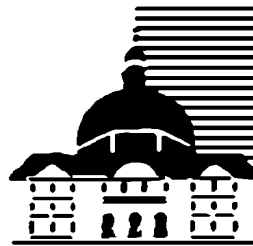


# Tests IGRAs

Du principe des tests à leur interprétation



Guislain Carcelain  
Immunologie Cellulaire  
Hôpital Pitié Salpêtrière

# Intradermoréaction

Ag = tuberculine (PPD)

concentré de culture de *Mtb* inactivé, lots non standardisés

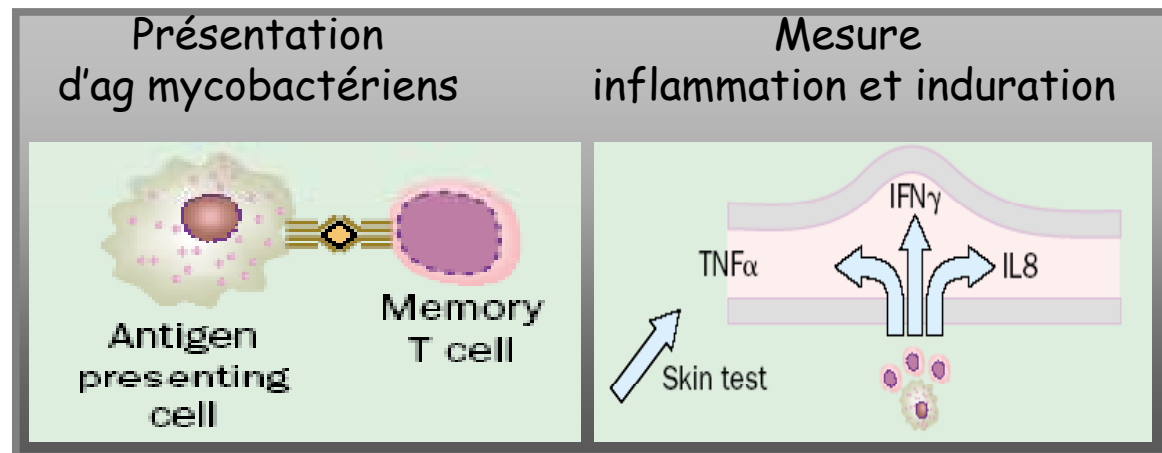
> 200 ag partagés entre *M tuberculosis*, *M Bovis*, *BGC*, *M atypiques*



J0

## Hypersensibilité retardée à la tuberculine

Cellules T Mémoires spécifiques des Mycobactéries



+ : virage chez non vacciné, >15 mm ou phlycténulaire chez vacciné



72h

Non spécifique+++ , peu reproductible, peu sensible (< 5 ans, ID ...)

# Tests IGRA

détection in vitro de la production d'IFN- $\gamma$

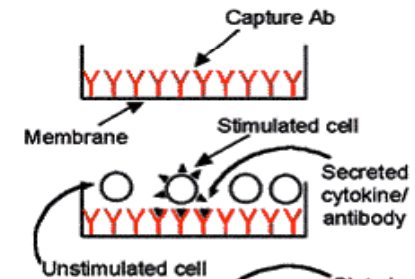
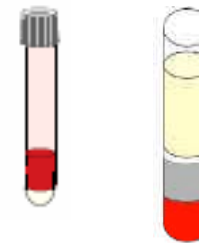
Ag SPECIFIQUES de *M Tuberculosis* : ESAT-6, CFP10 (RD1), +/- TB7.7

Nil : contrôle négatif pas ag, PHA : contrôle positif

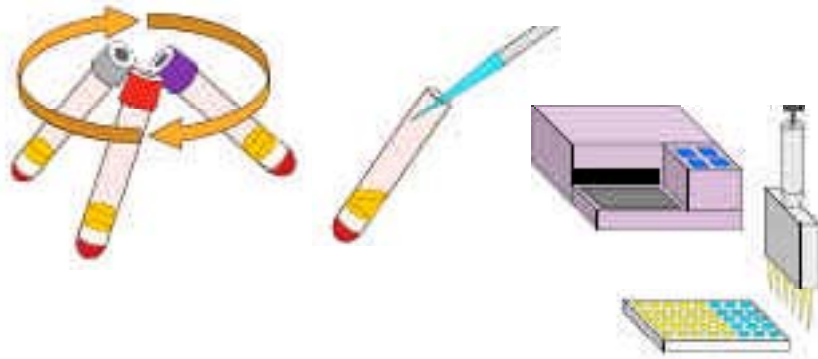
## QuantiFERON-TB Gold™ IT (Cellestis Australia)



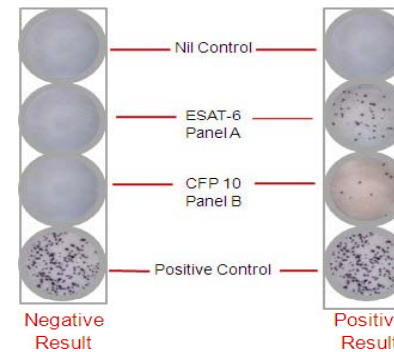
## T-SPOT.TB (Oxford Immunotech, UK)



Incubation 16-24h à 37° C



ELISA UI/ml



ELISpot SFC/puits



Tuberculosis Complex	ESAT-6	CFP-10	TB-7.7	Environmental Strains	ESAT-6	CFP-10	TB-7.7
<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+	<i>M. abcessus</i>	-	-	-
<i>M. africanum</i>	+	+	+	<i>M. avium</i>	-	-	-
<i>M. bovis</i>	+	+	+	<i>M. branderi</i>	-	-	-
				<i>M. celatum</i>	-	-	-
BCG Substrain	ESAT-6	CFP-10	TB-7.7				
<i>Gothenberg</i>	-	-	-	<i>M. chelonae</i>	-	-	-
<i>Moreau</i>	-	-	-	<i>M. fortuitum</i>	-	-	-
<i>Tice</i>	-	-	-	<i>M. gordonii</i>	-	-	-
<i>Tokyo</i>	-	-	-	<i>M. intracellulare</i>	-	-	-
<i>Danish</i>	-	-	-	<b><i>M. kansasii</i></b>	+	+	-
<i>Glaxo</i>	-	-	-	<i>M. malmoense</i>	-	-	-
<i>Montréal</i>	-	-	-	<b><i>M. marinum</i></b>	+	+	-
<i>Pasteur</i>	-	-	-	<i>M. oenavense</i>	-	-	-
				<i>M. scrofulaceum</i>	-	-	-
				<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
				<b><i>M. szulgai</i></b>	+	+	-
				<i>M. terra</i>	-	-	-
				<i>M. vaccae</i>	-	-	-
				<i>M. xenopi</i>	-	-	-

J Rothel Cellestis, Mai 2010

# Expression des résultats (1)

**Contrôle Négatif** : Cellules non stimulées (CNS)

**Contrôle Positif** : Cellules stimulées par mitogène (CS m)  
→ Delta C+ (CS m - CNS)

**Antigènes Mtb** : Cellules stimulées par Ag Mtb (CS Ag)  
→ Delta Mtb Ag (CS Ag - CNS)

QTF UI/ml

+ : Delta C+ > 0.35 et Delta Ag > 0.5

- : Delta C+ > 0.35 et Delta Ag < 0.5

ind : Delta C+ < 0.35 ou CNS > 8

T-SPOT.TB SFC/puits

+ : Delta C+ > 20 et Delta Ag > 6

- : Delta C+ > 20 et Delta Ag < 6

ind : Delta C+ < 20 ou CS > 10

## Expression des résultats (2)

- Notion de fluctuation physiologique ?
  - Revue Zyl-Smit Plos One 2009 : 67 sujets sur 4 études majoritairement zones de forte endémie (3/4), Personnel Santé majoritairement fluctuation autour du seuil de positivité variations de 16%-80%
  - Pose la question de l'interprétation des **réversions/conversions**
    - /+ : 6.1% (95% IC 3.5-99)
    - +/- : 32% (95% IC 19.1-48.5) (*Schablon 2010, # Ringshausen 2010*)
  - delta > 30% (*A Veerapathran 2008*)? delta 0,25 UI/ml (*M Pai 2009*)?
  - **Notion de zone grise** : 0,1 → 0,6 UI/ml (*M Pai 2009*)  
0,2 → 0.7 UI/ml (*Schablon 2010*)

## Expression des résultats (3)

- Effet « boost » de l'IDR ?

- 13 études, revues en *Zyl-Smit Plos One 2009*

- 5 études ne retrouvent pas cet effet (J28 à M9)

- 7 études observent un effet possible (dans les 21 jours),

- Concerne essentiellement des résultats déjà positifs (- /+ : 2-12%)

- Concerne essentiellement des valeurs proches du seuil

- IDR négatives ne boostent pas IGRA

- Effet du traitement antituberculeux ?

P Mialhes Hôpital Croix Rouse

# Différences tests IGRA / IDR

- Avantages IGRA par rapport à l'IDR

  - Pas de seconde visite

  - Pas d'effet booster in vivo des réponses immunes

  - Reproductibilité test et réactifs

  - Résultat objectif

  - Spécificité +++ : populations BCG+, infectées par MNT

  - Contrôle + : mitogène, met en évidence des faux négatifs

- Discordances IDR / IGRAs

  - Différence cellules T détectées?

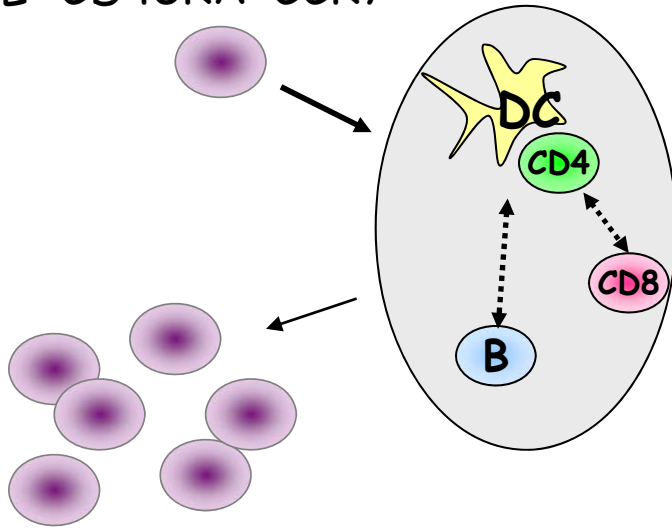
    - TEM/TE versus TEM/TE + TCM ?



# Diversité des cellules T générées contre MTb

## T naïves (N)

ganglions, OLSdaires  
sans fonction effectrice  
CD62L<sup>h</sup> CD45RA<sup>+</sup> CCR7<sup>+</sup>

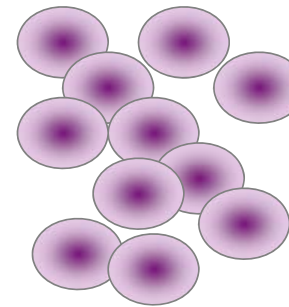


## T mémoires centrales (T<sub>CM</sub>)

ganglions, OLSdaires  
Spécificité tissulaire  
Durée de vie longue → disparition ag  
prolifération rapide à ag  
CD62L<sup>h</sup> CD45RA<sup>-</sup> CCR7<sup>+</sup>

## T mémoires effectrices (T<sub>EM</sub>) / effectrices

périphérie, spécificité tissulaire  
Contact récent ag  
fonction effectrice rapide  
CD62L<sup>h</sup>/l CD45RA<sup>+</sup> CCR7<sup>-</sup>



Organes  
Périphériques  
atteints

→ **Présence/proportion dans différents tests?** Selon durée de stimulation

→ **Présence/proportion dans différentes situations hôte/Mtb ?**

Contact récent, infection ancienne,  
infection traitée, réactivation,  
TB Maladie traitée ou non

## Ce que veut dire un test **Indéterminé**

- Production insuffisante d'IFN- $\gamma$  en présence de PHA :  
contrôle positif inadéquat

Incapacité du SI à développer une réponse T fonctionnelle  
Comme l'IDR les IGRA sont affectés par l'ID +++ MAIS on le visualise

- Production d'IFN-g par les cellules non stimulées in vitro :  
contrôle négatif inadéquat

Activation in vivo cellules T traduisant une réponse immunitaire

→ Le test ne peut pas être interprété

Comparaison « head to head » 11 études n= 3075  
QTF 2.47% T-SPOT TB 4.33% p=0.03  
(Diel 2010)

## Ce que veut dire un test **Positif** (1)

- Fréquence élevée de TEM / TE spécifiques de *M Tuberculosis*  
= Rencontre de *M Tuberculosis*
  - **VP** : contage par *M Tuberculosis* responsable d'une stimulation de l'immunité Spécifique  
(spécificité QFT-IT 99% [95% CI 0.98-1.00], T-Spot. *TB* 88% [0.84-0.91]  $p < 0.001$  Diel 2009)  
>> IDR 59% population BCG+ Pai 2009
  - **FP** : défaut de spécificité peu probable sauf :  
*M kansasii*, *M Marinum*, *M Szulgai* ... (< 200 cas / an France)
- Risque de réactivation si Immunodépression
  - Infection VIH
  - Traitement par Anti-TNF ou autre
- Risque de réactivation si contact récent

## Ce que ne veut pas dire un test Positif (1)

- Les IGRA ne distinguent pas Infection et Maladie
- Les IGRA ne sont PAS un test diagnostique POSITIF (rule in) de la Tuberculose Maladie

IGRA SMIT Pitié Salpêtrière 2006-2008 (Guihot et al)  
n=250, 57 TBM : 69% migrants, 42% ID, 17% ATCD de TBM  
QTF Gold™ IT  
Sensibilité 82% (IC 72-93), spécificité TBM 66%  
VPP 43%, VPN 92%

## Ce que ne veut pas dire un test Positif (2)

- Les IGRA ne distinguent pas infection récentes et anciennes :
  - ne prédit pas le risque d'évolution vers la Maladie:
    - adulte sain 10% sur la vie, ++ 2 premières années
    - adulte VIH + 10% /an
    - enfant 11-15 ans : 15%, 1-5 ans 25%, <1 an 45%
  - problème pour décision thérapeutique individuelle
  - Intérêt par rapport IDR pour traitement en vue de prévention passage Maladie :
    - avant mise sous immunosuppression
    - contact vacciné BCG sans ATCD risque TB ?

- Risque de passage à la maladie avec Test positif

	TBM total	dans IDR +	Dans IGRA +	remarques
Hill Plos One 2008	26/2348	14/843 (1,66%)	11/649 (1,69%)	Test maison
Diel AJRD 2008	6/576	5/219 (2.3%)	6/41 (14,6%)	
Bakir AIM 2008	15/908	12/550a (2,18%)	11/381 (2,88%)	Test maison
Kik ERJ 2009	9/339	9/288/184b (4,89%)	6/178 (3,37%)	
Aichelburg 2009	37/822		3/37 (8.1%)	VIH

a = 5mm; b = 10/15 mm

- Risques de cas secondaires avec Test négatif (pb sensibilité)

	IGRA	IDR	Population	remarques
Hill Plos One 2008	47,6%	44%	Gambie	Test maison
Diel AJRD 2008	0%	16,6%	Allemagne	
Bakir AIM 2008	26,6%	20%	Turquie	Test maison
Kik ERJ 2009	1.16%	0%	Hollande,migrants	BGC+
Higushi JInf 2009	0%	0 %	Japon	BCG+
Aichelburg 2009	0%			VIH

# Ce que ne veut pas dire un test **Négatif** (1)

- Un test IGRA négatif n'exclut pas le diagnostic de Maladie  
La sensibilité est insuffisante

*Diel R Chest 2009* Meta-analyse sensibilité dg TBM

IDR :	70%	(95% IC 67-72)	n=25	2004-2009	] p<0.001
QTF IT :	81%	(95% IC 78-83)	n = 19	2006-2009	
		pays développés	84%	(95% IC 81-87)	} p 0.025
		pays en développement	74%	(95% IC 69-79)	
TSPOT.TB :	88%	(95% CI 86-90)	n = 17	2006-2009	

- Un test IGRA négatif n'exclut pas le diagnostic d'Infection

Ethnies CMH différents,

Fréquence cellules trop faible non détectées,

Contage ancien, stimulation pas assez longue pour stimuler TCM

- Risque de passage à la maladie avec Test positif

	TBM total	dans IDR +	Dans IGRA +	remarques
Hill Plos One 2008	26/2348	14/843 (1,66%)	11/649 (1,69%)	Test maison
Diel AJRD 2008	6/576	5/219 (2.3%)	6/41 (14,6%)	
Bakir AIM 2008	15/908	12/550a (2,18%)	11/381 (2,88%)	Test maison
Kik ERJ 2009	9/339	9/288/184b (4,89%)	6/178 (3,37%)	
Aichelburg 2009	37/822		3/37 (8.1%)	VIH

a = 5mm; b = 10/15 mm

- Risques de cas secondaires avec Test négatif (pb sensibilité)

	IGRA	IDR	Population	remarques
Hill Plos One 2008	47,6%	44%	Gambie	Test maison
Diel AJRD 2008	0%	16,6%	Allemagne	
Bakir AIM 2008	26,6%	20%	Turquie	Test maison
Kik ERJ 2009	1.16%	0%	Hollande,migrants	BGC+
Higushi JInf 2009	0%	0 %	Japon	BCG+
Aichelburg 2009	0%			VIH



# Infection VIH et tests IGRAs

*Revue Hoffmann 2010*

- Sensibilité supérieure à l'IDR mais plus faible que chez le sujet VIH-
  - 79% [95% CI 73.5-83.5] QTF-IT, 80.5% [95% CI 69.5-88] T-SPOT, 43% [95% CI 37-49.5] IDR
  - 88.5% [95% CI 0.98-1.00] QTF-IT VIH-
- Fréquence plus élevée de résultats indéterminés que chez les sujets VIH-

Ces tests indéterminés sont associés à taux de CD4 bas
- Taux de CD4 > 200/mm<sup>3</sup> (voire 100/mm<sup>3</sup>) mêmes performances que sujets VIH-

## Ce que pourra dire un test ?

- Différencier les tableaux cliniques TB infection/TB Maladie ?
  - HBHA (*Hougardy 2007, Savolainen 2008*), Rv2628 (*Goletti 2009*)
  - ICS (*Leung 2009*)
- Faire le diagnostique de TB Maladie Extra Pulmonaire ?
  - liquide pleural (*Jafari 2008*)
- Exclure le diagnostique de TB Maladie ?
  - Algorithme en association avec scanner, radio, IDR (*Bartolesi 2009, Kapman 2009, Dosanjh 2008*)
  - IP10 (*Ruhwald 2008, Dheda 2009*), Rv3879c (*Dosanjh 2008*)
- Donner le risque d'évolution vers TB Maladie ?
  - seuil ? (*Andersen 2007, Diel 2008*)
  - Augmentation quantitative ? (*Weldingh 2008*)

# Recommandations Nationales pour l'utilisation des tests IGRAs

- 17 pays ont des guidelines dont :
  - USA, Canada, UK, Japon, France, Espagne, Italie, Allemagne, Suisse, Australie, Pays-BAS, Danemark ...

## Recommandations du CDC 2010

- Remplacement possible de l'IDR par les tests IGRAs
  - On préférera le test IGRA
    - Dans les groupes avec faible lecture IDR
    - Chez les sujets BCG+
  - Aucun des test n'a de préférence
    - En cas de test pour contact récent
    - Pour le suivi des personnels exposés
  - L'IDR reste préférée
    - Pour les enfants de moins de 5 ans
- 
- 3 principales approches :
    - Remplacement possible de l'IDR par les tests IGRAs
    - Utilisation de l'IDR ou de l'IGRA au choix
    - Approche en deux étape IDR, puis IGRA si positive