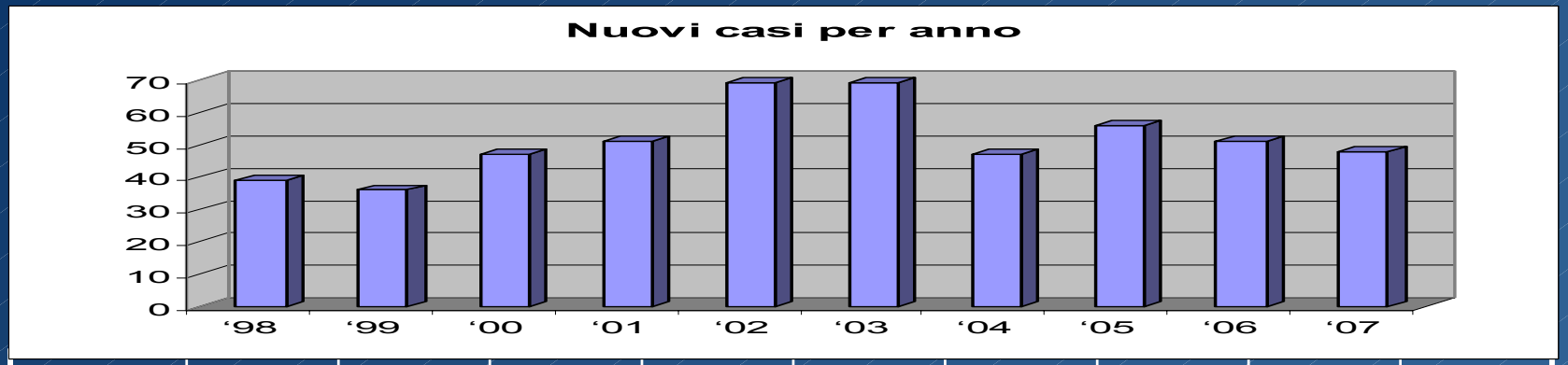
19 Dicembre 2008
Ospedale Magati

Attualità in tema di clinica e profilassi della Tubercolosi

Diagnostica di laboratorio

Luigi Vecchia
Servizio di Microbiologia
ASMN - RE

Microbiologia S. Maria Nuova



'98	'99	'00	'01	'02	'03	'04	'05	'06	'07
39	36	47	51	69	69	47	56	51	48

MICOBATTERI
CARATTERI GENERALI

- Bacilli, immobili, privi di capsula, molto resistenti ad essiccazione
- La particolare composizione della parete cellulare (elevata quantità di lipidi) determina due fondamentali proprietà dei micobatteri:

ACIDO-RESISTENZA:
Caratteristica tintoriale
dei micobatteri

Dovuta a impermeabilità degli strati superficiali batterici al colorante che impedisce l'estrazione del colorante (fucsina) da parte di acidi forti una volta che sia penetrato nella cellula

MOLTIPLICAZIONE LENTA

Lentezza della crescita in coltura (sviluppo microbico apprezzabile solo dopo settimane):
si moltiplica in 12-24 ore (contro i 30 minuti di E. coli)

MICOBATTERI
CARATTERI GENERALI

I micobatteri sono ampiamente distribuiti in natura e possono essere:

- **saprofiti (suolo, acque)**
- **patogeni (uomo e animale)**

  numerose specie di micobatteri interessano la patologia umana e possono anche essere agenti di patologie di grande rilievo (TBC, lebbra)

Micobatteri non tubercolari

Malattia polmonare: M. avium. kansasii, abscessus, xenopi, malmoense

Linfadeniti: M. avium, scrofulacem, malmoense

Malattie cutanee: M. marinum, fortuitum, chelonae, abscessus, ulcerans

Malattia disseminata: M. avium, kansasii, chelonae, haemophylum

Mycobacterium Tubercolosis (caratteri generali)

Tendenza a crescere nei terreni liquidi in formazioni cordali: numerosi bacilli allineati in lunghe file parallele per alto contenuto in lipidi e per la presenza di particolari derivati degli acidi micolici detti Fattore cordale fattore di virulenza di *M. tuberculosis*

Patogenesi

Esposizione a M. tubercolosis (inalazione di aerosol infetti)

i macrofagi alveolari uccidono MTB :
Assenza di infezione

MTB prolifera nello spazio extracellulare e vengono reclutate cellule infiammatorie

Ingestione da parte dei macrofagi alveolari inattivi

Moltiplicazione (patogeni intracellulari)
(fase prodromica)

Infezione

L'infezione

I micobatteri rimangono vitali a livello intracellulare nei macrofagi alveolari, dove si replicano.

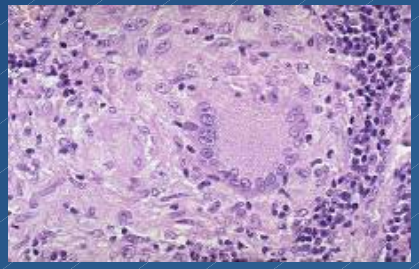
La produzione di nuovi bacilli, insieme a detriti cellulari e batterici inducono fattori chemiotattici dell'ospite e richiamano macrofagi e linfociti circolanti.

Infiltrazione di

- **Granulociti neutrofili**
  (sostituiti da)
- **Monociti - macrofagi**
- **T linfociti**

L'infezione

Lo sviluppo dell'immunità specifica e l'accumulo di macrofagi attivati porta alla formazione di un granuloma (**tubercolo**) nel sito della lesione primaria.



Anatomia patologica: linfociti, macrofagi, cellule epiteloidi e cellule giganti.

Anche a guarigione avvenuta, per anni o per tutta la vita MTB **può restare quiescente** all'interno dei macrofagi o del materiale necrotico

Chan J. et al. *Clin Immunol* 2004

La risposta cellulo-mediata

Un ruolo centrale è rivestito dai linfociti T helper che producono IFN gamma e IL (2, 4, 5, 6, 10 e 12).

Le citochine attivano i macrofagi rendendoli in grado di contrastare i micobatteri e limitare l'infezione primaria.

I macrofagi attivati possono fagocitare e uccidere i micobatteri.

I linfociti T citotossici possono anche lisare cellule fagocitiche contenenti micobatteri in replicazione, permettendo cosi la fagocitosi e l'uccisione dei micobatteri da parte delle cellule fagocitiche attive.

Infezione latente e malattia

Infezione:

(le cellule T controllano l'infezione, che rimane subclinica nel 95% dei casi)

(entro 1-2 anni il 5% va incontro a malattia attiva)

Infezione latente: MTB controllato dal sistema immunitario per tutto il resto della vita (tuttavia i micobatteri rimangono vitali)

Riattivazione
(5% di rischio durante il resto della vita) . Il rischio è sensibilmente superiore nei pazienti immunocompromessi

TB attiva e sintomatica:
I soggetti possono trasmettere la malattia ad altri

La prima infezione

Carica infettante bassa: i macrofagi sono attivati, i bacilli tendono a essere limitati nella crescita dall' immunità cellulo mediata, restano confinati e il danno tissutale è minimo.

Carica infettante elevata: la risposta immunitaria cellulo mediata provoca necrosi tissutale.

Non sono mai stati dimostrati nè tossine o enzimi batterici coinvolti nel danno tissutale

La prima infezione

- La necrosi caseosa centrale impedisce la moltiplicazione di MTB, che vi rimane **confinato**
- Caratteristiche della prima infezione:
  - conferisce immunità acquisita nei confronti di M. Tubercolosis
  - nell'organismo ospite rimangono M. tubercolosis "dormienti" ma vitali anche decenni, in una sorta di letargo metabolico. Il persistente contenimento dell'infezione richiede una continua sorveglianza immunologica ad opera di macrofagi attivati e specifici linfociti CD4 e CD8 della memoria

Tubercolosi secondaria

Nel caso in cui il complesso primario non venga completamente sterilizzato, si può assistere, anche a distanza di decenni, specie in caso di immunodeficienze, ad una riattivazione del complesso primario (tubercolosi secondaria):

- ripresa della moltiplicazione batterica,
- formazione di lesione granulomatose multiple confluenti
- possibilità che i micobatteri passino in circolo, determinando la diffusione dell'infezione in altre sedi polmonari o extrapolmonari (tubercolosi miliare, meningea, renale, ossea)

Infezione latente e malattia attiva

Infezione tubercolare latente

Infezione subclinica con bacilli tubercolari, senza segni clinici, batteriologici o radiologici di malattia manifesta.

Tipicamente si tratta di individui con intradermoreazione tubercolinica positiva ed un Rx torace normale, che possono essere contatti di un precedente caso di tubercolosi.

Tubercolosi

Stato di malattia manifesta dal punto di vista clinico, batteriologico e/o radiologico.

- Polmonare
  - Malattia primaria
  - Malattia postprimaria
- Extrapolmonare

World Health Organization

Fattori favorenti l'infezione tubercolare

Paesi industrializzati

- Presenza di emarginati (poveri, tossicodipendenti, alcolisti) non assistiti
- Immigrazione da paesi ad elevata endemia di tbc
- Aumento degli anziani e degli immunodepressi

Diagnosi di malattia attiva

FLUSSO DI LAVORO

1. Raccolta, invio, ricevimento campione
2. Microscopia diretta
3. Esame colturale: Osservazione della crescita
   - Sistemi automatici in brodo (45 giorni)
   - Terreni solidi (45 giorni)
4. Campioni positivi
   - Conferma microscopica
   - Subcoltura (purezza)
5. Identificazione
6. Antibiogramma

MODALITA' DI RACCOLTA			
MATERIALE	QUANTITA'	N. CAMPIONI	CAMPIONI NON IDONEI
Broncoaspirato - BAL - Spazzolatura bronchiale - Aspirato transtracheale	≥5 ml	3 (in giorni consecutivi)	Campioni congelati.
Espettorato	5-10 ml, raccolto al mattino		Presenza di saliva. Pool di campioni. Campioni congelati.
Espettorato indotto			Campioni congelati.
Urine	Primo mitto mattutino (almeno 40 ml),		Urine delle 24 ore. Urine da sacca. Campioni congelati.

MODALITA' DI TRASPORTO E CONSERVAZIONE

Inviare immediatamente al laboratorio

- è possibile conservare il campione (fino a 24-48 h a + 4°C)
- evitare congelamento

Materiali particolari:

- EMOCOLTURE: a temperatura ambiente
- ASPIRATO GASTRICO: deve essere trattato entro 4 ore, altrimenti va neutralizzato con circa 100 mg di carbonato di sodio.

Diagnosi di malattia attiva
Microscopia diretta

Diagnosi presuntiva

- Bacilli Alcool-acido-resistenti (BAAR) all'esame tradizionale (Ziehl Neelsen)
- I vetrini si esaminano con obiettivo a 100x, i micobatteri appaiono colorati in rosso a sfondo blu.
- Altri batteri posseggono la medesima affinità tintoriale.
- La presenza di micobatteri all'esame diretto dell'espettorato, del lavaggio gastrico o del BAL è il segno della massima infettività

Leonard M.K. et al. *Am J Infect Control* 2005

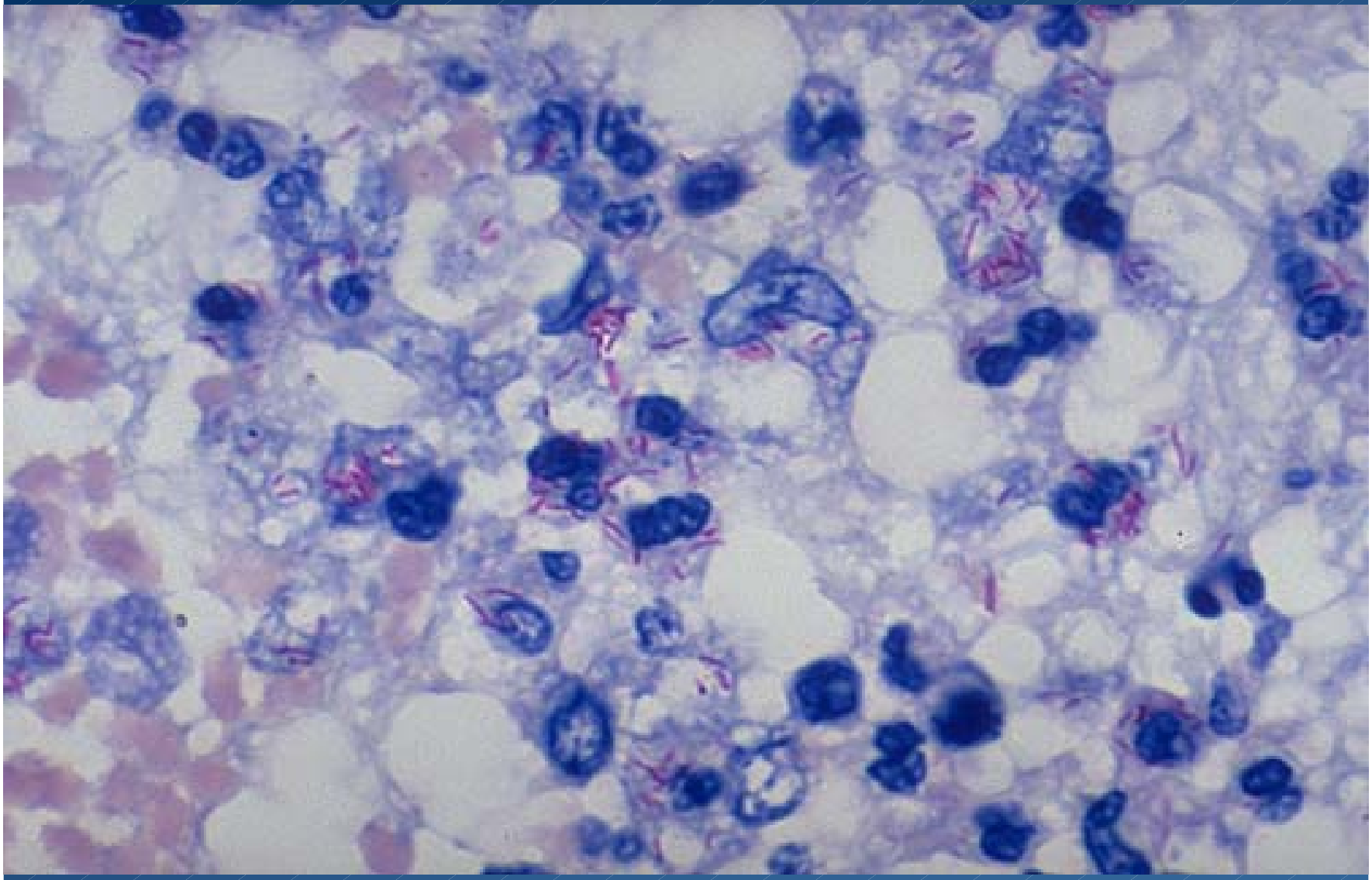
Diagnosi di malattia attiva
Microscopia diretta

VANTAGGI

- Risposta rapida (24 ORE)
- Facilità di esecuzione
- Possibilità di esecuzione su tutti i materiali (eccetto sangue)
- Basso costo (~0.5 €)
- Diagnosi presuntiva di tubercolosi
- Semi-quantitativo

LIMITI

- Alcool acido resistenza
  è una proprietà tintoriale prevalente ma non esclusiva dei micobatteri (es Nocardia, Rhodococcus, Cryptosporidium, elementi sporali…)
- Scarsa sensibilità (30-65%)
  (5.000-10.000 bacilli per ml di materiale)
- Non è indice di vitalità
- Speciazione non possibile



Diagnosi di malattia attiva
Esame colturale

Diagnosi definitiva

Campioni diagnostici: espettorato, BAL, urine, succo gastrico, urine, biopsie, frammenti di tessuto etc.

I **campioni non sterili** richiedono un processo di decontaminazione e talora di digestione ed omogeneizzazione e poi concentrazione.

La decontaminazione può influire sulla vitalità dei micobatteri.

I **campioni sterili** richiedono solo un processo di concentrazione.

In genere dopo 3 decontaminazioni fallite viene richiesto un nuovo campione

Diagnosi di malattia attiva
Esame colturale

Terreni liquidi :

- Non radiometrici, su sistema automatizzato con lettura in continuo
  - Hanno una più elevata sensibilità rispetto alle colture su terreni solidi
  - 14-21 giorni: se positivo
  - 45° giorno: se negativo

Terreni solidi :

- **Lowenstein-Jensen**
  - 30-40 giorni: se positivo
  - 45° giorno: se negativo

Vengono impiegati sempre entrambi i sistemi. In una piccola % di casi non si ha crescita in terreno liquido.

Inoltre il terreno solido consente temperature di incubazione differenziate (sulla base del materiale di partenza e quindi del sospetto clinico)

Diagnosi di malattia attiva
Identificazione

- Biologia molecolare (M. tubercolosis)

- Test biochimico colturali
- HPLC
- Nap test (radiometrico)

Diagnosi di malattia attiva
Test di sensibilità ai farmaci

Metodica di riferimento standardizzata (NCCLS)

Refertazione dopo 5-10 giorni

- Streptomicina
- Isoniazide
- Rifampicina
- Etambutolo
- Pirazinamide

- Tempi richiesti: 1/2 settimane
- Se vengono rilevate resistenze o se il paziente non risponde alla terapia è necessario testare anche altri antibiotici
- Iniziano ad essere disponibili test molecolari per l'identifica-zione rapida delle resistenze (es. PCR per mutazioni su *rpoB*)

Tubercolosi multiresistente

- Multiresistenti (MDR): quei bacilli che non sono sensibili (almeno) all'isoniazide ed alla rifampicina
- Il riscontro di una multiresistenza primaria è raro (1%)
- Quasi sempre sono osservati in soggetti già sottoposti a uno o più trattamenti: **MDR secondaria**
  - incongruità terapeutica
  - mancata compliance del paziente

- **Scarso successo terapeutico**
- Impiego di farmaci di seconda linea per lunghi periodi (maggiori effetti collaterali)

American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 2003

Tempi risposta negativi

- Microscopico 1 giorno
- Coltura 45 giorni

Tempi risposta positivi

- Microscopico 1 giorno
- Coltura 14/21 giorni
- Identificazione 1 settimana
- Antibiogramma 1/2 settimane

Diagnosi di malattia attiva
Amplificazione genica diretta da campione

Permette la diagnosi in poche ore

- Bassa sensibilità
  (maggiore dell'esame diretto, minore del colturale)
- Elevata specificità
- Non fornisce indicazioni sulla vitalità del microrganismo: non utilizzabile per il monitoraggio della terapia
- Alti costi

Utile in:

- soggetti con BAAR all'esame diretto, per la conferma di malattia
- soggetti negativi all'esame diretto, in casi selezionati

American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 2000
Vernet G. et al. *J Appl Microbiol* 2004

Diagnosi di malattia attiva
Amplificazione genica diretta da campione

- Falsi positivi
  - Cross-contaminazioni in laboratorio
  - Contaminazioni strumentali (broncoscopio)
  - Batteri non vitali (pz già in trattamento)

- Falsi negativi
  - Sostanze inibenti
  - Eliminazione discontinua

Amplificazione genica vs Microscopia

VANTAGGI

- Sensibilità di poco superiore
- Specificità di specie

SVANTAGGI

- Esecuzione complessa
- Costo elevato

Amplificazione genica *vs* esame colturale

VANTAGGI

- Molto più rapida
- Se positiva rende superflua l'identificazione
- Eseguibile su campioni contaminati
- Sia pure con alcuni limiti eseguibile anche su autopsia, pezzo istologico

SVANTAGGI

- Non altrettanto sensibile
- Non rileva micobatteri appartenenti ad altre specie
- Falsi negativi / positivi
- Costo elevato
- Esecuzione complessa
- Impossibilità di eseguire antibiogramma

Diagnosi di malattia attiva
La comunicazione dei dati

NEGATIVO

Referto preliminare (microscopia)

Referto finale (coltura su 2 terreni)

POSITIVO

Telefonata al richiedente

Referto

Notifica

- Direzione sanitaria
- Igiene pubblica

Diagnosi di infezione latente

Test cutaneo con PPD

Intradermoreazione: comparsa di **papula**
(lettura dopo 48-72 h)

Cut-off di positività specifici per gruppi di rischio

American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 2000

Diagnosi di infezione latente
Test cutaneo con PPD

FALSI POSITIVI

- legati a cross-reazione con altri micobatteri
- legati a vaccinazione con BCG
- effetto booster
- legati alla somministrazione
- legati alla lettura

FALSI NEGATIVI

legati al soggetto testato

- infezioni
- disturbi metabolici
- fattori nutrizionali
- Immunosoppressione (farmaci, malattie)
- età (neonati, anziani)

legati alla tubercolina

- improprio stoccaggio, diluizione…
- legati alla somministrazione

legati alla lettura

- inesperienza del lettore

Diagnosi di infezione latente

Test basati su IFN-γ

- test **in vitro** che misurano l'IFN-γ rilasciato dai linfociti T in risposta ad antigeni tubercolari
- per la stimolazione vengono utilizzati gli antigeni ESAT-6 e CFP-10, **specifici per MTB ed assenti nel BCG**

***QuantiFERON-TB Gold®*:**
misura la quantità di IFN-γ prodotto, tecnica Elisa

***T-SPOT.TB®*:**
misura il numero di linfociti T che producono IFN-γ, tecnica Elispot

Pai M. et al. *Lancet Infect Dis* 2004

Diagnosi di infezione latente
Antigeni

ESAT 6
Early Secretion Antigen Target 6

CFP 10
Colture Filtrate Protein 10

All stimulated T-lymphocytes secrete interferon-, but the ESAT-6- and CFP-10-specific assays can only detect interferon secreted from T-lymphocytes produced as a result of exposure to ESAT-6 and CFP-10 antigen.

In vivo and *in vitro* experiments have shown that the combination of ESAT-6 and CFP-10 has a higher sensitivity and specificity than PPD in diagnosis of TB

A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection
J Dinnes, J Deeks, H Kunst, A Gibson, E Cummins, N Waugh, F Drobniewski
and A Lalvani
·Health Technology Assessment; NHS R&D HTA Programme; www.hta.ac.uk

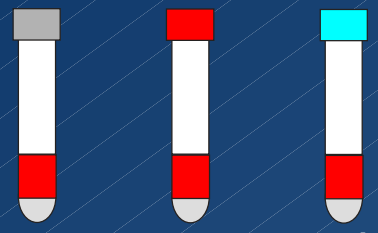
Specificità di ESAT-6, CFP-10

	Antigeni	
	ESAT-6	CFP-10
M tuberculosis	+	+
Ceppi BCG		
gothenburg	-	-
moreau	-	-
tice	-	-
tokyo	-	-
danish	-	-
glaxo	-	-
montreal	-	-
pasteur	-	-

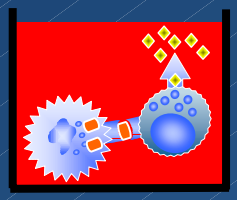
NTM	Antigeni	
	EAST-6	CFP-10
M abscessus	-	-
M avium	-	-
M branderi	-	-
M celatum	-	-
M chelonae	-	-
M fortuitum	-	-
M gordonae	-	-
M intracellulare	-	-
M kansasii	+	+
M malmoense	-	-
M marinum	+	+
M genavense	-	-
M scrofulaceum	-	-
M smegmatis	-	-
M szulgai	+	+
M terrae	-	-
M vaccae	-	-
M xenopi	-	-

Metodo ELISA *in-tube*

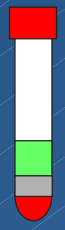
Raccolta del sangue in provette eparinate



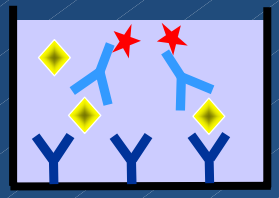
K neg ESAT6 + CFP10 mitogeno



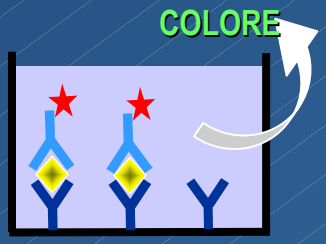
Incubazione per 16-24h a 37°C



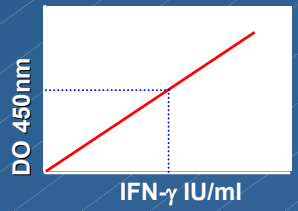
centrifugazione



Recupero del plasma e dosaggio dell'IFN-γ ('sandwich' ELISA, incubazione 120 min)



Lavaggio, aggiunta di substrato e lettura

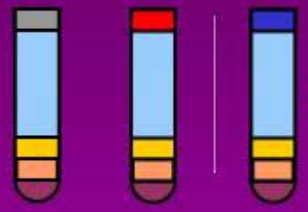


Misura della DO e dosaggio dell'IFN-γ contro una curva di taratura

*Quanti*FERON®:

1° Step: Prelievo

1. Prelevare 2/3 x 1mL di sangue intero negli appositi tubi del kit contenenti eparina/antigeni



ESAT-6
CFP-10
TB7.7 (p.4)

2. Entro 16 ore (TA), mescolare per capovolgimento 8-10 volte → Trasportare in Laboratorio Di Microbiologia

Prelievo

- Utilizzare sistema di prelievo sotto vuoto
- Per ogni soggetto in esame prelevare **1 ml di sangue** direttamente in ognuna delle provette dedicate QuantiFERON-TB
- Al raggiungimento del livello di prelievo (linea nera sulla provetta) attendere 2-3 secondi per accertarsi di aver prelevato il volume corretto
- Miscelare il contenuto delle provette per capovolgimento 8-10 volte, verificando che **l'intera superficie delle provette** sia ricoperta di sangue.
- E' fondamentale agitare accuratamente per garantire che il campione di sangue si mescoli completamente al contenuto della provetta
- Identificare le provette con le etichette generate dal programma di accettazione
- Far pervenire le provette al Laboratorio di Microbiologia entro **16 ore dal prelievo**

Kit provette di prelievo		**Codice magazzino**
Provetta vacu tappo **grigio**	controllo negativo	Fornita da Lab. di Microbiologia
Provetta vacu tappo **rosso**	antigene TB	Fornita da Lab. di Microbiologia
Provetta vacu tappo **viola** (facoltativo)	controllo mitogeno	Fornita da Lab. di Microbiologia

Dati anagrafici

Motivazione della richiesta

Contatto di un caso infettivo: Tipo e durata del contatto

Conferma test cutaneo positivo Recente cuticonversione (< 2 anni)

Controllo Operatore sanitario: Struttura ad alto rischio TB Si No

Soggetto proveniente da Paese ad alta endemia Soggetto senza fissa dimora

Soggetto residente in Comunità ad alto rischio TB

Valutazione in particolari condizioni cliniche (vedi dati clinici ed epidemiologici)

Valutazione pre trapianto (specificare)

Altro (specificare)

Dati clinici ed epidemiologici

Vaccinazione con BCG: Si No Non noto

In caso affermativo, ultima somministrazione nell'anno

Intradermoreazione antitubercolare: POS NEG Non eseguita

Se Mantoux positiva, diametro della reazione: mm

Tubercolosi: Sospetta

In atto, diagnosticata in data

Pregressa (specificare il periodo)

Polmonare Extrapolmonare

Altre condizioni cliniche

HIV + Trapianto:

Neoplasie Chemioterapia Si No

Silicosi Linfadenite Gastrectomia

Bronchiettasie Tossicodipendenza Diabete Dialisi

Alcolismo Protesi chirurgiche

Immunodepressione (specificare il tipo)

Terapia con cortisonici

Micobatteriosi precedenti (specificare)

Data: Firma leggibile e timbro del Medico richiedente:

Metodo ELISA *in-tube*
Referto

- Risultato controllo negativo
- Risultato mitogeno aspecifico
- Risultato test con Ag specifici
  - Negativo
  - Positivo
  - Indeterminato
- Eventuali commenti

Test IFN-γ: interpretazione

- Risultato POSITIVO: infezione da *M. tuberculosis* PROBABILE;
- Risultato NEGATIVO: infezione da *M. tuberculosis* NON PROBABILE;
- Risultato INDETERMINATO: non è possibile interpretare il test in quanto
  - Risposta al mitogeno aspecifica inadeguata oppure
  - Controllo negativo con valore troppo elevato.
- Una diagnosi di tubercolosi latente richiede ulteriori approfondimenti per escludere una tubercolosi attiva.

Vantaggi dei metodi basati su IFN-γ

- Test in vitro
- Nessun effetto *booster*
- Specificità elevata
- Non influenzati dalla vaccinazione con BCG
- Praticità: occorre solo un prelievo di sangue e non è richiesta la collaborazione del paziente
- Interpretazione oggettiva
- Eliminano il ricorso a trattamenti non necessari

Test IFN-γ vs. Mantoux

- Sensibilità relativa ai casi di TBC attiva: SOVRAPPONIBILE
- Sensibilità nei casi di sospetta infezione latente: MAGGIORE per IFN-γ
- I casi con Mantoux NEG e IFN-γ POS sono generalmente associati con l'esposizione
- I casi con Mantoux POS e IFN-γ NEG non sono generalmente associati con l'esposizione

Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States

Contraindications

Because of insufficient data on which to base recommendations, QFT is not recommended for

- evaluation of persons with suspected tuberculosis. Active tuberculosis is associated with suppressed IFN- responses. The degree of suppression appears to be related to the severity of disease and the duration of therapy.
- screening of children aged <17 years, pregnant women, or for persons with clinical conditions that increase the risk for progression of LTBI to active TB (e.g., human immunodeficiency virus infection).
- detection of LTBI after suspected exposure (i.e., contact investigation after a resident or employee is diagnosed with active TB or a laboratory spill of *M. tuberculosis*) of persons participating in longitudinal LTBI surveillance programs. The approach of using QFT for initial screening, followed by QFT and TST 3 months after the end of the suspected exposure, has not been evaluated.
- diagnosis of *M. avium* complex disease.

(CDC, 2005)

Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States

Future Research Needs

- performance of QFT-G in young children, especially those aged <5 years;
- performance of QFT-G in persons with impaired immune systems, including persons with HIV/AIDS, those who will be treated with TNF-a antagonists, and others;
- performance and practicality of use of QFT-G in substantial numbers of persons who undergo periodic screening;
- determination of the subsequent incidence of TB disease after LTBI has been either diagnosed or excluded with QFT-G;
- changes in QFT-G results during therapy for both LTBI and TB disease;
- ability of QFT-G to detect reinfection after treatment for both LTBI and TB disease; and

(CDC, 2005)

Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States

POTENTIAL BENEFITS

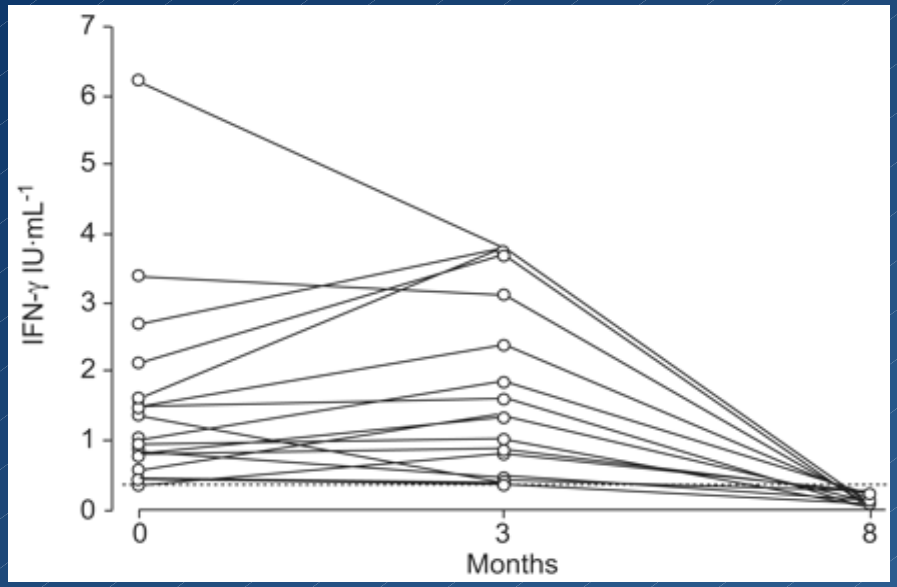
- Compared with tuberculin skin testing (TST), QuantiFERON®-TB Gold (QFT-G) results are less subject to reader bias and error.
- QFT-G test results are available in <24 hours after testing, without the need for a second visit, whereas a TST requires a second visit to read results at 48-72 hours
- Targeted tuberculin testing programs may identify persons at increased risk for tuberculosis who will benefit from treatments for latent tuberculosis infection (LTBI).

POTENTIAL HARMS

- False-negative QFT-G test results
- Errors in collecting or transporting blood specimens or in running and interpreting the assay can decrease the accuracy of QFT-G.

(CDC, 2005)

Monitoring the efficacy of anti-TB therapy by using the QuantiFERON-TB Gold test



EUROPEAN RESPIRATORY REVIEW, 2008;17: 74-75.

- **FIGURE 1.** Changes of specific interferon (IFN)- responses during anti-tuberculosis (TB) therapy in 30 HIV-/TB+ patients. 0.35 IU·mL-1.

Strategie diagnostiche per tubercolosi latente

The National Collaborating Centre
for Chronic Conditions

Funded to produce guidelines for the NHS by NICE

TUBERCULOSIS

Clinical diagnosis and management of tuberculosis,
and measures for its prevention and control

Published by
Royal College of Physicians
Setting higher medical standards

2006

Strategie diagnostiche per tubercolosi latente

Diagnosis has in the past been reliant on the TST but this has poor specificity if there has been BCG vaccination or environmental mycobacterial exposure, which can lead to false positive results. In the absence of a gold-standard reference test, it is not possible to measure directly the sensitivity and specificity of a new test for latent tuberculosis. The studies included here have thus focused on whether interferon-gamma immunological tests correlate better with exposure to *M. tuberculosis* than the TST.

Strategie diagnostiche per tubercolosi latente

5.1.4 Health economics

A decision model was used to compare the expected cost-effectiveness of four strategies of testing for latent infection in the context of a contact tracing programme in England and Wales. The strategies compared were:

- TST
- IGT
- TST followed by IGT for patients with a positive TST
- no test (inform and advise only).

Strategie diagnostiche per tubercolosi latente

5.1.5 From evidence to recommendations

prevalence groups, in household contacts, and in outbreak situations. The specificity of interferon-gamma tests seemed better, and there was less potential for false positive results. It is not possible to determine, for either TST or IGT, the rate of false negative results. Some people with false negative results will go on to develop active TB and thus reduce the cost-effectiveness of vaccination and treatment of latent TB infection.

Prospective studies in people with latent TB (as judged by positive interferon-gamma tests) found at TB contact tracing and new entrant screening, have not yet been performed to find what proportion of such persons went on to develop clinical disease.

Economic modelling was undertaken with various strategies from no action to a two-step strategy with either TST followed by interferon-gamma testing, or serial interferon-gamma tests. Of these options, the model provided most support, on grounds of cost-effectiveness, for a two-step approach with an initial TST, followed by an interferon-gamma test to confirm positivity. The GDG members also supported this because of clinical utility and feasibility.

Strategie diagnostiche per tubercolosi latente

RECOMMENDATIONS

Evidence is emerging on the performance of interferon-gamma tests. If this new evidence is significant, NICE will consider updating the guideline.

R1 To diagnose latent TB: D

- Mantoux testing should be performed in line with the 'Green Book'[21]
- those with positive results (or in whom Mantoux testing may be less reliable) should then be considered for interferon-gamma immunological testing, if available
- if testing is inconclusive, the person should be referred to a TB specialist (see chapter 10 for management of latent TB).

Health Technology Assessment 2007; Vol. 11: No. 3

A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection

J Dinnes, J Deeks, H Kunst, A Gibson,
E Cummins, N Waugh, F Drobniewski
and A Lalvani

January 2007

Health Technology Assessment
NHS R&D HTA Programme
www.hta.ac.uk

Conclusioni

- Diagnosi eziologica di TB: riscontro (coltura o biologia molecolare) di Micobatteri tubercolari in campioni biologici.
- Il 30% circa dei casi rimane microbiologicamente negativo.
- Rilevanza dell' identificazione di soggetti candidati al trattamento dell'infezione latente: finalizzata al contenimento della diffusione soprattutto tra coloro che hanno rischio maggiore di sviluppare la malattia attiva.
- Diagnosi di infezione tubercolare latente: fin'ora poteva essere dimostrata solo con il test cutaneo alla tubercolina. Test in vitro di recente introduzione possono superare i limiti del test cutaneo.