

Validatie van Interferon Gamma Release Assays (IGRA) op ingevroren Perifere Bloed Mononucleaire Cellen (PBMC)

Gepubliceerd: 19-05-2010 Laatste bijgewerkt: 02-05-2024

Het vaststellen van het effect van invriezen van PBMC*s op de testuitslag van de IGRA.

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving nog niet gestart
Type aandoening	Mycobacterium-infectieziekten
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON34928

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

VIP studie

Aandoening

- Mycobacterium-infectieziekten

Synoniemen aandoening

Latente of actieve tuberculose

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: GGD Amsterdam

Overige ondersteuning: Uit eigen middelen;vrijgemaakt voor Research and Development

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: IGRA, ingevroren, PBMC

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Quantiferon TB-gold:

De QFT meet de hoeveelheid geproduceerde interferon gamma en rapporteert een testindex ten opzichte van de negatieve controle. Volgens de handleiding van de fabrikant is een testindex >0.35 positief. Aangezien met de QFT het aantal PBMC*s in het veneuze bloed normaal gesproken niet gekwantificeerd worden, zullen wij de test herhalen met een geteld aantal verse PBMC*s (± 600.000 cellen) die over zijn na het inzetten van de T-spot. Dit stelt ons in staat de index te vergelijken met de QFT met de ingevroren PBMC*s die met datzelfde aantal zal worden getest.

Vergelijking verse versus ingevroren PBMC*s:

- Indien de index bij positieve monsters voor en na invriezen meer dan 40% verschilt, maar beide monsters wel positief zijn spreken we van een *minor error*
- Een afwijkende index die het testresultaat kwalitatief beïnvloed zal als *major error* worden geëvalueerd

T-spot TB:

De T-spot visualiseert de hoeveelheid geproduceerde interferon gamma als spikkels (spots) op een witte achtergrond. Volgens de handleiding van de fabrikant is een test met >6 spots positief.

Vergelijking verse versus ingevroren PBMC*s:

- Een afwijking in spots >30% die niet leidt tot een andere interpretatie zal

als *minor error* worden geëvalueerd

- Een afwijking in spots die het testresultaat kwalitatief beïnvloed zal als

major error worden geëvalueerd

Secundaire uitkomstmaten

niet van toepassing

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Ongeveer een derde van de wereldbevolking is geïnfecteerd met *Mycobacterium tuberculosis*, waarvan de grote meerderheid een latente tuberculose-infectie heeft (LTBI). Ongeveer 5% van de immunocompetenten met LTBI zullen binnen twee jaar actieve tuberculose ontwikkelen en nog eens 5% gedurende hun leven. Deze schattingen zijn echter gemaakt met behulp van de Mantoux of Tuberculin Skin Test (TST), die vaak foutpositieve reactiviteit geeft. Het reële progressiepercentage kan dus hoger liggen. Ook bij immunodeficiëntie ligt dit progressiepercentage vele malen hoger, ongeveer 10% per jaar [1,2]

Vanaf de laat 80er jaren werd gezocht naar een specifieke test voor het aantonen van LTBI, gebaseerd op een interferon gamma respons na stimulatie met tuberculose antigenen. In 2004 leidde dat tot de eerste grote publicaties over gecommercialiseerde IGRA testen voor medische toepassing. [2, 3]

Het testprincipe van de IGRA test voor tuberculose is dat volbloed (Quantiferon TB-gold, Cellestis, QFT) of PBMC*s (T-spot TB, Oxford immunotec, T-spot) geïncubeerd worden met *Mycobacterium tuberculosis* specifieke antigenen. Indien er *Mycobacterium tuberculosis* specifieke lymfocyten aanwezig zijn zullen die aangezet worden tot interferon gamma productie. Interferon gamma wordt vervolgens aangetoond door middel van een ELISA. [2, 4] Welk van beide testen superieur is bij de diagnostiek van LTBI is nog niet duidelijk. Op basis van enkele studies wordt aangenomen dat de T-spot een hogere gevoeligheid heeft in patiënten met een immunodeficiëntie ten opzichte van de QFT.

Helaas is er geen gouden standaard voor de diagnose LTBI, waardoor de waarde van de IGRA in deze setting nog niet is uitgekristalliseerd. Voor het bepalen van de voorspellende waarde voor LTBI die tot actieve infectie ontwikkelt zijn

longitudinale studies nodig. [4] Het Amsterdamse drugscohort is een unieke mogelijkheid om een dergelijke studie uit te voeren, door enerzijds de aanwezigheid van opgeslagen PBMC*s, en anderzijds een uitstekende klinische follow-up.

In het kader van Research and Development is op de GGD Amsterdam een projectaanvraag gehonoreerd voor het onderzoeken van de voorspellende waarde van de IGRA bij deelnemers aan het Amsterdam Druggebruiker Cohort. Deze studie heeft de naam "Betekenis van de Interferon Gamma Release Assay (IGRA) voor het voorspellen van actieve Mycobacterium tuberculosis infectie bij HIV negatieve en HIV positieve deelnemers aan het Amsterdamse Drugs Gebruikers Cohort".

Het huidige protocol betreft een validatiestudie en dient als *proof of principle* voordat opgeslagen materialen van het Amsterdam Druggebruikers Cohort zullen worden opgevraagd. De IGRA is namelijk alleen gevalideerd op verse bloedmonsters. Om de opgeslagen PBMC*s niet zonder meer te onderwerpen aan een niet-gevalideerde test voeren wij eerst deze validatiestudie uit; de resultaten gebruiken wij om te besluiten wel of niet door te gaan met de voorgenomen studie en zo ja, welke IGRA daarvoor het meest geschikt is.

1. World Health Organisation. Global Tuberculosis Control: Surveillance, planning, financiën. WHO report 2005, Geneva, Zwitserland (2005).
2. Rothel JS, Andersen P. Diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: is the demise of the Mantoux test imminent? Expert Rev. Anti Infect Ther. 2005; 3: 981-993.
3. Pai M, Liley LW, Colford JM, et al. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2004; 4: 761-776.
4. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Ann int med 2007; 146: 340-354.

Doel van het onderzoek

Het vaststellen van het effect van invriezen van PBMC*s op de testuitslag van de IGRA.

Onderzoeksopzet

De op het Streeklab routinematig uitgevoerde IGRA test (QFT) en de T-spot TB test, die eveneens commercieel verkrijgbaar is, zullen gevalideerd worden op ingevroren PBMC*s. Op de afdeling tuberculosebestrijding van de GGD zullen ongeveer 20 vrijwilligers (patiënten) gezocht worden met en zonder Mantoux omslag en met en zonder BCG vaccinatie in het verleden, die bloed willen

afstaan voor deze validatie. De vrijwilligers zullen worden gezocht onder bekende tuberculosepatiënten die voor controle komen en patiënten met een actieve tuberculose (voor de 15 positieve IGRA resultaten) en vrijwilligers die komen in verband met contactopsporing (lage verdenking tuberculose voor 5 negatieve IGRA resultaten). Na afname van informed consent zal bij deze vrijwilligers 22 ml veneus bloed worden afgenomen in 5 buisjes. Vers bloed zal volgens de testhandleiding van de fabrikant meteen geanalyseerd worden; een tweede set buisjes zal ingevroren worden in vloeibaar stikstof op het AMC en na 1 maand ontdooid en geanalyseerd worden. Op grond van deze validatie zal bepaald worden welke test in aanmerking komt voor het verdere onderzoek. Indien beide testen een goede performance laten zien op het ingevroren materiaal zullen beide testen gebruikt worden, aangezien tot nu toe niet duidelijk is welke IGRA test voor dit doeleinde het meest geschikt is [5].

Indien de resultaten met de opgeslagen PBMC*s niet kwalitatief afwijken van de resultaten op vers bloed wordt de validatie nog eenmaal herhaald als de PBMC*s een jaar lang zijn ingevroren geweest.

5. Franken WPJ, Koster BFPJ, Bossink AWJ, et al. Follow-up study of tuberculosis-exposed supermarketcustomers with negative tuberculin skin test results in association with positive gamma interferon release assay results. Clinical and vaccine immunology 2007; 14: 1239-41.

Inschatting van belasting en risico

15 Minuten voor patienteninformatie en toestemmingsverklaring en een venapunctie. Er is geen sprake van extra onderzoek of belasting. Er zijn geen extra risico's in geval van zwangerschap. Tijdens het afnemen van bloed kan zich een blauwe plek vormen.

Contactpersonen

Publiek

GGD Amsterdam

Nieuwe Achtergracht 100
1018 WT Amsterdam
NL

Wetenschappelijk

GGD Amsterdam

Nieuwe Achtergracht 100
1018 WT Amsterdam
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

wel/geen (doorgemaakte) tuberculoseinfectie

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Leeftijd < 18 jaar
Immunosuppression due to disease or medication

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd

Controle:	Actieve controle groep
Doel:	Diagnostiek

Deelname

Nederland	
Status:	Werving nog niet gestart
(Verwachte) startdatum:	01-03-2010
Aantal proefpersonen:	20
Type:	Verwachte startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC Amsterdam UMC

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL30966.018.10