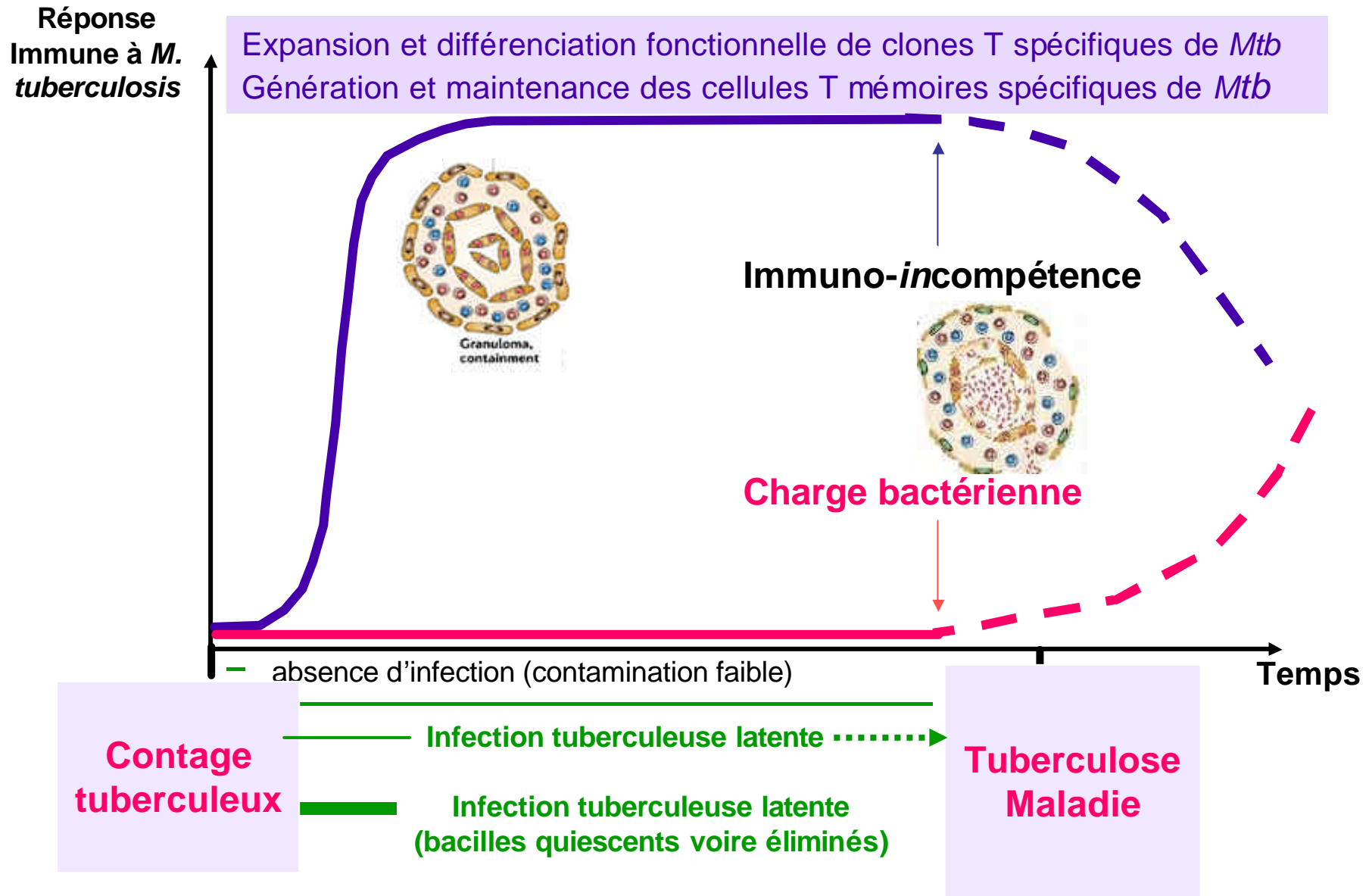


# Tests de détection de la production d'Interféron-g et le diagnostic de la tuberculose

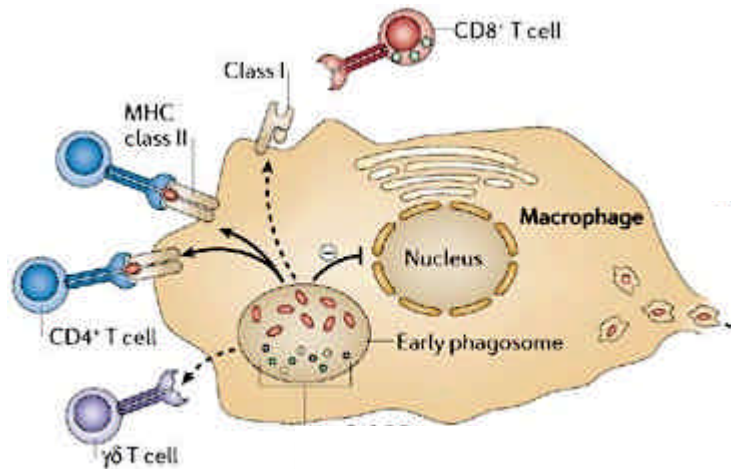
## *(1 ) Le concept*

# Infection tuberculeuse contrôlée ↔ réponse cellulaire T efficace

(ITL avec bacilles quiescents ou éliminés)



Hétérogénéité de la réponse cellulaire T  
- lignages différents  
  les antigéniques multiples

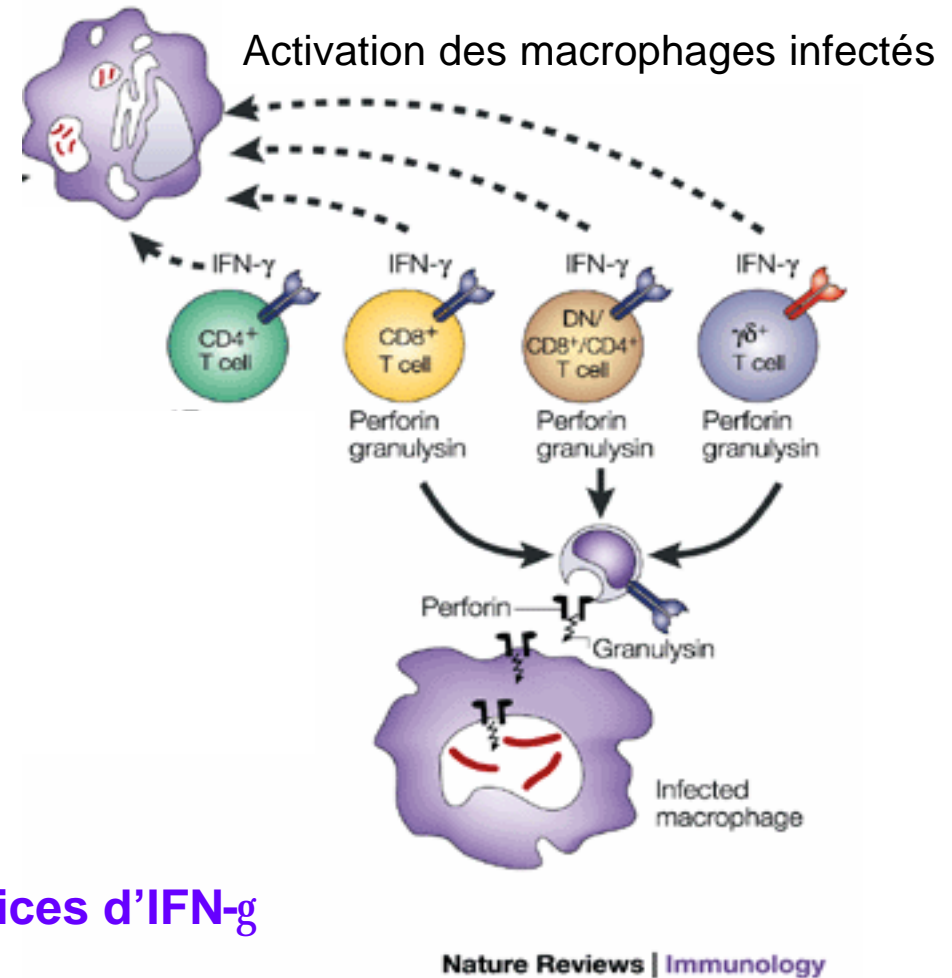


### Contrôle immunitaire de *Mtb*

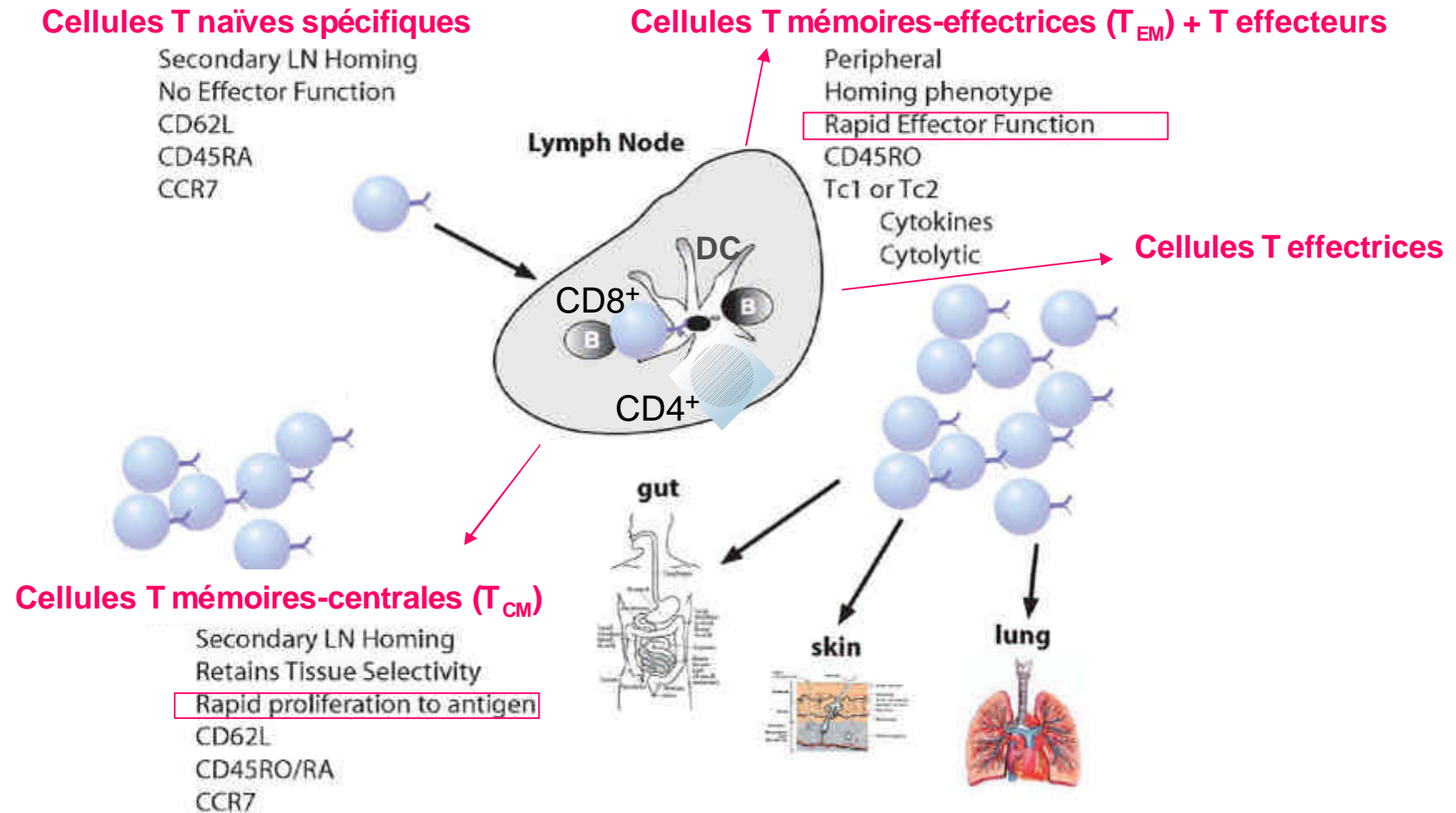


Interaction macrophages et des  
cellules T CD4<sup>+</sup> spécifiques productrices d'IFN-g  
→ formation du granulome

cellules T spécifiques productrices d'IFN-g  
→ contrôle des macrophages infectés



# Diversité fonctionnelle des cellules T générées en réponse à l'infection par *Mtb*



## Présence ? Proportion ? en cellules $T_{CM}$ , $T_{EM}$ et effectrices dans les différentes situations hôte/ *Mtb*

- Contact récent
- Infection ancienne
- Infection traitée
- Réactivation
- Tuberculose maladie
- Maladie tuberculeuse traitée

## Rationnel des 2 nouveaux tests commercialisés :

- si immunisation : ↗ fréquence des cellules T spécifiques de *MTb*
- stimuler *in vitro* par des Ag spécifiques de *MTb* les lymphocytes T sanguins et mesurer leur production d'IFN- $\gamma$

### Facteurs contrôlant leur spécificité :

Génome de mycobactéries pathogènes et non pathogènes :

#### → Identification d'une Région de Différence 1 (RD-1)

- présente dans les isolats cliniques de *MTb*
- absente des souches vaccinales BCG
- absente dans la plupart des MNT (sf *M kansasii*, *M marinum*, *M szulgai*)

#### → 3 Ag spécifiques de *MTb* codés par RD-1 et inclus dans les tests *in vitro* :

- **ESAT-6** (Early Secretory antigenic target protein)
- **CFP-10** (Culture Filtrate Protein 10)
- **TB 7.7**

### Facteurs contrôlant leur sensibilité :

- Présence d'un nombre suffisant de cellules T spécifiques de ESAT-6 ou CFP-10 ou TB7.7
- Cellules T spécifiques capables de produire rapidement l'IFN- $g$

Rq : Proportion ? en cellules  $T_{CM}$ ,  $T_{EM}$  et effectrices dans les différentes situations hôte / *MTb*

**IDR**

Ag = **Tuberculine (PPD)**

- Surnageant de culture de *Mtb*,
- >200 protéines partagées par *M tuberculosis*, *M Bovis*, *BGC*, *M atyp*
- Lots non standardisés

**J0**



Si contact avec mycoB (*Mtb*/BCG/*atyp*) et sujet immunocompétent  
 Réaction d'HSR = recrutement local des cell. T mémoires spécifiques des mycobactéries + (effet booster)

**72H**



**non spécifique**

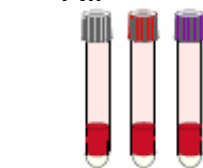
**Tests *in vitro* de détection de la production d'IFN-g**

**QuantiFERON-TB Gold™ in tube**

(3<sup>ème</sup> génération) (Cellestis)

- Recueil sanguin : 3 tubes de 1ml
  - Nil : contrôle Nég
  - TB = ESAT-6 + CFP-10 + Tb7.7
  - PHA : contrôle positif
- Dosage sur sang total

Nil TB PHA

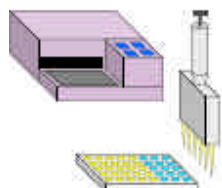
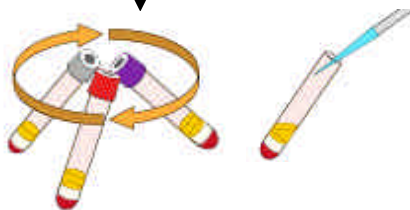


← 16H

**J0**

Nil TB PHA

**Incubation 24H, 37°C**



**ELISA IFN-g**

**2- 48H : taux IFN-g (UI/ml)**

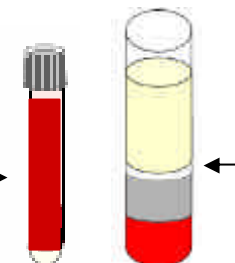
*Approche aisée*

*Spécificité  
 Reproductibilité  
 Objectivité*

**T-SPOT-TB™**

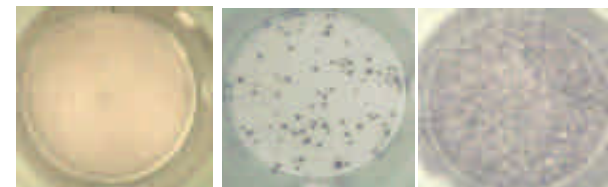
(Oxford Immunotec)

- Recueil sanguin : 10 ml
- Etape d'isolement des CMN



- Normalisation Nb lymphocytes
- Culture 24H dans puits avec :
  - Nil : contrôle Nég
  - TB = ESAT-6 + CFP-10
  - PHA : contrôle positif (puits coatés avec Ac anti-IFN $\gamma$ )

Nil TB PHA



**ELISPOT IFN-g**

**24-48H : numération SFC (Spot Forming Cells)**

*Approche plus complexe*

## Comment interpréter un QT-TB Gold / T-SPOT. TB



**Résultat Négatif** = basse fréquence des cellules  $T_{EM}$  et effectrices spécifiques de *MTb*

Vrai Négatif :

- **Absence de contage tuberculeux**

*Intérêt spécificité +++ des Ag de ces tests (cf 65% IDR+ liées à une vaccination)*

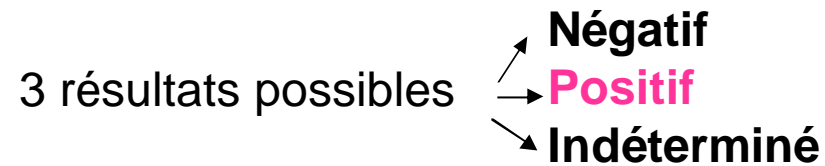
Faux Négatif : → pb de sensibilité

- **contage tuberculeux ancien** (voire éradication des *MTb* ?)
  - fréquence trop faible des cellules  $T_{EM}$  et effectrices ?
  - cf stimulation brève ... > délai insuffisant pour activation des  $T_{CM}$  et génération nvx effecteurs*

**Question** : Conséquences de ces Faux Nég ? Risque ou non de réactivation ?

- **immunoincompétence**
  - Cf 10 à 25% de TM à IDR nég
- **choix des antigènes**
  - pb de présentation par le CMH dans certaines ethnies ?
- **intérêt ajout autres Ag (latence) ?**

## Comment interpréter un QT-TB Gold / T-SPOT. TB



**Résultat Positif** = fréquence élevée des cellules T<sub>EM</sub> et effectrices, spécifiques de *MTb*

### Vrai positif

• *contage responsable d'une stimulation de l'immunité cellulaire du patient par MT*

• **Attention : résultat qualitatif**

- Pas de distinction entre :

- infection tuberculeuse / Tuberculose maladie

- Infection récente / ancienne

- Résultat positif ? Protection

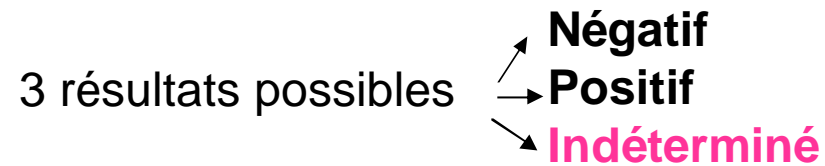
? Risque évolutif vers TM

*Question : évolution de la positivité des tests en cours et après traitement ?*

**Faux positif** → pb de spécificité

Epitopes partagés par 3 mycob. atypiques (*M kansasii*, *M marinum*, *M szulgai*)

## Comment interpréter un QT-TB Gold / T-SPOT. TB



**Résultat indéterminé :** → production insuffisante d'IFN- $\gamma$  en présence de PHA

- plus fréquent chez enfants, ID
- Nb résultats indéterminés avec QT-TB > T-SPOT.TB
  - T-SPOT.TB → ajustement de la concentration lymphocytaire
  - concentration en PHA > pour le T-SPOT.TB

→ *évaluation % résultats indéterminés pour ces 2 tests dans ces groupes de patients*

## Performances globales des tests sanguins / IDR

### IDR

### QT-TB Gold / T-SPOT. TB

Spécificité (évaluée chez des sujets en bonne santé)

Peu spécifique :  
60%\*

**Très spécifique :**  
96%\*

Sensibilité (évaluée chez des sujets TB ou ayant eu un contact étroit avec TB)

73%\* (IDR=10mm)

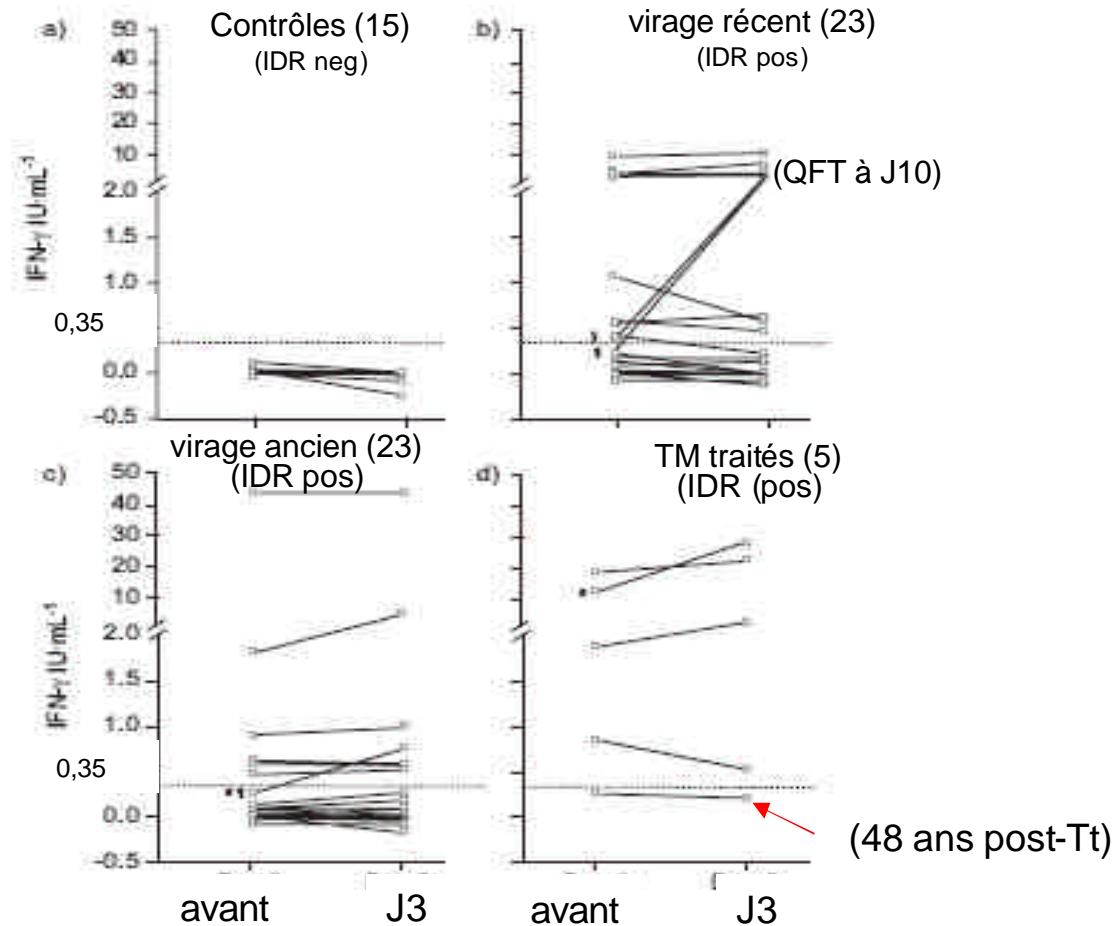
aussi sensible (~ 80%\*)

*\*Menzies, Annals of Internal Medicine, 2007*

**Pb** : évaluation sensibilité pour la tuberculose infection : absence de gold standard ...

## Influence de l'IDR et de son effet boosting sur les résultats des tests sanguins? (Cf stratégie de réalisation des tests de détection de la production d'IFN-g ...)

### QTF-GIT



Leyten E., *Eur Resp. J*, 2007

Concordance : 95,5 %

- 4,4% : neg → pos

- 4,8% : pos → neg

Absence d'effet boosting de l'IDR à J3 sur le QFT-GIT (id° à 3 mois)

	Study subjects	QFT-GIT results				
		Before TST		After TST <sup>b</sup>		Difference <sup>c</sup>
		No.	No. (%) positive	No. (%) positive	P-value	
TST -	15	0 (0)	0 (0)	n.s.		
(37 non BCG / 46) TST + <sup>d</sup>	46	17 (37)	18 (39)	n.s.		
recent exposure	23	11 (48)	11 (48)	n.s.		
remote exposure/screening	23	6 (26)	7 (30)	n.s.		
Cured TB	5	4 (80)	4 (80)	n.s.		
Total	66	21 -	22 -	n.s.		

Leyten E., *Eur Resp. J*, 2007

Origine sensibilité QTF-GIT < IDR ?

Sensibilité ↗↗ incubation 24h → ELISA ou ELISPOT à J6

Présence ou non de *M. tuberculosis* vivants pour les inf. anciennes QTF-GIT nég ?  
*Conséquences en terme de stratégie thérapeutique ...*