Value of a Whole Blood Interferon-gamma Release Assay for Developing Active Tuberculosis *Am J Respir Crit Care Med* 2011 183 88-95
- [54] **Diel R, Loddenkemper R , Nienhaus A.** Evidence based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active Tuberculosis: a metaanalysis. *Chest*; Prepublished online December 18, 2009; DOI 10.1378/chest.09-2350
- [55] **Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, et al.** Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Recomm Rep* 2005;54:49-55.
- [56] HAS. Evaluation HAS :test de détection de l'interféron γ pour le diagnostic des infections tuberculeuses.médecine et maladies infectieuses 37(2007) 689-693. Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com

- [57] HAS. Diagnostic des infections tuberculeuses : avis favorable de la HAS pour le test de détection de la production d'interféron gamma.2007
http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_537269/fr/diagnostic-des-infections-tuberculeuses-avis-favorable-de-la-has-pour-le-test-de-detection-de-la-production-dinterferon-gamma
- [58] Arrêté du 11 janvier 2006 relatif à la visite médicale des étrangers autorisés à séjourner en France
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000454126&fastPos=2&fastReqId=904959302&categorieLien=cid&oldAction=rechTexte>
- [59] Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect Mycobacterium tuberculosis Infection – United States, 2010. MMWR, 2010 ; 59, n° RR-5.
- [60] Comité canadien de lutte antituberculeuse. Recommandations sur les tests de libération d'Interféron Gamma pour la détection de l'infection tuberculeuse latente. Une déclaration d'un comité consultatif (DCC). Rel Mal Transm Can, 2010 ; 36 (DCC 5) : 1-21.
- [61] **Lioté H.** Organizing pneumonia associated with rituximab: Challenges raised by establishing causality. Joint Bone Spine 2008 May;75(3): 260-2.

- [62] **Tubach F, Salmon D, Ravaud P, et al.** Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. *Arthritis Rheum* 2009 Jul; 60(7):1884-94.
- [63] **Pratt A, Nicholl K, Kay L.** Use of the QuantiFERON TB Gold test as part of a screening programme in patients with RA under consideration for treatment with anti-TNF-alpha agents: the Newcastle (UK) experience. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Jun; 46(6):1035-6.
- [64] **Laffitte E, Janssens JP, Roux-Lombard P, Thielen AM, Barde C, Marazza G, Panizzon RG, Saurat JH.** Tuberculosis screening in patients with psoriasis before antitumour necrosis factor therapy: comparison of an interferon-gamma release assay vs. tuberculin skin test. *Br J Dermatol*. 2009 Oct; 161(4): 797-800.
- [65] Groupe de travail du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Enquête autour d'un cas de tuberculose.Recommandations pratiques.2006
http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Enquete_autour_d_un_cas_de_tuberculose_Recommandations_pratiques.pdf
- [66] ligue pulmonaire Suisse.algorithme enquête d'entourage.manuel de la tuberculose.2011.chap3.
http://www.tbinfo.ch/uploads/media/Handbuch_Tuberkulose_2012_fr.pdf

- [67] **[Diel, R., Loddenkemper R., et al. (2010). "Negative and Positive Predictive Value of a Whole-Blood Interferon- γ Release Assay for Developing Active Tuberculosis: An Update." Am J Respir Crit Care Med 183(1): 88-95.**
- [68] **Kik, S. V., W. P. Franken, et al. (2010). "Predictive value for progression to tuberculosis by IGRA and TST in immigrant contacts." Eur Respir J 35(6): 1346-53.**
- [69] Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France relatif à la revaccination par le BCG et aux modalités de surveillance des professionnels exposés à la tuberculose.(Séance du 15 Novembre 2002)
http://www.hcsp.fr/docspdf/cshpf/a_mt_151102_tuberculose.pdf
- [70] **Abgrall S, del Giudice P, Melica G, Costagliola D and FHDH-ANRS CO4**

HIV associated tuberculosis and immigration in a high-income country :incidence , trends and risk factors in recent years AIDS 2010; 24 : 763-71.
- [71] **Jonathan E. Golub et al.** The impact of antiretroviral therapy and isoniazid preventive therapy on tuberculosis incidence in HIV-infected patients in Rio de Janeiro, Brazil AIDS. Author manuscript; available in PMC 2011 March 25. Published in final edited form as: AIDS. 2007 July 11; 21(11): 1441-48.

- [72] **Heather J Zar, et al.** Effect of isoniazid prophylaxis on mortality and incidence of tuberculosis in children with HIV: randomised controlled trial. *BMJ* 2007 January 20; 334(7585): 136.
- [73] **Elzi L, Schlegel M, Weber R et al.** Reducing tuberculosis incidence, by tuberculin skin testing, preventing treatment and antiretroviral therapy in an area of low tuberculosis transmission. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 94-102.
- [74] **Harries AD, Zachariah R, Corbett E, Lawn SD, Santos-Filho E, Williams RB, De Cock KM .** The HIV-associated tuberculosis epidemic—when will we act? *Lancet* 2010, 375:1906-19.
- [75] **Davies MA, et al.** Detection of tuberculosis in HIV-infected children using an enzyme-linked immunospot assay. *AIDS* 2009 May 15; 23(8): 961-9.
- [76] **Hoffmann M, Ravn P.**The Use of Interferon-gamma Release Assays in HIV-positive Individuals *European Infectious Disease* 2010 ;4(1): 23-9
- [77] **Cattamanchi A, Smith R, Steingart KR, Metcalfe JZ, Date A, Coleman C, Marston BJ, Huang L, Hopewell PC, Pai M.**Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis.*J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011 Mar 1; 56(3): 230-8. Review.

- [78] **Aichelburg MC, Rieger A, Breitenecker F, Pfistershammer K, Tittes J, Eltz S, Aichelburg AC, Stingl G, Makristathis A, Kohrgruber N.** Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. *Clin Infect Dis*. 2009 Apr 1; 48(7): 954-62.
- [79] **Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, D'Amico R, Meccugni B, Meacci M, De Giovanni D, Rumpianesi F, Fabbri LM, Balli F, Richeldi L.** Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics*. 2009 Mar;123(3):e419-24.
- [80] **Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, et al.** Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium* in children. *Thorax* 2006;61:616-20.
- [81] **Nicol MP, Pienaar D, Wood K, et al.** Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. *Clin Infect Dis* 2005;40:1301-8.
- [82] **Lambert L, Rajbhandary S, Quails N, et al.** Costs of implementing and maintaining a tuberculin skin test program in hospitals and health departments. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003;24:814-20.
- [83] **Che D, Bitar D.** Les cas de tuberculose en France en 2003. *Bull Epidemiol Hebd* 2005;17:66-9.

- [84] **van Zyl-Smit RN, et al.** Within-subject variability of interferon-g assay results for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review.
PLoS One. 2009 Dec 30; 4(12):e8517. Review
- [85] Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect *Mycobacterium tuberculosis* Infection – United States, 2010
MMWR 2010, 59, No RR-5 1-25
- [86] Canadian Tuberculosis Committee. Recommendations on Interferon Gamma Release Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection -2010 Update. Can Commun Dis Rep 2010 36:1
- [87] HPA Tuberculosis Programme Board. Health Protection Agency positionstatement on the use of Interferon Gamma Release Assay (IGRA) tests for tuberculosis (TB) London: Health Protection Agency, 2008.
- [88] Haute Autorité de Santé/Service évaluation des actes professionnels/Décembre 2006
- [89] Tuberculosis. In : Red Book, American Academy of Pediatrics, 2009.
<http://aapredbook.aappublications.org/>
- [90] **Machingaidze et al.** The Utility of an Interferon Gamma Release Assay for Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Disease in Children.
Pediatr Infect Dis J 2011 (in press)

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
- < وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول .
- < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطريق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
- < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في .

أطروحة رقم: 137

سنة : 2013

الكونتيفيرون: أسطورة أم واقع

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

السيدة: حنان الوردى

المزودة في: 08 دجنبر 1986 بالرباط

طبيبة داخلية بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: انترفيرون غاما – اختبار السل الجلدي – المتفطرة السلية – كونتيفيرون.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: اسماعيل عبد الرحمانى غريفي

أستاذ في أمراض الصدر والسل

مشرفة

السيدة: سكيمة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الإحيائية

أعضاء

السيدة: نزهة مسعودي

أستاذة في علم الدم

السيدة: فاطمة جابوريك

أستاذة في طب الأطفال