

Apport d'un nouveau test Interféron Gamma

Dr D. Bonnet
Service de maladies infectieuses
Bichat – Claude bernard



Tuberculose

- 1/3 population mondiale infectée par BK
- Primo infection asymptomatique 90% des cas
- TB Infection latente \Rightarrow TB maladie \approx 10%/ind/ vie

Tuberculose

- Répartition géographique TB infection latente = TB maladie
- TB maladie:
 - Asie du Sud-Est 190/ 10⁵ ind/an
 - Afrique sub saharienne 345/ 10⁵ ind/an
 - Afrique: 30-60% pts TB maladie séro VIH ⊕
 - France
 - population générale 10/ 10⁵ ind/an
 - pop origine France 5.4/ 10⁵ ind/an
 - pop migrante 72/ 10⁵ ind

Pourquoi un nouveau test pour diagnostiquer la tuberculose latente ?

Malgré l'importance du diagnostic de tuberculose latente
Dans le contrôle de la maladie

- Pas de Gold Standard
- Tests tuberculiniques imparfaits

Inconvénients du test tuberculinique

- Nécessite du personnel entraîné
- Lecture à 48H- 72H, >30% des patients ne reviennent pas *Chaisson et al 1996, Serwint et al 1997, Malotte et al 1999, Tanke et al 1994*
- Interprétation subjective *Huebner et al 1993, Lalvani et al 2001, Delgado et al 2002*

Inconvénients du test tuberculinique

- Manque de reproductibilité *Kendig et al 1998*
- Faux positifs du BCG
- Faux positifs des NTM
- Tuberculine variable dans sa réactivité suivant le fabricant et le lot *Villarino et al 2000, Chaparas et al 1985*

Inconvénients du test tuberculinique

- La Répétition des TST « Booste » la réponse, en particulier si BCG +
- Manque de sensibilité dans la tuberculose maladie 20 à 40 % TST – *Pathan et al 2000, Fietta et al 1985, ATS/CDC Diagnostic guidelines*
- Anergie tuberculinique chez le patient infecté par le VIH

Mesure de la sécrétion in vitro de l'IFN- γ

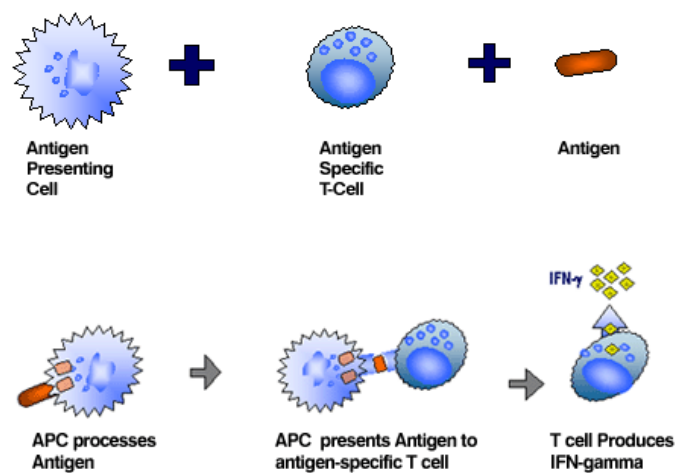
Diagnostic moderne de la tuberculose ?

- Techniques avec lymphocytes purifiés
 - PBMC culture
 - Flow cytometry
 - Elispot
- Sang total
 - Quanti-FERON
 - Diluted whole blood

Pourquoi l'IFN- γ ?

- IFN- γ \equiv Immunité Cellulaire
- Spécifique d'un antigène
- Secréte, mesurable et stable
- Absent en temps normal dans le flux sanguin
- Importance de l'IFN- γ dans la TB infection

Rappel réponse immunitaire cellulaire



Source : Cellestis

Quel antigène ?

- deux antigènes encodés par une région préservée de *M. tuberculosis-complex* : *early secretory antigenic target 6* (ESAT-6) et *culture filtrate protein 10* (CFP-10) Andersen P *et al* Lancet 2000;356(9235):1099-104
 - *M. tuberculosis*
 - *M. bovis*
 - *M. africanum*
 - *M. microti*
 - *M. canetti*

Quels avantages pour ces antigènes ?

- Absent du BCG
- Absent de la plupart des Mycobactéries non tuberculeuses sauf :
 - *M. kansasii*
 - *M. szulgai*
 - *M. marinum*
- Induisent une réponse IFN- γ
- Identifiés par l'immunologie et la génomique

Species specificity of ESAT-6 and CFP-10

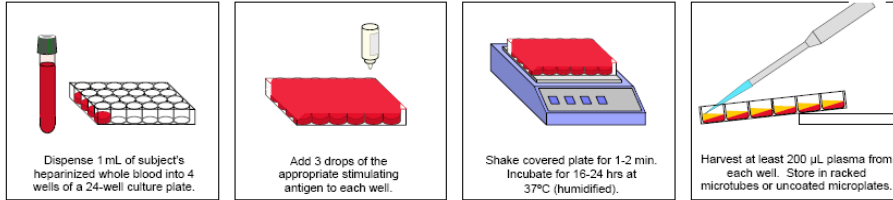
Tuberculosis complex	Antigens		Environmental strains	Antigens	
	ESAT	CFP		ESAT	CFP
<i>M tuberculosis</i>	+	+	<i>M abcessus</i>	-	-
<i>M africanum</i>	+	+	<i>M avium</i>	-	-
<i>M bovis</i>	+	+	<i>M branderi</i>	-	-
BCG substrain			<i>M celatum</i>	-	-
gothenburg	-	-	<i>M chelonae</i>	-	-
moreau	-	-	<i>M fortuitum</i>	-	-
tice	-	-	<i>M gordonii</i>	-	-
tokyo	-	-	<i>M intracellulare</i>	-	-
danish	-	-	<i>M kansasii</i>	+	+
glaxo	-	-	<i>M malmoense</i>	-	-
montreal	-	-	<i>M marinum</i>	+	+
pasteur	-	-	<i>M oenavense</i>	-	-
			<i>M scrofulaceum</i>	-	-
			<i>M smegmatis</i>	-	-
			<i>M szulgai</i>	+	+
			<i>M terrae</i>	-	-
			<i>M vaccae</i>	-	-
			<i>M xenopi</i>	-	-

Exemple de Test : QuantiFERON TB Gold

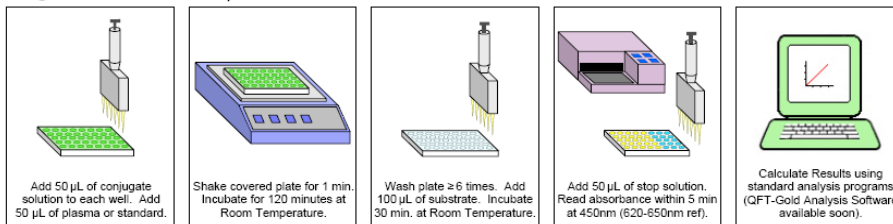
- Test indirect
- Sang total héparinisé
- Stimulation par ESAT-6 et CFP-10
- Incubation de 12 H
- Résultat qualitatif : pos / neg / nd
- Diagnostic de tuberculose infection latente et/ou de tuberculose maladie
- Approuvé par la FDA et le CDC

Technique

Stage One – Blood Stimulation and Harvesting



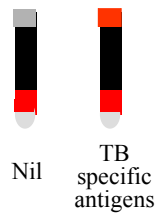
Stage Two – Human IFN- γ ELISA



Source : Cellestis

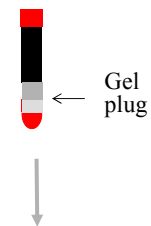
QuantiFERON-TB Gold test

1. Collect blood directly into 2 X 1mL heparin tubes



2. Mix and incubate for 16-24 hours

3. Harvest plasma OR Centrifuge and ship



5. Computer determines test result using QuantiFERON Gold software

4. Test for IFN- γ by ELISA
Easily automated, directly from tubes

Source : Cellestis

Validation du test

Comment valider un test quand il n'y a pas de « Gold Standard » ?

- Au mieux de façon prospective
- Corréler le résultat du test à la survenue de la maladie
- Pour le TST :
 - 82 269 patients TST + suivis pendant 20 ans
 - 1400 cas de tuberculose
 - Comstock GW, et al. *Am J Epidemiol* 1974;99(2):131-8.
- Difficilement réalisable.

Validation du test

Comment valider un test quand il n'y a pas de « Gold Standard » ?

- Sensibilité estimée chez des patients avec une tuberculose maladie non traitée
- Culture de *M. tuberculosis* comme « Gold Standard »
- Spécificité estimée chez des sujets à faibles risques vacciné ou non par le BCG

Validation du test

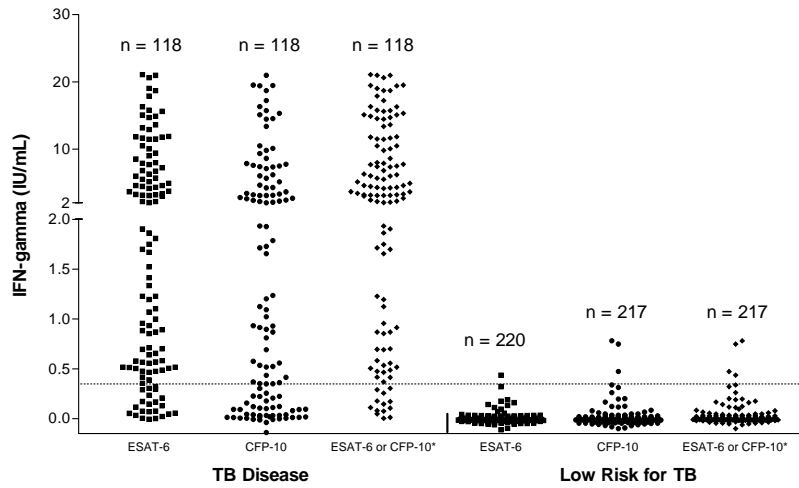
- Littérature montre une réponse IFN- γ supérieure dans LTBI que dans la TB active
 - Immunité cellulaire souvent diminuée dans la tuberculose maladie
- Proposition :
 - La sensibilité pour la LTBI est au moins aussi bonne que celle déterminée pour la tuberculose maladie
- **Sensibilité (TB active)**
 - Patients *non traités* N=118,
 - 4 Hôpitaux, age moyen = 54.3 yrs

Etude japonaise sur la spécificité et la sensibilité

- **Spécificité**
 - Patients sans ATCD, Vaccinés par le BCG, N=220,
 - 4 écoles d'infirmières
 - Pas de facteur de risque identifié d'exposition pour la tuberculose

Mori *et al* Specific Detection of Tuberculosis Infection with an Interferon-gamma Based Assay Using New Antigens Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2004

Responses to ESAT-6 and CFP-10



Mori *et al* Specific Detection of Tuberculosis Infection with an Interferon-gamma Based Assay Using New Antigens Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2004

Quanti FERON-TB Gold versus IDR

	QFT-Gold	Mantoux
Sensitivity	89.0% (105/118 +ve)	65.7% (50/76 +ve @ 5 mm)
Specificity	98.2% (213/217 -ve)	35.4% (73/113 +ve @ 10 mm)

Mori *et al* Specific Detection of Tuberculosis Infection with an Interferon-gamma Based Assay Using New Antigens Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2004

Exemple

Harada *et al Infect Control Hosp Epidemiol* 2006

QuantiFERON TB Gold VS IDR

Pour le screening de la LTBI chez des personnels soignants (PS)

Hôpital de Tokyo 370 lits

510 PS

95 % vacciné par le BCG

332 PS QTB



33 positifs
9,9 % prévalence LTBI



Corrélation avec age
ou travail en contact avec des patients TB+

304 PS IDR



283 positifs > 10 mm
93,1%



Pas de corrélation

Apport du nouveau test

- Intérêt dans le screening de population à risque : Cas contact, personnel de santé
 - Limite les faux positifs (BCG, NTM...)
 - 1 seule visite, 1 seul test (CDC)
 - Pas d' « effet boost »
 - Minimise les Pb d'interprétation

Mais

- Pas de données
 - chez les patients immunodéprimés
 - chez les patients déjà traités
 - Patients < 17 ans
 - Femmes enceintes

La fin de l'IDR ?

- Probablement NON
- Toujours utile
 - Pays en voie de développement
 - Pays de forte endémie / non vaccinés
 - Lien démontré entre TST + et développement d'une tuberculose active
- Rapport coût/efficacité ...à suivre