

# Имунолошки тестови за дијагностиковање туберкулозне инфекције на почетку 21. века

Светлана Кашиковић-Лечић, Слободан Павловић, Весна Куруц, Мирослав Илић

Институт за плућне болести Војводине, Сремска Каменица, Србија

## КРАТАК САДРЖАЈ

Особа инфицирана бацилима туберкулозе може одмах да оболи (примарна туберкулоза), што се дешава код малог броја инфицираних, или да савлада примарну инфекцију (латентни носилац инфекције). Данас у свету око две милијарде људи има латентну туберкулозну инфекцију. Код око 10% њих ће се током живота развити активна туберкулоза. Правовремено откривање латентне туберкулозне инфекције и њено лечење смањују ризик од прерастања инфекције у активно обољење. Туберкулински тест је донедавно био једина скрининг-метода за препознавање особа с туберкулозном инфекцијом. У последњих неколико година развијени су нови тестови *in vitro* за дијагностиковање овог обољења. Они мере ћелијски посредован имуни одговор квантификујући ослобађање интерферона гама из Т-ћелија у одговору на стимулацију антигенима који су специфични за *Mycobacterium tuberculosis* и сензитивнији су и специфичнији од туберкулинског кожног теста. Додуше, представљају само помоћно средство, тј. карику у поступку дијагностиковања туберкулозне инфекције.

**Кључне речи:** туберкулоза; туберкулински кожни тест; интерферон гама тестови

## УВОД

Особа инфицирана бацилима туберкулозе може, у зависности од стања имуног система, одмах да оболи (примарна туберкулоза), што се дешава код малог броја инфицираних, или да савлада примарну инфекцију (латентни носилац инфекције) [1]. Латентна („успавана“) туберкулозна инфекција (ЛТБ инфекција) је супклиничка инфекција у организму који садржи живе, успаване бациле туберкулозе, који се не размножавају. Код носилаца ЛТБ инфекције не постоје симптоми и клинички знаци болести, а само понекад се уочи неки радиолошки знак. Бактериолошким прегледом материјала узетих од носилаца ЛТБ инфекције не може се утврдити постојање микобактерија. Практично, то су потпуно здраве особе. Код особа с ЛТБ инфекцијом током живота може да се развије активна постпримарна туберкулоза (тзв. реактивација, ендогена реинфекција) ако њен имуни систем ослаби, тј. ако не може да спречи размножавање микобактерија у организму. Код особа с активном туберкулозном инфекцијом (АТБ инфекција) постоје симптоми и знаци болести једног или више органа, односно промене на радиограму грудног коша [1]. Правовремено откривање ЛТБ инфекције и увођење хемиопрофилактике особама са значајним ризиком од развоја АТБ инфекције смањују ризик од прерастања ЛТБ инфекције у активно обољење [1].

## ТУБЕРКУЛИНСКИ КОЖНИ ТЕСТ

Од краја деветнаестог века до недавно туберкулински кожни тест (ППД тест; ППД –

пречишћени протеински дериват) је био једина скрининг-метода за препознавање особа са ЛТБ и АТБ инфекцијом. Он подразумева уношење мале количине ППД туберкулина у кожу руке и последично праћење кожно реакције, тј. мерење пречника индурата после 48-72 сата. Туберкулинска реакција је типичан пример одложене, целуларне реакције касне преосетљивости која настаје у кожи после интрадермалне примене ППД туберкулина. Дакле, ППД тест одређује касни тип хиперсензивног одговора (тип IV). Туберкулин ППД (пречишћени протеински дериват) садржи солубилне протеинске убијених бацила туберкулозе (*Mycobacterium tuberculosis*), тј. антигене који се могу препознати како код *M. tuberculosis*, тако и код већине нетуберкулозних микобактерија из окружења, и код *Mycobacterium bovis* (BCG вакцине). Дакле, позитиван ППД тест може бити последица праве инфекције *M. tuberculosis* претходне вакцинације BCG вакцином или изложености нетуберкулозним микобактеријама. ППД тест је једноставан и јефтин тест који не захтева додатна лабораторијска испитивања [1]. Позитиван ППД тест (>5 mm) указује на инфекцију и не подразумева увек постојање АТБ инфекције. Негативан ППД тест не искључује туберкулозну инфекцију. На основу добијених резултата ППД теста дијагноза АТБ инфекције се не може поставити, али ако је ППД реакција веома позитивна [1], неопходна су додатна испитивања због сумње на АТБ инфекцију. Сензитивност и специфичност овог теста *in vivo* условљене су претходном вакцинацијом BCG вакцином, претходном изложеношћу микобактеријама из окружења, грешкама у примени и читавању резултата теста,

## Correspondence to:

Svetlana KAŠIKOVIĆ-LEČIĆ  
Institut za plućne bolesti Vojvodine  
Institutski put 4  
21204 Sremska Kamenica  
Srbija  
sklecic@sbb.rs

те ниском специфичношћу код имуносупримираних особа које имају повишен ризик од развоја обољења.

## IGRA ТЕСТОВИ

Скорашњи напреди у генетици, молекуларној биологији и имунологији допринели су настанку нових тестова за откривање туберкулозне инфекције (првенствено ЛТБ) [2, 3, 4]. То су тзв. IGRA тестови (енгл. *interferon-gamma release assays – IGRA assays*). Они су засновани на *in vitro* откривању интерферона гама (IFN- $\gamma$ ) ослобођеног из Т-ћелија у одговору на антигене специфичне за *M. tuberculosis*. То су *T-SPOT.TB* тест (*Oxford Immunotec, UK*) и *QuantIFERON* тестови (*Cellestis, Australia*) тестови. Први је заснован на коришћењу *ELISPOT* (енгл. *enzyme-linked immunospot*) технике, а су други засновани на примени *ELISA* (енгл. *enzyme-linked immunosorbent assay*) методе [4, 5, 6]. *QuantIFERON* тестови користе пуну крв, док *T-SPOT.TB* тест користи мононуклеарне ћелије периферне крви. Клиничке лабораторије чешће примењују *QuantIFERON* тестове јер су једноставнији за извођење од *T-SPOT.TB* теста.

Досад су произведене три генерације *QuantIFERON* тестова [4]: прва генерација је *QuantIFERON-TB* тест (није комерцијално доступан), друга генерација је *QuantIFERON-TB Gold* тест, а трећа *QuantIFERON-TB Gold in tube* тест. Трећа генерација ових тестова се примењује у имунолошкој лабораторији Института за плућне болести Војводине у Сремској Каменици од марта 2009. године. Тест се засад примењује у истраживачке сврхе код особа оболелих од АТБ инфекције и особа из њиховог окружења (здравствени радници и особе из заједничког домаћинства са оболелим). Надамо се да ће овај тест ускоро почети да се примењује и у свим грамама медицине, а посебно у пулмологији, реуматологији, гастроентерологији, онкологији, код особа инфицираних с *HIV*, односно код носилаца ЛТБ инфекције које су под повишеним ризиком да оболе од АТБ инфекције (због имунокомпромитованог стања, примене имуносупресивне терапије, анти-*TNF*-алфа антитела и др.).

Мада су ране верзије IGRA тестова користиле ППД као стимулишући антиген, новије верзије употребљавају антигене који су специфичнији за *M. tuberculosis*. То су протеини мале молекуларне тежине, који су кодирани генима смештеним у региону *RD1* (енгл. *region of difference 1*) сегмента генома *M. tuberculosis*: *ESAT-6* (енгл. *early secretory antigenic target-6*) и *CFP-10* (енгл. *culture filtrate protein-10*). Трећа генерација *QuantIFERON* теста (*QuantIFERON-TB-GIT*), поред већ два поменути антигена, користи и *TB 7,7* антиген, који је кодиран геном смештеним у региону *RD11* (енгл. *region of difference*

*11*) сегмента генома *M. tuberculosis*. Ови антигени су заступљени само у *M. tuberculosis complex* и нема их ни у *BCG* вакцини (*M. bovis*), нити код већине опортунитичких микобактерија из окружења [4, 7].

Тестови засновани на откривању IFN- $\gamma$  имају већу специфичност и сензитивност од ППД теста, јер су независни од тзв. *BCG* статуса тестиране особе и од инфекције већине нетуберкулозних микобактерија [6, 7, 8]. Тестови су прикладни за испитивање великог броја људи. Наведене методе омогућају инкубирање узорака на терену и њихов једноставан пренос до лабораторија за извођење теста. Насупрот ППД тесту, нема феномена ојачања реакције (поновљено тестирање не доводи до тзв. бустер феномена). Главни недостаци теста су високи материјални трошкови и потреба за лабораторијском опремом [4-8].

Позитиван резултат ППД или IGRA теста указује само на то да је особа инфицирана бацилима туберкулозе (нема могућност да разликује ЛТБ од АТБ инфекције), те је потребно применити додатне дијагностичке поступке (клинички преглед, радиограм грудног коша, преглед одговарајућег материјала на присуство узрочника туберкулозе) ради искључења АТБ инфекције. Ако се она искључи, неопходна је примена хемиопрофилактике ради елиминације ЛТБ инфекције код особа с повећаним ризиком од развоја активног облика болести. Негативан резултат ППД или IGRA теста није довољан да искључи инфекцију с *M. tuberculosis* код особе са симптомима или знацима који упућују на активну туберкулозу. Неодређен или негативан резултат ППД или IGRA теста код имунокомпромитованих особа мора се увек опрезно тумачити [7, 8].

## ЗАКЉУЧАК

Обе врсте тестова (ППД и IGRA) могу бити корисне у откривању туберкулозне инфекције, јер сви они имају предности и мане и ниједан појединачан тест не испуњава све потребне захтеве. С обзиром на то да нема тзв. златног стандарда за дијагностиковање ЛТБ инфекције, засад важи препорука да све поменути тестове треба уврстити у дијагностички протокол за откривање овог облика инфекције. На тај начин оставља се могућност лекару да изабере и примени одговарајући тест у зависности од испитиване популације, сврхе тестирања и расположивих техничких и материјалних средстава. Ови тестови могу само да помогну у дијагностиковању АТБ инфекције, која се мора поставити клиничким и микробиолошким испитивањима. Резултати теста могу да утичу на доношење одлуке о примени антитуберкулотика (хемиопрофилактике или хемиотерапије), чиме се смањују морбидитет и морталитет од ове болести.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Popovac D. Evaluacija zaštitne vrednosti BCG vakcine na Kosovu [disertacija]. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 1975.
2. Lalvani A, Millington KA. T cells and tuberculosis: beyond interferon-gamma. *J Infect Dis.* 2008; 197:941-3.
3. Madariaga MG, Jalali Z, Swindells S. Clinical utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis. *JABFM.* 2007; 20(6):540-7.
4. Kašiković-Lečić S, Pavlović S, Kuruc V. Quantifersonski test – alternativa tuberkulinskom kožnom testu? *Pneumon.* 2008; 45:83-7.
5. Kašiković-Lečić S. Imunološki testovi u dijagnostici tuberkulozne infekcije. *Ozrenski pulmološki dani, 2008. Zbornik apstrakata. Ozren;* 2008.
6. Mazurek GH, Weis SE, Moonan PK, Daley CL, Bernardo J, Lardizabal AA, et al. Prospective comparison of the tuberculin skin test and 2 whole-blood interferon-gamma release assays in persons with suspected tuberculosis. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(7):837-45.
7. Kanunfre KA, Leite OHM, Lopes MI, Litvoc M, Ferreira AW. Enhancement of diagnostic efficiency by a gamma interferon release assays for pulmonary tuberculosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2008; 15(6):1028-30.
8. Pai M, Menzies D. The new IGRA and the old TST: making good use of disagreement. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007; 175(6):529-31.

## Immunological Assays in the Diagnosis of Tuberculosis Infection at the Beginning of 21<sup>st</sup> Century

Svetlana Kašiković-Lečić, Slobodan Pavlović, Vesna Kuruc, Miroslav Ilić  
Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

### SUMMARY

A subject infected by tubercle bacilli may immediately develop the disease (primary tuberculosis), which occurs in a few number of infected persons, or may overcome the primary infection (a latent carrier of the infection). Nowadays there are about two milliard people with a latent tubercular infection. About 10% of them will develop active tuberculosis during their lifetime. Detection of latent tuberculosis and its treatment decreases the risk of developing the active form of the disease. Until recently, the tuberculin test was a single screening method to identify

the subjects with tubercular infection. In recent years, some novel in vitro tests to diagnose the tubercular infection have been designed. These tests measure the cell-mediated immune response quantifying the emission of interferon gamma by T cells in response to stimulation by *Mycobacterium tuberculosis* specific antigens. These tests are more sensitive and specific than the tuberculin skin test, but they are just an accessory tool, i.e. a link in the diagnostic chain of the tubercular infection.

**Keywords:** tuberculosis; tuberculin skin test; interferon-gamma tests

Примљен • Received: 04/03/2009

Прихваћен • Accepted: 08/03/2010