

E. MEHIRI-ZEGHAL,
L. SLIM-SAIDI

Diagnostic de la tuberculose : Place des tests moléculaires

La tuberculose, maladie antique constitue toujours au XXIème siècle un problème majeur de santé publique à travers le monde. L'OMS dans son dernier rapport déclare 8.7 millions de nouveaux cas avec 1.4 millions de décès en 2011. En Tunisie, après une nette diminution de l'incidence passant de 48,6 en 1975 à 18.9 pour 100 000 habitants en 2002, la tendance actuelle est à l'augmentation, en 2012 elle était de 30.2/100 000 habitants. L'analyse des données épidémiologiques montre par ailleurs une augmentation des formes extra-pulmonaires constituant plus de la moitié des cas en 2012 avec une localisation ganglionnaire prédominante.

Parmi les diverses raisons retardant l'éradication de ce fléau, l'absence d'un diagnostic à la fois fiable sensible et rapide a toujours été relevé.

La lutte antituberculeuse adoptée par l'OMS depuis longtemps repose sur la stratégie DOTS (Directly Observed Treatment Short Course) basée sur la détection des cas par l'examen microscopique direct des frottis de crachat et le traitement standardisé des patients à microscopie positive. Si cet examen permet à faible coût le diagnostic des formes pulmonaires contagieuses, sa sensibilité reste très faibles dans les formes extrapulmonaires, chez les enfants et chez les immunodéprimés (HIV+...). La culture sur milieu de Lowenstein Jensen, technique de référence permet de rattraper les cas à microscopie négative, de confirmer le diagnostic par l'isolement de la bactérie, son identification et la détermination de sa sensibilité aux antibiotiques. Elle nécessite cependant un personnel entraîné, la mise en place et l'entretien de mesures de sécurité et d'assurance qualité. Le délai moyen d'un diagnostic complet varie entre 6 et 8 semaines.

Le développement de nouveaux tests de diagnostic est une priorité pour atteindre les objectifs du plan global halte à la tuberculose (2006-2015) qui est de diminuer de moitié la prévalence et la mortalité de la tuberculose en 2015 comparativement aux données de 1990, et d'éradiquer la maladie d'ici 2050.

Au cours de ces dernières années, de nouveaux tests de diagnostic ont vu le jour et ont pour but de pallier au manque de sensibilité de la microscopie et à la lenteur et exigences de la culture des mycobactéries de la tuberculose.

Dans ce contexte, des méthodes de biologie moléculaire se sont développées et sont devenues de plus en plus sensibles et rapides. Elles permettent la mise en évidence directe des Mycobactéries dans les prélèvements respiratoires qu'ils soient négatifs ou positifs à l'examen microscopique.

L'amplification génique permet également l'identification des mycobactéries du complexe tuberculosis les différenciant ainsi des mycobactéries atypiques et la détection rapide des souches multi-résistantes (résistantes aux deux antituberculeux majeurs: isoniazide et rifampicine) voire ultra-résistantes (Multirésistantes et résistantes en plus aux fluoroquinolones et à au moins un antibiotique injectable de 2ème ligne) permettant ainsi une prise en charge adéquate des patients et

évitant la diffusion de ces souches par des mesures préventives adéquates.

Actuellement, de nombreux tests sont commercialisés et assurent une meilleure reproductibilité des analyses comparée aux tests « maison ». Les techniques d'amplification les plus courantes sont la Polymérase Chain Reaction (PCR) ou l'amplification isotherme (TMA). L'automatisation de ces techniques et la PCR en temps réel ont permis de simplifier encore plus les techniques de révélation et de diminuer les temps d'amplification.

La dernière méthode avalisée par l'OMS est une technique de PCR en temps réel permettant le diagnostic de la tuberculose et la détection simultanée de la résistance à la rifampicine en 2 heures. Toutes les étapes de lyse, extraction et amplification sont réalisées automatiquement rendant ainsi le test à la portée même des laboratoires les moins équipés.

La sensibilité de ces tests d'amplification génique (TAG) est supérieure à 95% pour les prélèvements à microscopie positive mais varie entre 50 et 70% pour les échantillons paucibacillaires à microscopie négative. Leur spécificité dépasse 97%, leur valeur prédictive positive reste fonction de la prévalence de la tuberculose et ne dépasse pas 40% quand la microscopie est négative ou quand il s'agit de tuberculoses extra-pulmonaires. Aussi un test négatif n'exclut en rien une tuberculose et un test positif quand la microscopie est négative doit être interprété avec prudence.

Au total, ces TAG sont actuellement recommandés pour différencier une mycobactérie du complexe tuberculosis des mycobactéries atypiques, chez les patients immunodéprimés (Sida...) ou souffrant d'infections respiratoires chroniques où la probabilité de faire une mycobactériose reste élevée. Ils sont fortement indiqués dans la détection rapide des résistances aux antituberculeux (mutation des gènes *rpoB* pour la rifampicine, *inhA* et *katG* pour l'isoniazide...) et cela directement sur les prélèvements sans attendre les cultures. Pour le diagnostic des tuberculoses à microscopie négative, leur utilisation doit être limitée aux prélèvements de patients fortement suspects de tuberculose.

En dehors de la biologie moléculaire d'autres voies d'investigation commencent à apparaître : l'antigène MTP-64 pour l'identification rapide du complexe tuberculosis, le dosage du Lipoarabinomannane urinaire (LAM), la détection de fragments d'ADN urinaire, la recherche de nouveaux antigènes ou cytokines spécifiques ; tous ces tests semblent prometteurs mais devraient en plus de leur performances diagnostiques permettre de distinguer entre une tuberculose active et une infection tuberculeuse latente.

Malgré des avancées indéniables et des améliorations tangibles, des développements futurs restent encore à accomplir afin de rendre ces tests accessibles aux plus démunis et à les introduire de façon réfléchies et réalistes dans les programmes de santé pour faire aboutir cette lutte contre la tuberculose. En attendant l'examen microscopique et la culture restent les méthodes de référence incontournables.