

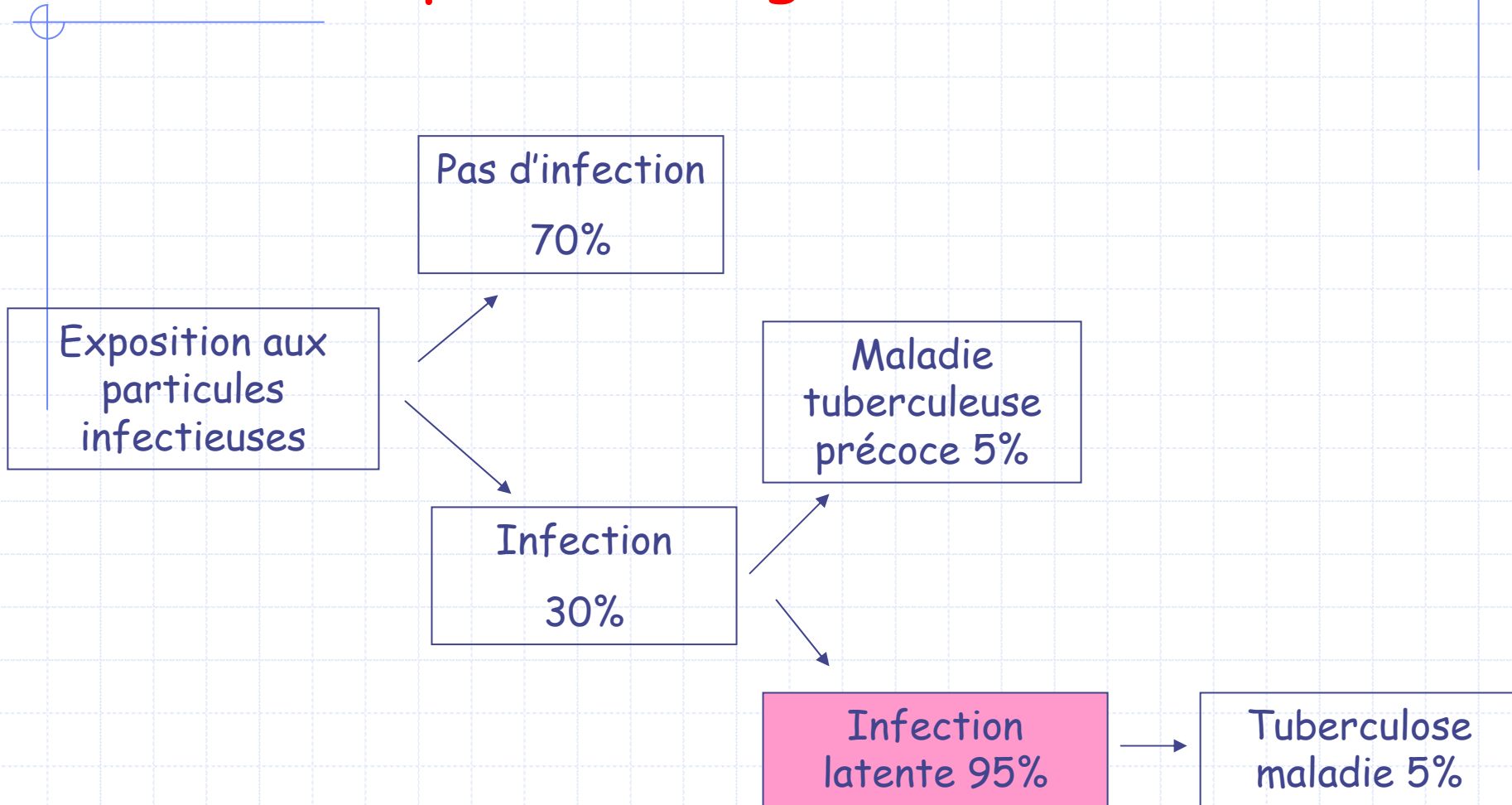
# Intérêt du dosage de l'INF $\gamma$ dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente

Marion GRARE

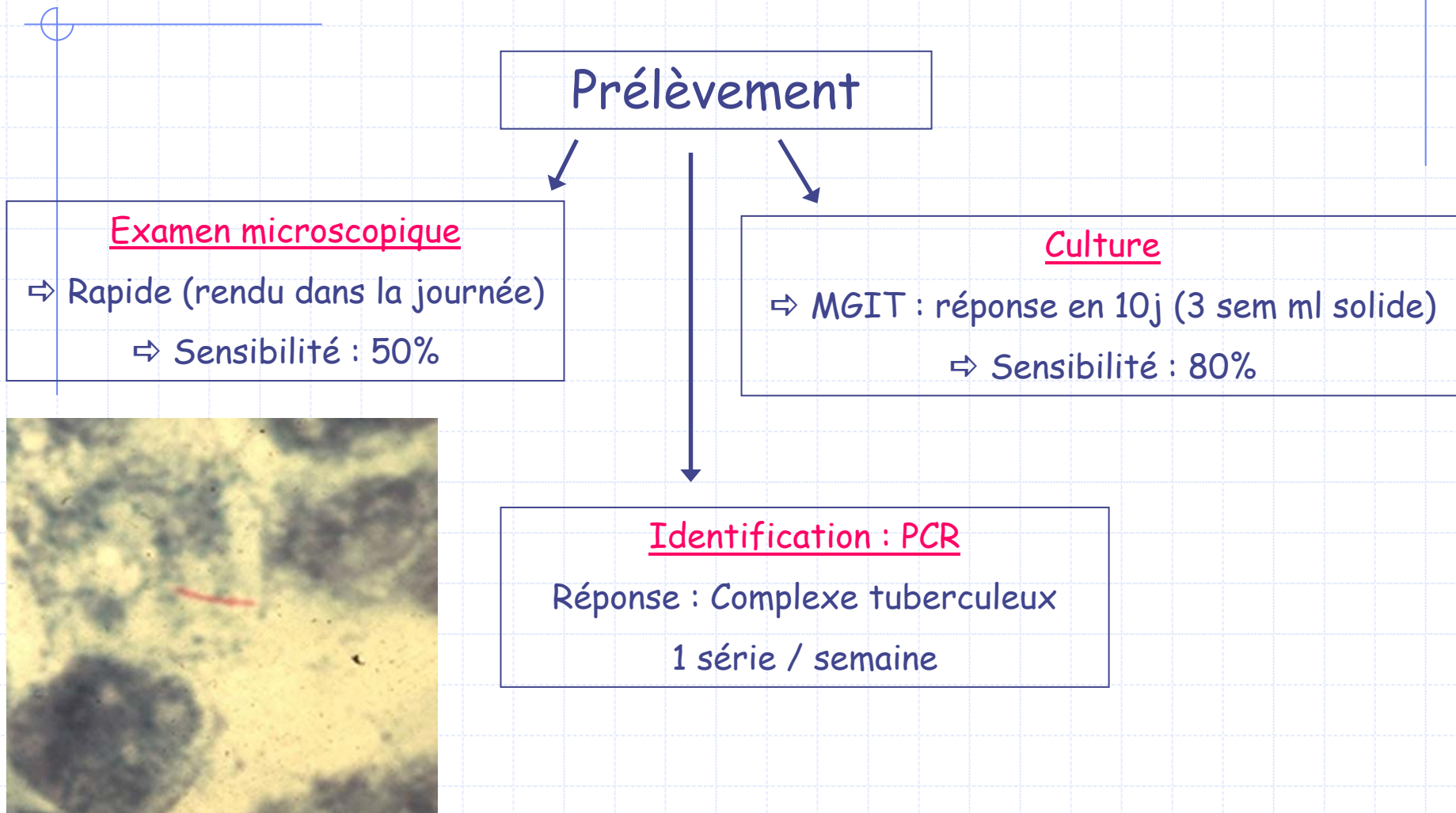
Interne Biologie Médicale 6<sup>ème</sup> semestre

Juin 2007

# Evolution après contage



# Diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie (1)



# Diagnostic bactériologique de la tuberculose maladie (2)

Culture positive

```
graph TD; A[Culture positive] --> B[Identification  
Biochimique ⇨ Biologie moléculaire  
Sonde / Génotypage  
Réponse dans la journée]; A --> C[Antibiogramme  
MGIT : réponse en 8 j  
Apport de la Biologie Moléculaire?]
```

## Identification

Biochimique ⇨ Biologie moléculaire

Sonde / Génotypage

Réponse dans la journée

## Antibiogramme

MGIT : réponse en 8 j

Apport de la Biologie Moléculaire ?

# Diagnostic de la tuberculose latente ?

⇒ Difficile de prédire qui, parmi les ITL, va évoluer vers une tuberculose maladie

⇒ Difficile donc de savoir qui traiter !



## Des besoins en diagnostic !

# Des besoins en diagnostic

- ◆ Diagnostic clinique insuffisant !  
(Catanzaro et al., JAMA, 2000)
- ◆ Diagnostic radiologique insuffisant !  
(Zellweger et al, IJTLD, 2006)
- ◆ Diagnostic bactériologique insuffisant !  
(Schoch et al, AJRCCM, 2006)

# Ce qui existe actuellement :

## Intradermoréaction à la tuberculine (IDR) (1)

### ◆ Limites

- Spécificité faible : FAUX POSITIFS
  - Avec le BCG
  - Avec les mycobactéries atypiques
- Sensibilité faible : FAUX NEGATIFS
  - Sujets immunodéprimés (VIH+), malnutrition
  - Grippe, rougeole, coqueluche
  - Maladie de Hodgkin, leucémie
  - ...

# Ce qui existe actuellement :

## Intradermoréaction à la tuberculine (IDR) (2)

### ◆ Limites

- Réalisation et lecture complexes :  
variations intra- et inter-observateurs très importantes  
(jusqu'à 4-5 mm)
- Difficile à interpréter chez les enfants
- Nécessité d'une seconde visite



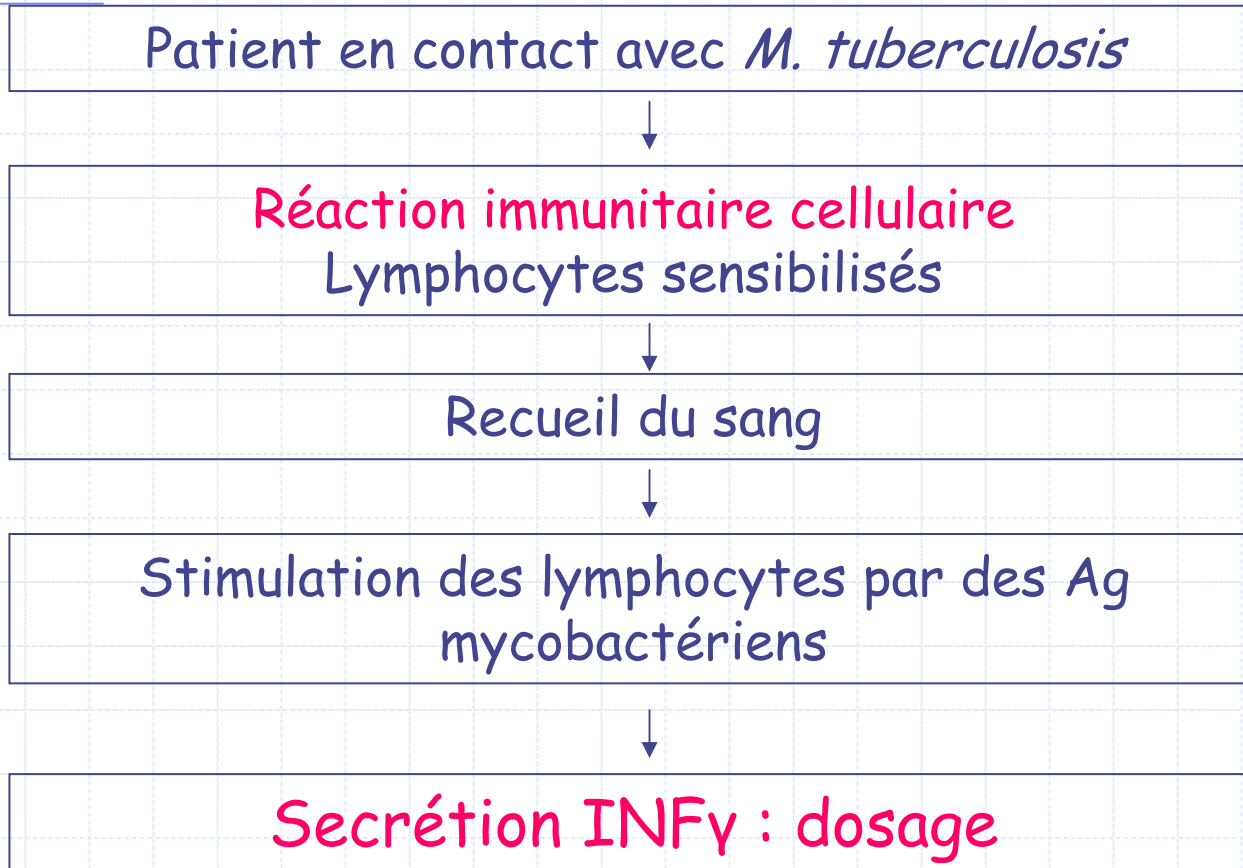
# Ce qui est à améliorer

## ◆ 5 points à améliorer / IDR :

- réponse plus précoce
- faible coefficient de variation
- élimination zone incertitude 10-15 mm
- augmentation de la spécificité
- différenciation entre les infections anciennes et récentes

# Ce qui est à l'étude : Dosage INF $\gamma$

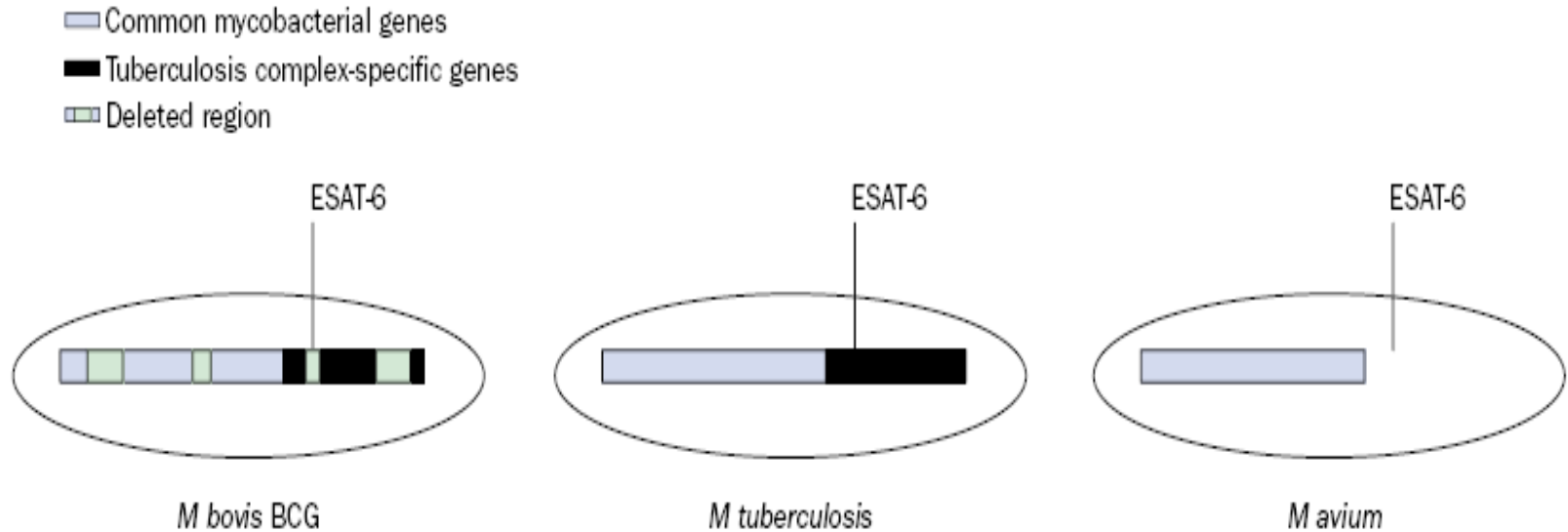
## Principe général



Objectif : trouver des Ag spécifiques du complexe tuberculeux

# Ce qui est à l'étude : Dosage $\text{INF}\gamma$

## Recherche Ag spécifiques complexe tuberculeux



Présence ou absence des gènes selon les espèces de mycobactéries.

**ESAT 6** : Early Secreted Antigen Target 6

**CFP-10** : Culture Filtrate Protein 10

**TB 7.7**

# Ce qui est à l'étude : Dosage INF $\gamma$

## Principe des tests

- ◆ Réponse immunitaire à médiation cellulaire, par réponse aux antigènes peptidiques : ESAT-6, CFP-10, TB 7.7.
- ◆ Protéines absentes BCG et mycobactéries atypiques, à l'exception *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum*.
  - + *abscessus* ?
  - + *leprae* ?
- ◆ Production d'INF  $\gamma$  en réponse à la stimulation : détection et quantification.

# Ce qui est à l'étude : Dosage INF $\gamma$

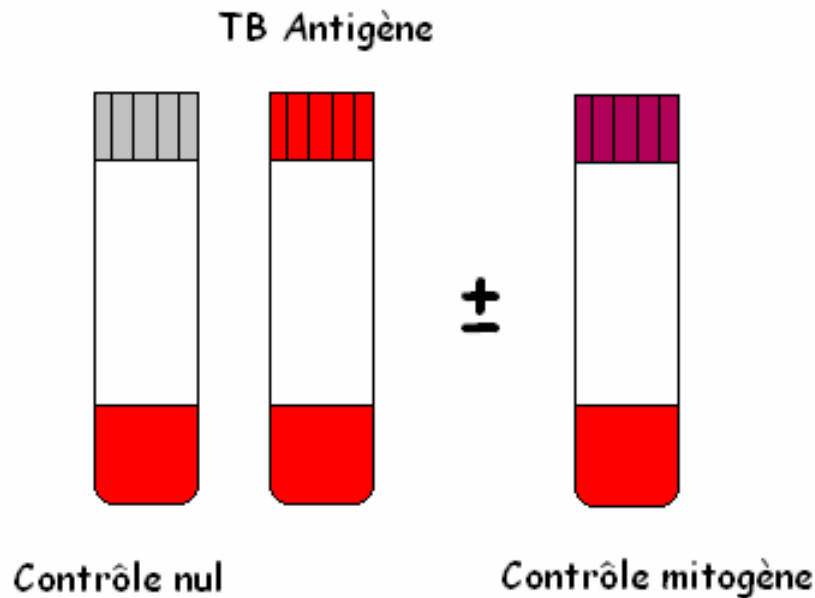
## Kits commerciaux

- ◆ 2 kits commercialisés à l'heure actuelle :
  - T SPOT-TB® test (Oxford Immunotech Ltd)  
norme CE  
pas approuvé par FDA, Canada 2005  
expression des résultats en nb de cellules sécrétant INF  
(SFC : spot forming cells)
  - QuantiFERON®-TB Gold (QFT-G, Cellestis Ltd)  
Approuvé FDA 2004, Canada 2006  
en attente AMM Europe  
expression des résultats en IU INF $\gamma$  sécrété / mL

# Test QuantiFERON®-TB Gold (Cellestis Ltd.)

## Principe

- ① Recueil sanguin : 1 mL / tube  
(ligne noire sur le côté du tube)



Incubation 16-24 h 37°C

Stimulation des lymphocytes  
du patient par Ag présents  
sur paroi du tube

⇒ Production d'INF $\gamma$

⇒ Dosage ELISA

# Test T SPOT-TB (Oxford Immunotech)

## Principe

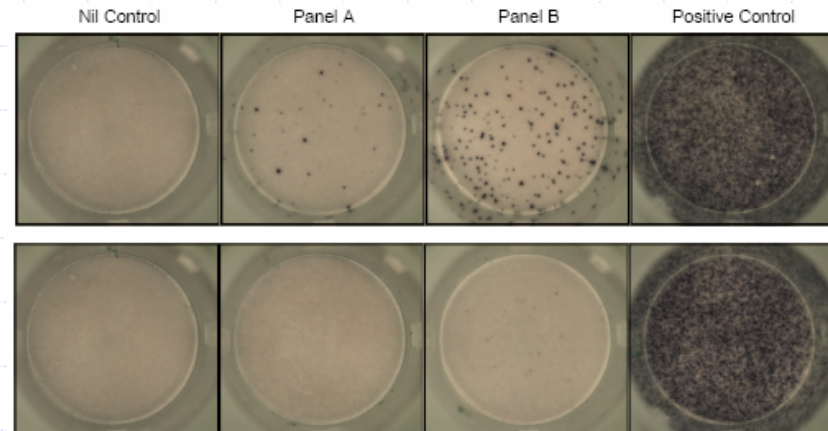
- ◆ Etape 1 : recueil sang/séparation des lymphocytes
- ◆ Etape 2 : mise en culture des cellules en plaque 96 puits, en présence des Ag

Recueil sur tube citrate (bouchon bleu).

Séparation sur Ficoll

- ◆ Etape 3 : Révélation et comptage

Dénombrement des spots  
bleu foncé dans chacun des puits.



# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (1)

A quoi faut-il faire attention qd lecture des études ?

- Ethnie
- Prévalence TB dans le pays d'étude
- Mais aussi prévalence des mycobactéries atypiques !
- Vaccination
- Âge (enfants, augmentation prévalence avec l'âge)
- Nombre de sujets dans la cohorte
- Cut-off IDR
- Type de population : immunodéprimés, sujets contacts, TB active confirmée, personnel soignant...

Problème majeur : pas de GOLD STANDARD !!



# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (2)

### ◆ Sensibilité

Evaluation strictement dans cas de la TB maladie (confirmée)

Très variable selon les études

⇒ Sensibilité comparable des 2 types de tests

### ◆ Spécificité

Evaluation strictement chez les sujets sains, sans FDR apparents

> 90 % dans toutes les études

⇒ Spécificité comparable des 2 types de tests

### ◆ Reproductibilité ?

4 études : 3 = très bonne reproductibilité

Bellete et al., 2002 : n = 11

Répétition aussi de l'IDR !!! Attention à l'effet boosting !

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (3)

### ◆ Accord IDR / test INF $\gamma$ ?

BOF...

- modeste : 60-80 % selon les études
- causes discordance ??

### ◆ Corrélation avec le niveau d'exposition ?

OUI

Ewer et al., 2003 :

ElISPOT > IDR

Brock et al., 2004 :

non vaccinés

QFT > IDR

vaccinés

QFT >>> IDR

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (4)

### ◆ Tests INF $\gamma$ moins affecté par vaccination ?

**OUI**

Lalvani et al., 2001 / Ewer et al. 2004

### ◆ Tests INF $\gamma$ moins affecté par mycobactéries atypiques ?

**OUI**

Lein et al., 1999 :

Arend et al., 2002 :

⇒ tests +

*M. avium* ⇒ spé 100%

*M. kansasii*, *M. marinum* (n=12)

75% ESAT-6

67% CFP-10

90% PPD

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (5)

### ◆ Tests INF $\gamma$ capable de prédire évolution vers TB maladie ?

?

Doherty et al., 2002 :

n = 24 VIH-, Ethiopie, sujets contact

⇒ association forte réponse ESAT-6 / évolution TB active

### ◆ Effet du TTT sur réponse INF $\gamma$ ?

PAS DE LIEN

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (6)

### ◆ Importance de l'ethnie : OUI

Porsa et al., 2006 Prisonniers, Etats Unis

Ethnie afro-américaine : IDR+ INF-  
Serait dû à une différence d'expression du système HLA  
⇒ Moindre reconnaissance ESAT-6 / CFP10 ?

Kang et al., 2005 Personnel soignant / Sujets contact, Corée

Faux INF- : patients indiens  
⇒ Système HLA ?

Mazurek et al., 2001 Embauche / Sujets contact, Etats Unis

Faux INF- : patients asiatiques

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (7)

### ◆ Questions non résolues

- Facteurs pouvant influencer la réponse immunitaire :
  - Malnutrition
  - Vaccination
  - Exposition à des mycobactéries atypiques
  - Lèpre
  - Infections parasitaires (helminthes) : modification balance Th1/Th2

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (8)

### ◆ Questions non résolues

- **Peu d'études** chez sujets immunodéprimés
  - patients avec TB extra-pulmonaire
  - sujets contact
  - enfants
  - personnel soignant

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Etudes bibliographiques (9)

### ◆ Questions non résolues

Souches de BK peu stimulantes ou inhibant la réponse Th1

- famille Beijing
- Souches phénol-glycolipides +
- Mutation mce 1

### Faudrait-il choisir d'autres Ag ?

Ag virulence : ESAT-6, CFP 10

Ag membranaires : Man et AraLAM

Ag de latence : Acr1 (a cristallin 1)

(Demissic et al., 2006)



# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Bilan (1)

Caractéristiques et performances	IDR	Test INF $\gamma$
Sensibilité estimée (chez patients avec TB active)	75-90%	75-95%
Spécificité estimée (chez patients sains, sans TB)	70-80%	90-100%
Réactivité croisée avec BCG	OUI	NON
Réactivité croisée avec mycobactéries atypiques	OUI	NON
Corrélation avec exposition BK	NON	OUI
Bénéfice de traitement des sujets +	OUI	Données insuffisantes
Reproductibilité	Variable	Données insuffisantes

Comparaison des caractéristiques des deux types de test.

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Bilan (2)

Caractéristiques et performances	IDR	Test INF $\gamma$
Phénomène de boosting	OUI	NON
Potentiel de conversion et de reversion	OUI	Données insuffisantes
Coût	Faible	Important
Visites médicales nécessaires	2	1
Infrastructures nécessaires	NON	OUI
Temps requis	2-3 j	1-2 j
Personnel requis	OUI	OUI

Tableau 2 (suite) : Comparaison des caractéristiques des deux types de test.

# Tests INF $\gamma$ : Intérêt comparé à IDR

## Bilan (3)

### ◆ Limites des différentes études

- choix des patients : TB active ou avancée  
sujets sains sans ATCD exp° TB

⇒ tendance à la surestimation des performances diagnostiques

- faible nombre de patients / étude

- utilisation IDR comme gold standard, sans étude d'indépendance

- problème sévérité maladie / TTT : influence sensibilité

⇒ applicabilité d'études réalisées chez des patients avec TB maladie pour outils diagnostic destinés à LTBI ??

# Dosage INF $\gamma$

## Recommandations actuelles (1)

### ◆ Suisse / Grande Bretagne

Uniquement en confirmation d'un IDR +  
Systématiquement chez les immunodéprimés  
(problème : aucune publi sur ce mode de fonctionnement)

### ◆ Etats Unis

Même indications que l'IDR

### ◆ France : Recommandations HAS Décembre 2006

#### Indications principales

- enquête autour d'un cas, uniquement chez l'adulte (> 15 ans)
- Professionnels de santé : embauche, personnes à risque
- Aide au diagnostic des formes extra-pulmonaires
- Avant mise en route TTT anti-TNF (recommandations AFSSAPS 2005)

# Dosage INF $\gamma$

## Recommandations actuelles (2)

Place dans la stratégie diagnostique : en remplacement de l'IDR

Population cible : estimée à 68 000 patients/an

Modalités actuelles de mise en œuvre :

- rendu qualitatif
- À ne pas utiliser chez enfant
- À ne pas utiliser en cas immunodépression
- À ne réaliser que 3 mois après le contact connu
- À ne pas interpréter sans savoir si IDR mois précédent
- **Test à réserver à des équipes médico-biologiques connaissant bien la pathologie dans ces différentes composantes**

# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (1)

Décembre 2006 - Février 2007

3 groupes de patients :

↳ Enfants (MI3, Dr Derelle) :

n = 16

3 mois - 13 ans (âge moyen : 5 ans)

50% origine étrangère

(Bosnie, Turquie, Angola, Algérie, Haïti)

94% cas : résultats IDR

50% vaccinés (autres : ?)

70% patient source = famille (autres : ?)

# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (2)

### Adultes (Pneumologie, Dr Vaillant) :

n = 8

26-75 ans (âge moyen : 46 ans)

25% origine étrangère

(Tchéchénie, Turquie - foyer hébergement collectif)

88% cas : résultats IDR

25% vaccinés (autres : ?)

50% patient source : famille (autres : ?)

### Adultes (Médecine du personnel, Dr Lepori) :

n = 3

23 - 53 ans (âge moyen : 40 ans)

100% vaccinés ; 100% résultats IDR

100% contact : travail

# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (3)

### ◆ Résultats (n = 27)

22 (81%) Négatifs

3 (11%) Positifs

2 (8%) Indéterminés

### Parmi ces patients :

50% sous traitement

(38% chez enfants / 75% chez les adultes)

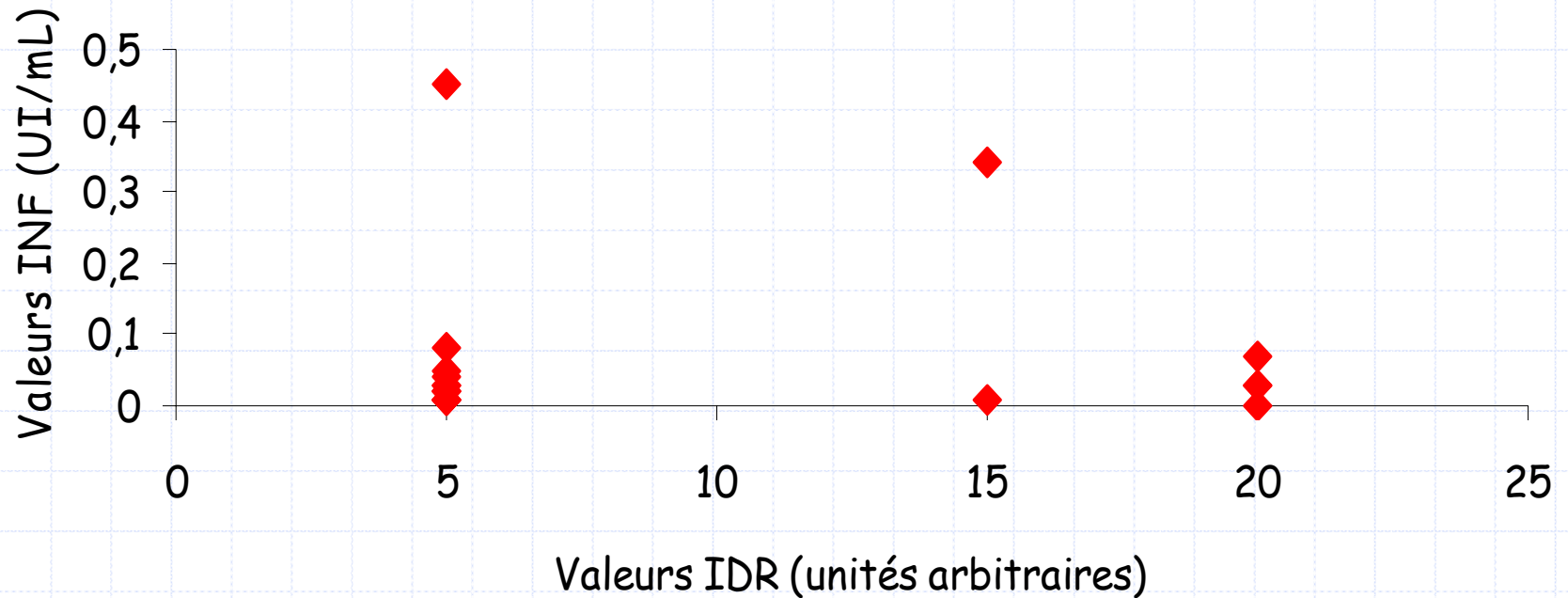
75% IDR+



# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (4)

Répartition des IDR chez les patients INF-



# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (5)

◆ Patients INF- / IDR- : 16 (70%)

◆ Patients INF- / IDR+ : 6 (30%)

3 adultes / 3 enfants

1 vacciné

2 origine étrangère : Turquie, Angola

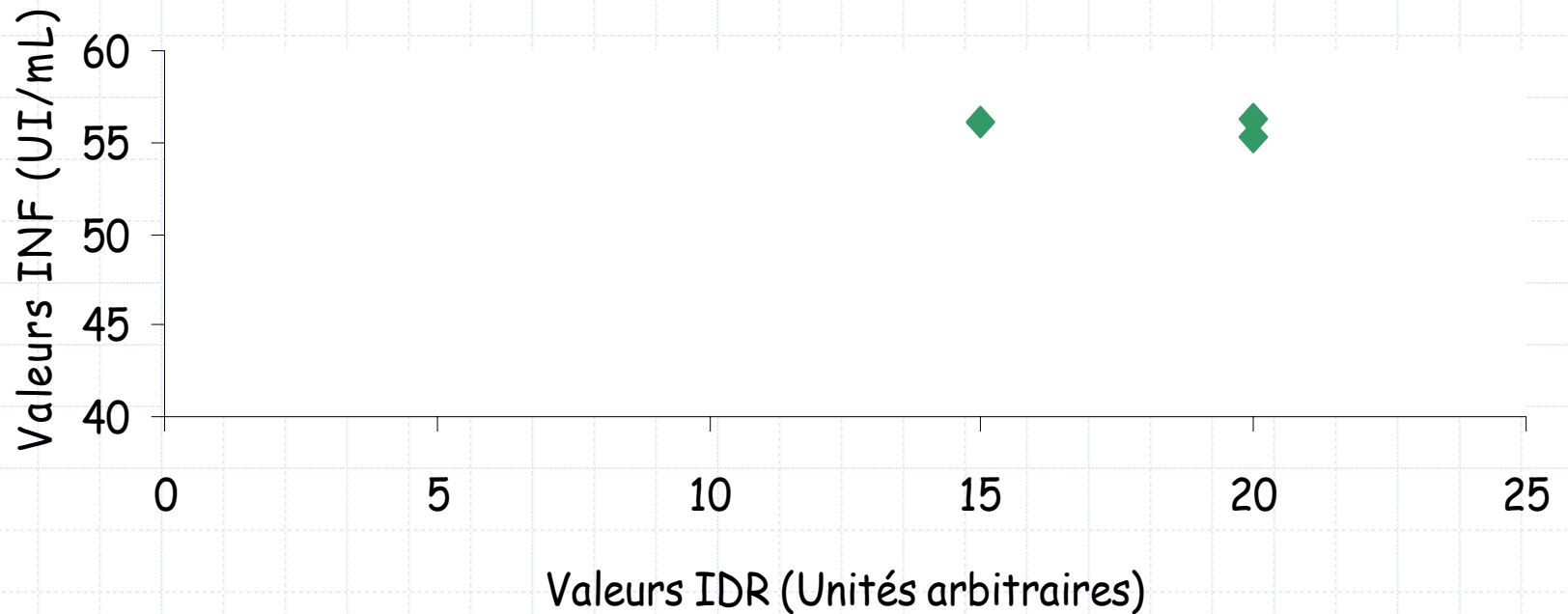
1 maladie chronique : acidémie propionique + DID + épilepsie

⇒ Aucune indication sur les causes de divergences entre les deux tests...

# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (6)

Répartition des IDR chez les patients INF+



# Protocole QuantiFERON®

## Résultats de notre étude (7)

◆ Patients INF+ / IDR+ : 100%

2 adultes / 1 enfant

1 origine étrangère

1 contact familial

⇒ Bonne corrélation chez les patients INF+

# Protocole QuantiFERON®

## Conclusion

### ◆ Etude à poursuivre

- ⇒ nombre réduit de patients dans étude
- ⇒ nécessité d'études en pédiatrie
- ⇒ nombreuses questions en suspens : discordances INF- /

IDR+

### ◆ Nouvelles orientations

- ⇒ immunodéprimés
- ⇒ personnel soignant
- ⇒ relations taux INF avec : TTT, sévérité de la maladie, niveau d'exposition...

A utiliser en complément de l'IDR  
Outil important dans diagnostic ITL : ne pas dissocier de l'EM,  
culture et autres