

# Primjena testa otpuštanja interferona gama (IGRA) u imunodijagnostici tuberkuloze

## The use of an interferon gamma release assay (IGRA) in the immunodiagnosis of tuberculosis

Brigita Tićac<sup>1\*</sup>, Jasmina Mahmić<sup>1</sup>, Sandra Barac<sup>2</sup>, Vojko Rožmanić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Katedra za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

<sup>2</sup>Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije u Rijeci, Mikrobiološki odjel, Rijeka

<sup>3</sup>Katedra za pedijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Primljeno: 19. 2. 2015.

Prihvaćeno: 24. 3. 2015.

### \*Dopisni autor:

Prof. dr. sc. Brigita Tićac, dr. med.  
Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju,  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci  
Mikrobiološki odjel, Nastavni zavod za javno  
zdravstvo Primorsko-goranske županije  
Krešimirova 52a, 51 000 Rijeka  
e-mail: brigita.ticac@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

**Sažetak. Cilj:** Otkrivanje latentne tuberkuloze sukladno nacionalnim smjernicama uključuje procjenu rizika, radiografsku pretragu, izvođenje tuberkulinskog kožnog / PPD testa (PPD – purificirani proteinski derivat) i/ili novijeg *ex vivo* testa otpuštanja interferona gama (engl. *Interferon Gamma Release Assay* – IGRA). U radu je analizirana dinamika izvođenja i rezultati dobiveni dijagnostičkom primjenom imunoenzimske IGRA pretrage na *M. tuberculosis*. **Metode:** Izvršena je retrospektivna analiza rezultata Quantiferon-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) testiranja provedenih u Laboratoriju za dijagnostiku tuberkuloze Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije (Hrvatska). **Rezultati:** U sedmogodišnjem razdoblju (2007. – 2013.) u Laboratoriju za dijagnostiku tuberkuloze primjenom QFT-GIT testa analizirano je 2.110 uzoraka krvi pacijenata koji su pripadali različitim dobnim skupinama (od dobi od mjesec dana do 95 godina;  $\bar{x}$  = 41,9 godina; SD = 29,1; mod 56 godina). Rezultati analize su bili pozitivni u 585 (27,7 %), negativni u 1.498 (71 %) uzoraka, a u 27 (1,3 %) izvršenih pretraga su bili neodredivi. Pozitivni nalazi podjednako su zastupljeni u pretragama izvršenim za muškarce (29 % od 1.058 pretraga) i žene (26 % od 1.052 pretrage). Veća zastupljenost pozitivnih nalaza zabilježena je u osoba starijih od 56 godina, napose u dobnj skupini od 81 do 85 godina (61 % od 44 pretrage). Prema uputnoj dijagnozi pozitivni nalazi su zastupljeniji kod hiperreaktora (40,5 % od 84 analize), TB kontakata (35,1 % od 464 analize) i zdravstvenih radnika (34,9 % od 43 analize). **Rasprava i zaključci:** Primjena *in vitro* IGRA QFT-GIT testa u kombinaciji s konvencionalnim metodama danas je prepoznata kao dijagnostički postupak koji ima značajnu ulogu u otkrivanju LTB-a, što predstavlja važan korak u prevenciji tuberkuloze, posebice kod rizičnih skupina.

**Gljučne riječi:** latentna infekcija; testovi otpuštanja interferona gama; tuberkuloza

**Abstract. Aim:** Tuberculosis (TB) remains a major global public health problem. Screening for latent tuberculosis infection (LTB) usually involves risk assessment, chest X-ray, the tuberculin skin/PPD (Purified Protein Derivate) test, and/or interferon-gamma release assay (IGRA), according to country-specific guidelines. This paper describes the frequency of application and the results obtained by enzyme-linked immunosorbent IGRA assay for *M. tuberculosis*. **Methods:** We conducted a retrospective analysis of the results obtained using Quantiferon-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) analysis at the Laboratory for the diagnosis of tuberculosis – Teaching Institute of Public Health County Primorsko-goranska (Croatia). **Results:** In the seven-year period (2007–2013) QFT-GIT analysis were processed in 2110 blood samples of patients from different age groups (aged 1 month–95 years;  $\bar{x}$  = 41.9 years; SD = 29.1; mode 56 years). Results were positive in 585 (27.7 %) samples, whereas negative results were found in 1498 (71 %) cases, and in 27 (1.3 %) samples the results were indeterminate. Positive results were distributed equally among males (29 % of 1058 samples) and females (26 % of 1052 samples). Higher incidence of positive results was observed in people over the age of 56, especially in the age group between 81–85 years (61 % of 44 tests). Positive results were most common in the group of hyperreactors (40.5 % of 84 tests) then in TB contacts (35.1 % of 464 tests), as well as health workers (34.9 % of 43 tests). **Discussion and Conclusions:** Applying *in vitro* IGRA QFT-GIT test in combination with conventional methods is recognized as a diagnostic method that plays an important role in uncovering LTB and as such represents an important step in prevention of tuberculosis, especially in high-risk groups.

**Key words:** interferon-gamma release tests; latent infection; tuberculosis

## UVOD

Tuberkuloza još uvijek predstavlja važan globalni zdravstveni problem. Gotovo jedna trećina svjetske populacije zaražena je *Mycobacterium tuberculosis*, a 2013. godine u svijetu je zabilježeno 9 milijuna novih pacijenata s aktivnom tuberkulozom i 1,5 milijuna smrtnih slučajeva<sup>1</sup>. Iako se u našoj zemlji zamjećuje dugogodišnji trend smanjenja učestalosti tuberkuloze, Hrvatska se još uvijek svrstava u red europskih zemalja sa srednje visokom incidencijom i još nije dostignula nacionalnom strategijom zacrtanu stopu ispod 10 novooboljelih na 100.000 stanovnika<sup>2,3</sup>.

S ciljem prevencije tuberkuloze u našoj zemlji se, u skladu s nacionalnim smjernicama, kontinuirano provodi BCG cijepljenje te kemoprofilaksa ili liječenje latentne tuberkuloze kod osoba s povećanim rizikom od obolijevanja<sup>4</sup>. Kako bi se postigla željena niska stopa incidencije i konačno eliminacija tuberkuloze, potreban je agresivniji pristup u obradi kontakata s ciljem ranog otkrivanja i pravovremenog liječenja pacijenata te otkrivanja i provođenja zdravstvenog nadzora i kemoprofilakse osoba s latentnom infekcijom (LTB). U dijagnostici LTB-a, odnosno otkrivanju stanicama posredovanog imunog odgovora na *M. tuberculosis* čitavo stoljeće se u praksi primjenjuje tuberkulinski kožni ili PPD test (PPD – purificirani proteinski derivat). Novost i napredak u dijagnostici LTB-a predstavljaju *ex vivo* krvni testovi otpuštanja interferona gama (engl. *Interferon Gamma Release Assay* – IGRA). IGRA testovi temelje se na dokazu imunog odgovora na antigene koje kodiraju geni prisutni u RD-1 (engl. *Region of Difference 1*) regiji genoma kod svih članova *M. tuberculosis* kompleksa, a koji se ne nalaze u *M. bovis*, BCG soju niti u većini atipičnih mikrobakterija (izuzev *M. kansasii*, *M. marinum* i *M. szulgai*)<sup>5</sup>. Multicentrična studija Centra za kontrolu bolesti (engl. *Centres for Diseases Control* – CDC), potvrdila je da postoji dobra korelacija rezultata IGRA i PPD testova, te se *in vitro* krvni testovi otpuštanja interferona gama mogu koristiti u svim indikacijama u kojima se koristi i tuberkulinski test<sup>6,7</sup>.

U komparaciji s PPD testom, IGRA testovi se odlikuju boljom specifičnošću i ekvivalentnom osjetljivošću za dijagnozu nedavne infekcije bacilom tuberkuloze tijekom obrade TB kontakata, naroči-

to kod osjetljivih skupina u populaciji kod kojih se aktivna tuberkuloza višestruko učestalije razvija s većom mogućnošću nagle propagacije bolesti. U osjetljive skupine ubrajaju se prije svega kontakti s oboljelima od plućne ili laringealne tuberkuloze, posebice djeca mlađa od 5 godina i imunokompromitirani (HIV, transplantacija organa i imunosupresivna terapija, kortikosteroidno liječenje duže od 2 – 4 tjedna, biološka terapija protutijelima za čimbenik tumorske nekroze alfa – anti-TNF-alfa), pacijenti sa zloćudnim novotvorinama (leuke-

Otkrivanje latentne tuberkuloze (LTB) sukladno nacionalnim smjernicama uključuje procjenu rizika, radiografsku pretragu, izvođenje tuberkulinskog kožnog / PPD testa (PPD – purificirani proteinski derivat) i/ili novijeg *ex vivo* testa otpuštanja interferona gama (engl. *Interferon Gamma Release Assay* – IGRA).

mija i limfom, karcinom glave ili vrata i pluća), pacijenti s gastrektomijom, prenosnicom crijeva, silikozom, kroničnim zatajenjem bubrega, hemodijalizom, dijabetesom melitusom te pušači i neuhranjene osobe<sup>8-12</sup>. Testovi kao što su PPD i IGRA temelje se na detekciji stanicama posredovanog imunološkog pamćenja infekcije, stoga se samostalno ne koriste za izravno dokazivanje tuberkuloze, već se u indiciranim slučajevima izvode u kombinaciji s anamnestičkim, kliničkim, radiološkim i izravnim mikrobiološkim dijagnostičkim postupcima. Isključenje tuberkuloze i prognoza LTB-a u svakom pojedinačnom slučaju iziskuje zajedničku procjenu prikupljenih epidemioloških, kliničkih, radioloških i mikrobioloških nalaza<sup>13-15</sup>.

## MATERIJALI I METODE

U radu su retrospektivno analizirani rezultati IGRA Quantiferon-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) testiranja izvršenih u Laboratoriju za dijagnostiku tuberkuloze u razdoblju od 1. siječnja 2007. do 31. prosinca 2013. godine koji su pohranjeni u računalnoj bazi medicinske dokumentacije Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije u Rijeci.

U laboratoriju su izvođene pretrage uzoraka pune krvi izvanbolničkih i hospitaliziranih pacijenata s

područja Primorsko-goranske i drugih hrvatskih županija (Istarska, Ličko-senjska, Karlovačka, Splitsko-dalmatinska, Zagrebačka). U sedmogodišnjem razdoblju izvršeno je 1.058 QFT-GIT analiza uzorka koje su na pretragu dostavili muškarci i 1.052 analize uzorka koja su dale žene.

Statistička obrada podataka provedena je primjenom statističkog programskog paketa Statistica for Windows, verzija 10,0 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK, SAD). Podaci su analizirani deskriptivno. Kategorijske varijable prikazane su kao učestalost

IGRA – QuantiFERON test (QuantiFERON-TB Gold In-Tube, Cellestis Ltd., Australia) je imunoenzimski test (engl. *Enzyme – Linked Immunosorbent Assay – ELISA*) kojim se određuje oslobađanje interferona gama (IFN- $\gamma$ ) u hepariniziranoj krvi senzibiliziranih osoba nakon inkubacije s mješavinom sintetskih *M. tuberculosis* peptida.

(%). Normalnost raspodjele za dob ispitana je pomoću Kolmogorov-Smirnovljevog testa. Sukladno raspodjeli dob ispitanika prikazana je kao aritmetička sredina, mod, standardna devijacija te raspon.

Svi postupci provedeni su u skladu s etičkim standardima povjerenstava nadležne institucije (Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Rijeka).

#### Postupak uzimanja i pohranjivanja uzoraka

Puna krv ispitanika muškog i ženskog spola u dobi od mjesec dana do 95 godina prikupljena je vena-punkcijom pomoću setova namijenjenih za izvođenje testa (QuantiFERON – TB Gold Blood Collection Tubes, Cellestis, QIAGEN, Njemačka) u količini od 1 ml po epruveti. Uzorci su u laboratorij transportirani na sobnoj temperaturi (22 °C  $\pm$  5 °C), u uspravnom položaju unutar 16 sati od uzorkovanja. U prvoj fazi izvođenja testa, krv pacijentata i stimulirajući sintetički peptidi inkubirani su na 37 °C kroz 16 do 24 sata. Odvajanje plazme izvršeno je sukladno preporukama proizvođača. Svi ispitivani uzorci pohranjeni su na –20 °C.

#### Laboratorijska metoda

QFT-GIT test (QuantiFERON-TB-Gold In-Tube Method, Cellestis, QIAGEN, Njemačka) je *in vitro*

dijagnostički test namijenjen utvrđivanju T-staničama posredovane imunosti na *M. tuberculosis*. Testom se kvantitativno u plazmi pacijenata određuje koncentracija IFN- $\gamma$  oslobođenog iz senzibiliziranih limfocita nakon inkubacije uzorka pune krvi u prisutnosti antigena specifičnih za *M. tuberculosis* kompleks (engl. *Early Secreted Antigenic Target 6 – ESAT-6, Culture Filtrate Protein 10 – CFP-10 i TB7.7 (p4)*).

#### Imunoenzimsko testiranje

Priprema i testiranje uzorka izvršeno je prema uputama proizvođača. Optička gustoća (engl. *Optical Density – OD*) određivana je uporabom automatiziranog čitača apsorbancije (TECAN Sunrise Absorbance Reader, Švicarska), opremljenim fotometrom s referentnim filterima (450, 620 i 650 nm). Prilikom svake serije imunoenzimskih pretraga komercijalni QuantiFERON IFN- $\gamma$  standard, serijski razrijeđen u četiri koncentracije (4, 1, 0,25 i 0 IU/mL), testiran je u triplikatu zbog konstruiranja standardne krivulje. U izračunavanju i interpretaciji rezultata primjenjivan je računalni program (QuantiFERON – TB GOLD Analysis Software, Cellestis, Ltd.). Za svakog ispitanika određivana je koncentracija IFN- $\gamma$  u plazmi prikupljenoj u negativnoj kontrolnoj epruveti (Nil), epruveti s dodatkom TB antigena (TB) te pozitivnoj kontrolnoj epruveti (Mitogen). Usporedbom utvrđenih koncentracija IFN- $\gamma$  nalazi testiranja su, sukladno preporuci proizvođača (Product Package Insert, QuantiFERON-TB GOLD In Tube results; Cellestis, Ltd.) zaključeni kao negativni, pozitivni ili neodredivi (nejasni). Neodredivi nalazi najčešće su uzrokovani izostankom reakcije u pozitivnoj kontroli uslijed neadekvatnog odgovora T-limfocita na stimulaciju mitogenom (imunokompromitirane osobe, tehničke pogreške kod transporta i čuvanja uzorka) ili previsokih koncentracija IFN- $\gamma$  u negativnoj kontroli.

#### REZULTATI

U Laboratoriju za dijagnostiku tuberkuloze Mikrobiološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo u sedmogodišnjem razdoblju izvršeno je ukupno 2110 QFT-GIT pretraga. Rezultati pretrage su bili pozitivni u 585 (27,72 %) analiza, negativni u 1.498 (71,01 %) i neodredivi u 27 (1,27 %) izvršenih analiza (tablica 1).

**Tablica 1.** Rezultati IGRA – Quantiferon testiranja izvršenih u razdoblju od 2007. do 2013. godine, N = 2110

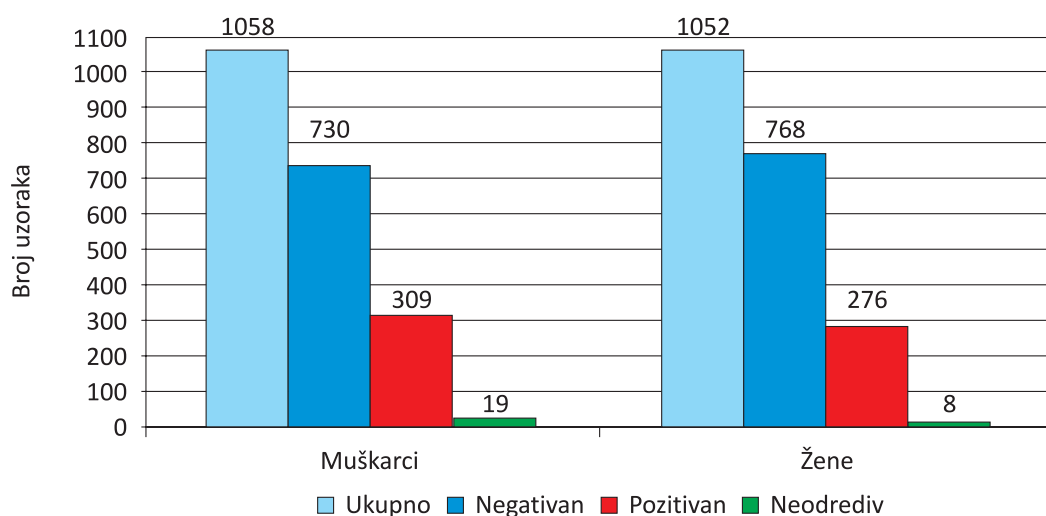
Godina	Nalaz						Ukupno	
	Pozitivan		Negativan		Neodrediv		Broj	%
	Broj	(%)	Broj	(%)	Broj	(%)		
2007.	7	0,33	28	1,33	3	0,14	<b>38</b>	1,80
2008.	54	2,56	125	5,92	4	0,19	<b>183</b>	8,67
2009.	94	4,45	185	8,78	2	0,09	<b>281</b>	13,32
2010.	82	3,89	249	11,80	4	0,19	<b>335</b>	15,88
2011.	140	6,64	333	15,78	6	0,28	<b>479</b>	22,70
2012.	91	4,30	272	12,90	1	0,05	<b>364</b>	17,25
2013.	117	5,55	306	14,50	7	0,33	<b>430</b>	20,38
Ukupno	585	27,72	1498	71,01	27	1,27	2110	100,00

U ispitivanom periodu izvršen je gotovo identičan broj analiza uzoraka koje su na pretragu dostavili muškarci (1.058 ili 50,1 % analiza) i žene (1.052 ili 49,9 % analiza). Nalaz QFT-GIT pretrage bio je pozitivan u 309 (29,2 %), negativan u 730 (34,6 %) i neodrediv u 19 (1,8 %) izvršenih analiza krvi muškaraca. Analizom uzoraka koje su na pretragu dostavile žene pozitivan nalaz zabilježen je u 276 (26,2 %), negativan u 768 (73,0 %), a neodrediv u 8 (0,8 %) uzoraka (slika 1).

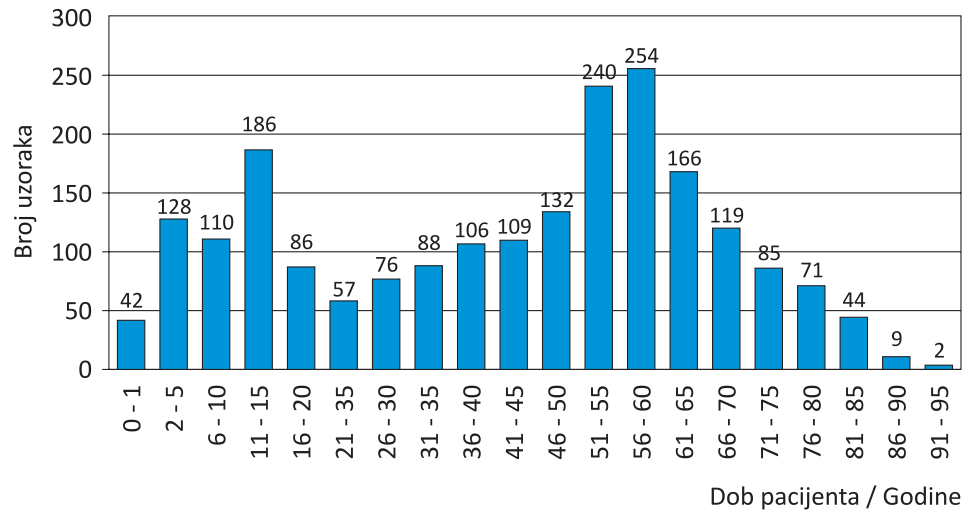
Analizirani su uzorci krvi pacijenata u dobi od jednog mjeseca do 95 godina (srednja vrijednost 41,9 godina; SD = 29,1; mod 56 godina). Najviše pretraga izvršeno je za pacijente u dobi od 56 do 60 godina (254 ili 12 % analiza) te 51 do 55 godina (240 ili 11 % analiza). Gotovo četvrtina (466 ili

22 %) pretraga izvršena je za djecu predškolske i školske dobi od 0 do 15 godina (slika 2).

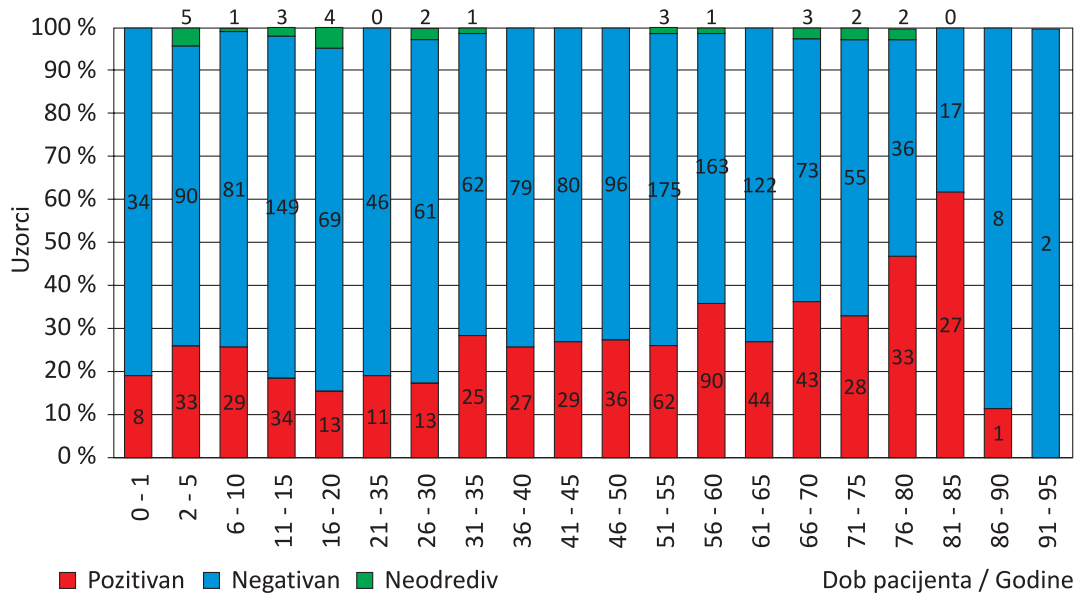
Veća zastupljenost pozitivnih nalaza zabilježena je u osoba starijih od 56 godina, napose u dobnoj skupini od 81 do 85 godina (61 % pozitivnih rezultata od 44 testiranja), a zatim u dobi od 76 do 80 godina (46 % od 71 izvršene pretrage). U predškolskoj i školskoj dobi zastupljenost pozitivnih nalaza kretala se od 18 % (34 pozitivna nalaza od 186 analiza u skupini od 11 do 15 godina) do 25 % (33 pozitivne analize od 128 izvršenih testiranja za djecu od 2 do 5 godina, te 28 pozitivnih nalaza od 110 analiziranih uzoraka krvi djece u dobi od 6 do 10 godina). QFT-GIT test je bio pozitivan u 19 % uzoraka krvi djece mlađe od godine dana (slika 3).



**Slika 1.** Spolna distribucija rezultata IGRA – Quantiferon testova tijekom analiziranog razdoblja (od 2007. do 2013. godine), N = 2110



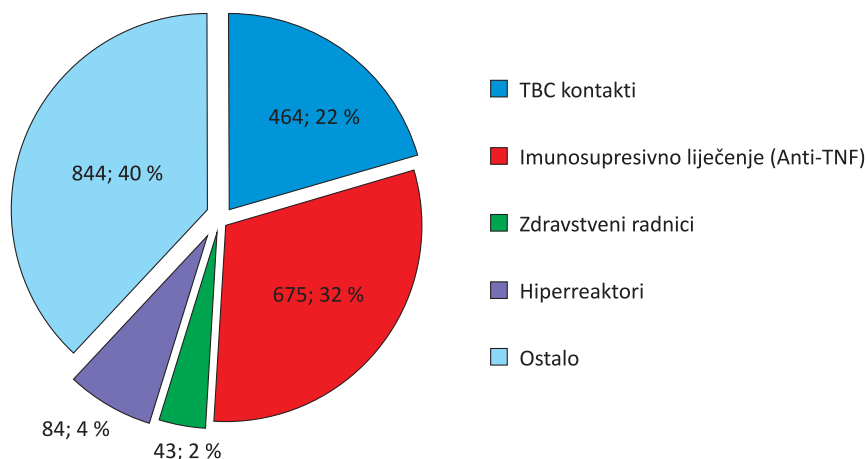
**Slika 2.** IGRA – Quantiferon dijagnostičke pretrage izvršene u analiziranom razdoblju, distribucija s obzirom na dob ispitanika (od 2007. do 2013.), N = 2110



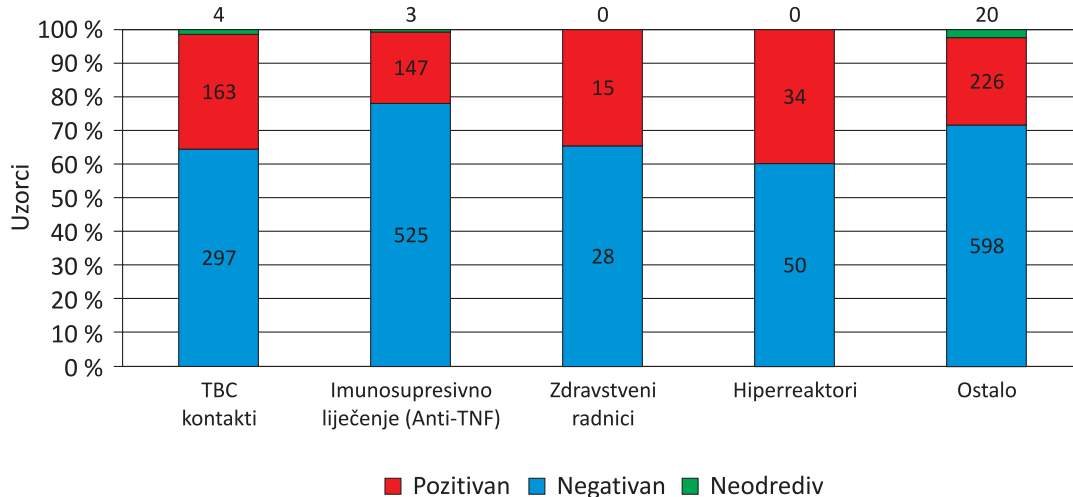
**Slika 3.** Rezultati IGRA – Quantiferon testova, distribucija prema dobi ispitanika (od 2007. do 2013.), N = 2110

Tijekom analiziranog razdoblja 32 % ili 675 QFT-GIT analiza izvršeno je za pacijente s imunosupresivnom terapijom, odnosno pripremom za uvođenje biološke terapije protutjelima za čimbenik nekroze tumora – alfa (anti-TNF-alfa). U 22 % pretraga (464 uzorka) indikacija za izvođenje testa bila je kontakt djece predškolske i školske dobi te drugih osjetljivih osoba s oboljelima od tuberkuloze. Zbog

hiperreakcije prilikom tuberkulinskog testiranja izvršeno je 84 ili 4 % pretraga, a 43 (2 %) uzorka su na pretragu dostavili zdravstveni radnici (slika 4). Pozitivni nalazi su najučestaliji u skupini hiperreaktora (40,5 %) zatim kontakata s oboljelima od aktivne tuberkuloze (35,1 %) kao i u zdravstvenih radnika kod kojih je pozitivan nalaz utvrđen u 34,9 % obrađenih uzoraka (slika 5).



Slika 4. Distribucija testiranih pacijenata prema dijagnozi (od 2007. do 2013.), N = 2110



Slika 5. Rezultati IGRA – Quantiferon testova, distribucija prema dijagnozi ispitanika (od 2007. do 2013.), N = 2110

## RASPRAVA

Hrvatska je zemlja srednje incidencije tuberkuloze s višegodišnjim silaznim trendom pobola ali još uvijek nije dostignula nacionalnom strategijom zacrtanu stopu incidencije ispod 10 novooboljelih na 100.000 stanovnika<sup>2,3</sup>. Kako bi se postigla željena, niska stopa učestalosti potreban je agresivniji pristup u obradi kontakata s ciljem ranog otkrivanja i pravovremenog liječenja pacijenata te otkrivanja i provođenja zdravstvenog nadzora i kemoprofilakse osoba s LTB-om. Iako *zlatni standard* u dijagnostici tuberkuloze i nadalje predstavlja izravno dokazivanje uzročnika, odnosno uzgoj *M. tuberculosis* na čvrstim i tekućim podlo-

gama, primjena imunodijagnostičkih IGRA testova zbog visoke specifičnosti (> 97 %) i osjetljivosti (80 – 90 %) predstavlja napredak u dijagnostici tuberkuloze<sup>16-18</sup>.

Nakon uvođenja testa u laboratorijsku dijagnostiku 2007. godine, kada je analizirano svega 38 ili 1,8 % od 2.110 uzoraka, do 2013. godine, kada je izvršeno 430 pretraga, broj QFT-GIT analiza izvršenih u Laboratoriju za dijagnostiku tuberkuloze Nastavnog zavoda za javno zdravstvo kontinuirano se povećavao. U ispitivanom razdoblju izvršen je gotovo identičan broj analiza uzoraka koje su na pretragu dostavili muškarci (1.058 ili 50,1 % uzoraka) i žene (1.052 ili 49,9 % uzoraka), a analizirani su uzorci krvi pacijenata u dobi od jednog



mjeseca do 95 godina. Najviše pretraga izvršeno je za pacijente u dobi od 51 do 60 godina, a gotovo četvrtina (466 ili 22 %) pretraga izvršena je za djecu predškolske i školske dobi od 0 do 15 godina.

Negativan nalaz QFT-GIT pretrage utvrđen je u 1.498 ili 71,01 % od ukupno pretraženih uzoraka. Nakon stimulacije limfocita sintetskim *M. tuberculosis* peptidima pozitivan nalaz, odnosno povećana koncentracija IFN- $\gamma$ , zabilježen je u 585 (27,72 %) uzoraka. Zastupljenost pozitivnih nala-

Primjenjivanje *in vitro* IGRA testiranja u kombinaciji s konvencionalnim metodama danas je prepoznato kao dijagnostički postupak koji ima značajnu ulogu u otkrivanju LTB-a, što predstavlja važan korak u prevenciji tuberkuloze, posebice kod rizičnih skupina.

za kretala se u vrijednostima od 25 % do 33 % godišnje obrađenih uzoraka, a prosječno je iznosila 27,7 %. Rezultat pretrage bio je pozitivan u 29 % od 1.058 analiza izvršenih za muškarce i 26 % od 1.052 uzorka koje su na pretragu dostavile žene. U svim dobnim skupinama do 55 godina zabilježeno je manje od 30 % pozitivnih nalaza QFT-GIT testa. Veća zastupljenost pozitivnih nalaza zabilježena je u pacijenata starijih od 56 godina, napose u dobnj skupini od 81 do 85 godina (61 %), te od 76 do 80 godina (46 %). Dobiveni rezultati su u skladu s literaturnim podacima o većoj učestalosti LTB-a u starijih generacija koje su rođene u vrijeme veće izloženosti tuberkulozi s dugotrajnom mogućnošću infekcije<sup>2,4</sup>. Tuberkuloza u djece ističe se kao globalni problem zbog kliničkih, epidemioloških i dijagnostičkih osobitosti bolesti. U Hrvatskoj od 2004. godine nije zabilježen niti jedan slučaj tuberkuloznog meningitisa u djece, a 2013. godine stope incidencije tuberkuloze na 100.000 stanovnika u dječjoj dobi kretale su se od 0,5 – 2,1 za djecu od 0 do 4 godine; od 2 – 3,6 za djecu od 5 do 9 godina i 0,8 do 6,3 za djecu od 10 do 14 godina<sup>19</sup>. U dječjoj dobi je zbog slabo izraženih simptoma za postavljanje dijagnoze ključan podatak o izloženosti tuberkulozi, a s obzirom na veći rizik od obolijevanja i teže kliničke manifestacije nužno je provođenje kemoprofilakse izonijazidom prilikom kontakta odnosno infekcije<sup>7,20</sup>. Sto-

ga je za dijagnostiku dječje tuberkuloze uvođenje i rutinska primjena novijih, specifičnih i osjetljivih metoda izuzetno značajna. Prema rezultatima provedene analize QFT-GIT test je bio pozitivan u 19 % uzoraka krvi djece mlađe od godine dana, a u predškolskoj i školskoj dobi zastupljenost pozitivnih nalaza kretala se od 18 % (34 pozitivna uzorka od 186 analiza u skupini od 11 do 15 godina) do 25 % (33 pozitivne analize od 128 izvršenih testiranja za djecu od 2 do 5 godina, te 28 pozitivnih od 110 obrađenih uzoraka krvi djece u dobi od 6 do 10 godina). Zastupljenost neodredivih rezultata QFT-GIT pretraga se prema podacima iz literature kreće od 0 – 16 %<sup>21,22</sup>. Tijekom dijagnostičke primjene u našem laboratoriju zabilježeno je 1,27 % neodredivih rezultata QFT-GIT analizom 2.110 uzoraka. Neodredivi rezultati češće su dobiveni pretragom krvi muških osoba (19 ili 1,8 % pretraga) u usporedbi sa ženama (8 ili 0,8 %). U odnosu na broj izvršenih pretraga po dobnim skupinama neodredivi rezultati bili su najzastupljeniji u dobi od 16 do 20 godina (4,6 %), a analizom uzoraka krvi djece predškolske dobi od 2 do 5 godina neodrediv nalaz utvrđen je u 5 (3,9 %) uzoraka. U djece mlađe od godine dana u sedmogodišnjem razdoblju nije bilo neodredivih nalaza. Prema podacima iz literature s pojavom neodredivih rezultata u dječjoj dobi, slično kao i u odraslih osoba, povezuju se transplantacija organa, primjena imunosupresivnih lijekova, maligne bolesti, primarne imunodeficiencije, akutna tuberkuloza, pneumonija, limfocitopenija (posebice smanjen broj CD4+ stanica), atopija i primjena beta-laktamskih antibiotika<sup>23,24</sup>.

Tijekom sedmogodišnjeg razdoblja pacijenti su upućivani na QFT-GIT pretragu s različitim uputnim dijagnozama. Sukladno nacionalnim smjernicama<sup>4</sup>, najzastupljenije su pretrage uzoraka (675 ili 32 % izvršenih analiza) za pacijente s imunosupresivnom terapijom, odnosno obradom zbog uvođenja biološke terapije protutijelima za čimbenik nekroze tumora – alfa (anti-TNF-alfa). U 22 % pretraga (464 uzorka) indikacija za izvođenje testa bila je kontakt djece predškolske i školske dobi te drugih osjetljivih osoba s oboljelima od tuberkuloze. Zbog hiperreakcije prilikom tuberkulinskog testiranja izvršeno je 64 ili 4 % QFT-GIT analiza, a svega 2 % obrađenih uzoraka

su na pretragu dostavili zdravstveni radnici. Očekivano, pozitivni nalazi najučestaliji su u skupini hiperreaktora (40,5 % od 84 analize), zatim u kontaktata s oboljelima od aktivne tuberkuloze (35,1 % od 464 analize), kao i u zdravstvenih radnika kod kojih je pozitivan nalaz utvrđen u 34,9 % obrađenih uzoraka. Poznato je da zbog profesionalne izloženosti zdravstveni djelatnici imaju povećan rizik za TB infekciju. Učestalost LTB-a kod zdravstvenih djelatnika u nerazvijenim i srednje razvijenim zemljama kreće se između 33 i 79 %, a u visokorazvijenim zemljama do 55 %<sup>25-28</sup>.

## ZAKLJUČAK

Aktivno traženje i liječenje osoba s LTB-om predstavlja put prema eradikaciji bolesti. Svega 5 – 10 % imunokompetentnih osoba s latentnom tuberkulozom tijekom života razvije aktivnu bolest. Djeca i imunokompromitirane osobe imaju veći rizik za razvoj TB-a, a reaktivaciji tuberkuloze pridonose i neka klinička stanja (zloćudne novotvorine, gastrektomija, silikoza, kronično zatajenje bubrega, hemodijaliza, dijabetes) i terapijski postupci.

Imunodijagnostički IGRA testovi uspješno su uvedeni u rutinski rad Laboratorija za dijagnostiku tuberkuloze Nastavnog zavoda za javno zdravstvo u Rijeci, što predstavlja napredak u ranom otkrivanju i liječenju, odnosno kemoprofilaksi osoba s LTB-om kod kojih postoji povećan rizik od progresije infekcije u aktivnu bolest.

Imunoenzimski IGRA testovi se temelje na detekciji stanicama posredovanog imunološkog pamćenja infekcije, stoga ih je za dokazivanje tuberkuloze potrebno izvoditi u kombinaciji s anamnestičkim, kliničkim, radiološkim i izravnim mikrobiološkim dijagnostičkim postupcima, a isključenje tuberkuloze i prognoza LTB-a u svakom pojedinačnom slučaju iziskuje zajedničku procjenu prikupljenih epidemioloških, kliničkih, radioloških i mikrobioloških nalaza.

**Izjava o sukobu interesa:** Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

## LITERATURA

- WHO Global tuberculosis report 2014 [Internet]. World Health Organization: Geneva, 2014 [cited 2014 Nov. 1]. Available from: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/gtbr14\\_main\\_text.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_main_text.pdf)
- Jurčev-Savičević A, Katalinić-Janković V, Gjenero-Margan I, Simunović A, Vidić D, Gunjaca J et al. Epidemiological patterns of tuberculosis in Croatia in the period 1996–2005. *Coll Antropol* 2011;2:523-8.
- Čorak D, Tićac B, Manestar D, Linšak Ž, Malvić G, Tomić-Linšak D et al. Tuberculosis in Primorsko-goranska County from 2010 to 2012 – an epidemiological view. *Medicina Fluminensis* 2014;50:206-12.
- Naputak za suzbijanje i sprječavanje tuberkuloze (NN 083/2012) [Internet]. Narodne novine: Zagreb, 2012 [cited 2013 Sep 17]. Available from: [http://hidra.srce.hr/arhiva/263/89057/narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012\\_07\\_83\\_1931.html](http://hidra.srce.hr/arhiva/263/89057/narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012_07_83_1931.html)
- Jurčev-Savičević A, Katalinić-Janković V, Miše K, Gudelj I. IGRA in screening for LTBI. *Arh Hig Rada Toksikol* 2012;63:49-59.
- Centres for Diseases Control and Prevention. Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States. *MMWR* 2005;54:(RR 15):49-55.
- Centres for Diseases Control and Prevention. Updated Guidelines for Using Interferon Gamma Release Assays to Detect *Mycobacterium tuberculosis* Infection- United States. *MMWR* 2010;59:(RR 5):1-13.
- Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follman F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:65-9.
- Winthrop KL, Siegel JN, Jareb J, Taylor Z, Iademarco MF. Tuberculosis associated with therapy against tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum* 2005;52:2968-74.
- Singh N, Patterson DL. *Mycobacterium tuberculosis* infection in solid-organ transplant recipient: impact and implications for management. *Clin Infect Dis* 1998;27:1266-77.
- Manuel O, Humar A, Preiksaitis J, Doucette K, Shokoples S, Peleg AY et al. Comparison of Quantiferon – TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am J Transplant* 2007;7:2797-801.
- Stalenhoef JE, Alisjahbana B, Nelwan EJ, van der Ven-Jongekrijg J, Ottenhoff TH, van der Meer JW et al. The role of interferon-gamma in the increased tuberculosis risk in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:97-103.
- Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004;4:761-76.
- Mack U, Migliori GB, Sester M, Rieder HL, Ehlers S, Goletti D et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune response to *M.tuberculosis*? A TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2009;33:956-73.
- Migliori GB, Zellweger JP, Abubakar I, Ibraim E, Caminero JA, De Vries G et al. European Union Standards for Tuberculosis Care. *Eur Respir J* 2012;39:807–19.
- Porsa E, Cheng L, Seale MM, Delclos GL, Ma X, Reich R et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:53-8.
- Milotić DM, Popović-Grle S, Katalinić-Janković V, Simunović A. Comparison of new and old tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection (quantiferon and TST). *Lijec Vjesn* 2011;133:396-402.



18. Detjen AK, Keil T, Roll S, Hauer B, Mauch H, Wahn U et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2007;45:322-8.
19. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2013. godinu [Internet]. Hrvatski zavod za javno zdravstvo: Zagreb, 2014 [cited 2014 May 9]. Available from: <http://hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Ljetopis-2013.pdf>.
20. Marais BJ, Schaaf HS. Childhood tuberculosis: an emerging and previously neglected problem. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:727-49.
21. Zrinski Topić R, Zoričić-Letoja I, Pavić I, Dodig S. Indeterminate results of QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay in nonimmunosuppressed children. *Arch Med Res* 2011;42:138-43.
22. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roverisi P et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:631-5.
23. Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, D'Amico R, Meccugni B, Meacci M et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics* 2009;123:419-24.
24. Pavić I, Topić RZ, Raos M, Aberle N, Dodig S. Interferon- $\gamma$  release assay for the diagnosis of latent tuberculosis in children younger than 5 years of age. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30:866-70.
25. Joshi R, Reingold AL, Menzies D, Pai M. Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries: a systematic review. *PLoS Med* 2006;3:2376-91.
26. Seidler A, Nienhaus A, Diel R. Review of epidemiological studies on the occupational risk of tuberculosis in low-incidence areas. *Respiration* 2005;72:431-46.
27. Dodig S, Zrinski Topić R, Živčić J. Latent tuberculosis infection in a subject with diabetes mellitus – a case report. *Biochemia Medica* 2008;18:368-73.
28. Harada N, Nakajima Y, Higuchi K, Sekiya Y, Rothel J, Mori T. Screening for Tuberculosis Infection Using Whole-Blood Interferon- $\gamma$  and Mantoux Testing Among Japanese Healthcare Workers. *Infection Control* 2006;27:442-8.