Le bon usage des épreuves sérologiques

par Christiane Claessens

IgG, IgM, RIPA, RIA, recherche d'antigènes, test de dépistage, test de confirmation : comment s'y retrouver dans ce tourbillon de lettres et de concepts ?

La grossesse de Virginie

Virginie, enseignante à la maternelle, consulte le Dr Cygogne pour son premier contrôle de grossesse (sept semaines). Elle l'informe qu'elle se considère en très bonne santé. À l'examen de son dossier, il constate qu'il s'agit de sa deuxième grossesse. Il lui prescrit les analyses hématologiques et biochimiques habituelles, ainsi que les analyses sérologiques suivantes : VDRL, HBsAg, VIH, parvovirus B 19 IgG.

Pourquoi, à votre avis, le Dr Cygogne n'a-t-il pas prescrit une épreuve de dépistage de la rubéole ?

☐ L'analyse est inutile, car la rubéole est une maladie tellement rare qu'il n'est plus indiqué de vérifier l'immunité des femmes enceintes.

☐ L'analyse est inutile, car même si Virginie n'était pas immunisée, la vaccination n'est pas recommandée pendant la grossesse.

☐ L'analyse est inutile, car Virginie lui a dit avoir déjà été vaccinée.

☐ L'analyse est inutile, car il a vu en vérifiant dans son dossier médical que Virginie était déjà immunisée à sa première grossesse.

Que pensez-vous de la prescription d'une épreuve de détection des IgG du parvovirus B 19 ?

☐ La prescription devrait également inclure une analyse de détection des IgM.

☐ Peu importe la demande, le laboratoire fait toujours simultanément la recherche des IgM et des IgG.

☐ L'analyse est inutile, puisque Virginie n'a aucun symptôme et n'a pas été en contact avec des personnes atteintes d'érythème infectieux (ou cinquième maladie).

☐ L'analyse vise à établir le statut immunologique de Virginie afin de déterminer si elle devra se prévaloir d'un retrait préventif au travail.

Mme Christiane Claessens, M.Sc. virologie et immunologie, travaille au secteur Sérodiagnostic et virologie du Laboratoire de santé publique du Québec.

Les marqueurs de l'infection

L'un des principaux mécanismes de défense contre une infection par un micro-organisme est la réponse humorale, pendant laquelle sont synthétisés les anticorps. Cette réponse est donc un marqueur clair de l'infection. Cependant, il y a une phase plus ou moins courte de l'infection pendant laquelle le seul indice d'infection est la présence du micro-organisme. Les anticorps sont des immunoglobulines de nature glycoprotéique, synthétisés par les lymphocytes matures que l'on retrouve dans l'ensemble des liquides biologiques. Les anticorps sont classés selon leur structure et leur fonction. Les deux principales classes d'immunoglobulines sont le type G (IgG) et le type M (IgM).

En règle générale, les IgM apparaissent avant les IgG au cours de la réponse primaire à l'infection[1]. Il peut y avoir une phase de la réponse humorale pendant laquelle seule la présence des IgM peut être détectée. La présence d'IgM spécifiques est en général considérée comme l'indice d'une infection primaire ou récente. Cependant, des anticorps de classe IgM peuvent être détectés lors de la réactivation d'une infection latente, lors d'une réinfection et, quelquefois, pour de longues périodes après l'infection.

Les IgG sont principalement produits pendant la réponse immunitaire secondaire. Leur taux augmente dans le temps avant d'atteindre la réponse maximale. L'augmentation des taux d'anticorps peut parfois être difficile à mettre en évidence. En effet, lors d'une infection, la période d'incubation peut être suffisamment longue pour que l'augmentation du taux d'anticorps ait eu lieu avant même l'apparition des signes cliniques.

Les IgG constituent la classe d'immunoglobulines prépondérante de la réponse humorale et persistent pendant plusieurs années, voire pour le restant de la vie. Cependant, cette persistance, de même que la présence des anticorps peuvent différer selon la nature et les caractéristiques de l'agent infectieux. L'immunité prolongée que confèrent certaines infections permet à l'hôte de résister à une seconde attaque du même micro-organisme. C'est le cas de l'érythème infectieux (ou cinquième maladie), causé par le parvovirus B 19, et de la rubéole (dans notre exemple). Par ailleurs,

dans certaines infections, comme celle causée par le virus Epstein-Barr, les particularités des anticorps produits diffèrent selon les phases de l'infection.

Dans certains cas, les marqueurs de l'infection ne sont ni les antigènes du micro-organisme ni les anticorps spécifiques. Les anticorps hétérophiles, par exemple, ne sont pas spécifiques de l'infection au virus Epstein-Barr, mais sont souvent utilisés comme marqueurs indirects de l'infection.

Les types d'essais immunologiques

Il existe deux grands types d'épreuves sérologiques. Les épreuves capables de détecter des antigènes spécifiques du micro-organisme (HBsAg, antigène p24 du VIH, par exemple) et celles capables de détecter des anticorps. Les épreuves pour la détection des anticorps peuvent être conçues pour une classe particulière d'immunoglobulines (IgG ou IgM), ou pour les anticorps totaux. Elles peuvent être qualitatives – indiquant la présence ou l'absence des anticorps – ou quantitatives. Certaines épreuves font appel à la fonction des immunoglobulines (comme les épreuves de neutralisation ou de fixation du complément), à leur caractéristique biologique (agglutination, par exemple), ou à leur capacité de fixation (RIA, EIA, IFA). Il y a des normes internationales relatives à certains types d'anticorps : elles permettent de comparer des taux d'anticorps quelle que soit la sensibilité de la technique utilisée.

Le contexte clinique

Comme tous les autres tests de laboratoire, les analyses sérologiques peuvent servir au **dépistage**, au **diagnostic** ou au **suivi**. Les analyses de dépistage sont faites pour déterminer si une personne a des marqueurs d'une infection antérieure à un micro-organisme particulier. Les analyses diagnostiques sont prescrites afin d'établir la cause des symptômes ou des anomalies biologiques décelées chez un patient. Les analyses de suivi permettent de suivre l'évolution de l'état du patient.

Le dépistage

La détection du marqueur d'une infection antérieure peut être utile pour déterminer l'immunité d'une personne à un agent pathogène donné et décider si la vaccination est indiquée. On peut aussi utiliser des tests de dépistage pour exclure la possibilité d'une maladie dans le cadre d'une investigation clinique. On a souvent recours à des épreuves qualitatives pour la détection d'un marqueur d'une infection antérieure ; le plus souvent, ces épreuves détectent les anticorps totaux ou des IgG. Dans les cas de maladies conférant une immunité naturelle, la présence de marqueurs d'une infection ancienne permet généralement de conclure à un très faible risque de réinfection[2]. Dans certains cas, une épreuve quantitative permet de déterminer si le taux d'anticorps mesuré est suffisant pour offrir une protection contre la réinfection. En ce qui a trait à la toxoplasmose et à la rubéole, par exemple, on a pu établir qu'une certaine concentration en IgG est nécessaire pour assurer la protection. On parle alors de seuil de positivité. En deçà de ce seuil, on considère que le patient est réceptif à l'infection. Dans ces circonstances, la vaccination peut être suggérée si elle est disponible (vaccin antirubéoleux, par exemple). Sinon (dans le cas du parvovirus B 19, par exemple), des mesures préventives peuvent être appliquées, en particulier pour la femme enceinte exerçant une profession où le risque d'exposition est élevé.

Le diagnostic

Pour diagnostiquer la maladie, le clinicien doit utiliser l'ensemble des informations à sa disposition : les analyses de laboratoire, bien sûr, mais aussi les signes cliniques, les données épidémiologiques et les facteurs de risque. Les analyses sérologiques sont souvent utiles pour préciser l'agent étiologique d'une infection, en particulier si les symptômes de cette infection peuvent être causés par plusieurs micro-organismes.

La détection de la primo-infection se révèle importante dans certains cas, en particulier chez la femme enceinte. Les risques pour le fœtus peuvent être élevés, en particulier s'il s'agit d'infections dues à la rubéole, au parvovirus B 19, au cytomégalovirus (CMV) ou à *Toxoplasma gondii*[3]. Il peut aussi être important de découvrir l'agent étiologique, que ce soit pour appliquer le traitement adéquat ou pour permettre l'application de mesures préventives telles que le retrait préventif du travail ou la vaccination.

Comme tous les autres tests de laboratoire, les analyses sérologiques peuvent servir au dépistage, au diagnostic ou au suivi.

Repère

Le diagnostic de l'infection peut se faire sur un seul prélèvement sérique en déterminant la présence d'IgM spécifiques à un micro-organisme particulier. Parce que la détection de la réponse en IgM est éphémère, la présence de cette classe d'anticorps indique habituellement une infection récente. Il y a cependant des exceptions à cette règle. En effet, dans certaines infections, la réponse en IgM est si courte et si faible qu'elle ne peut vraiment servir d'indice d'une infection récente.

La détection des anticorps dépend aussi de la sensibilité des épreuves sérologiques utilisées. Pour plusieurs infections, avec les techniques actuellement disponibles, la détection des IgM se trouve limitée à moins de six mois, le plus souvent à quelques semaines. Dans d'autres cas, la réponse en IgM ne se produit pas seulement à la primo-infection, mais aussi lorsqu'il y a récidive ou réinfection. Les IgM peuvent aussi perdurer pendant de longues périodes dans certaines infections (*Toxoplasma*, par exemple) ou chez certaines personnes. La pertinence de la détection des IgM comme indicateur d'infection récente doit donc être évaluée pour chaque agent infectieux.

Dans le cas de certaines maladies, des analyses sérologiques détectant des antigènes permettent de diagnostiquer l'infection. Là encore, la persistance des antigènes varie selon le micro-organisme et la sensibilité des techniques utilisées. Parfois, comme dans l'infection au CMV, le profil de réaction à plusieurs marqueurs permettra de déterminer le stade de l'infection.

Lorsqu'il est impossible de poser le diagnostic par la détection des IgM ou des antigènes, on peut le faire par l'analyse simultanée de deux prélèvements sérologiques en mesurant les anticorps totaux ou les IgG. Le diagnostic se fonde sur la comparaison entre les taux d'anticorps spécifiques au début de la maladie, en général dans les sept premiers jours, et en phase de convalescence, de deux à quatre semaines plus tard. Dans certaines maladies à évolution lente ou à infection chronique, la seule détection d'anticorps spécifiques suffit pour confirmer l'infection. L'infection au VIH en est un exemple.

Le suivi sérologique

Certaines analyses sérologiques peuvent servir au suivi du patient et à l'évaluation de l'efficacité du traitement. La fluctuation de la réponse dans le temps permettra au médecin de suivre l'évolution de la maladie. C'est le cas du VDRL, dont le titre est en relation directe avec le degré d'activité de la syphilis.

Les algorithmes d'analyse

Il est essentiel de préciser sur le formulaire si l'analyse sérologique est demandée dans un but de dépistage ou de diagnostic. Cette information permet souvent au laboratoire de décider quelles analyses devront être effectuées. En effet, la détermination de l'immunité d'une personne en bonne santé qui n'a pas été exposée récemment à un agent infectieux est habituellement faite par la détection des IgG seulement. Si, dans un tel contexte, on utilise une épreuve conçue pour le diagnostic, comme la détection des IgM, la valeur prédictive de l'épreuve diminue, avec pour conséquence une augmentation du risque de résultat faussement positif (voir l'article intitulé : « L'interprétation du résultat de laboratoire : de la théorie à la pratique », de M^{me} Micheline Fauvel, dans ce numéro).

Il peut être difficile pour le clinicien de connaître tous les algorithmes utilisés pour le dépistage et le sérodiagnostic des maladies infectieuses, car la gamme des tests disponibles s'élargit sans cesse. Les algorithmes sont élaborés en fonction des tests utilisés dans un laboratoire donné eu égard aux avantages et aux limites de chacune des épreuves. Des analyses supplémentaires peuvent être prévues selon les résultats des analyses demandées par le médecin. Le laboratoire pourra déterminer, grâce aux informations cliniques fournies, les analyses requises pour appuyer la démarche du médecin. Cependant, en l'absence d'informations précises sur le contexte dans lequel l'analyse a été prescrite, des tests pourraient être faits inutilement.

L'interprétation des résultats

Les tests sérologiques, en particulier s'ils servent à diagnostiquer une infection dans une population où la

La pertinence de la détection des IgM comme indicateur d'infection récente doit être évaluée pour chaque agent infectieux.

Il est essentiel de préciser sur le formulaire si l'analyse sérologique est demandée dans un but de dépistage ou de diagnostic.

Repères

Tableau I

Diagnostic de l'infection à parvovirus B 19

Épreuves effectuées : EIA IgM et EIA IgG

Résultats IgM	Résultats IgG	Interprétation
Négatif	Positif	Absence d'infection aiguë Envisager une autre cause.
Positif	Positif	Infection aiguë
Positif	Négatif	Infection aiguë probable ■ Refaire les analyses sur un échantillon ultérieur.
Négatif	Négatif	Si le prélèvement a été fait moins de 3 jours après l'éruption ou moins de 15 jours après une exposition à un cas de cinquième maladie : ■ Refaire les analyses sur un échantillon ultérieur. Si le prélèvement a été fait plus de 3 jours après l'éruption ou plus de 15 jours après l'exposition : ■ Absence d'infection aiguë ■ Envisager une autre cause.

Détermination du statut immunitaire

Épreuve effectuée : EIA IgG

Résultat IgG	Interprétation
Négatif	Réceptivité à l'infection
Positif	Infection antérieure Risque faible d'infection

prévalence de l'infection est faible, ont une valeur prédictive positive faible. C'est le cas, par exemple, des analyses de dépistage des anticorps de l'hépatite C chez les donneurs de sang. Ces analyses sérologiques seront plus utiles si on les fait suivre d'une autre analyse, qui viendra préciser la spécificité de la réaction observée dans la première épreuve. Ainsi, le dépistage de la syphilis se fait à l'aide d'un test non tréponémique (VDRL ou RPR). Comme il s'agit de tests sensibles mais susceptibles de réactions faussement positives, il est important de confirmer la spécificité de la réaction par un test tréponémique. Si le test non tréponémique est réactif, le laboratoire procède à des analyses supplémentaires. Si les résultats des tests TRUST et TP-PA sont tous les deux positifs, on conclut à une infection syphilitique dont il faudra déterminer le stade. Cependant, s'il y a discordance dans les résultats des tests TRUST et TP-PA, on procédera à l'analyse FTA-ABS-DS, qui permettra de clarifier le résultat[4].

Lorsqu'il reçoit les résultats du laboratoire, il est essentiel que le clinicien s'interroge sur la valeur de ces résultats en fonction de la valeur prédictive positive ou négative du test. Quand la probabilité d'infection est élevée, un résultat positif tend à confirmer l'infection. Cependant, si le résultat est négatif, on ne peut pas toujours exclure la maladie. Si le résultat du test de détection des IgM est positif, le laboratoire confirme l'infection chez un patient présentant des symptômes évoquant une infection à parvovirus B 19. Cependant, si un résultat négatif avait été obtenu, il aurait fallu se demander si le prélèvement avait été fait au moment opportun. Les symptômes de la cinquième maladie peuvent se déclarer avant que le niveau d'anticorps sérique atteigne le seuil de détection des analyses disponibles.

Quand la possibilité d'infection est faible, un résultat négatif tend à exclure l'infection. Même si le laboratoire peut fournir des résultats sérologiques de grande qualité, il faut insister sur la nécessité d'interpréter tout résultat de laboratoire en considérant l'ensemble des informations cliniques disponibles.

Revoyons maintenant le cas de Virginie

Grâce à l'immunisation, la rubéole est une maladie relativement rare au Québec. Cependant, les conséquences pour le fœtus d'une rubéole acquise pendant la grossesse peuvent être tellement graves qu'il est recommandé de vérifier la présence des IgG antirubéoleux au début de la grossesse lorsque l'on ignore le statut immunologique de la mère par rapport à cette maladie ou qu'il n'y a pas de preuve écrite d'immunisation. En l'absence d'anticorps anti-rubéoleux, on s'empressera de vacciner la patiente le plus rapidement possible après l'accou-

chement. Dans le cas de Virginie, le D[r] Cygogne avait noté un résultat de sérologie de la rubéole IgG de 25 UI (seuil de positivité à 10 UI) en 1996. Il n'était donc pas indiqué de refaire cette analyse.

Les laboratoires ne disposent que depuis quelques années seulement de trousses de sérodiagnostic du parvovirus B 19 (*tableau I*). Quoique la détermination du statut immunitaire ne soit pas recommandée dans le bilan prénatal de toutes les femmes, il peut être pertinent de vérifier la réceptivité à l'infection des travailleuses qui sont en contact étroit et régulier avec des enfants. En effet, dans le cas du parvovirus B 19, la période de contagiosité précède l'éruption. Des mesures préventives peuvent être appliquées pour la femme enceinte dont l'absence d'anticorps révèle la réceptivité à l'infection. Il est possible que des patients atteints de la cinquième maladie ne présentent pas de symptômes. Mais, dans le cas de Virginie, la prescription d'un test IgM aurait peu d'utilité. En effet, comme elle ne présente pas de symptômes de la cinquième maladie et qu'il n'y a pas de cas dans son entourage, l'épreuve IgM serait un outil diagnostique peu fiable à cause de sa faible valeur prédictive positive.

Par ailleurs, si Virginie avait présenté des symptômes ou si elle avait été exposée à des personnes infectées, on aurait cherché à confirmer (ou à exclure) l'infection. Le D[r] Cygogne aurait alors prescrit un test de détection des IgM. □

Date de réception : 13 octobre 1999.
Date d'acceptation : 6 novembre 1999.

Mots clés : dépistage, essai immunologique, diagnostic, maladies infectieuses.

Bibliographie

1. Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections.* 7[e] éd. Washington : American Public Health Association, 1995 : 120-38.
2. Direction générale de la protection de la santé. Laboratoire de lutte contre la maladie. *Guide canadien d'immunisation.* 5[e] éd. Ottawa : Association médicale canadienne, 1998 : 175-98, 206-10.
3. Benenson AB. *Control of Communicable Diseases in Man.* 16[e] éd. Washington : American Public Health Association, 1995 : 124-7, 172-4, 405-10, 468-71.
4. Régie régionale de la santé et des services sociaux de Montréal-Centre. La syphilis : une MTS « oubliée » mais pas disparue. *Bulletin de l'unité Maladies infectieuses* novembre 1996 ; 1 (5).
5. Ford-Jones EL, Kelly EN, Kellener JD, Silver MM, Pastuszak A, et al. Human parvovirus B 19 infection-implication for pediatric practice. *The Canadian Journal of Paediatrics* 1995 ; (3) 2 : 306-16.

Summary

How to use serological tests. The most pre-eminent classes of immunoglobulins are IgM and IgG. IgM are usually detected early during the course of infection but for a short time, while IgG levels increase in time up to a maximum level and persist usually for life. Immunoassays could be designed to detect specific antigens or specific antibodies.

As other laboratory tests, serological tests for infectious diseases could be used for screening, diagnosis or monitoring. Screening tests are useful to establish the immune status of an individual against a particular microorganism, and they usually detect total antibodies or IgG class antibodies (eg. Rubeola). Diagnostic tests could be designed to detect a specific antigen (HBsAg) or a specific IgM (parvovirus B19) in a single sample. In some instances, diagnosis could be established by the detection of IgG in a single sample (HIV) or by an increase in the IgG levels in two samples collected 2 to 4 weeks apart. Monitoring tests (VDRC) allow an adequate follow-up for the patient.

Laboratories use various algorithms in order to achieve the highest quality of results. Using the clinical context and information given by the clinician, the laboratory will select the most appropriate algorithm. It is of utmost importance for the clinician to interpret the results in the light of other information (clinical, epidemiological). The predictive serological value of a test should always be considered.

When the probability of an infection is high, the positive result obtained by a serological test will support the diagnosis. A negative result in that context will not necessarily rule out the infection.

Key words: screening, immunoassay, diagnosis, infectious diseases.

