



# Società Medico Chirurgica di Ferrara

Sabato 21 settembre 2013

Aula Magna Nuovo Arcispedale S. Anna

Cona, Ferrara

## Tubercolosi polmonare: criticità, novità e prospettive

---

### Infezione tubercolare latente: i nuovi gruppi a rischio

**M.Rita Rossi – Roberto Mantovani**

UO Semplice di Microbiologia e Sierologia  
Laboratorio Unico Provinciale AOU S. Anna Ferrara  
UO Malattie Apparato Respiratorio AUSL Ferrara



*Società  
Medico Chirurgica  
di Ferrara*

dal 1846



# Le domande

1. Cos'è l'LTBI
2. In quali soggetti cerchiamo l'LTBI
3. Perché cerchiamo l'LTBI
4. Con cosa cerchiamo l'LTBI
5. Come trattiamo l'LTBI



# 1. Cos'è l'LTBI: definizione

**Direct identification of M. tuberculosis** in individuals who are latently infected **is not possible.**

LTBI is a status characterized by the **absence of clinical, and radiological evidence of TB** disease and the **diagnosis is performed by an immune test** that ascertains M.tuberculosis-specific immune responses (positive TST or an IGRA) due to: a **recall antigen response due to a presumptive infection with M.tuberculosis** without the presence of living bacteria (Mack et al, ERJ 2009) a condition where human tissues contain living M.tuberculosis that persists in a state of altered metabolism that potentially may later reactivate. (Opie and Aronson, 1927; Ulrichs et al, JID 2005)



## 2. In quali soggetti cerchiamo l'LTBI

---

Persone **contagiate di recente**  
(che sono a maggior rischio di riattivazione  
nei primi anni dopo l'infezione)

Persone che presentano un **rischio** più  
elevato **di sviluppare una tubercolosi** a  
causa della coesistenza di altre malattie

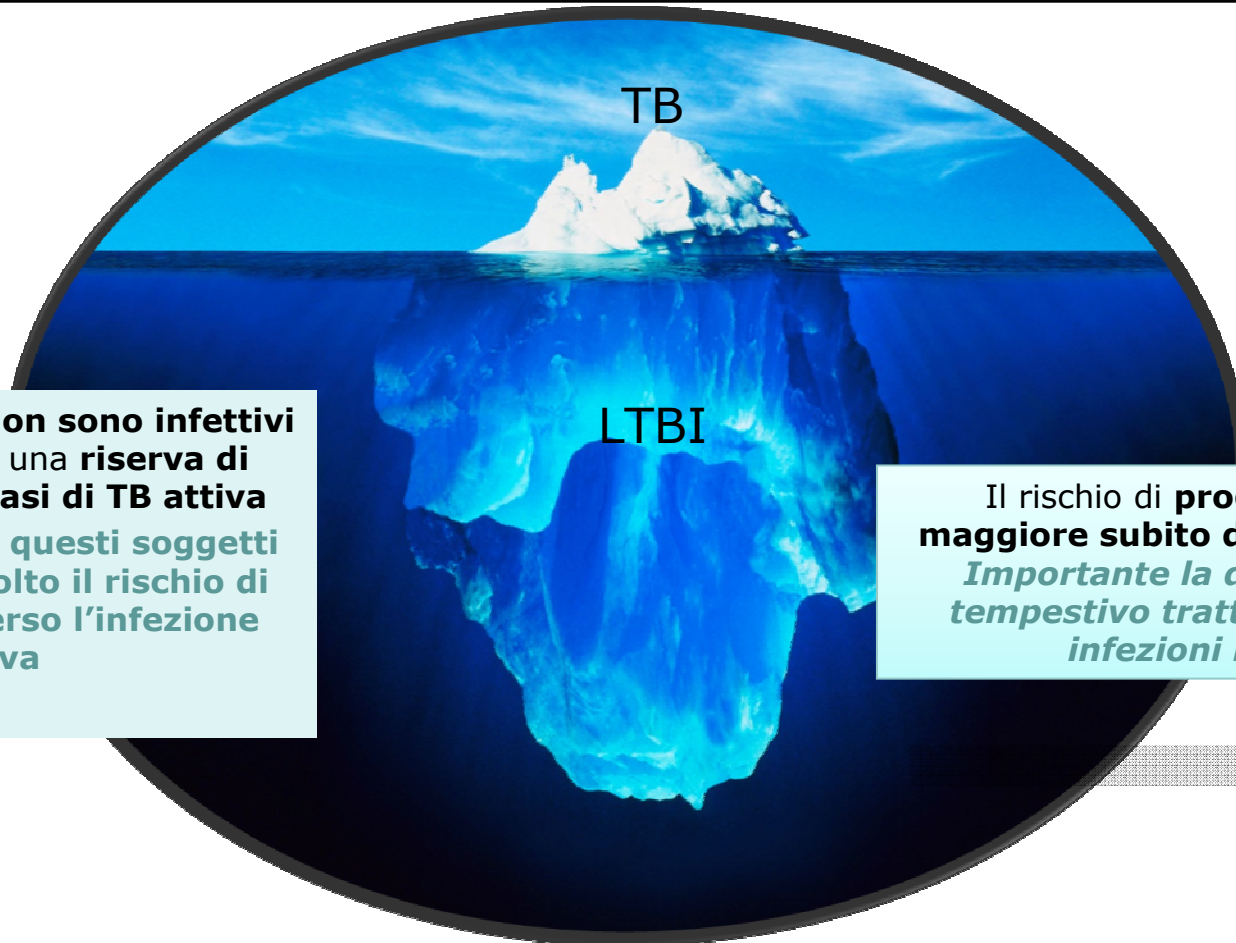


### 3. Perché cerchiamo l' LTBI

---

- ❑ Identificare gli individui a rischio di sviluppare la tubercolosi
- ❑ **Trattare in caso di risultato positivo**

# Importanza della diagnosi di LTBI



Soggetti con LTBI **non sono infettivi** ma costituiscono una **riserva di possibili futuri casi di TB attiva**  
Il trattamento di questi soggetti **diminuisce di molto il rischio di progressione verso l'infezione attiva**

Il rischio di **progressione è maggiore subito dopo l'infezione**  
*Importante la diagnosi ed il tempestivo trattamento delle infezioni recenti*

**L'immunocompromissione è uno dei maggiori fattori di rischio di progressione**  
*Importante lo screening dei soggetti immunocompromessi o a rischio di immunosoppressione*



# Candidati al trattamento per LTBI

---

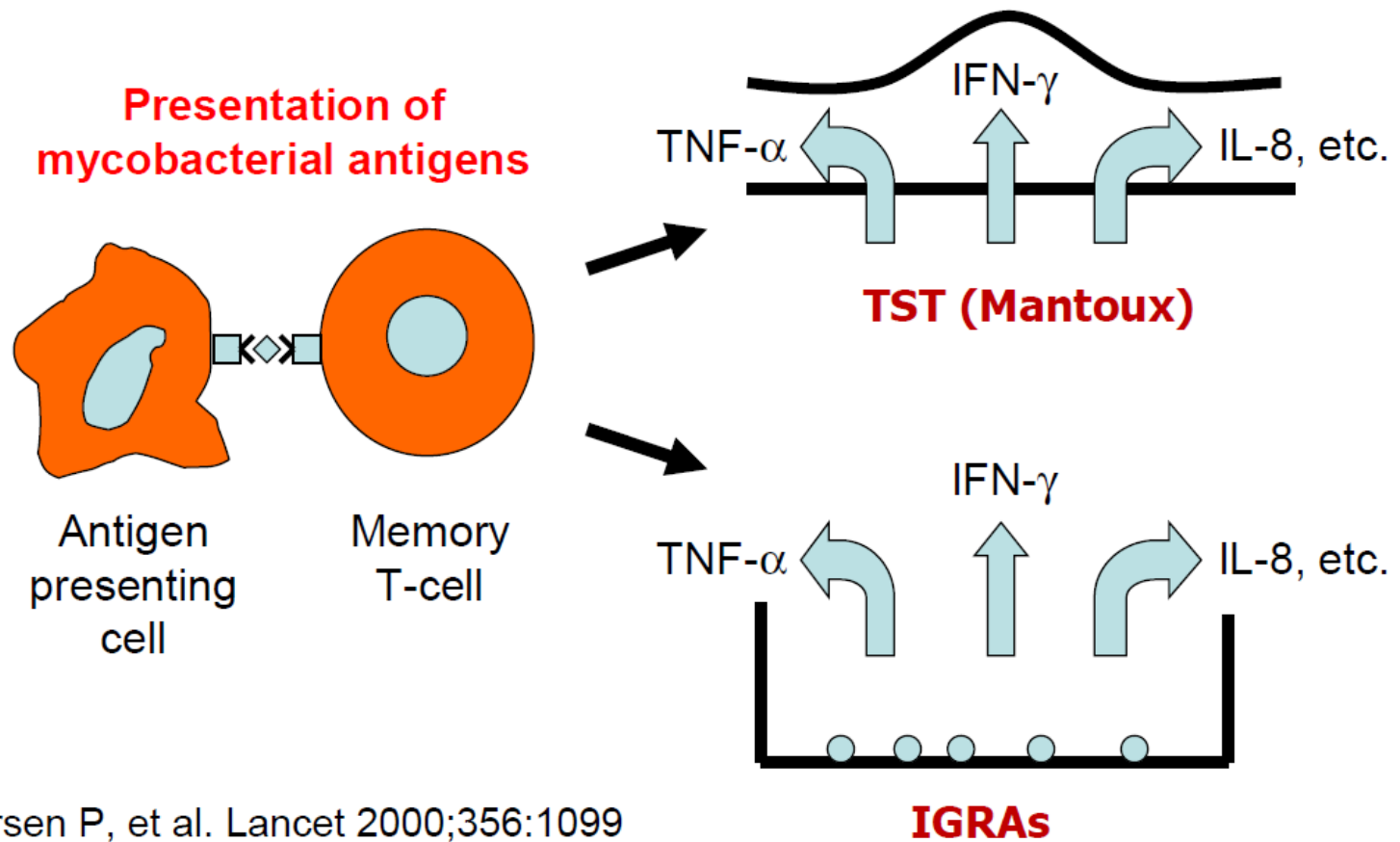
- Bambini <5 anni e recente contatto
- HIV-positivi e recente contatto
- Immunosoppressi e recente contatto
- Recente contatto di casi TB
- HIV-positivi immunosoppressi o trapiantati di recente
- Esiti radiologici fibro-nodulari apicali
- Stranieri/lavoratori provenienti da paesi ad elevata prevalenza
- Tossicodipendenti per via endovenosa
- Residenti o impiegati in comunità chiusa o operatori sanitari
- Personale di laboratorio di Micobatteriologia
- ...



## 4. Con cosa cerchiamo l'LTBI: diagnosi

- TST (Mantoux)
- IGRA

# *In Vivo* and *In Vitro* Diagnostic Tests



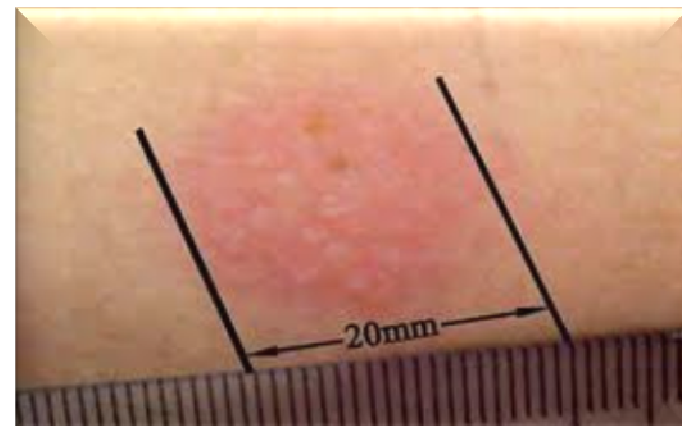
Andersen P, et al. Lancet 2000;356:1099

# Tuberculin Skin Test

Intradermoreazione tubercolinica secondo Mantoux

*R.Koch 1890, Mantoux 1908, standardizzato nel 1976*

- **Reagenti:**
  - ✓ Iniezione intradermica di 5UI di PPD (Purified Protein derivate) comunemente presenti in differenti micobatteri (*M.tuberculosis*, BCG e micobatteri non tubercolari)
- **Variabilità:**
  - ✓ Riproducibilità del test
  - ✓ Soggettività nella lettura del test
- **Logistica:**
  - ✓ Necessità di due visite
  - ✓ Risultati dopo 3 giorni



# Interferon Gamma Release Assay (IGRAs) Cosa sono?

---

- Test diagnostici ***in vitro*** per la diagnosi di LTBI
- Indicano la presenza di una risposta immunitaria cellulare-mediata a *M.tuberculosis*
- **Non distinguono TB da LTBI**
- **Non permettono di datare l'infezione (Recente? Remota?)**

**La diagnosi di TB è microbiologica**

# IGRAs

Test approvati dalla Food and Drug Administration nel maggio 2005

Oxford  
Immunotec

**T-SPOT®.TB**



**ANTIGENI:  
ESAT-6, CFP-10**

cellestis

**QuantIFERON®-TB Gold In-Tube**



**ANTIGENI:  
ESAT-6, CFP-10, TB 7.7**

# Species specificity of ESAT-6 and CFP-10

Tuberculosis complex	Antigens		Environmental strains	Antigens	
	ESAT	CFP		ESAT	CFP
<b>M tuberculosis</b>	+	+	M abcessus	-	-
<b>M africanum</b>	+	+	M avium	-	-
<b>M bovis</b>	+	+	M branderi	-	-
BCG substrain			M celatum	-	-
gothenburg	-	-	M chelonae	-	-
moreau	-	-	<b>M flavescens</b>	+	+
tice	-	-	M fortuitum	-	-
tokyo	-	-	M gordonii	-	-
danish	-	-	M intracellulare	-	-
glaxo	-	-	<b>M kansasii</b>	+	+
montreal	-	-	M malmoense	-	-
pasteur	-	-	<b>M marinum</b>	+	+
			M oenavense	-	-
			M scrofulaceum	-	-
			M smegmatis	-	-
			<b>M szulgai</b>	+	+
			M terrae	-	-
			M vaccae	-	-
			M xenopi	-	-



# Interferon Gamma Release Assay (IGRAs)

---

- ❑ I test IGRA **non sono influenzati** da una precedente vaccinazione con bacillo di Calmette-Guerin (**BCG**), in particolare nelle situazioni in cui il vaccino è somministrato dopo l'infanzia o in dosi ripetute
- ❑ I test IGRA **non sono influenzati** dalla maggior parte delle infezioni con micobatteri non tubercolari (**NTM**) ambientali
  - ❑ Due principali NTM potenzialmente patogeni per l'uomo contengono sequenze che codificano per gli antigeni ESAT-6 e CFP-10: ***Mycobacterium marinum e Mycobacterium kansasii***



## TST e IGRAs

---

- Il **TST può influenzare** l'esito di un successivo test **IGRA**: l'effetto si manifesta dopo pochi giorni e sembra persistere per almeno tre mesi
- Se si utilizza un test IGRA per confermare il risultato del TST è opportuno eseguire il prelievo ematico **entro tre giorni** dall'esecuzione del TST (es al momento della lettura del test)

Van Zyl-Smit RN et al. Within-subject variability of interferon-g assay result for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. PLoS One 2009;4:8517

## IGRAs – Il controllo positivo permette di migliorare l'**accuratezza** dei risultati nei pazienti immunocompromessi

---

Provetta **TB antigene**  
valuta la risposta di INF- $\gamma$   
verso gli antigeni TB altamente specifici

**QuantiFERON**

Provetta **mitogeno** (controllo positivo)  
E' utile per definire:

- lo stato immunitario del paziente
- La corretta manipolazione ed incubazione del campione

Provetta **Nil** (controllo negativo)  
Corregge il rumore di fondo dell'INF- $\gamma$  non specifico



## **QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold In-Tube**

### INTERPRETAZIONE RISULTATI

Controllo Negativo UI/ml	Antigeni TB ESAT-6 , CFP10 , TB7.7 - Controllo negativo UI/ml	Controllo Positivo (PHA) UI/ml	Risultato
<b>&lt; 8</b>	<b>≥ 0,35</b>	<b>≥ 0,50 o &lt; 0,50</b>	<b>Positivo</b>
<b>&lt; 8</b>	<b>&lt; 0,35</b>	<b>≥ 0,50</b>	<b>Negativo</b>
<b>&lt; 8</b>	<b>&lt; 0,35</b>	<b>&lt; 0,50</b>	<b>Indeterminato</b>
<b>&gt; 8</b>	<b>≥ 0,35 o &lt; 0,35</b>	<b>≥ 0,50</b>	<b>Indeterminato</b>

# T-SPOT<sup>®</sup>.TB INTERPRETAZIONE RISULTATI

Numero Spot Controllo Negativo	Numero Spot ESAT-6 E/O CFP10 – Controllo Negativo	Controllo Positivo (PHA)	Risultato
0 - 10	≥ 6	≥ 20 o < 20	Positivo
0 - 10	< 6	≥ 20	Negativo
0 - 10	< 6	< 20	Indeterminato
> 10	≥ 6 o < 6	≥ 20	Indeterminato

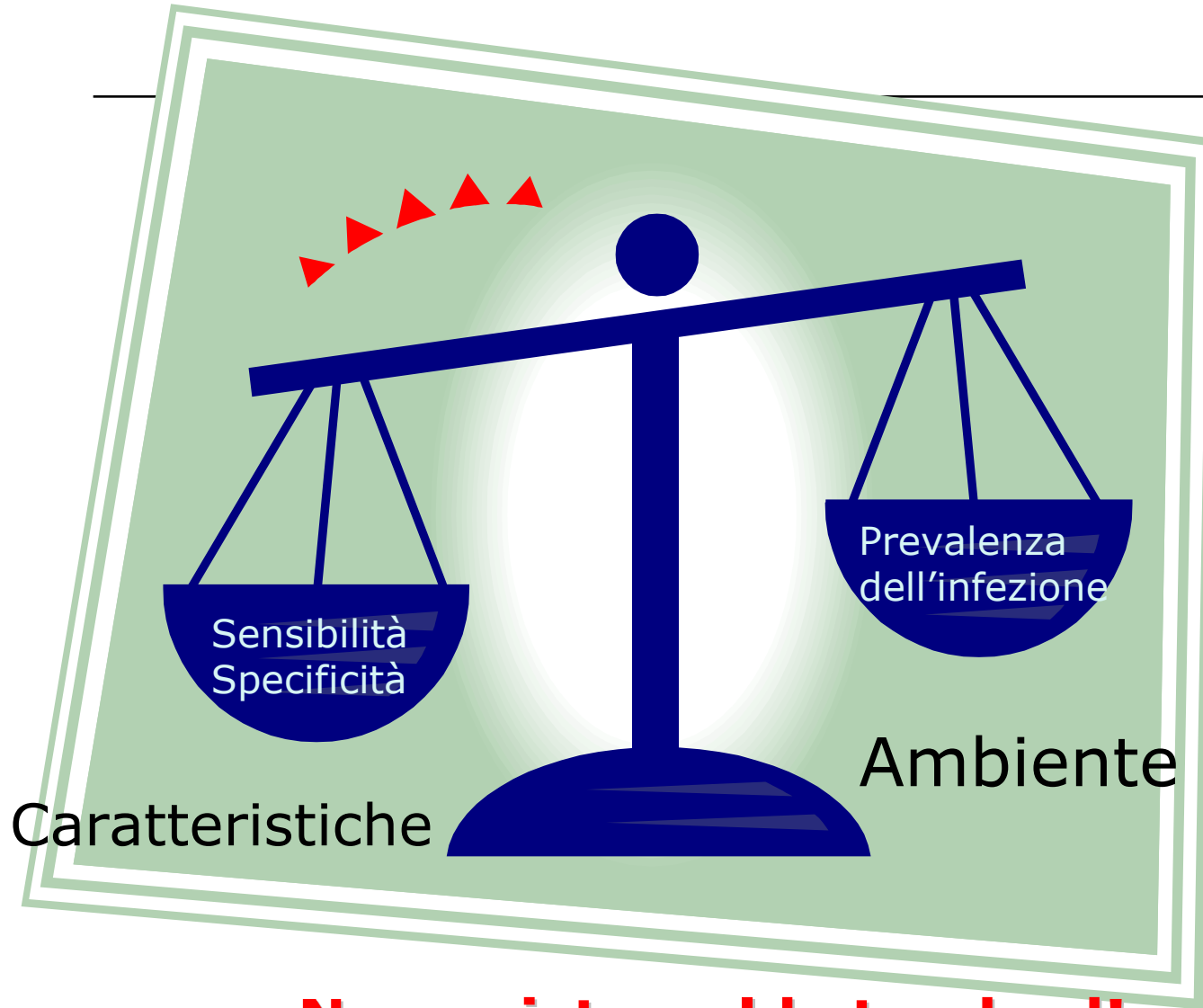


0 - 10	≥ 8	≥ 20 o < 20	Positivo
0 - 10	≤ 4	≥ 20	Negativo
0 - 10	≤ 4	< 20	Indeterminato
> 10	≥ 8 o ≤ 4	≥ 20	Indeterminato
0 - 10	5 - 6 - 7	≥ 20	Borderline



FDA Criteria

# IGRAs - Performance diagnostica



**Non esiste gold standard!**



# Fattori che possono influenzare l'esito dei test IGRAs

---

❑ **Pre-analitici**: tempo intercorso prima dell'incubazione del campione, durata dell'incubazione etc.

*Doberne D et al J Clin Microbiol 2011; 49:3061*

❑ **Variabilità intra-laboratorio**: uno studio su 1086 test su 543 individui nello stesso giorno ha dimostrato una discordanza nel secondo test pari a 8%

*Metcalf JZ et al. Am J Resp Crit Care Med 2013; 187:206*

❑ **Variabilità tra laboratori**: discordanza tra test eseguiti sullo stesso campione, lo stesso giorno in laboratori diversi

*Withword WC et al. PLoS One 2012; 7 e 43790*

❑ **Variabilità individuale**: in uno studio su 48 operatori sanitari sottoposti mensilmente a test IGRA per un anno conversioni e reversioni sono state osservate nel 52 % dei partecipanti

*Park JS et al. Chest 2012*



# Come dobbiamo interpretare un risultato **IGRA negativo**?

---

- **Infezione tubercolare improbabile** ma non escludibile specialmente se:
    - Paziente con segni e sintomi di Tb attiva
    - Paziente con antica infezione ad elevato rischio di sviluppare TB attiva
  - Dati di sensibilità (TB confermati da colturale positivo)
    - T-Spot.TB= 90%
    - QFT-IT= 83%
    - TST= 89%
- Mazurek et al., MMWR 2010;59:1-25
- I test IGRA sono **scarsamente sensibili** nella rilevazione di LTBI **dopo recente esposizione. Periodo finestra 4-7 settimane.**
    - Si raccomanda di ripetere il test almeno dopo 8-10 settimane se il primo risultato è negativo



# Come dobbiamo interpretare un risultato **IGRA positivo**?

---

- **Infezione tubercolare probabile**
- I test IGRA **non distinguono LTBI da TB attiva**
- Dati di specificità:
  - T-Spot-TB=88%
  - QFT-IT= 99%
  - TST= 85%

Mazurek et al., MMWR 2010;59:1-25

**La diagnosi di TB è microbiologica**



# E' utile inserire nel referto i dati IGRAs quantitativi?

---

- "...non hanno mostrato valore prognostico..."  
L'aumento non si associa a progressione verso la malattia.
- Non devono essere utilizzati per monitorare la risposta al trattamento antitubercolare né per TB né per LTBI
- «...un risultato quantitativo può essere utile per valutare la probabilità di reversione o conversione quando il valore di IFN- $\gamma$  è vicino al cut-off»
- In test seriali permette di valutare la variabilità individuale



# Test IGRAs Reversioni e conversioni

## Quale significato?

---

Sia **TST** che i test **IGRA** si comportano in **modo dinamico nel tempo** con possibili conversioni e reversioni

### **Reversioni POS → NEG**

- Potrebbero riflettere la scomparsa dell'infezione
- Potrebbero essere dovute a «oscillazioni» biologiche
- Sono frequenti nei soggetti con positività vicina al cut-off e in quelli TST-negativi/IGRA positivi
- Variazioni nelle procedure di laboratorio (es manipolazione del campione, lavaggi durante il test ELISA ecc... )

### **Conversioni NEG → POS**

- La maggior parte è dovuta a variazioni minori non specifiche intorno al cut-off
- Un cut-off più alto, più stringente per la conversione potrebbe evitare di interpretare variazioni minori come conversioni



# Risultati oscillanti o borderline difficoltà nell'interpretazione

---

- Stabilita una «**zona grigia**» per T-Spot.Tb (5-7 spot)
- E' necessaria una «**zona grigia**» per QFT-t, ma di quale ampiezza?
  - 0,35 - 0,69 IU/mL (*Pai et al; Marder et al*)
  - 0,25 - 0,45 IU/mL (*Graviss et al*)
  - **0,20 - 0,70 IU/ML** (*Metcalfe et al*)

**NEG <0,20 <grey zone <0,70 <POS**



# Come interpretare un risultato IGRA indeterminato?

---

- Il test **non è in grado di fornire informazioni** sulla presenza di una infezione tubercolare.
- **Motivazioni:**
  - Immunosoppressione
  - Pazienti con età estreme (es età <5 anni)
  - Fattori tecnici (errato prelievo, conservazione o incubazione)
    - Target: **risultati indeterminati  $\leq$  5%**
- **Opzioni:**
  - Ripetere il test per escludere errori di laboratorio utilizzando un nuovo prelievo
  - Se il risultato è di nuovo indeterminato, escludere anergia
  - Se il paziente è immunocompromesso, è raccomandato T-Spot.TB

# Test IGRAs - Linee guida di utilizzo

## LINEE GUIDA: USA (CDC 2010)

I test IGRA possono essere usati **in alternativa** (ma non in aggiunta) al TST in tutte le situazioni in cui tale test è indicato come ad es:

- indagine nei contatti di TB attiva
- screening operatori sanitari



Situazioni in cui i test IGRA vanno preferiti al TST

- vaccinati o trattati con BCG
- individui poco propensi a ritornare per la lettura del TST

## LINEE GUIDA: CANADA (The Canadian Tuberculosis Committee 2010)



### Indicazioni utilizzo IGRAs:

- **Test di conferma** in individui TST positivi con bassa probabilità di recente infezione tubercolare
- Test di conferma in individui TST negativi ad elevato rischio di progressione a TB attiva
- Test di conferma in individui immunocompromessi con TST negativo
- Nei bambini come test diagnostico supplementare in aggiunta al TST, alle indagini microbiologiche e agli altri accertamenti del caso

## LINEE GUIDA EUROPEE

### ECDC 2011



- I test IGRA non devono essere utilizzati per la diagnosi di TB attiva e un test IGRA negativo non esclude la diagnosi di TB attiva
- I test IGRA **possono essere utilizzati** nella diagnosi di LTBI come parte della valutazione per identificare i soggetti da sottoporre a trattamento profilattico (es. immunocompromessi, bambini, contatti chiusi, recenti esposizioni)

## LINEE GUIDA EUROPEE

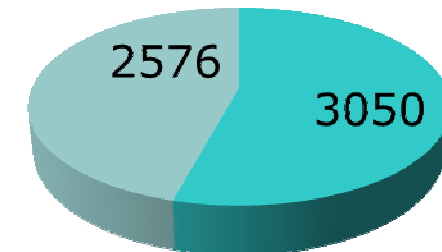
### ECDC 2011



- Nei Paesi ad elevata incidenza di TB i test IGRA non trovano indicazione per l'elevato numero di soggetti con LTBI → i programmi di prevenzione si devono basare sull'identificazione e trattamento dei casi di TB attiva
- Nei Paesi a bassa incidenza di TB i test IGRA possono essere utilizzati nei programmi di screening dei contatti **come conferma** nei soggetti TST positivi
- Negli individui **immunocompromessi** viene consigliato l'uso combinato di TST ed IGRA

# L'Infezione Tuberculare Latente nella Provincia di Ferrara

- ✓ Test QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia)
- ✓ Da Marzo 2007 a Giugno 2013
- ✓ Archivio dati di **5627 pazienti**
- ✓ 3050 femmine età media 48 anni
- ✓ 2576 maschi età media 46 anni



■ femmina ■ maschio

TEST QuantIFERON-TB GOLD In-Tube

DATA PRELIEVO..... ORA DEL PRELIEVO.....  
COGNOME..... NOME..... SESSO..... M..... F.....  
DATA DI NASCITA..... LUOGO DI NASCITA.....  
RESIDENZA..... PROVINCIA..... PROFESSIONE.....  
REPARTO..... PRESIDIO OSPEDALIERO.....  
MEDICO RICHIEDENTE..... FIRMA..... TEL.....

INDICAZIONI DIAGNOSTICHE PER LA PRESCRIZIONE:

1. IMMIGRATO DI RECENTE
2. CONTATTO DI TB ATTIVA
3. OPERATORE NELLE CARCERI
4. DETENUTO IN CARCERE
5. OPERATORE SANITARIO IN REPARTO A RISCHIO (specificare.....)
6. TOSSIDIPENDENTE
7. IMMUNOSOPPRESSO
8. TRAPIANTATO D'ORGANO (specificare.....)
9. CHEMIOTERAPIA
10. TERAPIA CON TNF-alfa
11. TERAPIA CON FARMACI BIOLOGICI
12. ESITI RADIOLOGICI FIBRO-NODULARI APICALI
13. ALTRO (specificare.....)

SOSPETTO DIAGNOSTICO E DATI AGGIUNTIVI RITENUTI UTILI.....

PRECEDENTI TEST CUTANEI TUBERCOLINICI (MANTOUX PPD):

NO..... SI..... SE SI DATA E RISULTATO..... MM.....

PREGRESSA VACCINAZIONE CON BCG:..... NO..... SI..... DATA.....

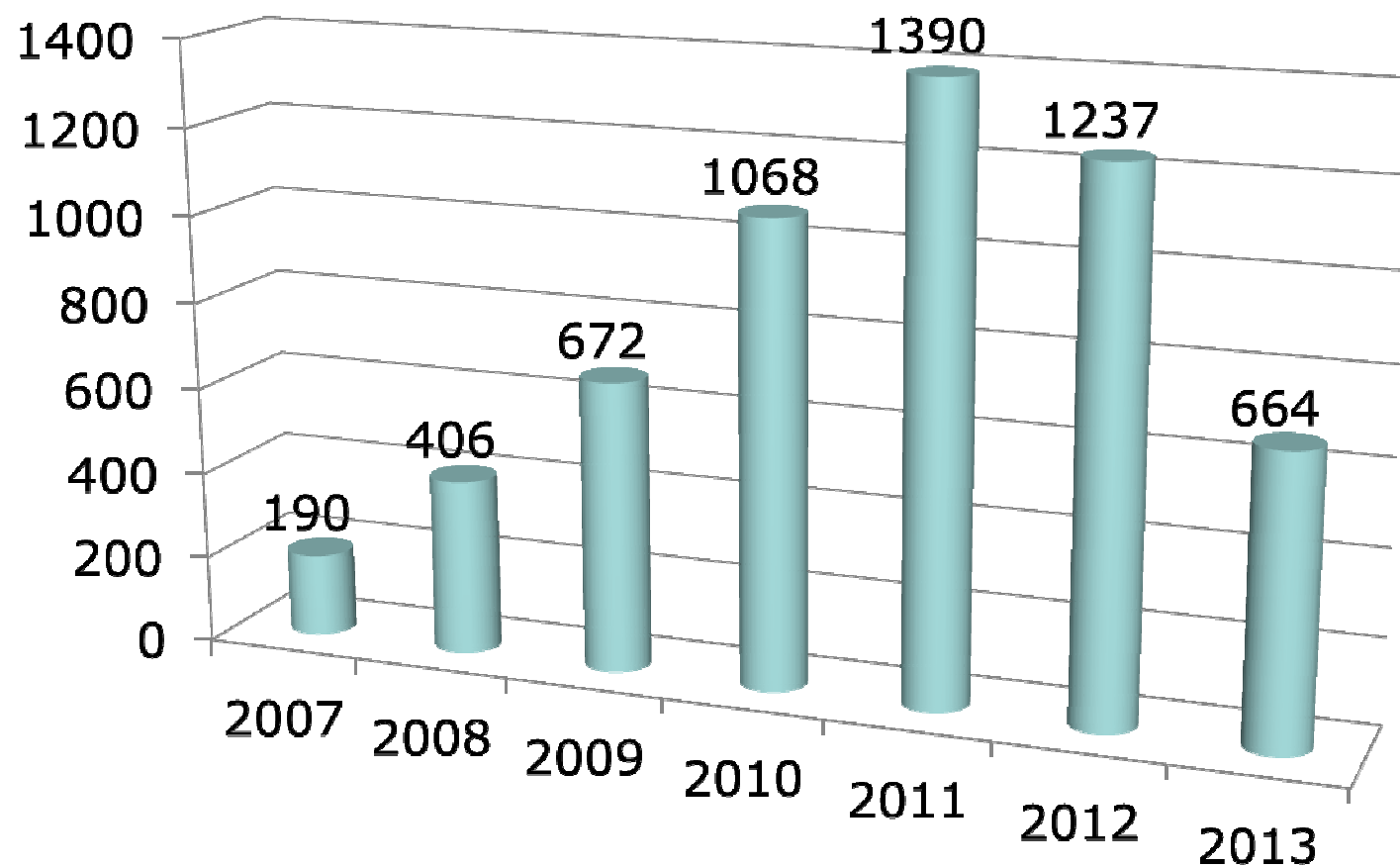
PRECEDENTE DIAGNOSI DI TUBERCOLOSI:..... NO..... SI..... DATA.....

RILEVANTI PATOLOGIE PREGRESSE:.....

# Scheda anamnestica

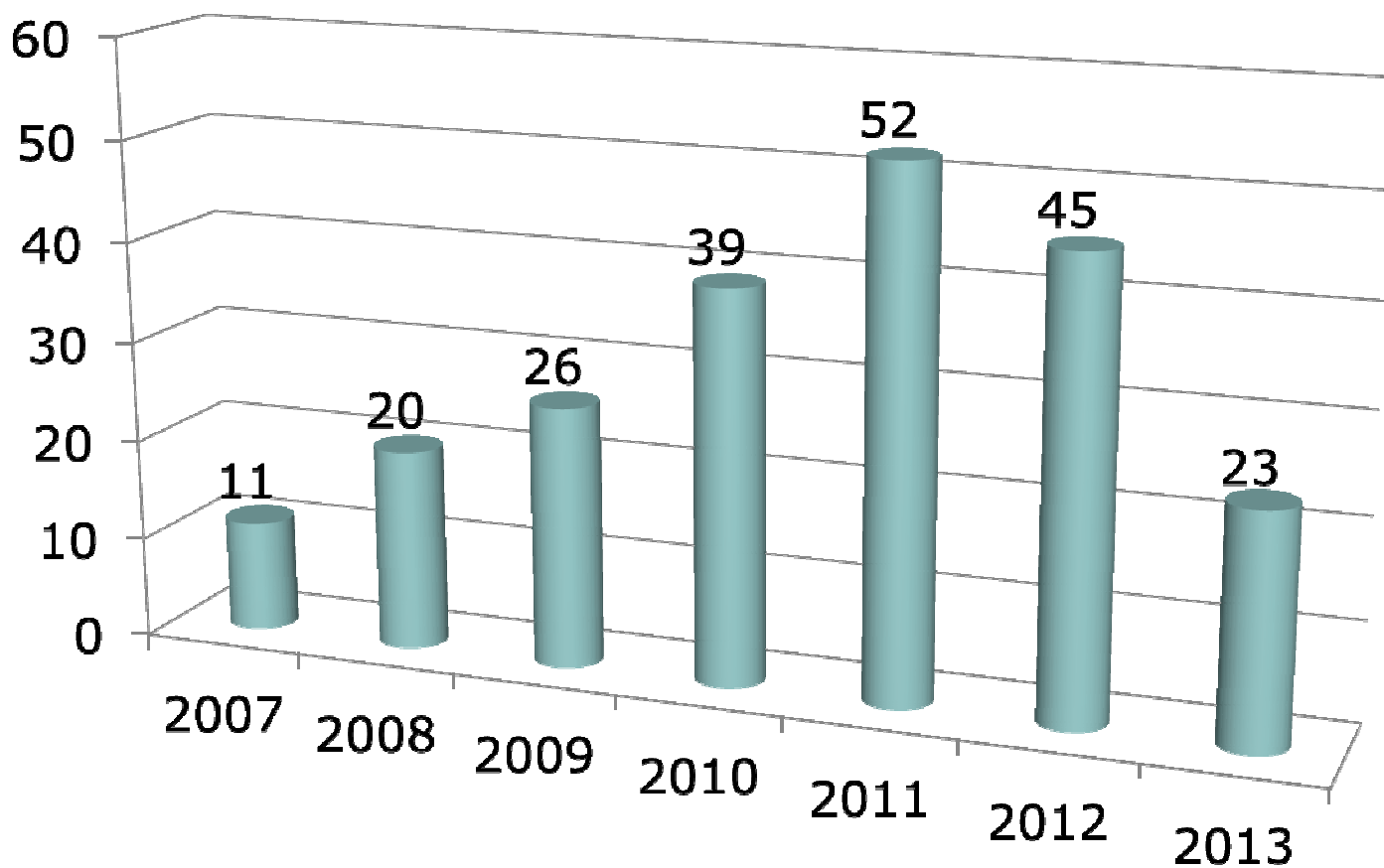
# Test eseguiti/anno

2007 marzo-dicembre - 2013 gennaio-giugno

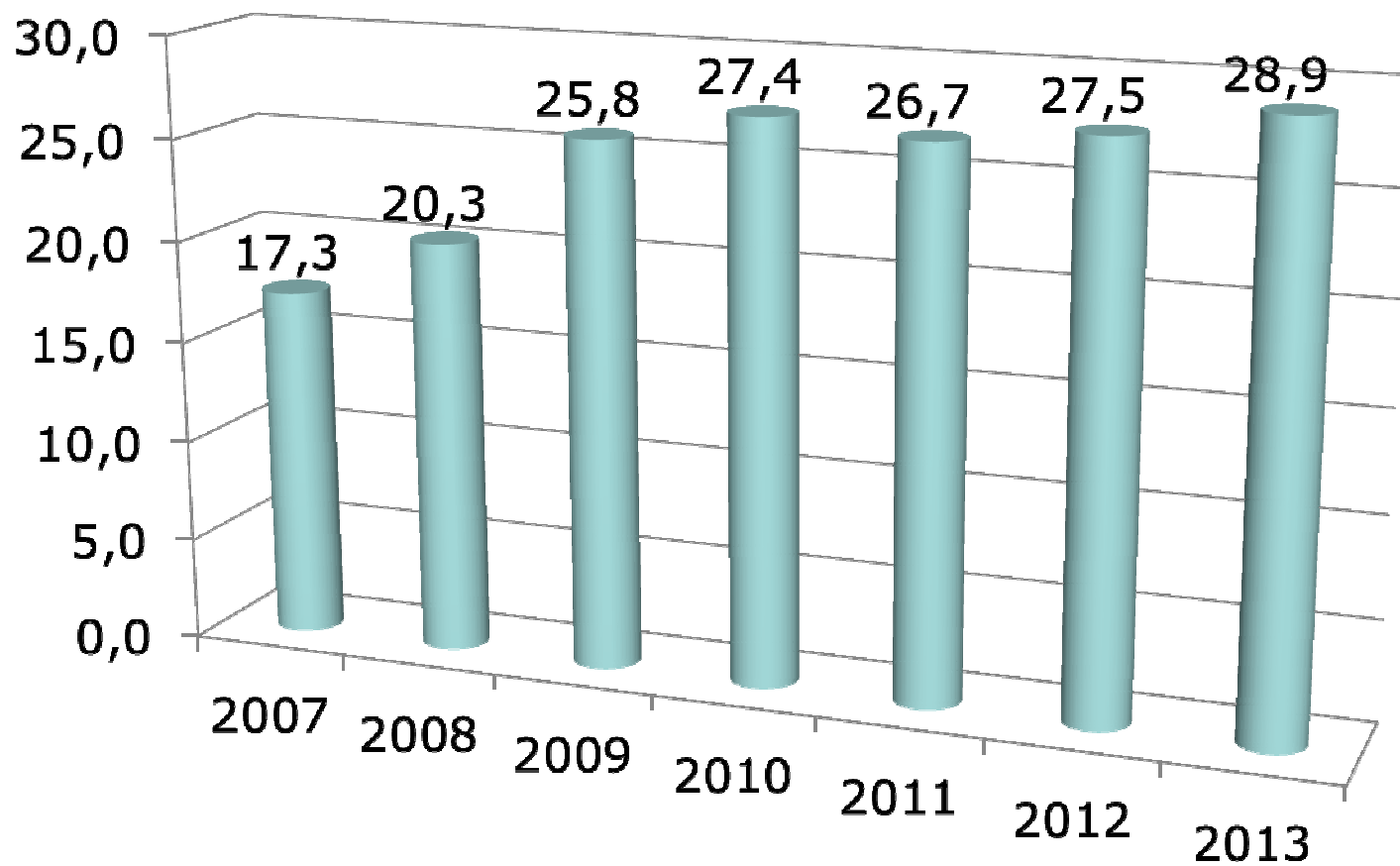


# Sedute svolte/anno

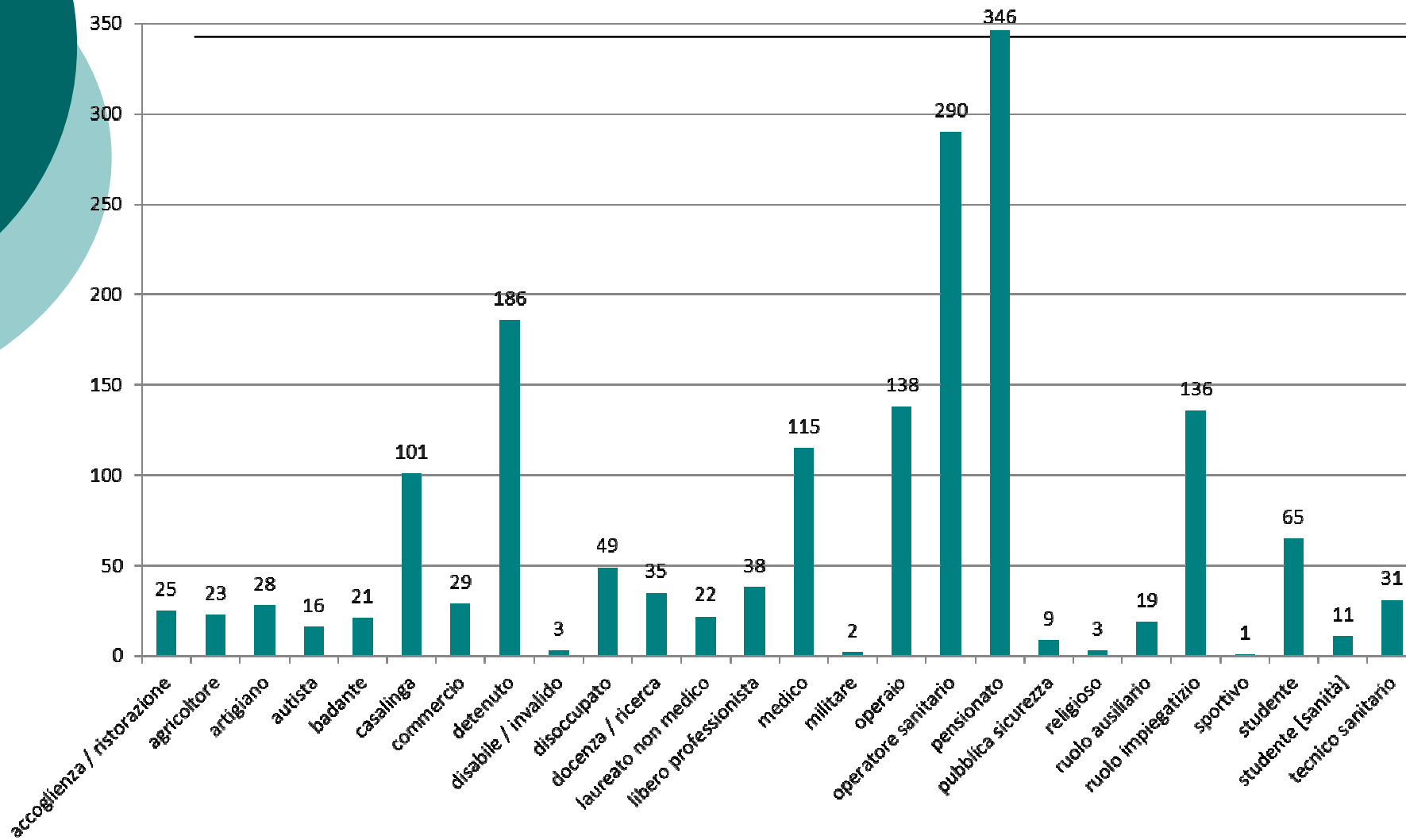
2007 marzo-dicembre - 2013 gennaio-giugno



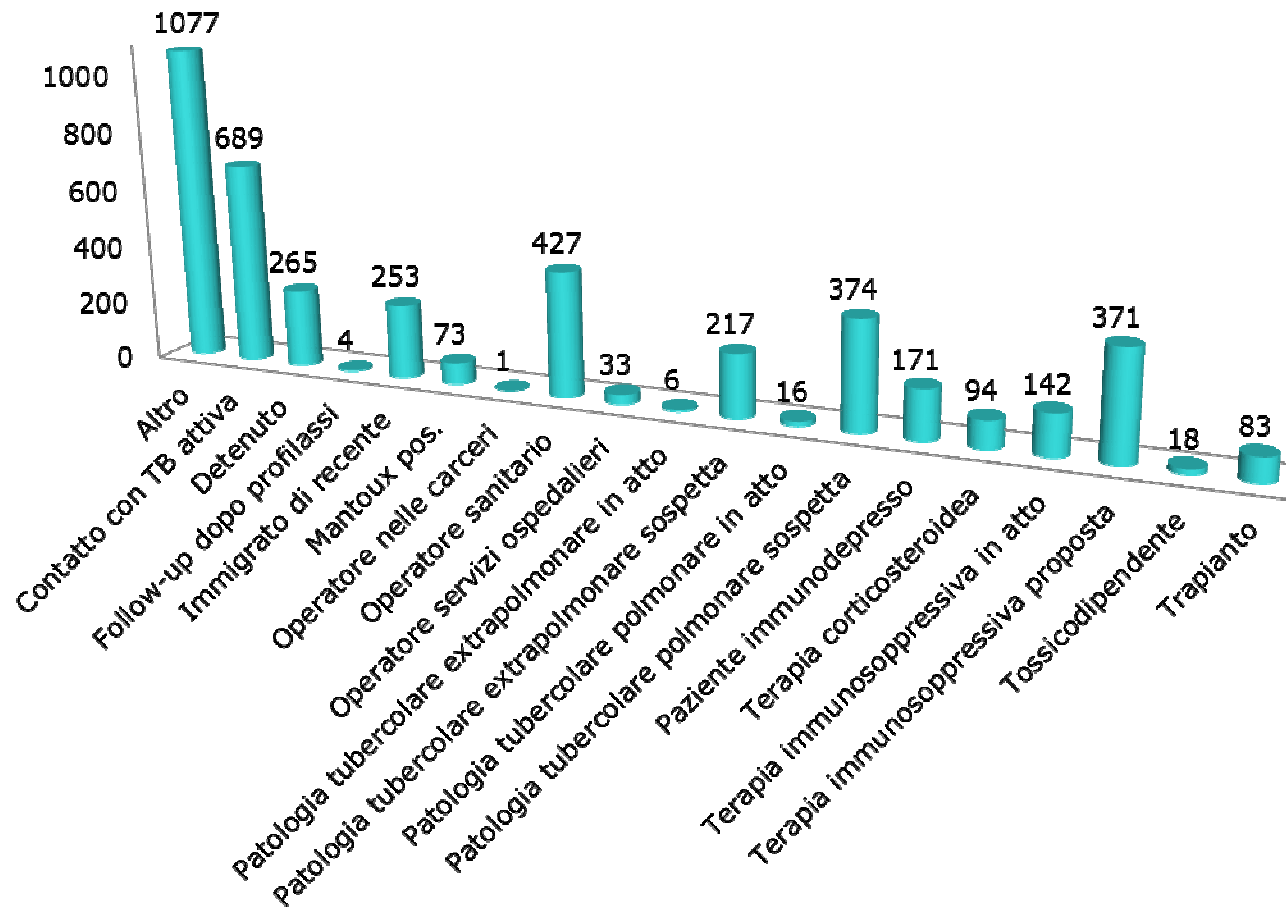
## Media test eseguiti/seduta



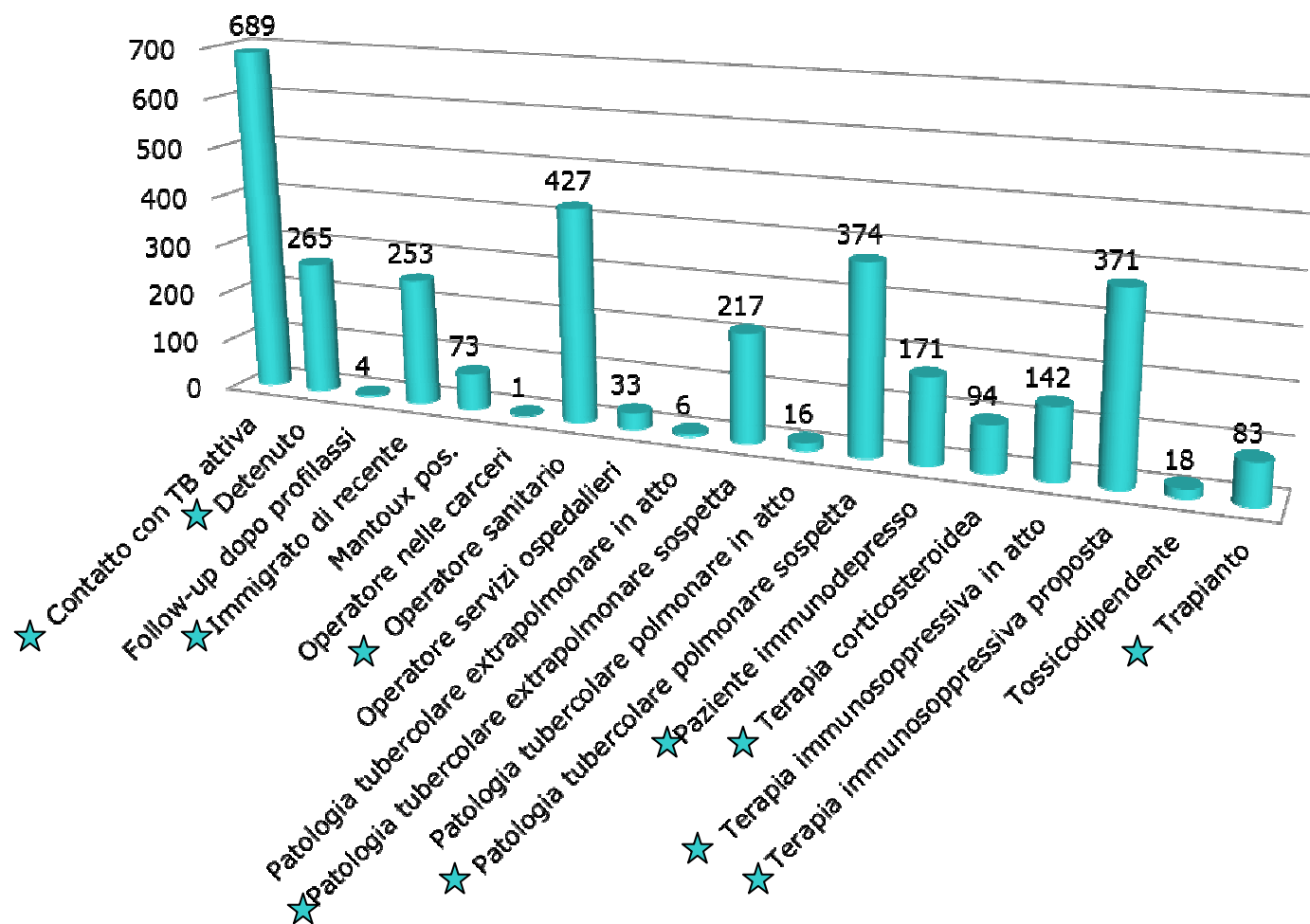
# Attività svolta dai pazienti



# Fattori di rischio



# Fattori di rischio senza la categoria “altro”

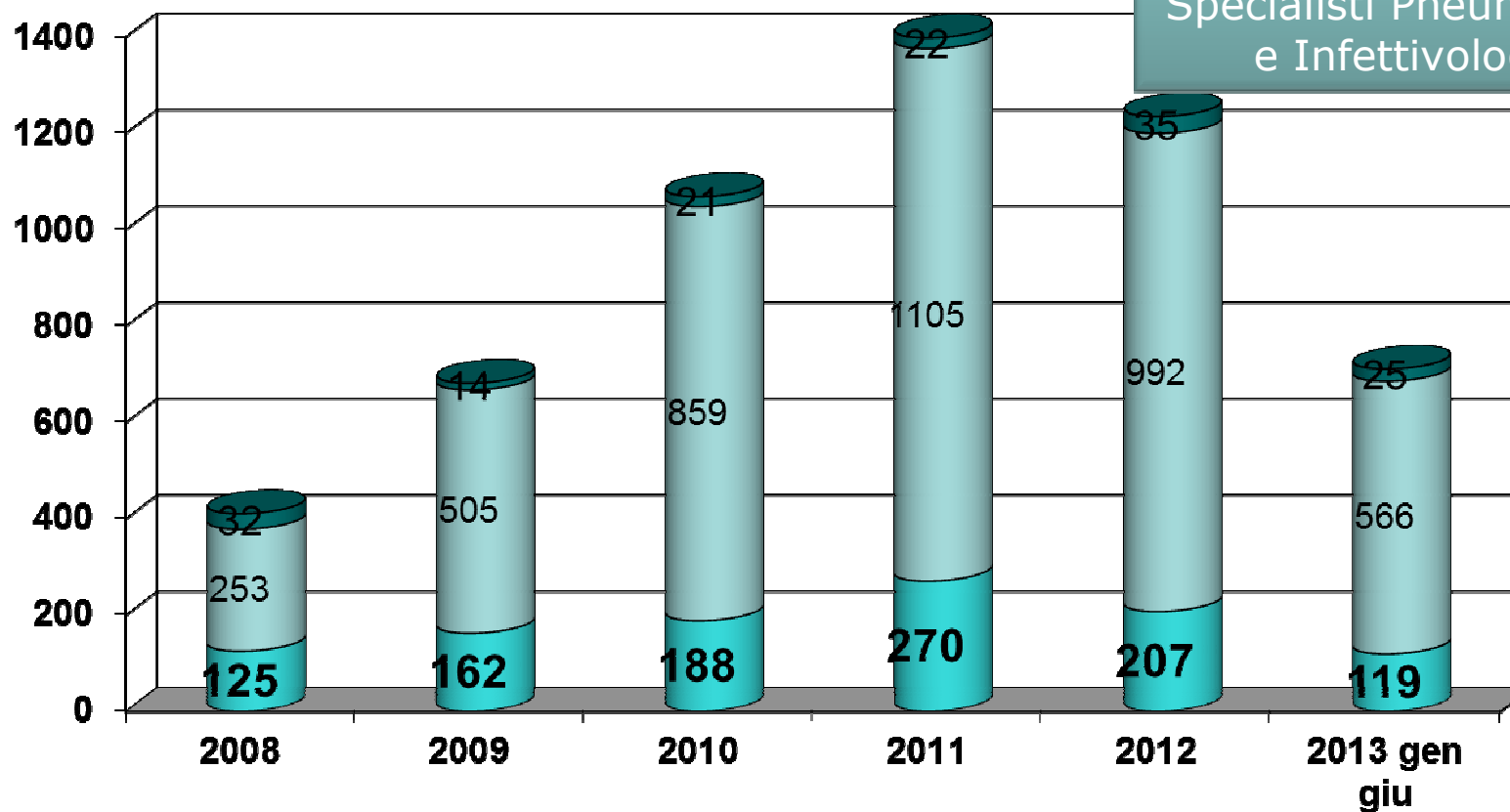


# QuantiFERON

## Andamento generale risultati

positivi negativi e indeterminati

Nei primi anni le richieste provenivano ESCLUSIVAMENTE da Specialisti Pneumologi e Infettivologi



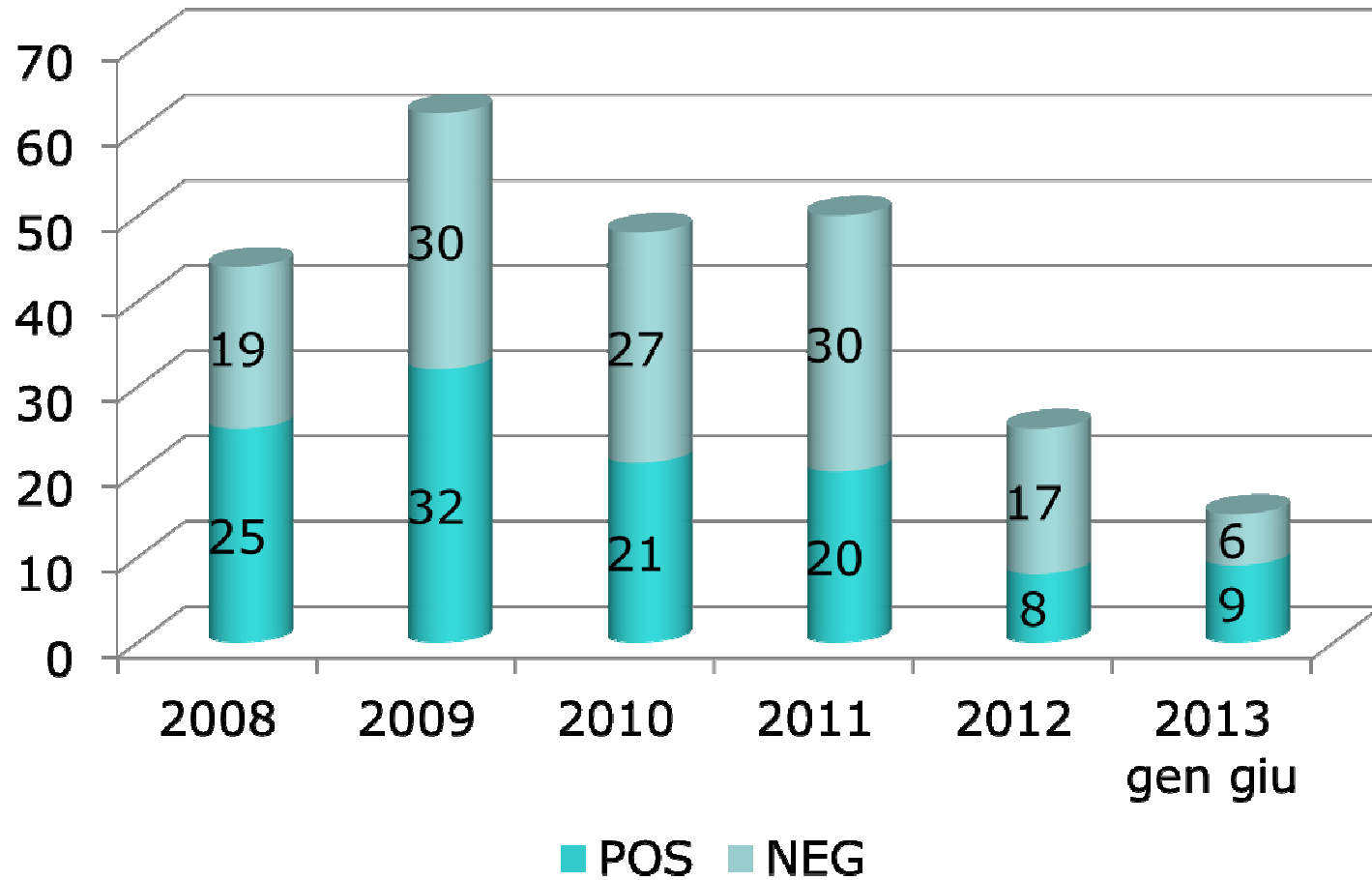
POSITIVO

NEGATIVO

INDETERMINATO

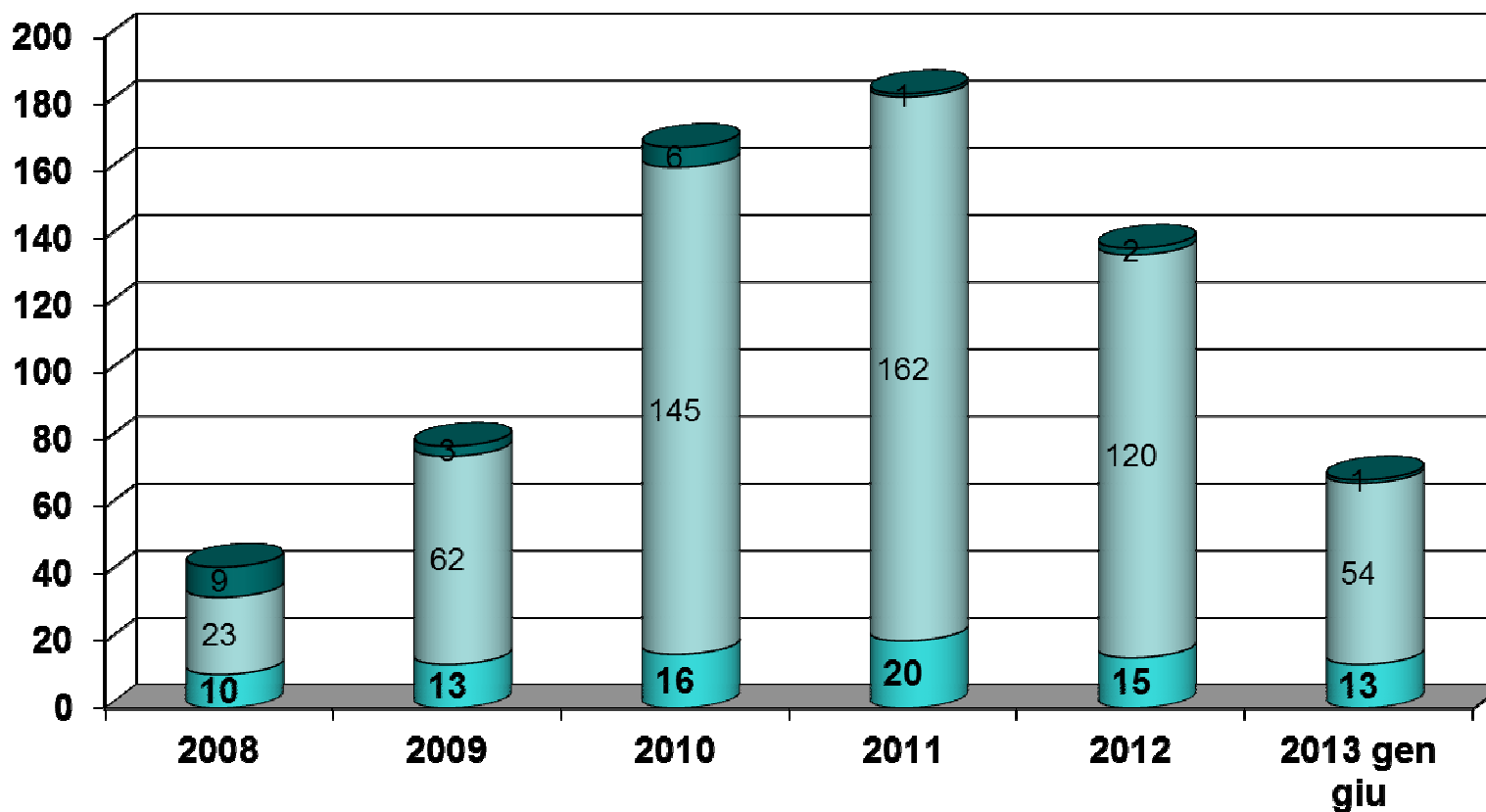
# Casa Circondariale

## QuantiFERON Risultati Positivi/Negativi



# Reumatologia AOU S. Anna

## QuantiFERON risultati positivi negativi e indeterminati



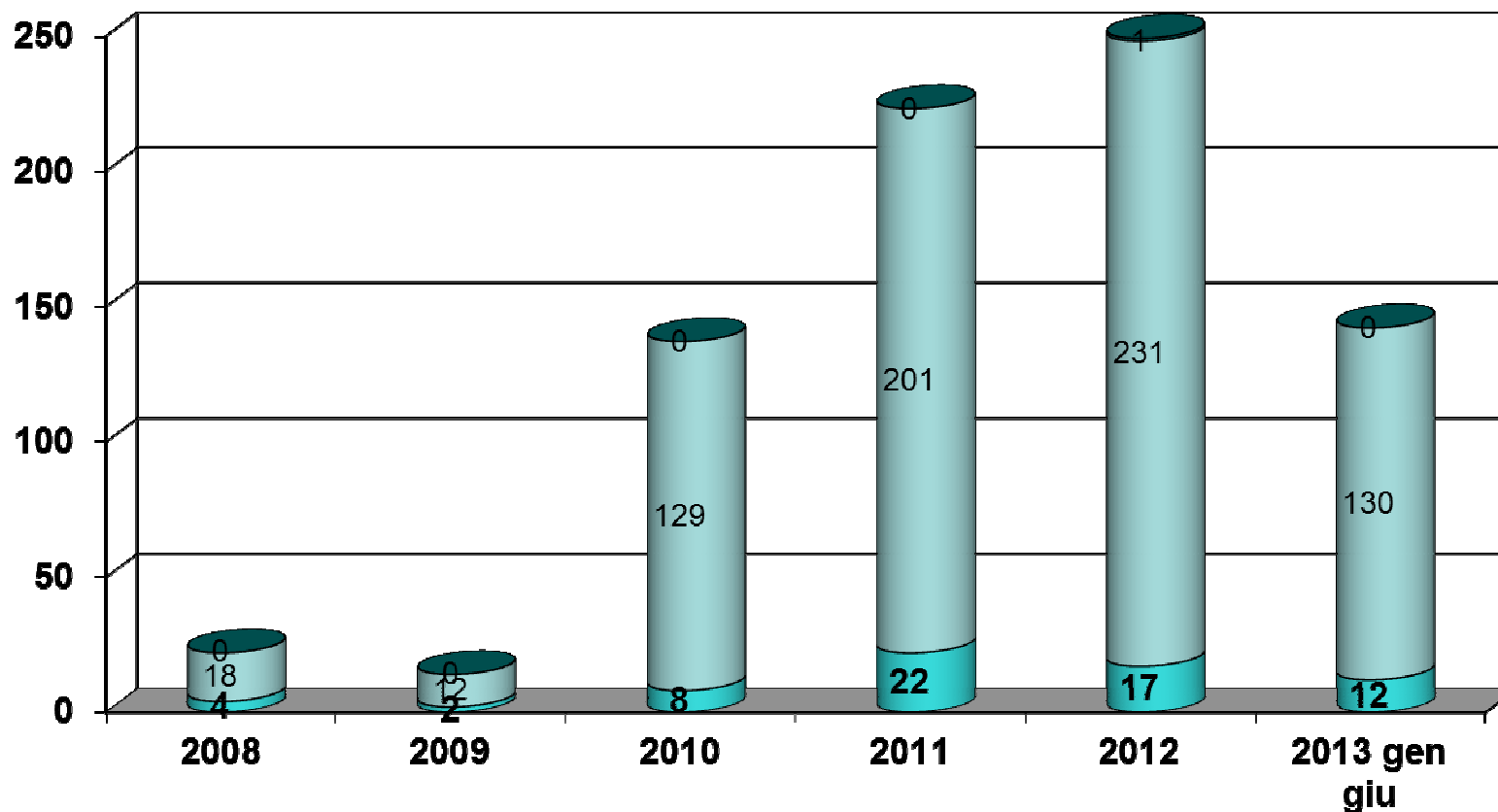
■ POSITIVO

■ NEGATIVO

■ INDETERMINATO

# Medicina del Lavoro AOU S. Anna

## QuantiFERON campioni positivi negativi e indeterminati



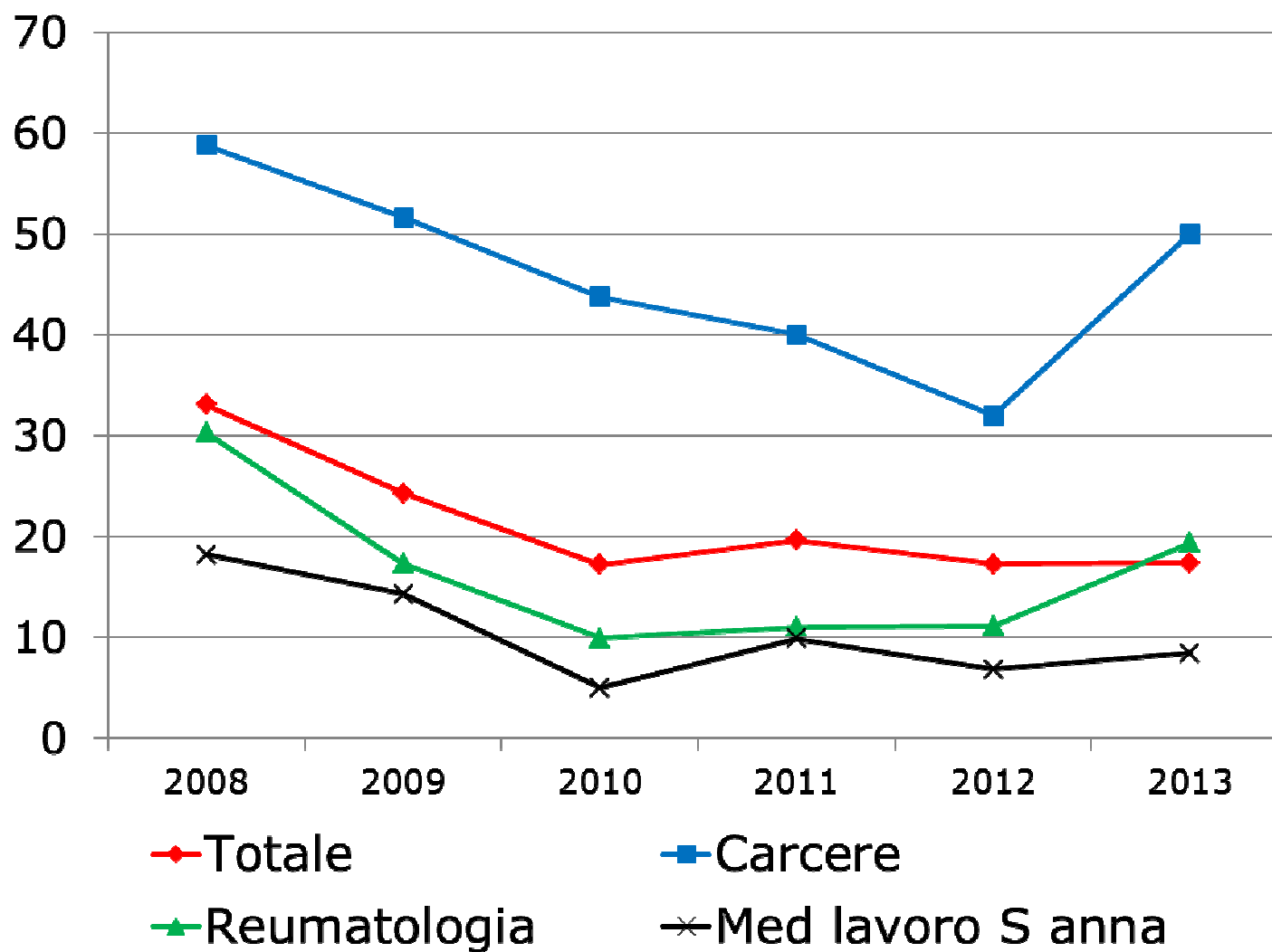
■ POSITIVO

■ NEGATIVO

■ INDETERMINATO

# QuantiFERON

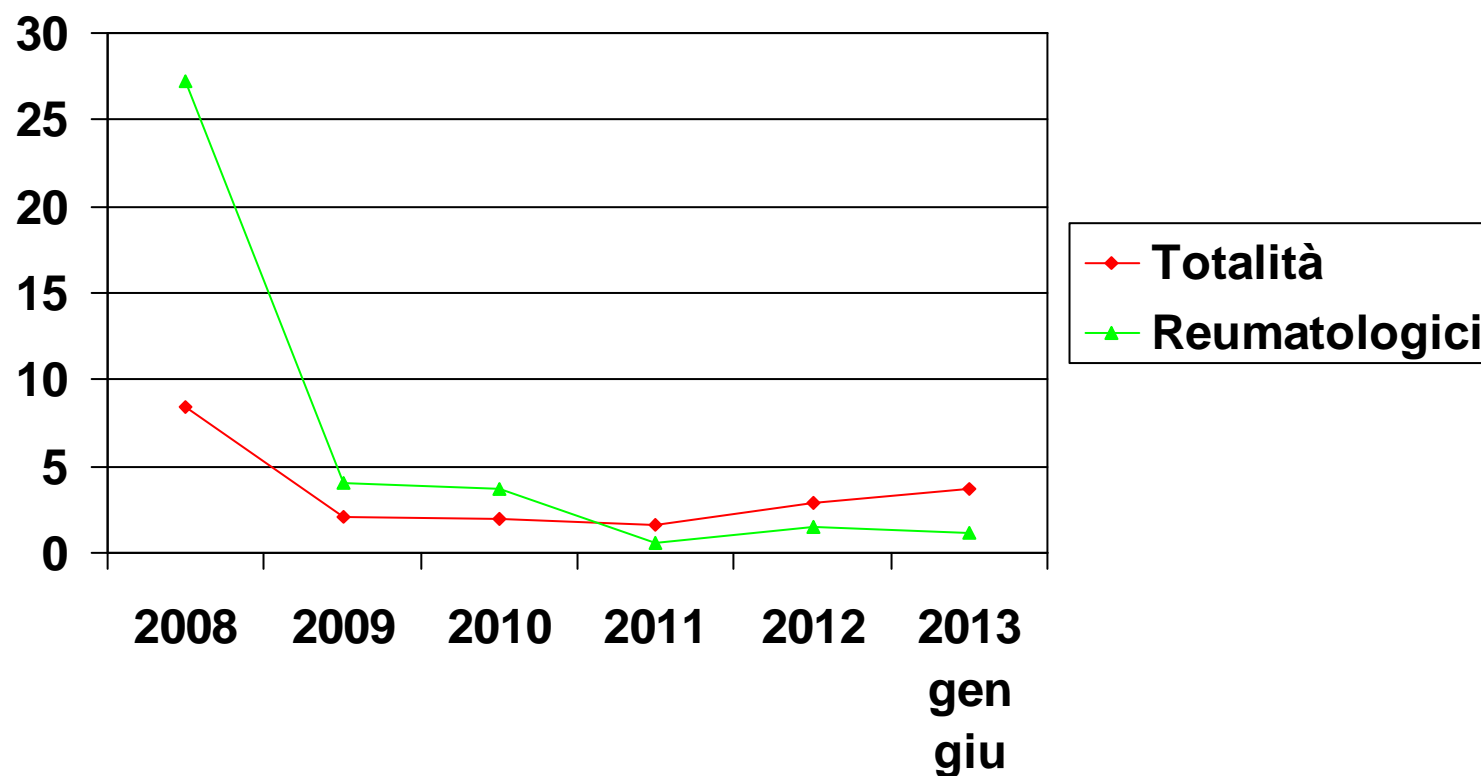
Frequenza positivi negli anni  
Totalità- carcerati- pazienti reumatologici- operatori sanitari



# QuantiFERON

Frequenza **indeterminati** negli anni

Totalità- pazienti reumatologici





# A Summary of Third Global Interferon- $\gamma$ Release Assay Symposium

---

..., **the immune response to TB is complex and continuously being remodeled.**

Those who are infected may “self-cure” or contain the infection using acquired **immune mechanisms that are in a continual state of flux**. TB is not latent but subclinical and is also **continuously changing**.

**Over the past century, the TST has been a useful tool to study TB and the risk of developing active TB.**

However, with the **advent of IGRAs, we have a new and improved tool that is far more specific than the TST.**

Additionally, because **IGRAs** do not affect immune response of the subject with regard to repeated testing, we can now better **study the dynamics of the immune response to *M. tuberculosis* infection**, which is something that was difficult with the TST.



## Conclusioni del microbiologo

---

- Il **giudizio clinico** continua ad essere il più importante fattore che determina il **protocollo di trattamento** per i pazienti con IGRA positivi



## 5. Come trattiamo l' ITBL

---

Isoniazide, 5 mg/kg al dì (>300 mg al dì per 6-9 mesi). La contemporanea somministrazione di vitamina B6 viene raccomandata.

Isoniazide e Rifampicina per 3 mesi: proposto nelle raccomandazioni britanniche. ([www.nice.org](http://www.nice.org))

Nei casi di resistenza a INH: Rifampicina, 10 mg/kg al dì (>600 mg al dì per 4 mesi. Possibili controindicazioni e interazioni con altri farmaci (es:contraccettivi orali, metadone o anticoagulanti).



*Edvard Munch Il sole 1909*