

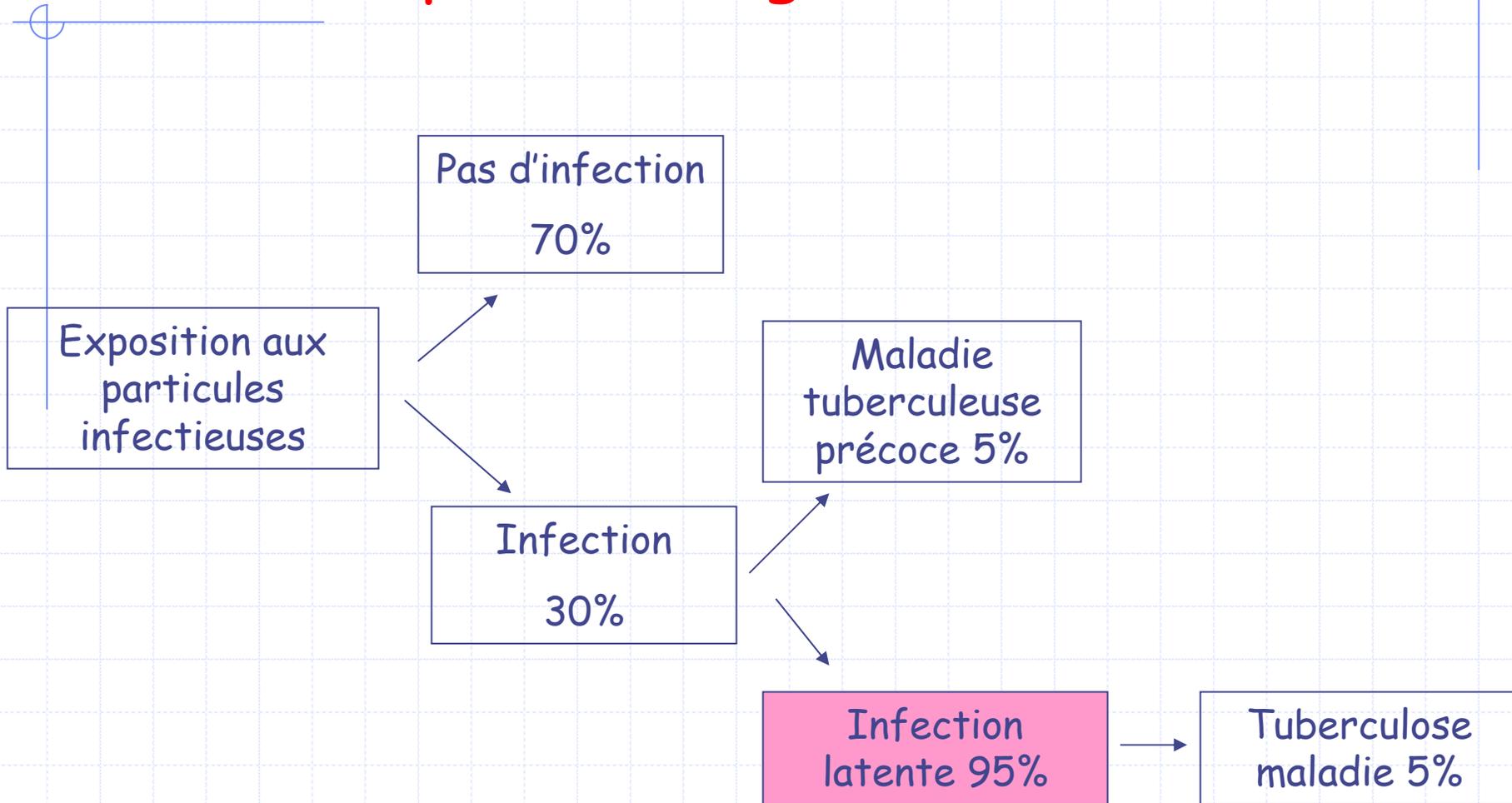
Intérêt du dosage de l'INF γ dans le diagnostic de l'infection tuberculeuse latente

Marion GRARE

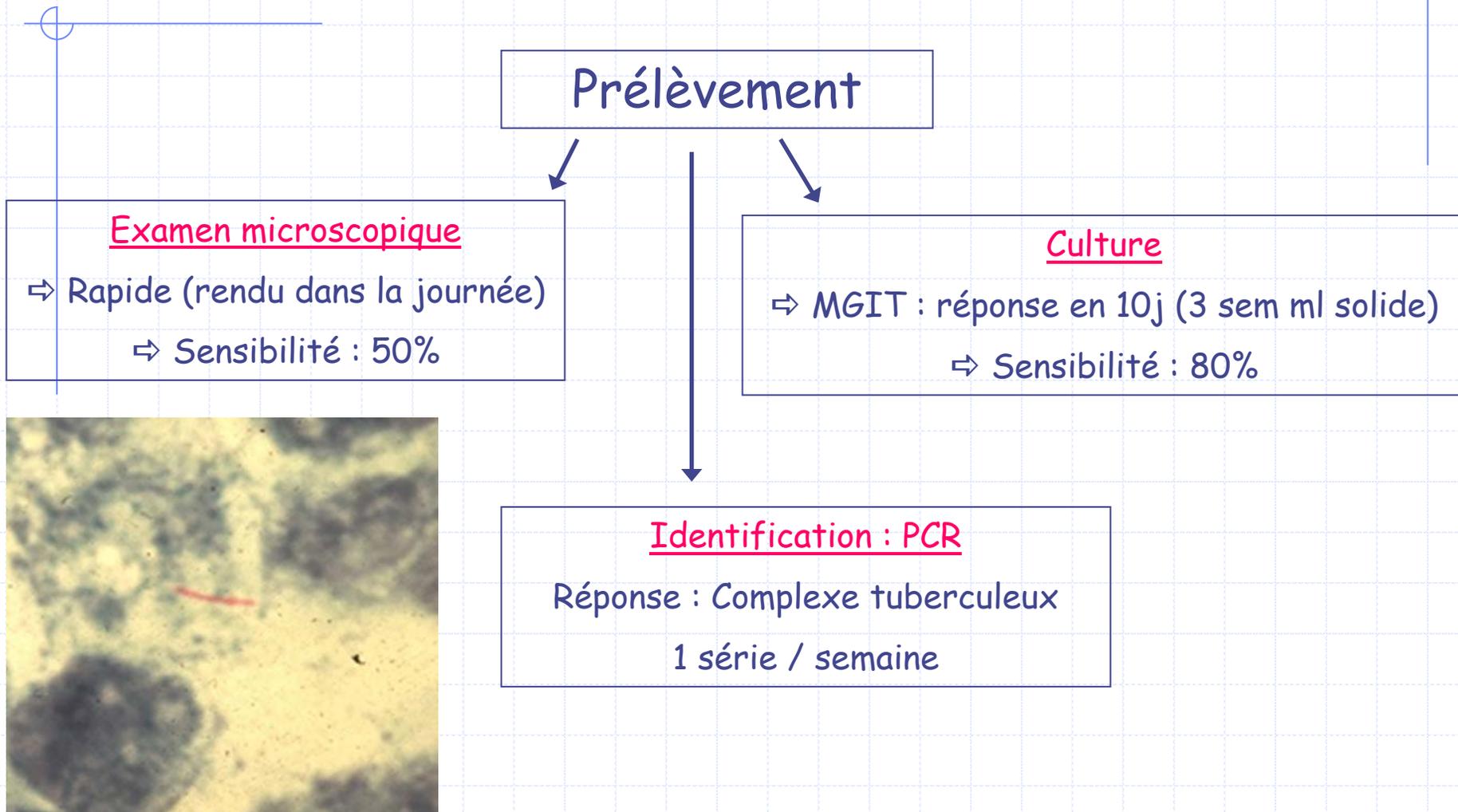
Interne Biologie Médicale 6^{ème} semestre

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

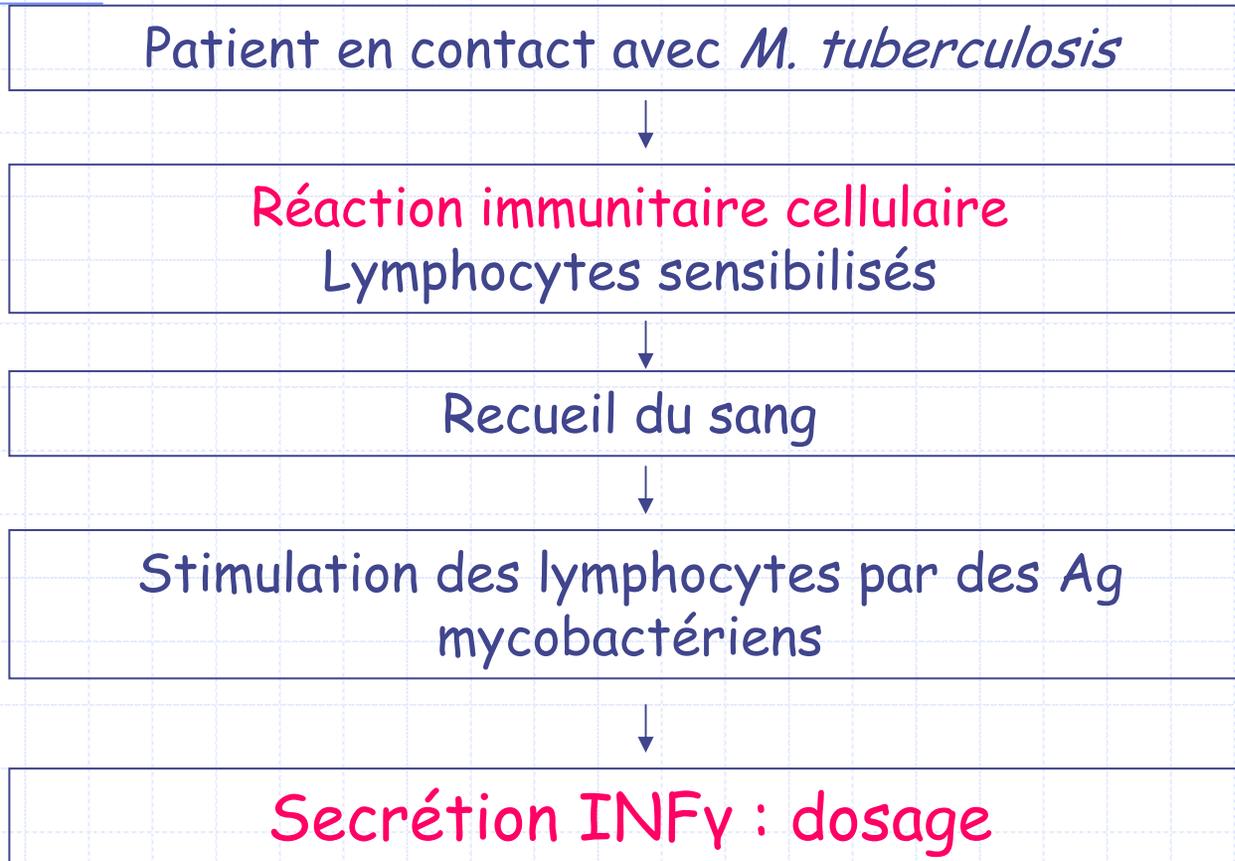
Ce qui est à améliorer

◆ 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 γ

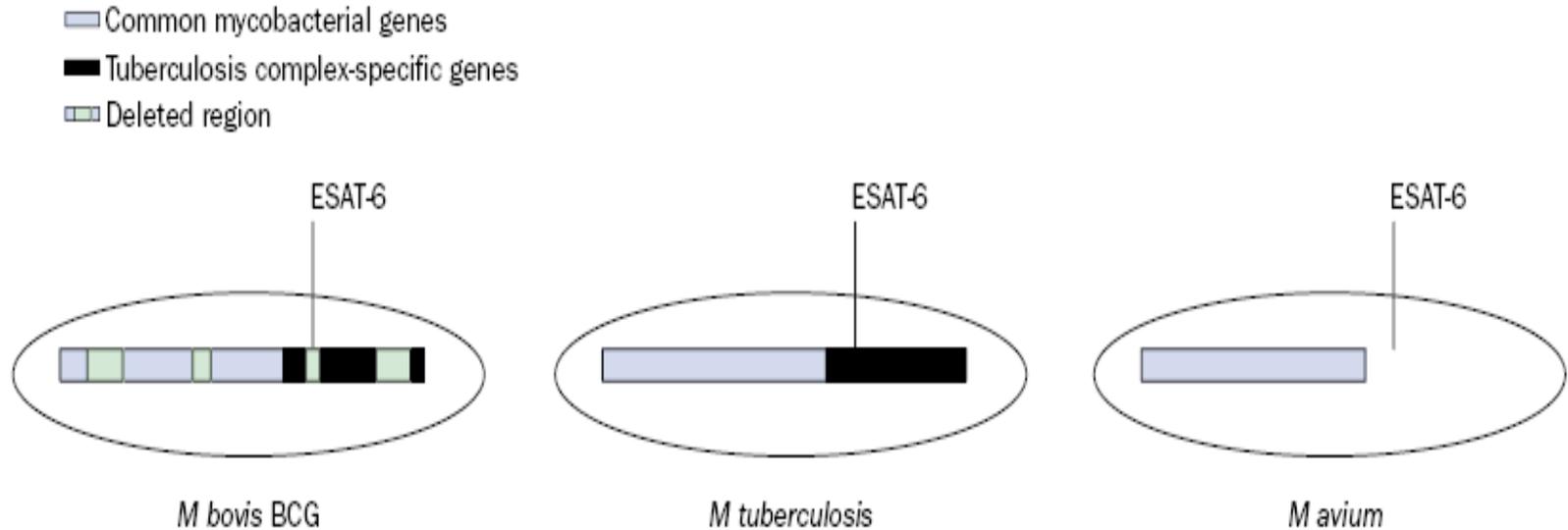
Principe général



Objectif : trouver des Ag spécifiques du complexe tuberculeux

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

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 γ

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 γ en réponse à la stimulation : détection et quantification.

Ce qui est à l'étude : Dosage INF γ

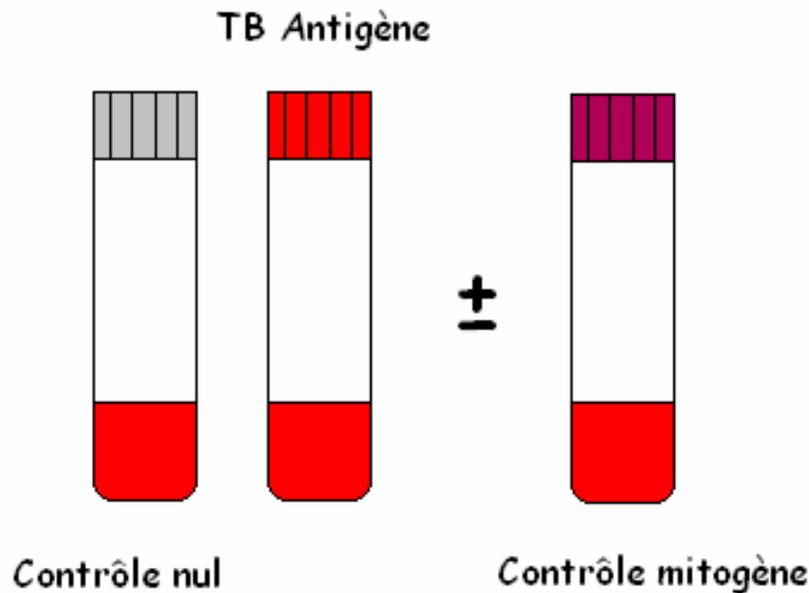
Kits commerciaux

- ◆ 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 secrétant 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 γ secrété / 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 γ

⇒ Dosage ELISA

Test T SPOT-TB (Oxford Immunotech)

Principe

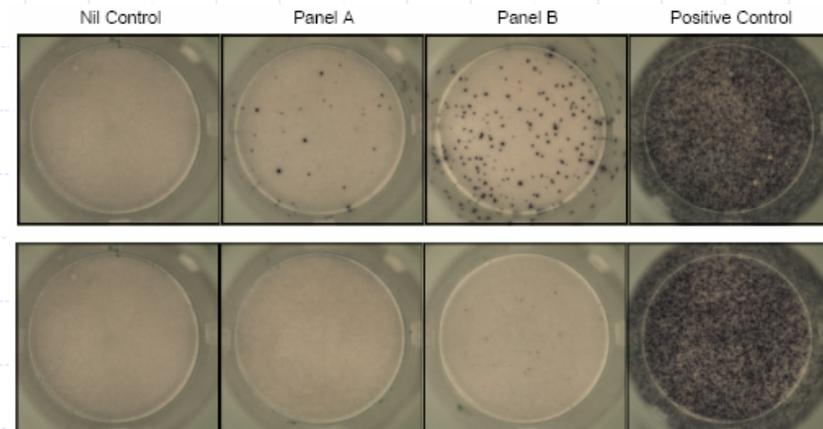
- ◆ Etape 1 : recueil sang/séparation des lymphocytes
- ◆ Etape 2 : mise en culture des cellules en plaque 96 puits, en présence des Ag

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 γ : 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 γ : 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 γ : Intérêt comparé à IDR

Etudes bibliographiques (3)

◆ Accord IDR / test INF γ ?

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 γ : Intérêt comparé à IDR

Etudes bibliographiques (4)

◆ Tests INF γ moins affecté par vaccination ?

OUI

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

◆ Tests INF γ 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 γ : Intérêt comparé à IDR

Etudes bibliographiques (5)

◆ Tests INF γ 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 γ ?

PAS DE LIEN

Tests INF γ : 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 γ : 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 γ : 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 γ : 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 γ : Intérêt comparé à IDR

Bilan (1)

Caractéristiques et performances	IDR	Test INF γ
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 γ : Intérêt comparé à IDR

Bilan (2)

Caractéristiques et performances	IDR	Test INF γ
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 γ : 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 INFy

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 γ

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

(Tchéquie, 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

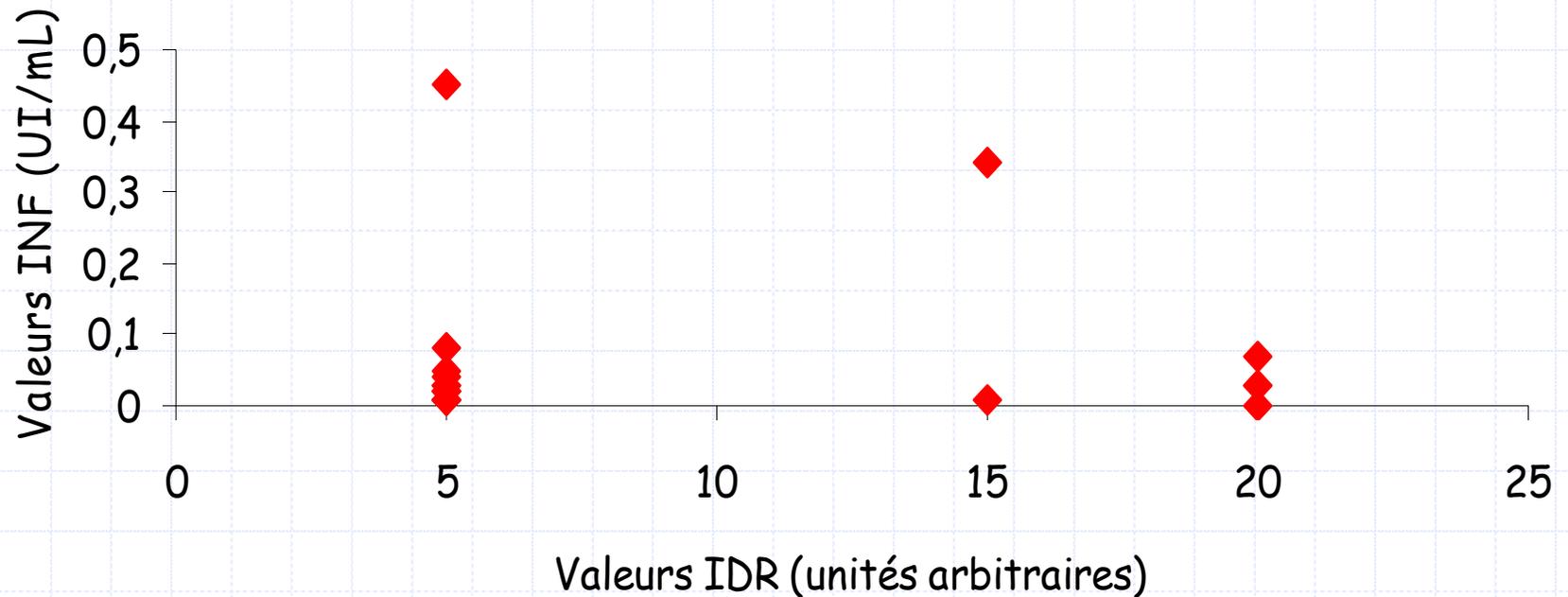
(38% chez enfants / 75% chez les adultes)

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

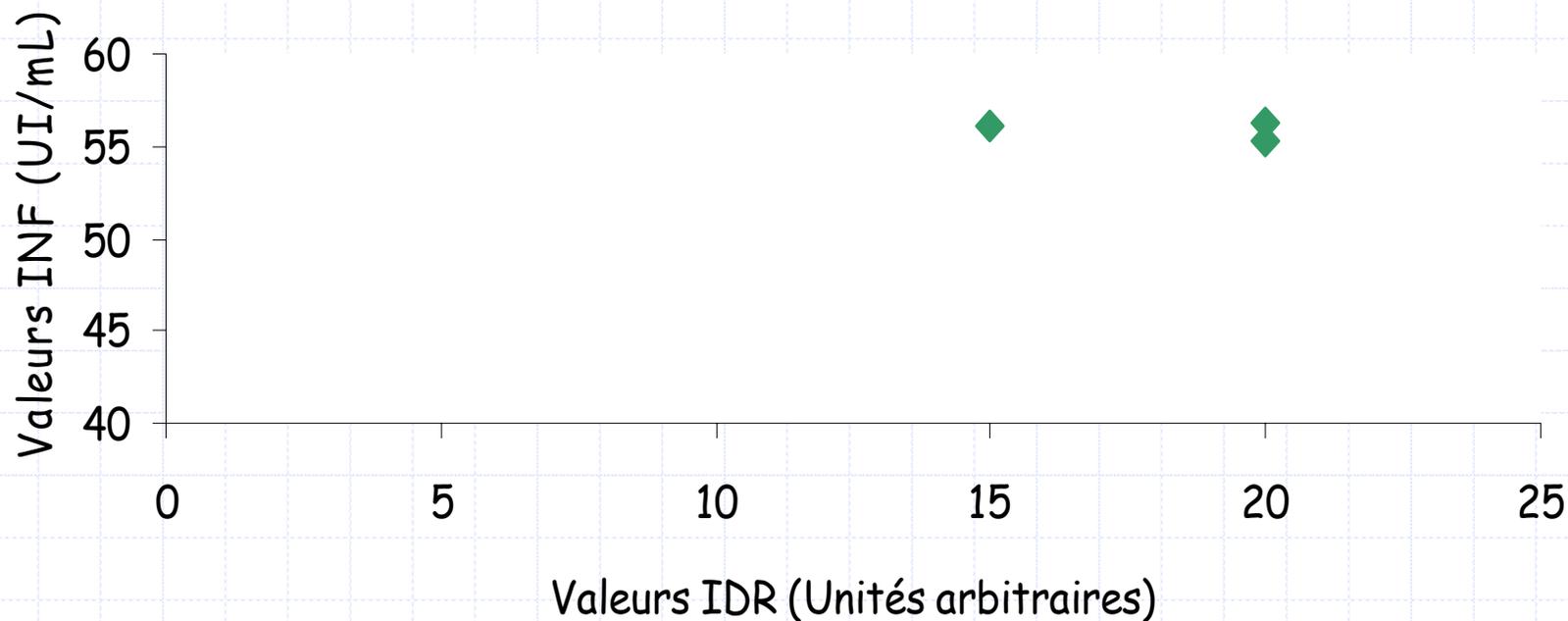
1 maladie chronique : acidémie propionique + DID + épilepsie

⇒ 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