



N°3

Novembre
2009

Agenda



Contacts

N° d'urgence
24h/24-7j/7Les centres de
référence et
de
compétence

Diagnostic

Diagnostic de la tuberculose : deux tests innovants fondés sur la détection de la sécrétion d'interféron.



L'exploration de la réponse lymphocytaire T spécifique de microorganismes pathogènes et de virus demeure une voie d'avenir et un enjeu médical majeur. L'apparition de deux tests innovants, approuvés pour le diagnostic médical, marque le début d'une aire nouvelle en biologie clinique et constitue une avancée significative contre ce vieil ennemi de l'homme qu'est la tuberculose.

[Imprimer l'article en pdf](#)

Sommaire

Abcès de cornée : le risque majeur du port de lentilles de contact

Pectus Excavatum : une solution chirurgicale mini-invasive chez l'adulte

Présentation d'un service traitant l'addictologie au CHRU

Votre question nous intéresse : l'hospitalisation à la demande d'un tiers

Chirurgie de l'obésité : un professionnel commente une recommandation HAS

Etat des lieux de la tuberculose en France en 2009.

La tuberculose est une infection chronique liée, dans la majorité des cas, à la bactérie *Mycobacterium tuberculosis*. En France, l'incidence de la tuberculose, maladie également appelée tuberculose active, est stable depuis 1997 et ce après une longue période de décroissance. On compte environ **10 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants** (1).

La contamination par inhalation entraîne une tuberculose-infection récente. L'évolution de cette primo-infection est généralement asymptomatique puisque la prolifération de *M. tuberculosis* est contrôlée dans 90 % des cas par les défenses immunitaires de l'hôte. Les bacilles peuvent cependant persister sous forme cachée dans l'organisme, entraînant une tuberculose-infection latente. Dans environ 10 % des cas, cette infection latente évoluera au cours du temps en tuberculose active. L'initiation d'un traitement immunosuppresseur en particulier avec des anti-TNF augmente significativement ce risque. La tuberculose-maladie prend le plus souvent la forme de tuberculose pulmonaire mais les formes extra-pulmonaires ne sont pas exceptionnelles puisqu'elles représentent près d'un quart des cas.

La mise en évidence de *M. tuberculosis* par **la culture est l'examen de référence pour la tuberculose active** mais cette méthode est lente (*jusqu'à 60 jours*), souvent difficile en particulier dans les formes extra-pulmonaires et **ne permet pas de diagnostiquer les formes latentes**.

Le laboratoire de Bactériologie du CHRU de Montpellier diagnostique chaque année près de 85 nouveaux cas de tuberculose active. Face aux difficultés diagnostiques posées par l'infection tuberculeuse, les tests de laboratoires, permettant de mettre en évidence la réponse de lymphocytes T dirigés contre *M. tuberculosis*, constituent une avancée diagnostique importante.

Pourquoi explorer l'immunité cellulaire pour faire le diagnostic de la tuberculose ?

L'**immunité spécifique** joue un rôle de premier plan dans les défenses contre les micro-organismes pathogènes (*virus, bactéries ou parasites*) et son exploration est un élément-clé de la démarche diagnostique en infectiologie. La mise en évidence d'**anticorps** sériques permet, par le biais d'une technique ELISA, de faire le diagnostic indirect de nombreuses infections. L'étude de l'immunité humorale est simple et permet de caractériser la réponse lymphocytaire B mais dans certaines infections comme la tuberculose, sa valeur diagnostique est insuffisante. Vis à vis de *M. tuberculosis* et comme dans la plupart des infections chroniques **c'est l'immunité cellulaire qui est la composante majeure de la réponse immunitaire spécifique.**

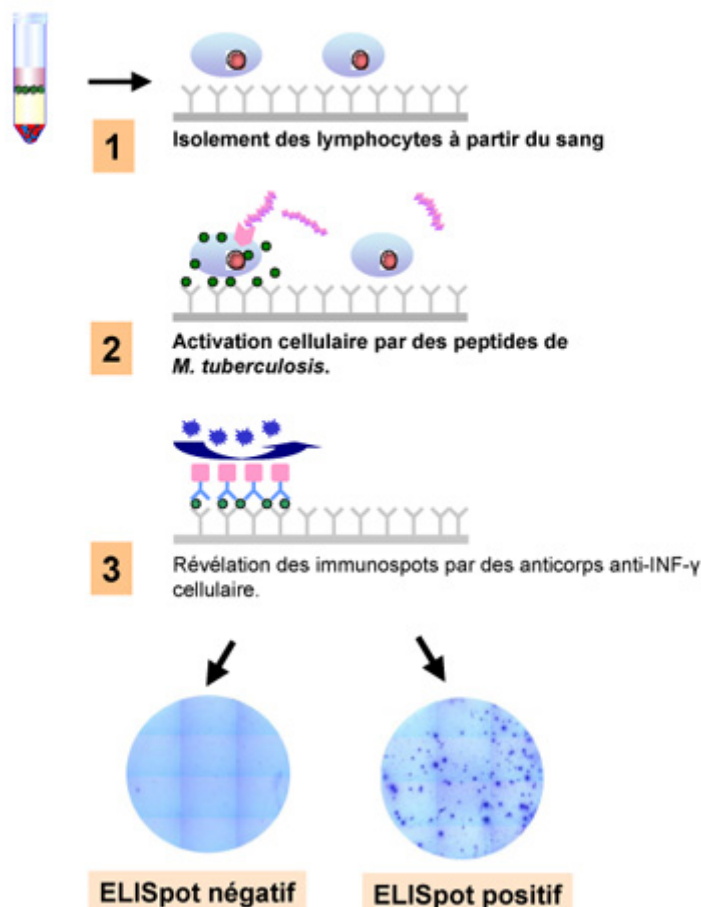
L'analyse de l'immunité cellulaire s'intéresse aux lymphocytes T cytotoxiques (CD8) ou auxiliaires (CD4) mais elle est plus complexe car elle porte toujours sur les cellules elles mêmes. Depuis de nombreuses années, l'étude des lymphocytes T est un enjeu majeur de la communauté scientifique en raison de l'importance des lymphocytes T pour les défenses contre les agents infectieux. Différentes techniques prometteuses sont utilisées en recherche pour étudier l'immunité cellulaire : initialement des tests de prolifération lymphocytaire et de cytotoxicité puis de nouvelles méthodes basées sur la production de cytokines ou le marquage lymphocytaire par des tétramères HLA. Comme pour d'autres avancées bio-technologiques, le développement de ces méthodes a suscité de grands espoirs et des déceptions face à la lenteur de mise en place des applications en pratique médicale. C'est dans ce contexte que survient la **mise sur le marché des deux premiers tests de laboratoires visant à explorer l'immunité cellulaire anti-infectieuse.**

Principe des tests.

La réponse lymphocytaire T au cours de la tuberculose est principalement une réponse TH1 avec production de cytokines telle que l'interféron gamma (INF- γ). La **mesure de la sécrétion d'INF- γ** en réponse à une brève stimulation antigénique par des peptides de mycobactériens est à la base des deux nouveaux tests récemment mis à disposition de la communauté médicale.

Le **QuantiFERON-TB®** quantifie la production cellulaire d'INF- γ dans un volume de sang. Le **T-SPOT.TB® est un test ELISpot** qui met en évidence la sécrétion d'INF- γ au niveau de chaque cellule productrice. Du fait de la configuration des tests ce sont les lymphocytes T CD8 effecteurs dirigés contre *M. tuberculosis* qui sont analysés. Autrement dit ces tests explorent principalement des cellules : 1) cytotoxiques (T CD8), 2) de faible durée de vie (*cellule effectrice*), 3) pré-activées par la présence du bacille tuberculeux dans l'organisme sous forme active ou latente, puis activées in vitro par des peptides spécifiques.

Principe de la technique ELISpot T-SPOT.TB® pour le diagnostic de la tuberculose



Performances et limites des deux tests disponibles.

Nous disposons aujourd'hui de données scientifiques et médicales relativement abondantes sur les performances des tests d'exploration de l'immunité cellulaire dans le diagnostic de la tuberculose. Un rapport de la Haute Autorité de Santé a, par ailleurs, été publié fin 2006 sur les deux tests commercialisés (2). Les tests offrent des performances jugées satisfaisantes (3) :

- Une **absence de réaction croisée avec le vaccin** utilisant le bacille de *Calmette et Guérin* ni vraisemblablement avec les antigènes tuberculoniques.
- Une **spécificité globale de 90%**.
- Une **sensibilité de 90% pour le T-SPOT.TB®**.

Le nombre d'analyses réalisées croît rapidement en France, aux Etats-Unis, en Angleterre et dans d'autres pays d'Europe, mais un certain nombre de limites et d'interrogations demeurent :

- Ces tests **ne permettent pas la distinction entre les formes actives** de tuberculose nécessitant un traitement dans tous les cas **et les formes latentes** pour lesquelles l'indication thérapeutique est discutée.
- L'évaluation médico-économique des deux tests auxquels participe notre laboratoire dans le cadre d'un projet national n'est pas terminée.
- En France, les deux tests figurent encore pour l'instant au référentiel des actes **hors nomenclature** ce qui limite leur utilisation, voir le **référentiel des actes BHN-PHN**

V2.1 sur le site du CHRU (4).

En pratique.

L'analyse de l'immunité cellulaire antituberculeuse est effectuée avec les deux techniques commercialisées au sein du Laboratoire de Bactério-Virologie de l'Hôpital Lapeyronie dans le cadre d'une **évaluation médico-économique** nationale à laquelle est associé le CHRU de Montpellier (5). La technique **T-SPOT.TB®** est également utilisée **au cas par cas en soin courant**, le plus souvent chez des patients pour lesquels le diagnostic est difficile.

L'exploration de cellules vivantes dont la demi-vie est courte entraîne des contraintes pré-analytiques. Le sang périphérique doit être prélevé sur deux tubes héparinés de 4 ml et les cellules puis mis en culture dans les 8 heures suivant le prélèvement. Les analyses requièrent deux jours de manipulations : le premier jour les lymphocytes sont isolés puis mis en culture à raison de 250000 cellules par micropuits et activées pendant 16 heures. Le deuxième jour, la sécrétion cytokinique est révélée et les immunospots qui sont l'empreinte des cellules sécrétrices d'INF- γ sont comptés grâce à un microscope inversé. Les résultats sont communiqués au prescripteur le troisième jour.

De ce fait, il est demandé au service de n'adresser les échantillons **que les lundi, mardi et mercredi** et de s'assurer que les prélèvements parviennent au laboratoire **avant 13 heures**.

Références :

1. Les cas de tuberculose maladie déclarés en France en 2006. Antoine D, Che D. Institut de Veille Sanitaire. Bulletin Epidémiologique Annuel (BEH), 2008; 10: 69-72.
2. <http://www.has-sante.fr>
3. Systematic review : T-cell-based essays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Ann Intern Med. 2008;149: 177-84.
4. **Référentiel des actes BHN-PHN V2.1**
5. Programme de Soutien aux Techniques Innovantes et Coûteuses (STIC), Direction de l'hospitalisation et de l'organisation des soins (DHOS).

Informations pratiques :

N'hésitez pas à nous contacter pour toutes autres informations complémentaires.

Laboratoire de Virologie

Hôpital Lapeyronie

191, Av du Doyen G. Giraud 34295 Montpellier

Tel: 04 67 33 83 40

e-mail : e-tuillon@chu-montpellier.fr

[Retour Accueil Newsletter](#)