



Les nouveaux tests sanguins dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse

The new blood tests for the diagnosis of tuberculosis infection

اختبارات الدم الجديد في تشخيص عدوى السل

M. Herrag.

المخلص :

تشخيص داء السل الكامن يعتمد إلى يومنا هذا على إيجابية اختبار رد الفعل الجلدي للسلين. هذا الاختبار يطرح مشاكل تقنية عديدة سواء من ناحية إنجازها، قراءته أو تفسيره. كما أن خصوصيته ضعيفة في حالة تلقيح مسبق ضد داء السل، بالإضافة إلى حساسية ضعيفة في حالة نقص المناعة. إن فهم المناعة الخلوية مع ما أضافه علم الحياة الجزيئي، مكن من تطوير اختبارات دم تمكن من قياس تحرير «الانترفيرون» من قبل اللامفاويات في المختبر وذلك من خلال التحفيز بواسطة مضادات جينات ذات خصوصية عالية لميكوبكتيرية داء السل، هذه المضادات الجينية هي (E SAT6) إيزات 6، (CFP 10) س ف ب 10 و 77. Ag tb مضادات الجينات هاته لا توجد في لقاح داء السل وغالبية الميكوبكتريات الغامضة. هناك نوعان من الاختبارات المعدة للتسويق: أحدهما يقيس اللامفاويات المفرزة للأنترفيرون بواسطة طريقة (ELISA) إيليزا. تؤكد أن هذه الاختبارات تعتبر أكثر خصوصية من اختبار رد الفعل الجلدي للسلين، لأن ليس لديهم تفاعلات مزدوجة مع تلقيح داء السل، هذه الخصوصية المرتفعة تمكن من تفادي المصاريف العالية والأعراض الجانبية المتوقعة لعلاج للزوم له عند أشخاص ملقحين ضد داء السل ولديهم اختبار رد فعل جلدي إيجابي للسلين. ولكن في حالة داء سل مؤكد، الاختبار بواسطة (ELISPOT) ايلسبوت، له حساسية أكبر. أما المرضى الذين لديهم اختبار رد فعل جلدي سلبي للسلين مع احتمال تطور داء السل إلى مرض، فإن حساسية هذه الاختبارات تستدعي بدء علاج داء السل. الهدف من هذه المقالة هو التذكير بمبادئ هذه الاختبارات التشخيصية وإعادة النظر في البراهين المتعلقة بمنفعاتها، حدودها وكذا دواعي استعمالها.

الكلمات الأساسية : العدوى، السل، اختبار الدم

Résumé :

Le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente ne reposait jusqu'à nos jours que sur la positivité du test cutané tuberculinique. Ce test pose énormément de problèmes techniques de réalisation, de lecture et d'interprétation. Par ailleurs, Il manque aussi bien de spécificité en cas de vaccination antérieure par le BCG que de sensibilité en cas d'immunosuppression. La compréhension de l'immunité cellulaire avec l'apport de la biologie moléculaire ont permis d'élaborer des tests sanguins qui mesurent in vitro la libération de l'interféron Gamma par les lymphocytes T suite à leur stimulation par des antigènes hautement spécifiques du Mycobactérium tuberculosis que sont: ESAT6 (Early Secretory Antigenic Target 6Kda) et le CFP10 (Culture Filtrate Protein 10) et dernièrement l'Ag tb 7.7. Ces antigènes n'existent pas dans le vaccin BCG et dans la plupart des mycobactéries non tuberculeuses. Deux tests sont commercialisés, l'un mesure les lymphocytes sécrétant l'interféron Gamma, par la méthode ELISpot: the Enzyme- Linked Immuno Spot. Tandis que l'autre mesure directement l'interféron gamma, par la méthode ELISA: Enzyme- Linked Immuno- Sorbent Assay. Les données cliniques actuelles suggèrent que ces tests sanguins sont plus spécifiques que le test cutané tuberculinique, puisqu'ils n'ont pas de réactions croisées avec le BCG. Cette spécificité élevée permet d'éviter les coûts et les possibles effets secondaires d'un traitement inutile chez les personnes vaccinées ayant un test tuberculinique positif. Cependant en cas de tuberculose bacillifère, l'ELISA a la même sensibilité que le test tuberculinique, alors que l'ELISpot paraît plus sensible. Chez des patients ayant un test tuberculinique négatif avec un risque élevé d'évoluer vers une tuberculose maladie, ces tests sanguins à l'interféron gamma, grâce à leur sensibilité permettent d'envisager un traitement antituberculeux. Le but de cet article est de rappeler les principes de ces tests diagnostiques, de revoir les preuves concernant leur utilité et leurs limites ainsi que leurs indications.

Mots clés : Infection, tuberculose, tuberculine, tests sanguins.

Abstract :

The diagnosis of latent tuberculosis infection was based until now on the positivity of the tuberculin skin test. This test poses considerable technical problems of implementation, reading and interpretation. Moreover, it lacks both specificity in cases of previous BCG vaccination and sensitivity in case of immunosuppression. The understanding of cellular immunity with the contribution of molecular biology have helped to develop blood tests that measure in vitro release of interferon Gamma by T cells after stimulation by highly specific antigens of Mycobacterium tuberculosis that are ESAT6 (Early Secretory Antigenic Target 6Kda) and CFP10 (culture filtrate protein 10) and recently the Ag tb 7.7. These antigens are absent in the BCG vaccine and most nontuberculous mycobacteria. Two tests are commercialised, one measures the interferon-secreting cells by ELISpot method: the Enzyme-Linked Immuno Spot. As another measure directly interferon by ELISA: Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay. The current clinical data suggest that these blood tests are more specific than the tuberculin skin test because they did not cross-react with BCG. This high specificity avoids the costs and possible side effects of unnecessary treatment among persons vaccinated with a positive tuberculin test. However in cases of active tuberculosis, the ELISA has the same sensitivity as the TST, while ELISpot appears more sensitive. In patients with negative tuberculin test with a high risk to progress to tuberculosis disease, the sensitivity of these blood tests can be considered a treatment for tuberculosis. The purpose of this paper is to recall the principles of these diagnostic tests, review the evidence on their usefulness, their limitations and their indications.

Keywords : Infection, tuberculosis, tuberculin, blood test.

Tiré à part : M. Herrag : Service de Pneumologie, CHU Mohammed VI. CHU d'Oujda Maroc.

Intérêt de la question

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) un tiers de la population mondiale est infecté par le complexe *Mycobacterium tuberculosis* dont 10% vont développer une tuberculose maladie chaque année soit 8 millions de nouveaux cas par an, avec 3 millions de cas de décès par an [1]. Le risque de réactivation est plus élevé durant les deux années qui suivent l'infection et lors de l'altération de l'immunité à médiation cellulaire secondaire à des facteurs qui peuvent être soit physiologiques (en rapport avec le jeune âge plus particulièrement les enfants âgés de moins de 5 ans non vaccinés), soit pathologiques (coïnfection par le VIH, les insuffisants rénaux chroniques...) ou iatrogénique (patients sous immunosuppresseurs, sous corticoïdes au long cours ou sous anti Tumor- Necrosis Factor alpha (TNF α) et chez les transplantés...) [2-4]. Ce groupe de patients ont une forte probabilité de développer des formes de tuberculose plus sévères, plus étendues et mortelles si non traités ou traités tardivement. D'où l'extrême importance du dépistage de cette infection tuberculeuse latente par d'autres moyens autre que le test cutané tuberculinique qui est habituellement négatif chez ce groupe de patients [5,6]. En absence d'un test "étalon-or" (Gold Standard) qui permet d'identifier les personnes infectées qui vont développer la maladie ultérieurement, l'indication du traitement antibacillaire se base uniquement sur la positivité du test cutané tuberculinique, qui pose des problèmes pratiques de réalisation, de lecture et d'interprétation aussi bien lorsqu'il est positif (vaccination antérieure) par manque de spécificité que lorsqu'il est négatif (immunodépression, phase anté-allergique ou maladies anergisantes...) par manque de sensibilité [5,6]. Au cours des 5 dernières années, des nouveaux tests sanguins prometteurs du diagnostic de l'infection tuberculeuse latente ont été développées dans les pays industrialisés connus sous le nom de test de libération d'interféron Gamma () : Interferon Gamma () Release Assay (IGRA) [7-10]. Ces tests sanguins qui ne sont pas encore disponibles au Maroc, reposent sur la mesure de l'interféron sécrété par les lymphocytes T CD4+ en réponse à des antigènes spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis*: Early Secretory Antigenic Target 6Kda (ESAT 6) et le Culture Filtrate Protein 10 (CFP 10) et dernièrement l'Ag tb 7.7 [7-11]. Le but de cet article est de rappeler les principes de ces tests diagnostiques et de revoir les preuves, concernant leur utilité, leurs limites ainsi que leurs indications.

Moyens disponibles pour le diagnostic d'une infection tuberculeuse.

Test cutané tuberculinique (tableau 1).

Tableau 1

Avantages	Inconvénients
Test cutané tuberculinique	
<ul style="list-style-type: none"> • Grande expérience • Economique • Pas d'infrastructure nécessaire 	<ul style="list-style-type: none"> • Manque de spécificité (faux positifs chez les individus vaccinés au BCG ou exposés aux mycobactéries non tuberculeuses) • Manque de sensibilité (faux négatifs chez les immunodéprimés) • Mauvaise reproductibilité • Personnel entraîné pour administration et lecture correctes • Cut off variable (5, 10 ou 15mm) • Deux visites nécessaires • Effet booster
Nouveaux tests sanguins à l'interféron γ	
<ul style="list-style-type: none"> • Plus spécifique • Meilleure sensibilité chez l'immunodéprimé (?) • Simple prise de sang • Plus objectifs • Excellente reproductibilité • Une seule visite suffit • Peuvent être répétés (pas d'effet Booster) 	<ul style="list-style-type: none"> • Expérience encore limitée • Coûts • Infrastructure de laboratoire nécessaire

Avantages et inconvénients du test cutané tuberculinique et des tests sanguins à l'interféron γ .

Ce test est basé sur la réaction d'hypersensibilité retardée en réponse à la tuberculine qui est un dérivé de protéine purifiée (Purified Protein Derivative: PPD) qui est injectée en intradermique au niveau du tiers moyen de la face antérieure du bras. La réponse consiste sur la mesure de l'induration après 72 h (figure 1). La tuberculine contient plus de 200 antigènes communs avec le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) et les autres mycobactéries non tuberculeuses. Cela explique que sa spécificité soit moins bonne dans les populations avec une haute couverture vaccinale au BCG et une exposition élevée aux mycobactéries non tuberculeuses environnementales [4,5]. La taille de la réaction cutanée au test est utilisée pour classer les individus selon leur degré de risque de passage vers la tuberculose maladie. Ce risque est considéré très élevé si la réaction est phlycténulaire ou le diamètre de l'induration est supérieur à 15 mm [4-6]. La

longue expérience avec le test cutané a permis de comprendre son utilité et ses limites (tableau 1). Un avantage majeur est son coût modéré et qu'aucune infrastructure de laboratoire n'est nécessaire. Ces inconvénients se résument en la difficulté d'administration et de lecture de ce test qui ne sont pas toujours aisées (grande variabilité d'interprétation du résultat inter et intra-observateur), nécessitant un personnel entraîné, et deux visites à 48-72 heures d'intervalle. En plus, ce test peut être faussement négatif par sa faible sensibilité chez les patients immunodéprimés qui ont plus de risque d'évoluer vers une tuberculose maladie [4-6].

Tests de libération de l'interféron : IGRA (Interferon-Release Assay) (figure 1).

Principe:

Les tests sanguins de libération d'interféron sont basés sur la réponse prédominante de l'hôte à l'infection tuberculeuse qui consiste en la libération d'interféron par les lymphocytes T mémoires qui ont précédemment été en

contact avec des antigènes de *Mycobacterium tuberculosis* [7-14]. Cette libération d'interféron est détectée par des méthodes ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ou ELISpot (Enzyme-Linked Immuno Spot). Au début, on utilisait la tuberculine (PPD) comme support antigénique pour stimuler la sécrétion de l'interféron ce qui n'améliorait pas la spécificité par rapport au test cutané. Ultérieurement, l'utilisation des antigènes spécifiques que sont: ESAT-6 (Early Secretory Antigenic Target 6 Kda), CFP-10 (Culture Filtrate Protein 10) et récemment l'Ag tb 7.7 a permis d'améliorer cette spécificité. Ces antigènes sont codés par une région unique du génome appelée région de différence 1 (RD1) qui est absente chez toutes les souches vaccinales et chez la plupart des mycobactéries non tuberculeuses à l'exception de *Mycobacterium kansasii*, *marinum* et *szulgai*, mais présentes dans tous les isolats cliniques de *Mycobacterium tuberculosis*. [7-14]. Chaque test possède des caractéristiques techniques très différentes. Les caractéristiques différenciant les tests sanguins entre eux et avec le test cutané sont résumés dans les tableaux 1 et 2.

Figure 1

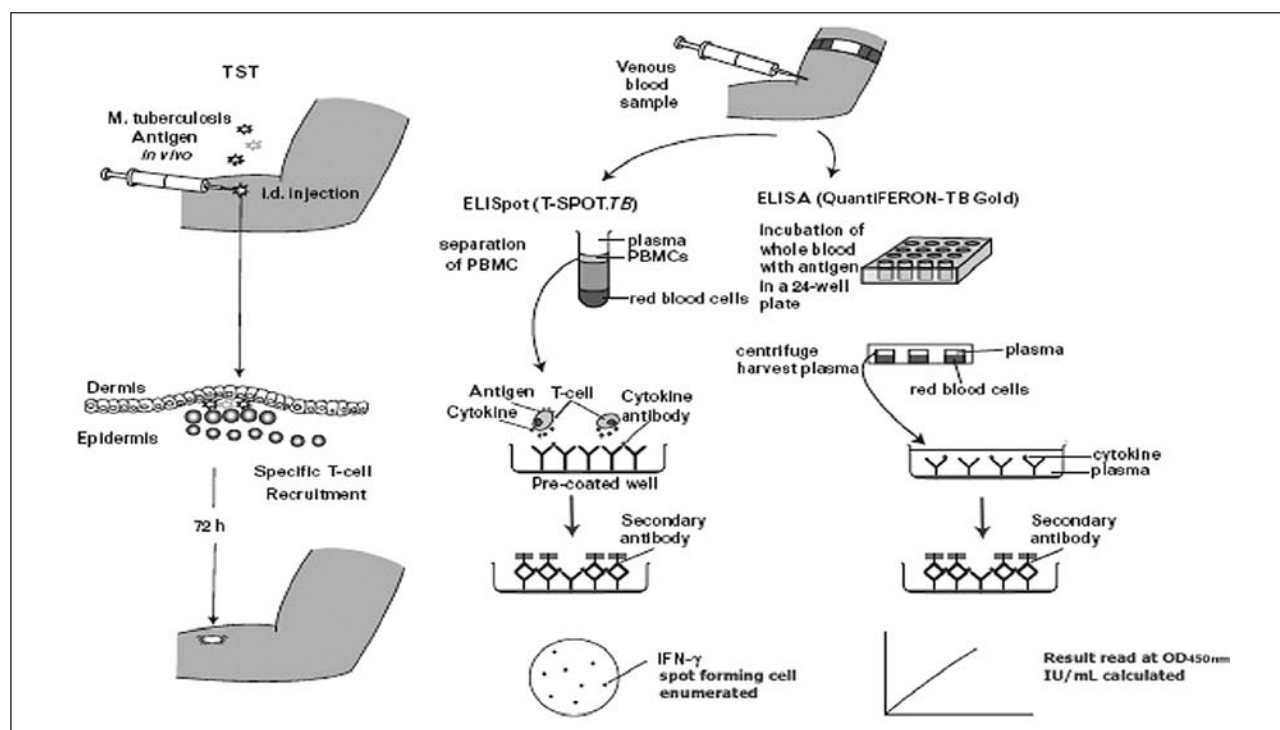


Schéma représentatif des moyens de diagnostic de l'infection tuberculeuse par le test cutané tuberculinique, ELISpot* et ELISA* (8)

- Test cutané tuberculinique (à gauche). ELISpot* (au centre). ELISA* (à droite): le sang total du patient est incubé avec ESAT-6 et CFP-10 pendant 24 h. Si le patient a une infection à *Mycobactérie tuberculeuse*, les cellules lymphocytaires T reconnaîtront les antigènes et sécréteront l'interféron. -PBMC: cellule mononuclée du sang périphérique. Coated: tapissé,

Tableau 2

Les caractéristiques du test cutané et des tests sanguins à l'interféron γ			
	Test cutané tuberculinique	T- SPOT- TB*	QuantiFERON- TB GOLD*
Conditions du test	In vivo	Ex vivo	Ex vivo
Antigènes	PPD	ESAT 6 et CFP 10 +/- Ag tb7.7	ESAT 6 et CFP 10 +/- Ag tb7.7
Contrôle positif interne	Non	Oui	Oui
Uniformité méthodologique	Non	Oui	Oui
Effet Booster si répété	Oui	Non	Non
Nécessité d'une 2ème visite	Oui	Non	Non
Temps nécessaire pour le résultat	48 à 72 heures	16 à 20 heures	16 à 24 heures
Interprétation du test	Subjective	Objective (instrument)	Objective (instrument)
Substrat	Non applicable	Cellules mononuclées du sang périphérique	Sang natif
Méthode de détection	Non applicable	ELISpot	ELISA
Méthode de mesure	Palpation	Compteur automatisé	Compteur automatisé
Résultat (unité)	Induration en mm	Nombre de cellules libérant l'interféron	Concentration d'interféron (UI)
Test approuvé (AMM)	Le monde	Europe, Canada, (USA et Japon en attente)	Europe, Canada, USA et Japon

Avantages et inconvénients du test cutané tuberculinique et des tests sanguins à l'interféron γ .

PPD: Protein- purified derivative; **ESAT6:** Early Secretory Antigenic Target protein 6, **CFP-10:** Culture Filtrate Protein 10, **ELISpot:** Enzyme Linked ImmunoSpot. **ELISA:** Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay,

Trois notions essentielles devraient être présentes à l'esprit avant toute interprétation de ces tests sanguins :

- La première:

Il n'existe pas de "Gold standard" pour le diagnostic de la tuberculose infection, par conséquent, aucun outil diagnostique de référence n'est disponible contre lequel ces tests peuvent être étalonnés.

- La deuxième:

En cas de positivité, ils ne sont en aucun cas des indicateurs de protection, ou d'évolution vers la tuberculose maladie; autrement dit, ils ne différencient pas entre les sujets infectés qui sont protégés par leur propre immunité (90%) et ceux qui risquent de développer une tuberculose active (10%).

- La troisième:

Ils ne différencient pas, en cas de positivité, la tuberculose maladie de la tuberculose infection. Seule l'exclusion et ou la mise en évidence de signes cliniques, radiologiques et bactériologiques permettrait de faire la différence.

Différents types d'IGRA (figure 1):

Selon la méthode utilisée, on distingue:

La méthode ELISA:

Regroupe trois sortes de tests [7-15]:

- QuantiFERON-TB*:

Le test de première génération (QF- 1G) est un test effectué sur du sang natif, qui mesure par ELISA la sécrétion d'interféron par des lymphocytes suite à leur stimulation par la tuberculine. Par conséquent, ce test a donné les mêmes résultats que ceux du test cutané. Ce test a été abandonné et remplacé par les tests QuantiFERON* de deuxième et troisième génération.

- *Test QuantiFERON-TB Gold**, (Cellestis; Carnegie, Australia) (figure1): C'est le test de seconde génération (QF- 2G), réalisé sur du sang total. Trois tubes fournis par le laboratoire sont utilisés. Le premier ne contenant aucun antigène et servant de contrôle négatif. Le deuxième tube contenant de la phyto- hémagglutinine (PHA) jouant un rôle de contrôle interne de la réaction d'activation des lymphocytes T. Le troisième tube contenant les antigènes spécifiques ESAT-6 et CFP-10 (parfois le Tb7.7). 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 12 heures. Les trois tubes sont directement mis à incuber dans une étuve

Tableau 3

		Maladie	
		oui	Non
Test	oui	a	B
Positif	non	c	D
Définitions			
Sensibilité.	a/a+c	«si l'individu est malade, quelle est la probabilité que le test soit positif»	
Spécificité.	d/b+d	«si l'individu n'est pas malade, quelle est la probabilité que le test soit négatif»	
Valeur prédictive positive.	a/a+b	«si l'individu a le test positif, quelle est la probabilité que l'individu souffre de la maladie»	
Valeur prédictive négative.	d/c+d	«si le test est négatif, quelle est la probabilité que l'individu ne souffre pas de la maladie»	

Définitions de la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et de la valeur prédictive négative d'un test.

à 37°C pendant 18 heures. A l'issue de cette incubation les tubes sont centrifugés puis le plasma sera transféré vers un autre plat. L'interféron dans le plasma est capturé par un anticorps anti interféron. Le complexe Ac- cytokine est détecté par un autre Ac conjugué à une enzyme qui catalyse une réaction colorimétrique, ainsi la densité optique est mesurée. La concentration de l'interféron est déterminée en utilisant une courbe standard (figure 1) [14,15].

– *QuantiFERON-TB GOLD In tube**, (Cellestis; Carnegie, Australia): Le test de troisième génération QF-3G, utilise des tubes pré remplis avec les antigènes ESAT6 et CFP10 avec parfois l'Ag tb 7.7, afin de simplifier les procédures de laboratoire et de faciliter le travail sur le terrain [11,13].

La méthode ELISPOT [8,9,12].

– *T-SPOT-TB** (Oxford Immunotec; Oxford, UK) (figure1).

Les cellules mononuclées au niveau du sang périphérique (Peripheral Blood Mononuclear Cells : PMBCs) contenant les lymphocytes T sont séparées du reste par centrifugation, lavées, comptées, et puis incubées avec ESAT-6 et CFP-10 dans un microtitre de plat d'ELISpot pendant 16 à 20 h. Si le patient est infecté par le M tuberculosis, les lymphocytes T

reconnaîtront les antigènes et sécréteront l'interféron. Cette cytokine est capturée par un Ac anti interféron. L'ensemble est capté par une autre Ac conjugué à une enzyme qui catalyse une réaction colorimétrique responsable de la visualisation d'un spot (une tâche). Chaque spot correspond à un lymphocyte T qui a répondu à l'Ag. Le résultat est obtenu en comptant le nombre de spot formant les cellules (spot forming cell: SFC). Ce test nécessite au préalable une séparation des cellules mononuclées du sang total ce qui le rend techniquement plus complexe. Cette manœuvre permet d'avoir un nombre fixe de globules blancs ce qui rend ce test plus intéressant chez les sujets immunodéprimés. En plus, on a remarqué que le nombre de ces spots diminue avec le traitement antituberculeux, ce qui pourrait théoriquement envisager que ce test pourrait être utilisé comme marqueur de guérison d'une tuberculose [7,8].

– *TSPOT- TB plus**: Utilise en plus de l'ESAT 6 et le CFP10, l'Ag tb 7.7 [10,13].

Tableau 4

	Indications des test sanguins à l'interféron γ
Maroc	• Pas d'indication actuelle (En cours de préparation).
France (23)	• Dépistage autour d'un cas de tuberculose BK +. • Embauche. • Avant traitement par anti- TNF.
Grande Bretagne (24)	• Test cutané positif ou douteux (niveau de preuve : avis d'experts) • Non indiqués si test cutané négatif
USA (9)	• Tests sanguins peuvent être réalisés dans toutes les circonstances où le test cutané est indiqué. (niveau de preuve non précisé)
Suisse (26)	• Complément en cas de test cutané positif. • D'emblée chez les sujets immunodéprimés

Indications des tests sanguins à l'interféron γ selon les pays

Les avantages et les inconvénients des tests IGRA par rapport au TST (tableaux 1, 2).

Les avantages [16-18]:

- Pas de deuxième consultation pour interpréter le résultat du test.
- Rapides (résultat obtenu en moins de 24 heures).
- Tests permettant de faire la différence entre infection par M. tuberculosis et vaccination par le BCG et les autres mycobactéries non tuberculeuses.
- Ne dépendent d'aucun observateur et produisent des résultats quantitatifs et objectifs

- Pas d'effet Booster lors du deuxième examen.

Les inconvénients de ces tests [16-18]:

- Tests techniquement plus difficiles à réaliser que le test cutané tuberculinique.
- Respect impératif d'un délai d'acheminement de douze heures maximum.
- Nécessité d'une prise de sang (minimum 3 à 4 ml) prélevé dans un tube spécial (Vacutainer* pour le T-SPOT-TB).
- Ne discriminent pas comme le test cutané entre la tuberculose maladie et la tuberculose infection.
- Nécessité d'un laboratoire équipé avec un matériel défini et du personnel formé.
- Risque théorique de résultat faussement positif (les gènes codant pour ESAT-6 et CPF-10 existant dans le génome de *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*).
- Pour le test QuantiFERON-TB*, le résultat est indéterminé si le témoin positif contrôle n'est pas validé. Chez les patients sous immunosuppresseurs ce type de résultat serait obtenu dans 20% des cas.
- Le coût élevé: le QF est 10 fois plus cher que le test cutané, tandis que l'ELISpot est 2 fois plus cher que le QF (Le QF coûte au Maroc entre 800 jusqu'à 1500 Dirhames !), ce prix élevé est expliqué par le fait que les prélèvements sont adressés à l'étranger).
- Possibilité de positivation si réalisés après le test cutané [19].
- Possibilité de conversion (test négatif devient positif) ou de réversion (test positif devient négatif) avec le temps en dehors de tout traitement [20].

Performances et limites (tableau 2) [21]:

Un test avec une meilleure spécificité permet d'éliminer les faux positifs parmi les personnes avec un test cutané positif, évitant ainsi les traitements inutiles. Un test avec une meilleure sensibilité permet d'identifier les personnes infectées avec un test cutané tuberculinique faussement négatif, qui pourraient bénéficier d'un traitement antibacillaire (tableau 3). L'évaluation des performances de ces tests pour diagnostiquer la tuberculose infection est rendue difficile par plusieurs facteurs. Tout d'abord, et de point de vue statistique c'est la difficulté de déterminer les valeurs prédictives positives ou négatives nécessaires pour calculer la probabilité post test due au faible nombre de

cas inclus dans les études. L'une des méthodes statistiques pour pallier à ce problème est d'évaluer la probabilité post test par l'application du théorème du Révérend Bayes [22], un mathématicien du 18e siècle, qui permet de déterminer la probabilité a posteriori de l'infection en fonction du résultat du test, à partir des seules valeurs de probabilité a priori, sensibilité et spécificité du test (en pratique, lorsqu'on effectue un test, on ne connaît en général que sa sensibilité et sa spécificité). Ainsi, si la probabilité pré-test de la maladie est très élevée (par exemple. 95 %), sa probabilité post-test restera encore relativement élevée malgré un test négatif (72 % en l'occurrence). Inversement, si la probabilité a priori de la maladie est très faible (par exemple 5 %), sa probabilité a posteriori n'augmentera pas forcément de manière significative cliniquement, même si le test revient positif (en l'occurrence 15 %). Ceci illustre bien l'importance, avant d'effectuer un test, de déterminer la probabilité a priori de la maladie chez un patient particulier et d'anticiper ce que deviendra sa probabilité a posteriori en fonction du résultat du test. Cet élément de probabilité ou de score clinique est à prendre en considération avant toute interprétation de résultats des tests sanguins. Secondairement, par l'absence de test de référence (Gold standard) dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente. En effet, les tests tuberculiniques ne peuvent effectivement pas être considérés comme un Gold standard bien qu'ils représentent, jusqu'à présent, la seule méthode diagnostique et que les connaissances disponibles sur l'histoire naturelle de l'infection reposent entièrement sur les données de ceux-ci. Théoriquement, le test T-Spot.TB® devrait être plus sensible parce qu'il détecte l'interféron sécrété à proximité de la cellule qui en produit, tandis que le test QuantiFERON-TB-Gold® détecte l'interféron après diffusion dans le surnageant et dilution dans le volume de sang total utilisé. Un grand nombre d'études utilisant l'un ou les deux tests ont été publiées dans différentes situations cliniques telles que la tuberculose maladie, l'infection tuberculeuse latente, les investigations de contact autour d'un cas de tuberculose maladie ou dans différents environnements (écoles d'infirmières, facultés de médecine, armées ou prisons) [11,21]. Ces études ont donné des résultats parfois différents expliquant ainsi les indications qui diffèrent d'un pays à l'autre (tableau 4). L'évaluation de la spécificité des tests sanguins a été donc estimée par l'observation de la proportion de tests négatifs chez les patients à faible risque d'avoir été exposé au

bacille de la tuberculose. La comparaison du taux des tests sanguins négatifs et les tests tuberculiniques montre que la spécificité des nouveaux tests est très supérieure à celle des tests cutanés, en particulier, chez les sujets vaccinés par le BCG. Par ailleurs, l'évaluation de la sensibilité de ces nouveaux tests est aussi difficile à estimer. Il faudrait théoriquement une étude longitudinale de cohortes de patients ayant des tests positifs pour les tests sanguins et recueillir les cas de tuberculose avérées sur une période de temps de deux ans minimum. Ainsi la sensibilité du test a été estimée sur des sujets atteints de tuberculose maladie bactériologiquement prouvée, en sachant que cette sensibilité sera quelque peu sous-évaluée. En effet, la proportion de sujets positifs pour les tests sanguins parmi les sujets atteints de tuberculose maladie prouvée est sous-estimée, la sécrétion d'interféron étant diminuée in vitro pendant la tuberculose maladie ce qui inhibe partiellement le test. Dans sa dernière méta- analyse Menzies et al [21] concluent que la sensibilité est de 78% (avec un intervalle de confiance IC de 73% à 82%) pour le QuantiFERON-TB Gold*, pour le QuantiFERON-TB Gold In- Tube*, elle est de 70% (IC, 63% à 78%), et de 90% pour TSPOT.TB* (IC, 86% à 93%). La spécificité pour les deux tests QuantiFERON* est de 99% chez les sujets non vaccinés par le BCG (IC, 98% à 100%) et de 96% (IC, 94% à 98%) chez les sujets vaccinés par le BCG. La spécificité du T-SPOT.TB* est de 93% (IC, 86% à 100%). Les résultats des tests cutanés sont très hétérogènes, mais la spécificité chez les sujets non vaccinés est très élevée estimé à 97% (IC, 95% à 99%).

Recommandations et indications

Dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente certains pays considèrent qu'on peut utiliser les tests sanguins à la place du test cutané, tandis que d'autres l'utilisent en cas de test cutané douteux ou positif. Par conséquent, différentes attitudes ont été adoptées à travers le monde sur l'usage de ces tests sanguins selon les pays (tableau 4) [9,23-26].

Questions en suspension

De nombreuses questions de plusieurs ordre (techniques, cliniques...) restent encore un sujet d'actualité, parmi lesquelles:

- Est ce que ces tests sanguins explorent la même réaction immunitaire que le test cutané tuberculinique?
- Quelle est la place de la sécrétion d'interféron dans le suivi du traitement d'une tuberculose infection latente ou d'une tuberculose maladie? [27,28].
- Quelle est la place réelle de ces tests chez les personnes âgées, les enfants et chez les patients immunodéprimés? [29- 31].
- Quel est la place de ces tests dans le diagnostic des tuberculoses extra pulmonaires et des granulomatoses? [32-34].
- Comment expliquer ce phénomène de conversion et de réversion des tests sanguins avec le temps? [19].
- Quel serait l'apport d'un test cutané basé sur des l'utilisation de ces Ag spécifiques ESAT 6, CFP10 et l'Ag tb 7.7 dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse?[35].

Conclusion

La contribution essentielle de ces tests sanguins est la détection des faux positifs du test tuberculinique permettant à la fois des traitements mieux ciblés, une diminution du nombre de personnes traitées, et donc une réduction des coûts. Que ce soit chez les sujets immunocompétents ou immunodéprimés, les tests sanguins ne permettent pas de faire la distinction entre tuberculose latente et tuberculose active. Chez des sujets immunodéprimés, la spécificité des tests sanguins, bien que meilleure que celle du test tuberculinique, est insuffisante pour exclure une tuberculose latente ou active. Par contre, ces tests sanguins sont clairement indiqués pour la détection de l'infection tuberculeuse latente, puisqu'ils sont plus sensibles que le test tuberculinique. L'utilisation de ces tests sanguins en tenant compte de leurs limites permet d'éviter des tests et examens complémentaires inutiles.

Références

1. Publication de l'Organisation Mondiale de la Santé. The Stop TB Strategy report. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/tbu_9.pdf.
2. Ferebee SH. Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review. *Adv Tuberc Res* 1969; 17: 29–106.
3. Shalini P, Armen P, Gunn J et al. Risk of progression to active tuberculosis among foreign-born persons with latent tuberculosis. *Chest* 2007;131: 1811–1816;
4. Bouvet E, Abiteboul D, Antoun F et al. Prévention et prise en charge de la tuberculose en France (Synthèse et recommandations du groupe de travail du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France 2002-2003). *Rev Mal Respir* 2003; 20 : S1-S105.
5. Groupe de travail du Conseil supérieur d'hygiène publique, France. L'intradermoréaction à la tuberculine (IDR) ou test à la tuberculine. *Médecine et maladies infectieuses* 2004; 34: 358–363.
6. Salmon D, Bricaire F. Quelle est la place actuelle de l'IDR à la tuberculine? *Presse Med.* 2006; 35: 1718–1720.
7. Jeremy S Brown, Marc C. What's new in respiratory infections and tuberculosis 2008- 2010. *Thorax*, 2012; 67: 350-354.
8. Lalvani A, Pareek M. A 100 year update on diagnosis of tuberculosis infection. *Br. Med. Bull.* 2010; 93: 69–84.
9. Mancuso J, Mazurek G, Tribble D et Al. Disordance among commercially available diagnostics for latent tuberculosis infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 185: 427–434.
10. Young D, Gideon H, Wilkinson R. Eliminating latent tuberculosis. *Trends in microbiology* 2009, 17: 183–188.
11. Ghanem M, Rashed H, Imam H. Performance of QuantiFERON-TB-Gold in tube assay (QFG-IT) versus tuberculin skin test (TST) in diagnosing active and latent TB Infection in a low-middle income country (LMIC). *Chest*, 2011; 140: 1015A.
12. Connell D, Berry M, Cooke G. Update on tuberculosis: TB in the early 21st century. *Eur. Respir. Rev.* 2011; 20: 71–84.
13. Diel R, Goletti D, Ferrara G et Al. Interferon-release assays for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: A systematic review and meta-analysis *Eur. Respir. J.* 2011; 37: 88–99.
14. Pai M. Alternatives to the tuberculin skin test: Interferon- γ assays in the diagnosis of *Mycobacterium Tuberculosis* infection. *Indian J Med Microbiol* 2005; 23:151–158.
15. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, Obase Y et al. Usefulness of the QuantiFERON TB-2G test for the differential diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Internal Medicine* 2008; 47: 237–243.
16. Heyma B, Chinnet T, Méthodes diagnostiques de l'infection tuberculeuse en 2007. *Rev Méd Int.* 2007;28: 147–150.
17. Herrmann JL, Simonneya N, Lagrangea P. Avantages et limites des tests sanguins in vitro lymphocytes T/interféron gamma comparativement au test intradermique à la tuberculine pour le diagnostic de tuberculose. *Rev Fr Allerg Imm Clin* 2006, 46: 543–547.
18. Herrmann J-L. Quels sont les nouveaux outils diagnostiques de la tuberculose ? Quel est leur intérêt pour la prise en charge du malade et quelles sont leurs indications? *Rev Mal Respir* 2004; 21 : 3S51-3S5.
19. Pai M, Joshi R, Dogra S et al. T-cell assay conversions and reversions among household contacts of tuberculosis patients in rural India. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009;13:84–92.
20. Choi C, Shin J, Kim J et al. The effect of previous tuberculin skin test on the follow-up examination of whole-blood interferon- γ assay in the screening for latent tuberculosis infection. *Chest*, 2008; 133: 1415–1420.
21. Madhukar P, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-Cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: An Update. *Ann Intern Med.* 2008;149:177–184.
22. Nendaz M, Perrier A. Etablissement de la probabilité post-test: le théorème de Bayes *Rev Mal Resp* 2004, 21: 394–397.

23. HAS. Test de détection de la production d'interféron γ pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Juillet 2011. <http://www.has.sante.fr>.
24. National institute for health and clinical excellence. Clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control. <http://guidance.nice.org.uk/CG33>.
25. Yew WW, Leung CC. Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:541–546.
26. Zellweger JP. Latent tuberculosis: which test in which situation? *Swiss Med Wkly* 2008;138(3-4):31-37.
27. Lalvani A. Counting antigen-specific T cells: A new approach for monitoring response to tuberculosis treatment? *Clin Infect Dis* 2004;38:757-759.
28. Carrara S, et al. Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 2004;38:754–756.
29. Miyashita K, Okimoto N, Matsushima T et al. Clinical Utility of the QuantiFERON TB-2G test for elderly patients with active tuberculosis. *Chest* 2008;133: 1196-1202;
30. Altet-Gómez N, De Souza-Galvao M, Latorre I et al, Diagnosing TB infection in children: analysis of discordances using in vitro tests and the tuberculin skin test *Eur. Respir. J*, 2011; 37: 1166–1174.
31. Kobashi Y, Mouri K, Obase Y. Clinical evaluation of QuantiFERON TB-2G test for immunocompromised patients. *Eur Respir J* 2007; 30: 945–950.
32. Jiang J, Zhong S, Liang Q et al. Diagnostic value of interferon in tuberculous pleurisy. A Meta- analysis. *Chest* 2007; 131:1133–1141.
33. Yilmaz N, Zehra Aydin S, Inanc N et al. Comparison of QuantiFERON-TB Gold test and tuberculin skin test for the identification of latent Mycobacterium tuberculosis infection in lupus patients. *Lupus*, 2012; 21: 491–495.
34. Gousseff M, Lortholary O. Orientation étiologique des granulomatoses systémiques, vers une nouvelle ère: quelle place pour notre vieille IDR ? *Revue Med Int* 2008, 29:682–684.
35. Arenda S, Frankena W, Aggerbeck H et al. Double-blind randomized Phase I study comparing rESAT-6 to tuberculin as skin test reagent in the diagnosis of tuberculosis infection. *Tuberculosis* 2008; 88: 249–261.