

MEDECINE TROPICALE

Diplôme de Médecine Tropicale des Pays de l'Océan Indien

Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales Actualités 2023

Professeur Pierre Aubry, Docteur Bernard-Alex Gaüzère. Texte mis à jour le 16/06/2023
www.medecinetropicale.com

1- Introduction

Grâce au développement des biotechnologies, les tests de diagnostic rapide (TDR) ou diagnostic rapide tests rapides à orientation diagnostique (TROD) ont connu un grand essor en biologie. Par opposition aux examens classiques de diagnostic, les TDR permettent d'obtenir dans un délai bref le diagnostic d'une maladie infectieuse. En zones tropicales, ces tests sont particulièrement intéressants, le diagnostic biologique des maladies infectieuses devant être simple, fiable, rapide et peu coûteux.

Cependant, afin d'interpréter correctement les résultats, il est indispensable de connaître pour chacun de ces tests leur sensibilité, leur spécificité, leur valeur prédictive positive et négative.

Les TDR ont été initialement développés sur le principe des réactions d'« immunofiltration ou d'agglutination ». Aujourd'hui, ces tests sont réalisés par des « méthodes immunochromatographiques (ICT), immuno-enzymatiques ou biochimiques », l'ICT restant la méthode la plus populaire.

2. L'immunochromatographie

Les TDR basés sur le principe de l'immunochromatographie sont actuellement les plus utilisés car ils allient une simplicité d'exécution à la présence de contrôles positifs et négatifs inclus dans le test même. A une spécificité et à une sensibilité très satisfaisantes, s'ajoutent les facilités de transport, de conservation et d'utilisation. Un contrôle de qualité est intégré. Par ailleurs, le temps de formation du personnel est réduit à quelques heures. Les TDR existent déjà depuis trois décennies, en particulier pour la détection de l'infection à VIH/Sida et du paludisme. Puis, leur utilisation s'est étendue progressivement à d'autres maladies.

Sur le terrain dans l'urgence, sans équipement spécial, les TDR permettent de parvenir à un diagnostic biologique de certitude ou de quasi-certitude en quelques minutes. Pratiqués au lit du malade par un médecin ou par un infirmier, ils sont communément appelés les *Doctor tests*.

Cependant, les utilisateurs doivent en connaître les limites en termes de sensibilité et de spécificité. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes. Un résultat négatif n'exclut pas la présence de l'agent pathogène (précocité de la réalisation, variabilité interindividuelle). Il convient de respecter le type de prélèvement préconisé par le test (urines, sang, selles).

La détection rapide d'antigènes parasitaires, bactériens ou viraux par immunochromatographie sur membrane consiste à déposer l'échantillon à tester (sang, urines, selles, LCR, pus, ...) à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support plastique ou carton. Si l'antigène recherché est présent, il se lie avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal. Sous l'effet d'un tampon lyse- migration, les complexes antigènes-anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée. L'excès de complexe conjugué continue à migrer et est immobilisé par un anticorps (anti-lapin ou anti-souris), l'accumulation des complexes colorés entraîne l'apparition d'une ligne colorée, cette seconde ligne ou ligne de contrôle valide le bon fonctionnement de la réaction. En cas de réaction négative, seule la ligne contrôle est colorée.

L'apparition des bandes est rapide en 15 à 20 mn.

Le principe de la détection rapide d'anticorps par immunochromatographie sur bandelette est identique. Mais, alors que les tests détectant des antigènes ne nécessitent aucun traitement préalable de l'échantillon, les tests recherchant des anticorps imposent une centrifugation préalable des tubes de sang. Mieux vaut travailler sur du sérum que sur du sang total.

Cet article étudie les TDR basés sur le principe de l'immunochromatographie dans le diagnostic des pathologies infectieuses rencontrées en zones tropicales. Certains sont disponibles en France, d'autres, qui ont été mis au point dans les pays concernés, ne sont pas disponibles en France. Certains de ces tests ont été mis récemment sur le marché et leur sensibilité et leur spécificité doivent encore être contrôlées. Leur validation sur le terrain est une étape difficile, mais indispensable.

Il y a des TDR monoplex, biplex et multiplex.

De nombreuses maladies parasitaires, bactériennes, virales peuvent être actuellement diagnostiquées par des TDR par immuno-chromatographie. Nous étudierons TDR dans les maladies ayant un impact majeur en zones tropicales.

3. TDR par immuno-chromatographie des maladies parasitaires.

3.1. TDR du paludisme

3.1.1. La détection des antigènes du paludisme

L'OMS recommande de diagnostiquer sans retard le paludisme au moyen d'un diagnostic parasitologique chez tous les patients dont on suppose qu'ils sont atteints de paludisme, avant d'administrer le traitement. Les TDR du paludisme peuvent améliorer considérablement la qualité de la prise en charge des infections palustres, notamment dans les zones reculées ayant un accès limité à des services d'examen microscopiques de bonne qualité.

Les TDR du paludisme détectent des antigènes spécifiques (des protéines) produits par les plasmodium présentes dans le sang des personnes infectées. Certains TDR détectent les infections monospécifiques (soit *P. falciparum* soit *P. vivax*), d'autres détectent des infections mixtes (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*), tandis que d'autres distinguent les infections par *P. falciparum* et non *P. falciparum*, ou des espèces spécifiques. Le sang est habituellement prélevé par une piqûre au doigt et les résultats sont disponibles en 15 à 30 minutes. S'il existe des variations entre les quelques 200 produits de TDR disponibles sur le marché, les principes des tests restent similaires.

Ces dernières années, l'utilisation des tests de diagnostic rapide a augmenté de façon importante de part le monde. Les fabricants interrogés par l'OMS pour le *Rapport 2016 sur le paludisme dans le monde* ont déclaré avoir vendu 270 millions de TDR au total en 2015. La plupart des TDR sont distribués dans la Région OMS de l'Afrique, où la maladie sévit plus particulièrement.

Les TDR par immunochromatographie du paludisme reposent sur la détection de protéines plasmatiques spécifiques, PfHRP2, PLDH et aldolase principalement. Si la détection de la PfHRP2 présente une très bonne sensibilité pour le diagnostic des accès palustres à *Plasmodium falciparum*, les recherches de la pLDH ou de l'aldolase sont moins performantes pour les autres espèces, laissant la place au diagnostic microscopique de référence.

La plupart des TDR, à l'exception de la série OptiMal, permettent la mise en évidence de la PfHRP2 (*Histidin Rich Protein 2*) ; certains permettent la mise en évidence jusqu'à trois protéines différentes, dont la pLDH (*Plasmodium lactate deshydrogenase*) : Pf pour *P. falciparum*, Pv pour *P. vivax*, Pan-LDH commune aux quatre espèces plasmodiales. Ils sont réalisés sur sang total.

La sensibilité et la spécificité des TDR sont variables et leur vulnérabilité aux températures élevées

et à l'humidité est un inconvénient important. Il est nécessaire de réaliser des programmes d'assurance qualité pour le suivi de leur fabrication comme de leur utilisation.

Le tableau I résume les caractéristiques de neuf TDR du paludisme

	Palutop®	Kat-Quick Malaria®	ICT Malaria®	OptiMAL Pf®1	Now ICT Malaria®	OptiMAL Pf®2	Toda Malaria diag4+®	Palutop +4®	Core Malaria®
Labo	All Diag	AES	Fumouze	Diagnostic laboratoires	Fumouze	Diagnostic laboratoires	Toda Pharma	All Diag	Core diagnostics
Nombre d'antigènes détectés	1	1	1	1	4	4	4	4	4
Antigène(s) détecté(s)	HRP2 (1)	HRP2	HRP2	Pf-LDH (2)	HRP2 et Pan-LDH (3)	Pf-LDH et Pan-LDH	HRP2 et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH (4) et Pan-LDH	HRP2, Pv-LDH et Pan-LDH
Espèce(s) détectée(s)	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i>	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (5)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)	<i>Pl. falciparum</i> + autres espèces (6)

(1) HRP2 : spécifique de *Pl. falciparum*

(2) Pf-LDH : LDH spécifique de *Pl. falciparum*

(3) Pan-LDH : LDH commune aux quatre espèces plasmodiales

(4) Pv-LDH : LDH spécifique de *Pl. vivax*

(5) Ne différencie pas les espèces *Pl. vivax*, *Pl. malariae* et *Pl. ovale* entre elles

(6) Différencie *Pl. vivax*.

3.1.2. Les limites des TDR dans le diagnostic du paludisme

Les TDR antigéniques sont simples d'utilisation, rapides et d'un apport précieux en poste isolé. Cependant, les tests rapides ont des limites :

- les faux négatifs sont dus à une faible parasitémie de l'ordre de 100 parasites par μL , soit 0,002 % d'hématies infectées. Or, il est fréquent de mettre en évidence en pathologie d'importation ou chez le voyageur non immun en zone d'endémie sous chimioprophylaxie non ou mal adaptée des parasitémies très faibles. Le résultat des TDR peut donc être faussement négatif.

- les faux positifs, moins bien connus, sont dus à une lecture trop tardive après le dépôt des réactifs, à la présence d'auto-anticorps ou de facteur rhumatoïde à des taux élevés. De plus, la persistance de la circulation de l'HRP2 après disparition des parasites du sang circulant est trouvée jusqu'à 15 jours après négativité des tests microscopiques.

3.1.3. La stratégie d'utilisation des TDR dans le diagnostic du paludisme

- en zone d'endémie, les TDR évitent l'utilisation systématique du traitement présomptif qui contribue à la sélection des souches de *P. falciparum* résistantes.

A Madagascar, où la répartition des espèces est de 90 % pour *P. falciparum* et 6,3 % pour *P. vivax* (surtout sur les Hautes Terres), le choix est un TDR de type HRP2 pour dépister *P. falciparum* et LDH pour *P. vivax* (par exemple *Core Malaria pan/pv/pf*).

- au retour d'une zone d'endémie, le diagnostic du paludisme d'importation doit être microscopique

: frottis mince ou goutte épaisse, associé à un TDR,
- chez le voyageur, l'auto diagnostic par un TDR n'est pas légitime.

3.2. TDR de la leishmaniose viscérale

Les tests immuno-chromatographiques de la leishmaniose viscérale utilisent des bandelettes sensibilisées par l'antigène recombinant K39. Ils sont réalisés sur sérum, plasma ou sang total. Ils sont proposés en première ligne devant des tableaux cliniques évocateurs de leishmaniose viscérale en zones d'endémie du sous-continent indien, d'Afrique de l'est et du Brésil. Les TDR sont suffisamment spécifiques pour être considérés comme diagnostiques lorsque la définition de cas suspects (2 semaines ou plus de fièvre et splénomégalie) est respectée dans le sous-continent Indien. En Afrique de l'Est et au Brésil, la sensibilité se situe au mieux entre 40 et 90 %. Un TDR est utilisé dans le diagnostic de rechute de la leishmaniose viscérale : l'IgG1 K-Set qui a montré une sensibilité de 83-100 % et une spécificité de 80 % pour détecter les rechutes de LV chez les patients symptomatiques.

3.3. TDR de la giardiose et de la cryptosporidiose

Les TDR sur bandelette mettent en évidence des antigènes de *Giardia duodenalis* dans les selles. Il n'y a pas de réaction croisée avec les autres pathogènes fécaux, y compris *Cryptosporidium spp.* Il s'agit de tests de dépistage pour les infections en phase aiguë. Le TDR pour la détection conjointe de *G. duodenalis* et de *Cryptosporidium spp.* est peu performant par rapport aux techniques visuelles au microscope.

3.4. TDR de la trypanosomiase humaine américaine ou Maladie de Chagas

Les TDR détectent les anticorps de *Trypanozoma cruzi* dans le sérum, le plasma ou le sang total. Leur sensibilité est supérieure à 80 %, ce qui les rend utilisables au niveau des soins de santé primaire ou pour les études épidémiologiques. Le TDR Stat-Pak est utilisé comme test de diagnostic de première intention dans les programmes MSF en Amérique du sud. Le TDR *Trypanosoma Detect Rapid Test* a une sensibilité de 92,9 % et une spécificité de 94 %. Les TDR sont proposés pour le diagnostic de la maladie de Chagas chez les populations difficiles à atteindre ou les migrants dans les zones non endémiques qui ont une faible prévalence.

3.5. TDR de l'échinococcose kystique humaine ou hydatidose humaine

Si l'échographie est indispensable pour le diagnostic, la détermination du stade et la prise en charge de l'hydatidose chez l'homme, la sérologie est un complément à l'imagerie. Dans les zones rurales, où la maîtrise de l'échographie est faible et la sérologie non disponible, les TDR peuvent être utiles. Cependant leur sensibilité et leur spécificité ne sont pas satisfaisantes.

3.6. TDR de la filariose lymphatique

Le test "ICT" (*Immunochromatographic Card Test*) a été évalué dans la détection des porteurs de microfilaries de *W. bancrofti* par rapport aux techniques microscopiques et à l'ELISA Og4C3. C'est un test servant à détecter l'antigène filarien spécifique circulant (*Circulating filarial antigen* ou CFA).

La bandelette *Alere Filariasis Test Strip* [FTS]® est un test immunochromatographique in vitro, à lecture optique, pour la détection qualitative de l'antigène circulant de *W. bancrofti* dans le sang, le sérum et le plasma humain. L'évaluation du FTS est une méthode pratique pour quantifier les niveaux de CFA de *W. bancrofti* dans le sang humain, qui sont corrélés avec les charges de vers adultes. Le Programme mondial pour l'élimination de la filariose lymphatique utilise le FTS pour cartographier les zones d'endémie de la filariose et évaluer le succès des efforts d'élimination.

Un projet a pour objectif de fabriquer un test de double détection, ou test « biplexe », de l'onchocercose et de la filariose lymphatique, qui soit efficace et accessible à la communauté en charge du contrôle et de l'élimination de ces deux maladies.

3.7. TDR de l'amibiase

La détection d'antigène par immunochromatographie repose sur le test ImmunoCard STAT® CGE. Il présente 88 % de sensibilité et 92 % de spécificité (si appréciée sur les échantillons négatifs en RT-PCR), mais montre une forte proportion de réactions croisées entre *E. histolytica* et *E. dispar*.

3.7. TDR de la bilharziose

La cassette de test urine-CCA (Antigène Cathodique Circulant) sert à la détection qualitative d'une schistosomiase, plus spécifiquement à *Schistosoma mansoni*, mais également à d'autres espèces par exemple *S. hematobium* et *S. japonicum*. La sensibilité du TDR Ag urinaires du « ver » (urine-CCA) serait supérieure à la technique de Kato pour la recherche des œufs.

L'HAS a émis en 2017 un avis, suite aux cas de bilharziose à *S. haematobium* en Corse, portant sur l'actualisation des actes de biologie relatifs au diagnostic de la bilharziose, où le TDR n'est pas cité.

4. Tests de diagnostic rapide (TDR) par immuno-chromatographie des maladies bactériennes

4.1. TDR de la peste

Un TDR de détection de l'antigène F1 très spécifique de *Yersinia pestis* a été mis au point en 2000 et évalué par les Instituts Pasteur de Madagascar et de Paris. Il est pratiqué sur le pus de bubon ou sur le prélèvement bronchique avec une spécificité et une sensibilité proches de 100%. L'utilisation des bandelettes permet de dépister la peste sur le terrain au chevet des malades dans les villages les plus reculés (expérience de Madagascar), de donner l'alerte et d'engager immédiatement les mesures de lutte et de prévention qui s'imposent : antibiothérapie pour les malades, mesures de prévention pour l'entourage et de désinsectisation de l'environnement pour tuer les puces vectrices de la maladie. L'utilisation de ce test au niveau des réservoirs de la peste (rongeurs) peut contribuer à prévenir les épidémies. Un autre intérêt du TDR est de pouvoir faire le diagnostic 2 à 3 jours après le début du traitement grâce à la persistance de l'antigène, alors que le bacille n'est plus cultivable.

Ce test est disponible auprès de l'Institut Pasteur de Madagascar.

L'OMS a donné en 2006 une définition standard des cas suspect, présumé ou confirmé de peste. Il est précisé que dans une région d'endémie, lorsque aucun autre test de confirmation ne peut être pratiqué (examen microscopique, sérologie anti-F1, détection de l'antigène F1, détection de *Y. pestis* par PCR), un TDR faisant appel à l'immuno-chromatographie pour détecter l'antigène F1 positif permet de confirmer un cas de peste.

4.2. TDR du choléra

Deux bandelettes ont été mises au point pour la mise en évidence des antigènes des vibrions cholériques *O1/O139* dans les selles ou dans un écouvillonnage rectal et pour le diagnostic du sérotype universel *O1* et du sérotype émergent *O139*. Les deux tests ont été évalués à Madagascar et au Bangladesh. Grâce à ces tests, le diagnostic individuel des cas suspects permet de conforter le diagnostic clinique. Leur utilisation sur le terrain permet d'améliorer considérablement la surveillance du choléra dans les régions les plus reculées et de surveiller l'extension du sérotype *O139*. L'utilisation de ces tests au niveau de l'environnement (eaux, aliments souillés) peut contribuer à prévenir les épidémies. Un autre intérêt de ce test est de pouvoir faire le diagnostic de choléra 2 à 3 jours après le début du traitement. Cependant, les TDR du choléra doivent être utilisés avec prudence, ils se sont avérés moins souvent positifs et rarement confirmés par culture depuis 2014. Le développement d'un nouveau concept est en cours.

4.3. TDR des shigelloses

La dysenterie bacillaire est responsable d'environ 140 millions de cas et de plus d'un million de décès par an, touchant les enfants de moins de 5 ans dans plus de 60 % des cas. La plupart des décès sont dus à la forme endémique de l'infection, liée à *S. flexneri*, dont le sérotype prédominant dans les pays en développement, où surviennent 99% des cas, est *Shigella flexneri 2a*.

L'identification traditionnelle de *Shigella* spp. lors de la coproculture manque de sensibilité. L'Institut Pasteur a développé des tests immunochromatographiques pour le diagnostic rapide de *Shigella* spp., de *Shigella flexneri 2a*, de *Shigella sonnei* et de *Shigella dysenteriae 1*. Les TDR sont réalisés sur les selles et les écouvillonnages rectaux. Le TDR *S. flexneri 2a* a été testé au Vietnam avec une bonne spécificité (91,5 %) et une bonne sensibilité (99,2 %). Des tests analogues ont été développés dans les selles contre *S. dysenteriae 1* responsable des épidémies brutales et graves dans les pays en développement et contre *S. sonnei*, moins virulent et prévalent dans les pays développés. Le TDR *S. dysenteriae 1* a été évalué en différents lieux avec une spécificité de 98,7 % et une sensibilité de 91,7 %. Le TDR *S. sonnei* a été testé en quatre endroits différents avec une spécificité de 96% et une sensibilité de 100 %. Ces TDR doivent être conservés à l'abri de l'humidité, à température ambiante.

Les méthodes de bactériologie conventionnelles restent indispensables pour évaluer l'antibiorésistance et pour caractériser les souches.

Un TDR multiplex des dysenteries bacillaires cible les sérogroupes du vaccin anti-shigella en cours de développement contre *S. dysenteriae 1*, *S. sonnei* et *S. flexneri 2a - 1b - 3a*.

4.4. TDR de la méningite cérébrospinale à méningocoques (MCSm)

Les tests d'agglutination des particules de latex permettent de rendre les résultats plus rapidement qu'avec la culture, ainsi que de détecter l'agent pathogène chez des patients méningitiques dont certains ont pu être prétraités avec des antibiotiques (méningite décapitée). Mais, ces tests ont pour inconvénient d'être coûteux, de devoir être conservés à + 4 °C, d'être d'une durée de conservation limitée et de nécessiter des étapes de préparation du LCR non réalisables dans des structures dénuées d'équipement.

Des TDR de la MCSm ont été mis au point à l'Institut Pasteur et au CERMES à Niamey. Ces tests, sous forme de deux bandelettes duplex (A et Y/W135, C et Y), permettent de faire le diagnostic de quatre sérogroupes de méningocoques (A et Y/W135 et C et Y) dans le LCR. Ils ont été validés au Niger sur des cultures de méningocoques et sur des LCR de malades. Ils sont utilisables à 25 °C, comme à 45 °C, température souvent rencontrée pendant la saison de la MCSm dans les pays de la Ceinture de la Méningite. Ces tests utilisables au chevet du malade contribuent à améliorer dans les zones à risque l'alerte en cas d'épidémies et à fournir une meilleure prise en charge des malades. Leur impact est important au niveau de la santé publique afin de guider le choix des vaccins à utiliser. En effet, le séro groupe W135 a révélé son potentiel épidémiogène depuis 2000. Or, les vaccins contre le séro groupe W135 (vaccin polysaccharidique non conjugué trivalent ACW réservé aux épidémies dues à la souche du séro groupe W135) étant produits en petite quantité et étant chers, leur emploi pour la riposte aux épidémies doit être justifié par un diagnostic précis du séro groupe en cause.

Si la méningite à *NmA* est en voie d'être éliminée d'Afrique grâce à la vaccination, la méningite à *NmC* a provoqué des flambées de grande ampleur au Nigeria et au Niger. Pour contenir la méningite à *NmC*, les armes font actuellement défaut, car le vaccin contre le méningocoque C n'est pas largement disponible, d'où l'intérêt des TDR pour un diagnostic rapide et précis.

Des TDR multiplex des méningites à pneumocoques et à méningocoques sont déployés par l'OMS dans la zone africaine pour une étude pilote.

4.5. TDR des leptospiroses.

En pratique, on définit ainsi les cas de leptospiroses :

- cas possible : signes cliniques évocateurs (fièvre avec syndrome algique) et sérologie ELISA positive en IgM et sérologie par MAT négative ou non réalisable,
- cas confirmé : PCR positive ou MAT positif pour un ou plusieurs sérogroupes pathogènes (multiplication par 4 du titre entre 2 prélèvements réalisés à au moins deux semaines d'intervalle ou titre unique > 1/400)

La sérologie par MAT est difficile à réaliser en dehors des laboratoires de référence. Les TDR permettent la détection qualitative des anticorps IgM de *Leptospira interrogans* dans le sérum, le plasma ou le sang total, ou des anticorps IgG/IgM dans le sérum ou le plasma. L'intérêt de ces tests repose sur sa facilité de mise en œuvre et l'utilisation possible au coup par coup. Mais les performances diagnostiques seraient moindres que celles de la sérologie ELISA.

4.6. TDR des angines à streptocoques β -hémolytiques du groupe A

Les agents étiologiques des angines sont des virus ou des bactéries, le streptocoque β -hémolytique du groupe A (SGA) étant la première cause des angines d'origine bactérienne. Dans les pays en voie de développement, l'origine bactérienne des angines est systématiquement évoquée vu le risque de rhumatisme articulaire aigu (séquence angine - polyarthrite - cardite). Les TDR permettent de détecter les antigènes des streptocoques du groupe A et ainsi de faire la différence entre une angine virale et une angine à SGA qui est seule redevable d'une antibiothérapie afin d'éviter les complications. Les TDR sont réalisés à partir d'un prélèvement de gorge avec une spatule, le résultat est obtenu 2 mn plus tard. Ces tests ont une sensibilité de 90 %, si l'inoculum est fort, et une spécificité de 95%. L'utilisation de ces tests a un impact fort sur la prescription d'antibiotiques. Elle permet de débiter précocement un traitement ciblé.

4.7. TDR des pneumococcies

Les TDR par immunochromatographie dans le LCR pour le diagnostic des méningites à pneumocoques ont une sensibilité de 95 % et une spécificité de 100 %. Cependant, la coloration de Gram demeure indispensable. Dans le cadre des pneumonies, un TDR détectant dans les

urines (test Binax Now® *Streptococcus pneumoniae urinary antigen*) la présence d'antigènes de *S. pneumoniae* a des performances satisfaisantes avec une sensibilité de 60 à 70 %, nettement plus élevée en cas de bactériémie ou chez les patients VIH positifs ou immuno-déprimés (plus de 90 %) et une spécificité proche de 100 %.

4.8. TDR de l'immunoprotection antitétanique (tétanos)

Les TDR de mise en évidence de l'immuno-protection antitétanique permettent de connaître le statut vaccinal des patients à risque et de choisir la prophylaxie antitétanique la mieux adaptée. La recherche des anticorps est faite dans le sérum, le plasma ou le sang total. L'utilisation systématique des TDR permet de diminuer les coûts en optimisant la prescription des immunoglobulines antitétaniques.

4.9. TDR des infections sexuellement transmissibles (IST) : syphilis, chlamydia, gonococcie

La détection de *Chlamydia trachomatis* responsable de la majorité des IST d'origine bactérienne utilise des techniques basées sur la PCR qui nécessitent un laboratoire spécialisé. Les tests immunochromatographiques rapides permettent la détection directe de l'antigène *Chlamydia* sur frottis endocervical et urétral et sur urine masculine. Ils permettent la détection des antigènes de *Neisseria gonorrhoea* dans les urines provenant de patients atteints d'urétrite pour le diagnostic de l'infection gonococcique chez les hommes. Ils permettent aussi la détection des anticorps spécifiques de *Treponema*. Un TDR biplex permet la détection simultanée des anticorps du VIH 1 et 2 et de *Treponema pallidum* dans le sérum, le plasma ou le sang total. Ce double test de dépistage rapide de la syphilis et de l'infection à VIH permet d'accélérer la lutte contre la transmission mère-enfant des deux maladies.

4-10. TDR dans la mélioïdose

Le diagnostic rapide de la mélioïdose repose sur la détection d'IgM/IgG par test immunochromatographique. L'ICT permet une réponse rapide avec une sensibilité de 87 % et une sensibilité de 81 %, les résultats étant cependant variables avec le type de prélèvement, l'analyse du pus est la plus sensible, celle du crachat la plus spécifique.

4-11. TDR dans l'infection à *Clostridium difficile*

Clostridium difficile est un germe producteur de deux toxines (A et B) à l'origine de la colite pseudomembraneuse. La diarrhée à *C. difficile* est la cause la plus fréquente des diarrhées infectieuses nosocomiales et des colites associées aux antibiotiques. Dans les pays du Sud, elle est liée en particulier à l'infection à VIH/Sida et à l'usage excessif des antibiotiques. Les tests immuno-chromatographiques sont basés sur la seule détection de la toxine A. Ils ne peuvent être recommandés comme une seule méthode de diagnostic suffisante.

4-12. Les TDR dans l'infection à *Helicobacter pylori*

La prévalence de l'infection à *H. pylori* est très élevée sous les tropiques, supérieure à 50 % avant 5 ans, pour atteindre 90 % à l'âge adulte. Les facteurs de risque sont la promiscuité, le jeune âge et les épisodes de gastro-entérite, facteurs qui sont retrouvés chez les enfants dans les PED. Le risque pour un enfant d'être infecté augmente de façon significative avec le nombre de personnes infectées dans sa famille.

Des tests par technique immuno-chromatographique ont été développés dans les urines (Rapurin®) avec une sensibilité de 95 % et une spécificité de 97 %, et dans les selles (ImmunoCard-STAT HpSA®) avec une sensibilité de 95,8 % et une spécificité de 91,1 %.

5- Tests de diagnostic rapide (TDR) par immunochromatographie des maladies virales

5.1. Les TDR de l'infection à VIH/Sida

Les TDR pour la recherche des anticorps anti-VIH sont connus depuis plus de 20 ans. Les TDR pour le diagnostic de l'infection à VIH/Sida ont un intérêt majeur et évident dans les pays en voie de développement où la disponibilité de matériel technique sophistiqué et nécessitant un entretien optimal n'est pas garantie en dehors des grands centres.

Les TDR de détection des anticorps dirigés contre les VIH 1 et 2 permettent l'accès à la connaissance du statut sérologique pour les populations qui ne peuvent recourir au dispositif

classique de dépistage. Le dépistage se fait sur sérum, plasma ou sang total. Il peut être fait à partir du sang séché sur séro-buvard pour les populations difficiles à atteindre. Un résultat négatif d'un premier TDR exclut une infection par le VIH, sauf en cas d'exposition récente datant de moins de 3 mois (primo-infection), un résultat positif doit être confirmé par un deuxième TDR. Les TDR actuellement commercialisés sont considérés comme équivalents en sensibilité aux tests ELISA de 3^{ème} génération. Des TDR permettent une détection simultanée de l'antigène p24 et des anticorps spécifiques du VIH1 incluant le sous-type O et le VIH2, mais ils n'ont pas fait la preuve d'une sensibilité suffisante.

Une question : les tests simples et utilisables pour le sujet lui-même (auto-tests) doivent-ils être utilisés en particulier en Afrique où la stigmatisation est encore importante ? Des pays à forte prévalence, comme l'Afrique du Sud, s'orientent vers la promotion de l'auto-test. La sensibilité des tests salivaires et leur réalisation aisée en font un outil facilement utilisable en autotests, mais il est impératif de disposer de tests de confirmation en cas de positivité.

5.2. Les TDR des infections respiratoires virales : grippe A, B, A(H1N1)pdm09

Si la RT-PCR est devenue la principale méthode utilisée pour le diagnostic et la surveillance des **virus grippaux type A** (y compris A(H1N1)pdm09) et **type B**, les TDR par immunochromatographie, réalisés à partir d'un échantillon de salive ou d'un écouvillonnage nasal ou par aspirations nasale, naso-pharyngée ou naso-trachéal, permettent par la détection des antigènes de faire le diagnostic d'infection due aux virus de la grippe. Ces tests sont spécifiques mais peu sensibles (50-70%) par rapport à la PCR.

Ils permettent ainsi de réduire la prescription d'antibiotiques et d'examen complémentaires et de débiter un traitement antiviral par les molécules antivirales spécifiques (anti neuraminidases : Tamiflu®) qui ne sont efficaces que dans les 30 heures après le début des signes cliniques et de prévenir les infections nosocomiales.

Les tests rapides par immuno-chromatographie permettent de mettre en évidence le **virus respiratoire syncytial** sur un prélèvement nasopharyngé. Comme pour la grippe, la sensibilité des TDR est inférieure à celle de la PCR.

5.3. Les TDR des infections diarrhéiques virales

Une relation causale entre la présence de virus dans les selles et la survenue de diarrhées a été établie pour les **rotavirus**, les **adénovirus** et les **norovirus**. Les tests immunochromatographiques détectant les antigènes des **rotavirus** se font sur des échantillons de selles. Les TDR permettent la détection simultanée des **rotavirus** et des **adénovirus**. Ils permettent aussi la détection des antigènes des **norovirus**. Sur le plan épidémiologique, un diagnostic fiable et rapide des gastro-entérites est important, car, outre la mise en place d'un traitement approprié à l'infection détectée (évitant la prescription systématique d'antibiotiques), ils permettent de prendre rapidement les mesures préventives d'hygiène pour limiter l'extension des infections nosocomiales.

5.4- Les TDR de la dengue et de l'infection à virus *Chikungunya*

L'intérêt des TDR pour le diagnostic de la dengue est l'identification des premiers cas d'une épidémie, notamment dans les zones tropicales à fortes densités humaine et vectorielle. Le diagnostic de dengue peut se poser avec d'autres causes de fièvre sous les tropiques ou au retour des tropiques (paludisme, leptospirose, ...). Des tests immuno-chromatographiques rapides sur bandelettes permettent la détection de la protéine NS1 (J1 à J9) ou une détection qualitative des anticorps IgM et IgG spécifiques des virus de la dengue dans le sérum et le plasma. Un TDR combine la détection de l'antigène NS1 et des anticorps IgG/IgM. Ces tests ont une spécificité de 96 % et une sensibilité de 80 % pour un diagnostic direct de NS1, une spécificité de 84 % et une sensibilité de 90 % pour le diagnostic sérologique IgM/IgG. Il est particulièrement important de parvenir en zone tempérée à un diagnostic précoce du ou des cas importés pour éviter la propagation de l'infection (exemple de l'Italie).

Un TDR permet la détection des anticorps du virus *Chikungunya* dans le sérum, le plasma ou le sang total. Leurs faibles sensibilité et spécificité ne permettent cependant pas de porter un diagnostic de certitude et en zone tropicale, de faire un diagnostic différentiel rapide entre infection à *Chikungunya* et dengue ou leptospirose.

5.5- Les TDR dans les hépatites virales

Des tests de diagnostic rapide ont été mis au point pour renforcer le dépistage, le diagnostic et l'accès aux traitements de l'hépatite à virus B (HVB) et de l'hépatite à virus C (HVC). Pour l'HVB, la détection de l'AgHBs se fait dans le sang total capillaire, pour l'HVC dans le liquide cravculaire (liquide sécrété au niveau du sillon antérieur de la gencive ou des lèvres) et le sang total capillaire. Un TDR biplex permet de dépister la co-infection VIH/VHB. De même, un test biplex permet le dépistage de la co-infection VIH et VHC. Un test multiplex doit permettre un dépistage combiné du VIH et des hépatites B et C. En effet, les facteurs de risque de contamination par voie sanguine et sexuelle de l'infection à VIH/Sida et des hépatites B et C sont communs. Et, l'infection par le VHC est devenue une des principales causes de mortalité des malades VIH positifs.

5.6. TDR pour la Maladie à virus Ebola

Un test rapide a été approuvé en février 2015 par l'OMS (ReEBOV *Antigen Rapid Test Kit, Corgenix USA*). Il détecte 92 % des personnes infectées, mais repère à tort 15 % de personnes non infectées. Il doit être confirmé par un examen en laboratoire.

Un test de diagnostic rapide a été mis au point par des chercheurs français du Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA). Baptisé « eZyscreen », il a été développé avec des anticorps monoclonaux dirigés contre la glycoprotéine d'enveloppe. Deux versions ont été industrialisées, l'une pour des échantillons de sang total, l'autre pour des échantillons de sérum et de plasma. Une étude de validation a été réalisée en Guinée. La sensibilité est de 65,3 %, la spécificité de 98,9 % sur sang total, de 74 % et 100 % sur sérum.

La limite de sensibilité explique que les techniques moléculaires de laboratoire (PCR) restent la référence pour le diagnostic de la maladie à virus Ebola.

5.7. TDR pour le Coronavirus Covid 19

Le dépistage est l'un des piliers de la stratégie Tester Alerter Protéger mise en place pour freiner l'épidémie de COVID-19. Il a reposé sur la réalisation de tests virologiques (RT-PCR) et de tests antigéniques. Ces tests détectent les antigènes du SARS-CoV-2 et utilisent la technique d'immunochromatographie. Ils permettent de poser un diagnostic d'infection par le SARS-CoV-2 en phase précoce lorsque la multiplication du virus est à son maximum. La sensibilité du test est corrélée à la charge virale et à sa contagiosité. D'après l'OMS, les tests antigéniques ont une sensibilité ≥ 80 % et une spécificité ≥ 97 % par rapport à la RT-PCR de référence. Les sites de prélèvements sont nasopharyngé profond, désagréable et douloureux, nasopharyngé moins profond (cornet inférieur ou nasal antérieur), moins sensible, mais moins désagréable et pouvant être répétés facilement par les patients eux-mêmes (autotests).

L'OMS a recommandé dès octobre 2020 d'utiliser les TDR dans quatre cas de figure : dans les foyers suspects où il n'est pas possible d'avoir accès au test PCR, y compris dans les zones reculées et difficiles d'accès ; pour déterminer l'étendue d'un foyer où au moins un cas est détecté par PCR, y compris dans les environnements à contact étroit tels que les prisons ; parmi les groupes à haut risque tels que les travailleurs de la santé ; et dans les zones où la transmission communautaire est répandue.

5.8. Les TDR en attente

Des TDR antigènes et anticorps sont déjà développés ou en développement pour d'autres maladies infectieuses en zones tropicales.

Des TDR sont à l'étude dans la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma brucei gambiense*, la fièvre typhoïde à *Salmonella typhi*, le typhus des broussailles à *Orientia tsutsugamushi*, l'encéphalite japonaise, la fièvre hémorragique à virus *Hantaan*, les colites hémorragiques à *Escherichia coli*... La liste est longue.

En pratique, le diagnostic de ces infections fait toujours appel aux techniques directes (examen direct, culture, amplification génique) ou indirectes (sérologie).

Certains TDR, considérés comme performants en conditions de laboratoire, sont plus ou moins performants sur le terrain et ne peuvent pas être d'emploi systématique.

6. POCT et autotests

6.1. Les POCT (point of care tests) sont des tests diagnostiques de laboratoire destinés à être effectués à proximité directe du patient, au cabinet médical, aux centres médicaux, aux urgences, dans les laboratoires à la condition de pouvoir disposer du résultat dans un délai bref (30 à 60 minutes maximum). Ces tests sont conçus pour être effectués par du personnel non médical (pharmacien, infirmière, laborantin...). Différentes techniques immunologiques, certaines déjà anciennes, ont été utilisées :

- technique d'agglutination,
- technique ELISA,
- technique d'immuno-essai optique,
- technique d'immunochromatographie (ICT).

Depuis, les méthodes de biologie moléculaire ont complété les POCT, dont le système Gene XPert® (Cepheid), l'automatisation des étapes nécessaires à la réalisation d'une PCR en temps réel ayant simplifié et réduit considérablement le temps de manipulation ainsi que la durée des tests moléculaires.

De nouvelles techniques basées sur l'utilisation de sondes, de méthodes PCR et de bio-puces ou puces à ADN représentent le futur des POCT, qui doivent être actuellement regroupés sous le terme de « tests rapides ».

6.2 Les autotests se différencient des TROD, les autotests étant à réaliser et à interpréter par le sujet lui-même à son domicile. Le premier autotest qui a été autorisé en France le 15/09/2015 est l'autotest pour le dépistage de l'infection à VIH/Sida. Grâce à un kit de dépistage, une goutte de sang suffit pour savoir en 15 mn si on est porteur ou non d'Ac-anti VIH.

Un autotest ne constitue ni un TORD, ni un examen de biologie médicale comme l'ELISA. Si, le TORD ne constitue pas non plus un examen de biologie médicale, il est réalisé, à la différence de l'auto-test, par un personnel de santé habilité.

Un autotest doit atteindre des performances imposées, par exemple 100 % de sensibilité pour le VIH. Mais, « *il n'existe à ce jour ni critères d'évaluation imposés, ni normes à appliquer, ni performance minimale à atteindre...* ». L'autotest ne peut se passer d'un professionnel de santé lors de son utilisation.

7. Conclusion

Les TDR par immuno-chromatographie, ne nécessitant aucun équipement spécial, sont bien adaptés aux situations d'urgence et de précarité dans les pays en développement. L'apport du résultat d'un TDR est interprété en fonction de la clinique. Les TDR contribuent à une meilleure prise en charge des malades et à une rapidité d'alerte pour les maladies infectieuses à potentiel épidémique ou à prévention vaccinale.

Références

- Denis F., Saulnier M., Chiron J.P. Diagnostic biologique rapide des méningites purulentes par agglutination passive indirecte des particules de latex et par contre-immunoelectrophorèse : expérience et perspectives. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé, 1981, 59, 143-151.
- Chakour M., Koeck J.L., Maslin J., Nicand E., Chadli M., Nizou J.Y., Buisson Y. Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique : état des lieux, perspectives. Med. Mal. Inf., 2003, 33, 396-412.
- Thiebaut I, Claudon A; Demange C. Intérêt clinique et économique d'un test rapide de la mise en évidence de l'immunoprotection antitétanique. Journal de Pharmacie Clinique, 2003, 22, 31-35.
- Chanteau S., Nato F., Migliani R. L'intérêt des tests rapides par immunochromatographie pour la surveillance des maladies à caractère épidémique dans les pays en développement : l'exemple de la peste à Madagascar. Med. Trop., 2003, 63, 574-576.
- Chanteau S., Nato F. Diagnostic rapide des maladies bactériennes à potentiel épidémique. Med. Mal. Inf., 2005, 35, S100-S102.
- Hance P., Garnotel E., De Pina J.L., Vedy S., Ragot C., Chadli M., Morillon M. Tests immunochromatographiques rapide de détection du paludisme. Principes et stratégies d'utilisation. Med. Trop., 2005, 65, 389-393.
- Chanteau S., Darteville S., Mahamane A., Djibo S., Boisier P., Nato F. New rapid diagnostic tests

- for *Neisseria meningitidis* serogroup A, W135, C and Y. *PLoS Medicine* 2006 ; 3(9) : e337
- Chanteau S., Nato F. Les tests de diagnostic rapide : succès et réserves. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 2006, 59; 414-415.
 - Marty R., Delaunay P., Fissore C., Le Fichoux Y. La leishmaniose méditerranéenne due à *L. infantum*. Mise au point. Intérêt des tests de diagnostic rapide : IT-Leish® et ID-PaGA-Leishmaniasis®. *Med. Trop.*, 2007, 67,79-85.
 - Nato F., Phalipon A., Phuong Thi Nguyen L., Diep T.T., Sansonetti P., Germani Y. Dipstick for rapid diagnosis of *Shigella flexneri* 2a in stool. *PLoS ONE*, 2007, 4, e361.
 - Moulin F., Gendrel D. Paludisme d'importation : pièges diagnostiques et tests de diagnostic rapide. *Archives de pédiatrie*, 2009, 16, 589-592.
 - Buchbinder N., Benzdira A., Belgaïd A., Dufour D., Paon J.C., Morel A., Le Roux P. Angine streptococcique aux urgences pédiatriques : performance et impact d'un test de diagnostic rapide. *Annales de pédiatrie*, 2007, 14, 1057-1061.
 - Martinot A., Aurel M., Dubos F. Evaluation des performances des tests de diagnostic rapide. *Annales de pédiatrie*, 2007, 14, 524-526.
 - de Carsalade G.Y., Lam Kam R., Lepere J/F., de Brettes A., Peyramond D. Peut-on remplacer en première intention le frottis/goutte épaisse par un test de diagnostic rapide pour le diagnostic du paludisme? L'expérience de Mayotte. *Méd. Mal. Inf.*, 2009,39, 35-40.
 - Faix D.J., Sherman S.S., Waterman S.H. Rapid test sensitivity for novel swine-origin influenza A(H1N1) in humans. *N. Engl. J. Med.*, 2009, 361, 728-729.
 - Berry A., Iriart X., Magnaval J.F. Nouvelles méthodes de diagnostic du paludisme. *Revue Française des Laboratoires*, 2009, 416, 65-70.
 - Attou M.A., Morand-Joubert L. Fiabilité d'un test rapide d'orientation diagnostique de l'infection à VIH : expérience du laboratoire de virologie à l'hôpital Saint Antoine (Paris). *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 2011, 26, 23-26.
 - Matha J., Gillet P., Jacobs. Malaria rapid diagnostic tests in endemic settings. *Clin. Microbio. Infect.*, 2013, 19, 399-407.
 - Pavié J. Rachline A., Loze B. et al. Sensitivity of five rapid HIV tests on oral-fluid or finger-stick whole blood: a real-time comparison in a setting. *PLoS ONE*, 2010, 5, e11581.
 - Taneja N., Nato F., Dartevielle S. et al. Dipstick test diagnosis of *Shigella dysenteriae* 1 in bacterial cultures and its potential use on stool samples. *PLoS ONE*, 2011, 6, e24830.
 - Daran C., Nato F., Dartevielle S. et al. Rapid diagnosis of diarrhea caused by *Shigella sonnei* using dipstick; comparison of rectal swabs, direct stool and stool culture. *PLoS ONE*, 2013, 8, e80267.
 - Chanteau S. A country-wide field evaluation of rapid diagnostic test for meningococcal meningitis. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2014, 108, 183-184.
 - Leslie T, Mikhail A, Mayan I et coll. Rapid diagnostic tests to improve treatment of malaria and other febrile illnesses : patient randomized effectiveness trial in primary care clinics in Afghanistan. *BMJ* 2014 ; 348 : g3730.
 - Ensemble d'auteurs. Tests de diagnostic rapide en infectiologie tropicale. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2014, 107, 204-209.
 - OMS. Essential medicines and health products. First Antigen Rapid Test for Ebola through emergency assessment and eligible for procurement, 20/2/2015.
 - Ensemble d'auteurs. Les tests de diagnostic rapide en infectiologie tropicale. Quels besoins ? Quelles disponibilités ? Quelles bonnes pratiques. Journées de la SPE , 25 mars 2014. *Bull Soc Pathol Exot* 2017 ; 1 : 1-54.
 - Houzé S, Paris L. Apport des tests de diagnostic rapide en parasitologie : intérêt et limites. *Revue française des laboratoires*, 2015, 474, 29-36.
 - Chesnais CB, Vlamincck J, Kunyu-Shako B et al. Measurement of Circulating Filarial Antigen Levels in Human Blood with a Point-of-Care Test Strip and a portable Spectrodensitometer. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94 : 1324-1329
 - OMS. Paludisme. Les tests de diagnostic rapide. Dernière mise à jour : 8 juin 2017.
 - Pichard E. Tests de diagnostic rapide et tests sur les lieux de soins en infectiologie tropicale. *Bull Soc Pathol Exot* 2017 ; 110 : 349.
 - Haddar C, Bégaud E, Mook Yun Yuh, Eng Lim Law, Germani Y. Tests rapides d'orientation du diagnostic (TROD) d'infections à fortes prévalences en zone tropicale : méningites, cholera, colites hémorragiques, dysenteries, typhoïde, filariose, paludisme. (Partenariat international entre une

- start-up de l'Institut Pasteur, des laboratoires académiques et des hôpitaux). Bull Soc Pathol Exot 2017 ; 110 : 349-350.
- Vashist SK. Point-of-Care diagnostics: recent advances and trends. Biocapteurs (Bâle) 2017 ; 7 : 62. Publié en ligne 2017 déc 18. doi : 10.3390/bios7040062.
 - Rapport de l'Académie nationale de Pharmacie. Autotests-TROD. Décembre 2017
 - Pagès-Monteiro L, Commun C. Les tests rapides en bactériologie. In Bactériologie clinique 3^e édition, Éditions Eska 2019, N°4, pp. 47-74.
 - OMS. Les nouveaux tests rapides de COVID-19 changent la donne en Afrique. 22 octobre 2020.
 - Cohen R. Tests diagnostiques du SARS-CoV-2. Médecine & enfance 2021 ; 9-10 : 214-217.
 - ARS. Coronavirus COVID-19 : les différents types de tests. 3 mai 2021.