

## QuantiFERON® TB Gold IT in the diagnosis of active pulmonary TB

Clara Fabris, Adriana Abrami, Daiana Bevilacqua, Tiziana Bordon, Franca Cian, Bruno Biasioli

DAI di Medicina di Laboratorio, S.C. Microbiologia, AOU Ospedali Riuniti di Trieste

**Key words:** TST, *Mycobacterium tuberculosis*, QuantiFERON®, IFN- $\gamma$ , TB

### QuantiFERON® TB Gold IT nella TB polmonare attiva

#### SUMMARY

The IGRAs (Interferon- $\gamma$  Release Assays) are commercial assays which measure T-cell-mediated response *in vitro* after specific stimulation, and represent the alternative to TST (Tuberculin Skin Test) in the diagnosis of latent tuberculosis infection (LTBI) and of active tuberculosis (TB). Among these we choose the assay QuantiFERON®-TB Gold IT (Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia) (QFT) in which interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) was measured after lymphocyte stimulation with 3 antigens of the RD1 region of *M. tuberculosis*: ESAT-6, CFP-10 and TB 7.7.

We wanted to assess the sensitivity of the method in cases of pulmonary TB, using cultured isolates of *M. tuberculosis* as gold-standard.

From August 2006 to July 2009 there were 54 suspected cases of pulmonary TB, confirmed by culture. The QFT was requested for 32 patients before any microbiological confirmation and therapy. Of these patients 14 aged 20-50 years, 6 aged 50-70 years and 12 were more than 70-year-old. The QFT was positive in 25 patients (IFN- $\gamma$  > 0.35 IU/mL) and negative in 7 patients (IFN- $\gamma$  < 0.35 IU/mL) while 2 patients had an IFN- $\gamma$  value of 0.34 IU/mL.

Susceptibility to pulmonary TB is very high in young subjects and decreases with increasing age. In elderly population it is frequent a TB reactivation due to a decline in T-cell-immune response. Therefore, a negative or borderline value of IFN- $\gamma$  should be interpreted with care.

Age (years)	Sensitivity (%)
20-50	92.85
50-70	83.33
>70	75.00

Il Test cutaneo tubercolinico (TST) descritto da von Pirquet nel 1909 (9) è probabilmente il più antico dei presidi diagnostici ancora utilizzato nella pratica clinica e fino a pochi anni fa era l'unico test disponibile per la diagnosi di infezione tubercolare.

Negli ultimi anni sono stati introdotti nuovi strumenti diagnostici – IGRAs (Interferon- $\gamma$  release assays) – in grado di valutare la risposta cellulo-mediata *in vitro*, basandosi sul principio che i linfociti T circolanti sensibilizzati con antigeni specifici producono interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) quando vengono nuovamente in contatto con gli stessi antigeni; essi rappresentano l'alternativa al TST nella diagnosi di infezione tubercolare (2). Tra questi il QuantiFERON®-TB Gold IT (Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia) (QFT) che utilizza 3 antigeni specifici codificati nella regione RD1 presente nel genoma di *M. tuberculosis* ed assente in *M. bovis* BCG: early secreted antigenic target (ESAT-6), culture filtrate protein 10 (CFP-10) e TB7.7 (Rv 2654), per l'attivazione dei linfociti T interferon- $\gamma$  secernenti.

La concentrazione di IFN- $\gamma$  secreto viene determinata con

metodica ELISA; risultati superiori a 0.35 UI/mL sono considerati positivi.

Numerosi studi pubblicati negli ultimi anni hanno dimostrato una maggiore specificità degli IGRAs rispetto al TST nelle infezioni TB, mentre i risultati relativi alla sensibilità non sono sempre sovrapponibili (1, 3, 4, 5, 7, 8, 10).

Il nostro studio ha voluto valutare la sensibilità del test QuantiFERON utilizzando come gold-standard l'isolamento di *M. tuberculosis* in colture da escreato, aspirato bronchiale e/o BAL di pazienti con TB polmonare attiva.

Il QuantiFERON-TB Gold IT è entrato nella routine del nostro Laboratorio nell'agosto 2006; in 3 anni (agosto 2006 – luglio 2009) i casi con sospetto clinico e/o radiologico di TB polmonare, poi confermata dall'isolamento in coltura di *M. tuberculosis*, furono 54.

Per 32 pazienti fu richiesta l'esecuzione del QFT prima della positivizzazione della coltura e prima dell'inizio della terapia antitubercolare: 14 pazienti di età compresa tra 20 e 50 anni, 6 tra 50 e 70, 12 di età superiore a 70 anni.

Il test QuantiFERON-TB è stato eseguito seguendo le istruzioni della Ditta produttrice; gli esami colturali hanno previsto l'utilizzo contemporaneo di terreni solidi Lowenstein-Jensen (Biotest) e terreni liquidi Bactec MGIT 960 (Becton-Dickinson), i micobatteri sono stati identificati mediante il sistema Accuprobe (bioMérieux).

La tabella 1 riporta i risultati ottenuti: il valore di IFN- $\gamma$  è risultato superiore a 0.35 UI/mL in 25 pazienti (13 di età compresa tra i 20 e i 50 anni, 5 tra 50 e 70, 7 pazienti di età superiore a 70 anni), inferiore a 0.35 UI/mL per 7 (un paziente di 29 anni, uno di 59 e 5 di età superiore a 70 anni). Per 2 pazienti, entrambi di età superiore a 70 anni, il valore di IFN- $\gamma$  è risultato border-line (0.34 UI/mL). Non sono stati rilevati risultati indeterminati.

**Tabella 1.** Risultati del test QuantiFERON per fasce d'età

paziente	età (20-50 anni)	QFT (IFN- $\gamma$ UI/mL)	paziente	età (50-70 anni)	QFT	paziente	età (>70 anni)	QFT
LN	36	5.79	RS	55	>10	CB	82	0.34
CD	39	1.02	CM	55	1.03	ML	79	0.15
MF	38	>10	TG	69	9.13	SS	71	>10
MV	21	1.78	LF	59	0.01	CG	73	0.09
TH	27	3.26	SR	52	0.77	DP	74	3.16
TA	36	2.19	ML	66	2.10	DI	91	3.16
HI	29	1.67				BL	82	2.48
LI	42	1.46				CV	83	0.34
PH	43	0.50				GG	86	0.51
SE	44	6.75				RA	71	2.44
ZS	36	5.32				CB	78	0.09
SA	22	1.02				SA	85	0.37
VN	29	0.12						
NM	28	4.34						

**Corresponding author:** Clara Fabris

S.C. Microbiologia - Microbiologia Polmonare

AOU Ospedali Riuniti di Trieste, Ospedale di Cattinara - Strada di Fiume, 477 - 34100 Trieste, Italy - Tel.: 040 3994606 - Fax: 040 3994746 ;

E-mail: [clara.fabris@aots.sanita.fvg.it](mailto:clara.fabris@aots.sanita.fvg.it)

I risultati ottenuti dimostrano che la sensibilità del metodo (84.37%) varia significativamente rapportandola all'età dei pazienti: molto elevata nei soggetti di età compresa tra 20 e 50 anni (92.85%), pari all'83.33% tra 50 e 70 anni, decresce sensibilmente nei pazienti di età superiore a 70 anni (75.00%) (Figura I).

Nella nostra realtà la malattia tubercolare colpisce soprattutto la popolazione anziana, il più delle volte per una riattivazione TB dovuta ad una diminuzione delle difese immunitarie legata all'età, in concomitanza con altre patologie o in seguito a terapie immunosoppressive. Sembra legata principalmente ad una linfocitopenia CD4 (5): un risultato negativo al QFT dovrebbe essere sempre interpretato con cautela perché da solo non consente di escludere con certezza la TB (6) e, alla luce dei dati ottenuti (2 pazienti su un totale di 32 - pari al 6.25% - con  $IFN-\gamma=0.34$  UI/mL), i valori di interferon- $\gamma$  border-line non dovrebbero mai essere sottovalutati e andrebbero segnalati al clinico come concentrazione di  $IFN-\gamma$  espressa in UI/mL.

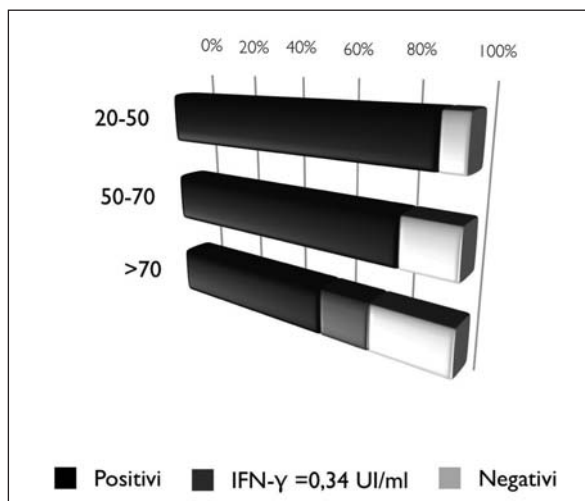


Figura I. Valutazione della sensibilità del QFT per fasce d'età

## BIBLIOGRAFIA

1. Bartu V, Havelkova M, Kopecka E. QuantiFERON-TB Gold in the diagnosis of active tuberculosis. *J Int Med Res.* 2008 May-Jun; 36 (3): 434-7.
2. CDC. Guidelines for using the QuantiFERON® -TB Gold Test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR* December 16, 2005; 54: RR-15.
3. Chee CB, Gan SH, KhinMar KW, et al. Comparison of sensitivities of two commercial Gamma Interferon Release Assays for pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiology*, June 2008, 1935-40.
4. Goletti D, et al. Accuracy of immunodiagnostic test for active tuberculosis using single and combined results: a multicenter TBNET-study. *PLoS ONE*, October 2008; 3 (10): 1-9.
5. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, et al. Clinical utility of the QuantiFERON TB-2G test for elderly patients with active tuberculosis. *Chest* 2008; May 133 (5): 1196-202.
6. Kobashi Y, Shimizu H, Ohue Y, Mouri K, Obase Y, Mijashita N, Oka M. False negative results of QuantiFeron TB-2G test in patients with active tuberculosis. *J Infect Dis.* 2009; 62: 300-2.
7. Oznur Ak, Dabak G, Ozer S, Saygi A, Dabak R. The evaluation of the QuantiFERON-TB Gold test in Pulmonary and Extra pulmonary Tuberculosis. *J Infect Dis.* 2009; 62: 149-51.
8. Park SY, Jeon K, Um SW, Kwon OJ, Kang ES, Koh WJ. Clinical utility of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Scand J Infect Dis.* 2009; 27: 1-5.
9. Von Pirquet C. Tuberkulindiagnose durch cutane impfung. *Berliner Klinische Wochenschrift.* 1909; 44: 644-5.
10. Winqvist N, Björkman P, Norén A, Miörner H. Use of a T cell interferon gamma release assay in the investigation for suspected active tuberculosis in a low prevalence area. *BMC Infectious Diseases.* 2009; 9: 105 1-9.