

Le test Elispot dans le dépistage de la tuberculose latente

Jacques Gilquin
Service des maladies infectieuses,
Hôpital Saint-Joseph (Paris)

Cette étude menée à Dakar montre l'intérêt d'un test Elispot de production d'interféron-gamma (IFN- γ) pour le dépistage de la tuberculose latente au cours de l'infection VIH, nettement supérieur à l'intradermoréaction. Mais avec un taux de faux négatifs encore trop important.

La détection et la chimioprophylaxie de la tuberculose latente sont recommandées dans les pays ayant une forte prévalence d'infection VIH pour diminuer la morbidité et la mortalité liées à cette infection, mais le diagnostic est plus difficile du fait de l'anergie des lymphocytes T.

L'enjeu du dépistage de la tuberculose est important car le déficit immunitaire lié à l'infection VIH favorise le passage de la tuberculose latente à la tuberculose active, qui elle-même favorise la progression de l'infection VIH. Pendant longtemps, le seul test disponible a été la réaction cutanée à l'injection de tuberculine mise au point par Charles Mantoux en

1907. Les tests sanguins de production d'IFN- γ en réponse à des antigènes d'une région de différence 1 (RD1) du génome de *Mycobacterium tuberculosis* choisie pour sa spécificité d'espèce apparaissent très prometteurs, avec une très bonne spécificité > 95 % d'après une méta-analyse de 58 études publiées évaluables¹. Ce sont des tests qui détectent la libération d'IFN- γ des lymphocytes T sanguins après incubation avec un mélange de peptides synthétiques représentant des protéines de *M. tuberculosis*: ESAT-6 (early secretory antigenic target-6), CFP-10 (culture filtrate protein-10), TB7.7. Le nombre d'antigènes utilisés augmente en théorie la spécificité des tests.

Ces protéines ne sont pas présentes dans la souche vaccinale du BCG et dans la majorité des mycobactéries non tuberculeuses, à l'exception de *M. kansasii*, *M. szulgai*, et *M. marinum*.

Ils sont de ce fait beaucoup plus spécifiques que le test tuberculique chez les personnes



Sensitivity of IFN- γ release assay to detect latent tuberculosis infection is retained in HIV-infected patients but dependent on HIV/AIDS progression
Karam F., Mbow F., Fletcher H., Senghor C.S., Coulibaly K.D., LeFevre A.M., Ngom Gueye N.F., Dieye T., Sow P.S., Mboup S., Lienhardt C. PLoS ONE, 2008, 3, 1, e1441

1 - 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, 340-54

vaccinées par le BCG. Aucun test ne permet actuellement de distinguer une tuberculose active d'une infection latente.

La discordance entre le test tuberculinique et ces tests sanguins au cours des études disponibles est fréquente, en partie expliquée par la définition variable des seuils retenus de positivité.

Beaucoup reste cependant à faire pour définir les standards de référence de ces réactions. Leur performance est encore mal connue chez les enfants, les personnes âgées, les personnes immunodéprimées et notamment les personnes infectées par le VIH.

Un autre problème lié à ces tests est la proportion non négligeable de résultats indéterminés dus à l'absence de stimulation par la phytohémagglutinine (PHA), mitogène servant de témoin positif.

Les deux tests ayant une licence de commercialisation sont le QuantiFERON®-TB Gold (QFT-G, Cellestis GmbH, Europe) et le T-SPOT.TB® (Oxford Immunotec, Oxford, Royaume-Uni). Le premier utilise une méthode Elisa pour détecter sur le sang total la libération d'IFN- γ par les lymphocytes T, le second la technique de l'Elispot pour énumérer les cellules libérant l'IFN- γ parmi les cellules mononucléées isolées du sang total après stimulation par des antigènes mycobactériens (ESAT6/CFP10 [EC] dans les 2 tests et TB7.7 pour le QFT-G). Ces tests comportent un témoin négatif et un témoin positif (PHA).

Les auteurs de cette étude effectuée à Dakar ont comparé un test maison Elispot à base d'antigènes (EC) au test tuberculinique dans le dépistage de la tuberculose latente chez des adultes infectés par le VIH dans une zone d'endémie forte de tuberculose.

L'étude a inclus tous les nouveaux patients âgés de plus de 18 ans ayant un diagnostic d'infection VIH depuis moins de 3 mois. Aucun n'avait donc au moment de l'étude reçu un traitement ART.

Les critères d'inclusion visaient à éliminer tous les cas de tuberculose active :

- exclusion des patients ayant eu une tuberculose active dans les 12 derniers mois ;
- exclusion des patients ayant des signes cliniques, radiologiques ou mycobactériologiques

compatibles avec une tuberculose active ;

– indice de Karnofsky \geq 80 % ;

– radiographie pulmonaire systématique.

Les critères d'inclusion comportaient également l'absence de chimioprophylaxie de la tuberculose dans les 6 derniers mois.

285 personnes (170 femmes, 115 hommes) de 37 ans d'âge moyen (30-44) ont été incluses dans l'étude : 61 % de catégorie B de la classification des CDC ; 74,4 % de stades I et II de la classification OMS. La médiane des CD4 était basse : 179,5/mm³ (2-1153). Une cicatrice de BCG était présente dans 72,6 % des cas. 38 personnes (13,3 %) n'ayant pas de réponse à la stimulation par la PHA ont été exclues de l'analyse. Chez les 247 personnes restantes, la réponse à la PHA ne dépendait pas du nombre des CD4 ($p = 0,51$).

Les Elispot EC étaient positifs dans 50,6 % alors que seulement 21,5 % des tests tuberculiniques étaient positifs ; 34 % avaient un Elispot EC positif et un test tuberculinique négatif ; seulement 12 personnes (4,9 %) avaient un Elispot EC négatif avec un test tuberculinique positif. La concordance entre ces deux tests de dépistage a été retrouvée dans 61,1 % ($\kappa = 0,23$).

La proportion des Elispot EC positifs est supérieure à la proportion de tests tuberculiniques positifs, quelles que soient les strates de CD4 (≥ 350 , 349-200, 199-50, <50).

La proportion des Elispot EC positifs diminue avec la baisse du nombre des CD4 (p proche de 0,001), mais reste nettement supérieure à la proportion de tests tuberculiniques positifs. Le pourcentage d'Elispot EC positifs est en moyenne < 40 % en dessous de 50 CD4/ml. L'analyse multivariée montre une relation entre la positivité des tests Elispot EC et l'âge, le nombre des CD4, l'infection par le VIH-1. Il n'y a pas de corrélation en revanche avec la catégorie de la classification CDC.

L'analyse de la sensibilité diagnostique de l'Elispot EC doit tenir compte de la proportion non négligeable de patients anergiques à la PHA (13,3 %). Cette proportion semble en fait peu différente de celle observée en test de routine dans la population générale, mais elle est supérieure à ce qui est rapporté dans le dossier des tests commercialisés, ainsi que dans

10

une autre étude effectuée chez 294 personnes infectées par le VIH à San Francisco (5,1 %) ². Peu d'études sont disponibles sur la performance des tests en fonction du degré d'immunosuppression. Une étude effectuée avec le test QFT chez 590 personnes infectées par le VIH a montré une proportion plus importante de résultats indéterminés dus à la faible production d'IFN- γ en réponse à la PHA, en dessous de 100 CD4/ml et une concentration médiane d'IFN- γ moindre en cas de nombre de CD4 plus faible ³.

La technique Elispot apparaît plus adaptée que le test QFT pour diminuer la proportion de résultats indéterminés avec la diminution du nombre des CD4, car cette technique utilise le même nombre de cellules placées dans chaque puits de réaction, quel que soit le nombre total des CD4, ce qui compense la diminution de production d'IFN- γ .

En conclusion, cette étude montre une meilleure sensibilité diagnostique de ce test par rapport au test tuberculinique quels que soient les CD4, mais sa valeur est amoindrie par la proportion importante de faux négatifs à un stade évolué du déficit immunitaire. -

Jacques Gilquin

2 - Luetkemeyer AF, Charlebois ED, Flores LL et al., « Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals », *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175, 737-42

3 - Brock I, Ruhwald M, Lundgren B et al., « Latent tuberculosis in HIV positive diagnosed by the M tuberculosis specific interferon- γ test », *Respir Res*, 2006, 7, 1, 5

Le projet **TranscriptaseS** est né de la nécessité d'une approche pluridisciplinaire du VIH et des virus des hépatites enrichie par une ouverture à la problématique Nord-Sud.

C'est une équipe de chercheurs, cliniciens de ville et hospitaliers, médecins de santé publique,

économistes, documentalistes, journalistes et graphistes qui s'associent pour améliorer la diffusion de la connaissance scientifique, sur un mode transdisciplinaire et interactif.

Avec le soutien d'organismes publics ou privés, nous pouvons proposer un journal sans publici-

té à un prix inférieur à celui de la plupart des revues scientifiques, mais votre participation est **indispensable**; c'est aussi, pour nous, une évaluation de votre intérêt pour cette revue. Renvoyez **aujourd'hui** votre demande d'**abonnement**. Votre soutien est la condition de notre réussite.

JE M'ABONNE 1 an 2 ans

nom et prénom

profession

tél.

adresse

email

code postal

ville

pays

| abonnement | France, UE | autres pays |
|------------------------|--------------|---------------|
| | individuel | 38 € 60 € |
| organismes | 53 € 83 € | 68 € 106 € |
| | étudiants | 30 € 45 € |
| abonnements de soutien | 76 € | 90 € |
| | | 2 ans |

Chèques (pour la France) ou virements à l'ordre de PISTES, à retourner Tour Maine-Montparnasse, BP 54 75755 Paris Cedex 15.
identification internationale
IBAN : FR76 30003 03340 00050560873 62
adresse swift : sogefrpp