

UTILITATEA TESTELOR IMUNOLOGICE ÎN DIAGNOSTICUL TUBERCULOZEI PULMONARE ACTIVE

IOANA GHIGOLEA¹, MARINA SPÎNU³, ADRIAN-BOGDAN GHIGOLEA⁴,
MONICA POP²

¹Spitalul Județean de Urgență Alba-Iulia

²Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

³USAMV Cluj-Napoca

⁴Centrul de Dializă NDC Alba-Iulia

Rezumat

Obiective. Evaluarea capacității diagnostice a testului de transformare blastică, testului fagocitozei (testarea imunității celulare) și testarea eliberării IFN- γ (testarea imunității umorale) în diagnosticul tuberculozei pulmonare active, comparându-le cu frotiul BAAR.

Materiale și metodă. S-a desfășurat un studiu analitic, transversal, caz-martor de evaluare a unui test diagnostic (de faza II), în care au fost incluși 50 de pacienți internați în Spitalul de Pneumoftiziologie Cluj-Napoca.

Rezultate. Activitatea fagocitară este mai intensă comparativ cu lotul martor la grupele de pacienți BK pozitiv și cu suspiciune radiologică. Variația activității fagocitare în timp este liniar – pozitivă și semnificativă statistic la toate cele trei grupe studiate în analiză univariată și cu semnificație statistică doar pentru lotul BK în analiză multivariată. În regresie logistică nu s-a putut dovedi existența unei legături între activitatea fagocitară și diagnosticul de tuberculoză (TB) pulmonară activă confirmată prin examen bacterioscopic. Testul de transformare blastică demonstrează răspuns maxim la lotul BK pozitiv, dar diferențele dintre loturile studiate nu sunt semnificative statistic, iar în regresie logistică relația dintre examenul sputei și indicele de stimulare blastică este fără semnificație statistică. Testul QuantiFERON TB-Gold are valoare statistică redusă comparativ cu testul standard în diagnosticul TB la pacienții cu boală activă, toți indicii de performanță fiind slabi, astfel încât testul are calitate diagnostică aproape absentă.

Concluzii. Noile teste investigate s-au dovedit inferioare examenului bacterioscopic și nu pot fi recomandate uzului clinic.

Cuvinte cheie: tuberculoză pulmonară, testul de transformare blastică, activitate fagocitară, QuantiFERON TB-Gold.

UTILITY OF IMMUNOLOGICAL TESTS FOR THE DIAGNOSIS OF ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Abstract

Objectives. To evaluate the diagnostic capabilities of the blast transformation test, phagocytosis test (cellular immunity tests) and IFN- γ release assay (humoral immunity test) in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis, as compared to the bacterioscopic BAAR test.

Materials and methods. 50 patients were recruited from the Cluj-Napoca Pneumophthisiology Clinic. We ran an analytical, cross-sectional, case-control, phase II study.

Results. The phagocytic activity is higher in BK-positive and RX-positive subjects, compared to controls. The time variation of the phagocytic activity in

univariate analysis, is linear - positive and statistically significant. In multivariate analysis it is statistically significant only for the BK-positive subjects. Furthermore, the logistic regression analysis showed no statistical significance for the phagocytic test in the diagnosis of active pulmonary TB.

The blast transformation test demonstrated a higher response in BK positive subjects, but no statistical difference between the BK, Rx or Cx positive patients. In logistic regression analysis, the blast transformation test was not statistically significant for the diagnosis of active pulmonary TB.

The statistical measures of the performance of the QTB-G test, compared to the standard test in the diagnosis of active pulmonary TB, were below the threshold of statistical significance. The diagnostic power of the QTB-G test is limited for the diagnosis of active TB disease.

Conclusions. *The statistical value of the new investigated tests is inferior to the bacterioscopic BAAR test and can not be recommended for clinical use.*

Keywords: pulmonary tuberculosis, blastic transformation test, phagocytic test, Quantiferon TB-Gold test.

INTRODUCERE

În fața unui pacient cu suspiciune clinică și radiologică de tuberculoză pulmonară, diagnosticul este susținut de examenul bacterioscopic BK al sputei (frotiu BAAR). Diagnosticul de certitudine este precizat de rezultatul culturii BK, la 2 luni. În acest interval tratamentul este administrat în lipsa certitudinii diagnostice, bazat pe experiența greu cuantificabilă și reproductibilă a clinicianului. Dezvoltarea unor metode de diagnostic bazate pe tehnici imunologice a fost posibilă ca urmare a progresului de înțelegere a fiziopatogeniei infecției tuberculoase. Macrofașul și limfocitul T ocupă în continuare rolul central în patogenia infecției tuberculoase, dar se descrie un întreg sistem de interacțiuni celulare (LT CD4+, LT CD8+, LT $\gamma\delta$) mediate umoral (IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, TNF- α , IL-1, IL-6, TGF- β) [1,2].

Testul de transformare blastică in vitro. Substanțele mitogene alcătuiesc un grup diversificat sub raportul provenienței (origine bacteriană, vegetală sau animală) și al structurii chimice (proteine, glicoproteine, lipozaharide etc.). Ele pot stimula nespecific atât limfocitele T, cât și B. Măsurarea activării limfocitelor T și/sau B *in vitro* reprezintă o metodă de apreciere a funcționalității acestor celule [3]. Cu toate că mediul de cultură creează condiții artificiale și procesele vitale sunt oarecum modificate față de cele care au loc *in vivo*, se consideră că rezultatele sunt extrapolabile. Testul se poate efectua folosind probe de sânge integral sau celule separate prin centrifugare, în gradient de densitate. După suspendarea celulelor în mediul de cultură și incubare timp de 24 - 48 - 72 de ore la 37°C, se observă apariția blaștilor în prima etapă, iar ulterior numărul mare de mitoze. Procesul este însoțit de activare metabolică și creșterea sintezei proteice, reflectate prin

utilizarea accentuată a aminoacizilor și consumul glucozei din mediu. Un răspuns cuantificabil față de mitogeni în cultura de limfocite semnifică prezența celulelor imunologic competente, respectiv existența unei reacții imune mediate celular [3].

Testul de fagocitoză a particulelor de carbon.

Fagocitoza reprezintă unul din mecanismele de protecție de primă intervenție, cu însemnătate îndeosebi în prevenția bacteriozelor și a virozelor. În această funcție sunt active, alături de granulocitele polimorfonucleare, și celulele mononucleare de tipul macrofașelor, circulante sau fixate în țesuturi. Testarea capacității funcționale a neutrofililor, corelată cu alte teste de evaluare a imunodeficiențelor, poate elucida suspiciunea de imunodeficit neutrofilic primar. Fagocitoza ca test funcțional poate depista, în cazul unor deficite neutrofilice secundare, perturbări intervenite în diferite etape ale fagocitozei: chemotaxia, interacțiunea cu particulele opsonizate, ingestia, dezvoltarea șuntului respirator, distrugerea și digerarea microorganismelor. Toate funcțiile depind de integritatea receptorilor de membrană, astfel încât identificarea lor prin aplicarea anticorpilor monoclonali poate fi extrem de utilă. Fagocitele din sângele integral posedă capacitatea de a ingera bacterii, dar și particule inerte (carbon). Reducerea cantității de particule de carbon într-un amestec de sânge integral și tuș de China, evaluată spectrofotometric, oferă indicii asupra capacității funcționale a fagocitelor circulante [4].

Infecție tuberculoasă latentă vs. activă. Dintre cei 30% de subiecți infectați cu *M. tuberculosis* după primă expunere, 90% dezvoltă infecție tuberculoasă latentă (ITBL). Aceasta este atribuită abilității unice a *M. tuberculosis* de a persista perioade lungi de timp fără să fie recunoscută de sistemul imunitar uman. Indivizii cu ITBL sunt asimptomatici și non-contagioși. Cercetările din ultimii ani în ceea ce privește tuberculoza s-au axat mai ales pe îmbunătățirea metodelor de diagnostic și pe lupta antituberculoasă. S-au dezvoltat metode mai rapide și mai precise, laborioase, bazate pe tehnici imunologice de

diagnostic a infecției tuberculoase. Dintre acestea, testarea eliberării IFN- γ s-a dovedit superioară (ca sensibilitate și specificitate) testării cutanate, pe care o înlocuiește treptat. Inconvenientul major îl constituie însă lipsa capacității de discriminare între ITBL și TB pulmonară activă. În ultimii 2-3 ani a fost demonstrată utilitatea diagnostică a testării eliberării IFN- γ în TB pulmonară activă.

MATERIAL ȘI METODĂ

Scopul lucrării a fost evaluarea eliberării IFN- γ , activității fagocitare și a transformării blastice în precizarea diagnosticului de tuberculoză pulmonară. Studiul a inclus 50 de subiecți, selectați din rândul bolnavilor internați în Spitalul de Pneumoftiziologie Cluj-Napoca, în perioada noiembrie 2010-ianuarie 2011, cu acordul Comisiei de etica medicală a clinicii. Tipul studiului: experimental, transversal, caz-martor, de fază II, de evaluare a calităților intrinseci ale testelor mai sus amintite comparându-le cu testul standard: examenul bacteriologic BAAR al sputei. Subiecții au fost împărțiți în două loturi: pacienți BK pozitivi (BK+) și pacienți BK negativi (la testul standard), ultimii împărțiți în pacienți cu suspiciune radiologică (RX+), respectiv clinică (CX+) de TB pulmonară. La toți cei 50 de subiecți s-au efectuat: radiografie toracică, hemoleucogramă, VSH, biochimie uzuală, examen bacterioscopic specific și nespecific al sputei. Testele de transformare blastică și activitate fagocitară s-au efectuat în laboratorul USAMV Cluj-Napoca, iar testarea eliberării IFN- γ în laboratorul Clinicii Medicale III Cluj-Napoca.

Testul de transformare blastică: sângele integral (0,7 ml) a fost diluat cu mediu RPMI 1640 (2,8 ml), cu adaos 1:5 de ser fetal de vițel 5%; ajustarea pH-ului s-a făcut cu soluție sterilă de NaHCO_3 5%. Sângele suspendat s-a repartizat în godeuri (200 μl /godeu). S-au efectuat două variante experimentale, testate în duplicat: M = martor netratat și Tu = tuberculină umană (25 μl). Culturile au fost incubate 48 ore în atmosferă de 5% CO_2 , apoi s-a realizat o probă medie din duplicat, din care s-au prelevat 12,5 μl , trecuți ulterior în 2 ml de orto-toluidină. Eprubetele se mențin 8 minute pe baie de apă la 100°C, apoi se răcește brusc și se spectrofotometrează la 610 nm. Pentru fiecare serie de probe se lucrează în paralel o probă standard de glucoză (100 mg/dl) și o probă de mediu, folosind în loc de supernatant, mediul inițial (RPMI). În funcție de valorile glucozei, indicii de stimulare s-au calculat după relațiile:

$$IS_{\text{martor}} (\%) = \frac{\text{Conc. glucozei în mediu} - \text{Conc. glucozei martor}}{\text{Conc. glucozei în mediu}} \times 100$$

$$IS_{\text{probă}} (\%) = \frac{\text{Conc. glucozei în martor} - \text{Conc. glucozei în probă}}{\text{Conc. glucozei în martor}} \times 100$$

Activitatea fagocitară: sângele heparinat (0,5 ml) se repartizează în tuburi sterile. Se iau 2 variante pentru fiecare probă: sânge (0,5 ml) + tuș (1,5 μl) și sânge (0,5 ml) + tuș (1,5 μl) + TU (25 μl). Din amestecul rezultat se iau 100 μl și se trec în câte 2 ml ser fiziologic (momentul 0). Tuburile se incubează la 37°C timp de 45, respectiv 60 de minute. Aceste cantități vor fi trecute de fiecare dată în 2 ml de ser fiziologic sau tampon fosfat salin. În final, toate tuburile conținând ser fiziologic + sânge integral + tuș sau ser fiziologic + sânge + tuș + TU vor fi centrifugate timp de 5 minute la 1500 rpm. Supernatantul se distribuie în godeuri (200 μl /godeu). Se citesc densitățile optice ale supernatantelor față de ser fiziologic sau tampon fosfat salin la o lungime de undă de 535 nm.

Testarea eliberării Interferon- γ : din sânge integral prin metoda ELISA utilizând testul Quanti-FERON TB-Gold (Cellestis Limited; Carnegie, Australia) (QFT-G).

Analiza statistică: s-au folosit programele Epi Info 7 și Excel 2007. S-au evaluat validitatea rezultatelor și corelațiile dintre valori folosind testele χ^2 și testul exact al lui Fischer, testul ANOVA, regresia liniară simplă, multiplă și logistică, sensibilitatea, specificitatea, acuratețea, rata probabilității pozitive și rata probabilității negative.

REZULTATE

Vârsta celor 50 pacienți incluși în studiu a fost cuprinsă în intervalul 19-81 ani, cu o medie de 56 de ani. Majoritatea subiecților studiați au fost bărbați (86% vs. 14% femei). În lotul pacienților cu BK pozitiv au fost incluși 17 pacienți, exclusiv bărbați. Repartiția disproporționată se păstrează și la pacienții BK negativ: 80% bărbați, 20% femei.

Activitatea fagocitară

Activitatea fagocitară este cuantificată numeric ca unități de densitate optică rezultate în urma testului de înglobare a particulelor de carbon in vitro (tabelul I).

La grupele de pacienți BK+ și cu RX+, reacția spontană la tuberculina de tip uman este mai intensă

Tabelul I. Valorile testului de înglobare a particulelor de carbon *in vitro* la pacienții studiați.

Lot	Parametru/Timp (min.)	Martor			Tuberculina Umană		
		0	45	60	0	45	60
BK+	Medie	0.1051	0.1050	0.1103	0.2480	0.2290	0.2449
	Deviația standard	0.0418	0.0375	0.0424	0.0796	0.0805	0.0892
BK-	Rx+ Medie	0.0723	0.0815	0.0795	0.1520	0.1412	0.1540
	Rx+ Deviația standard	0.0270	0.0329	0.0328	0.0544	0.0556	0.0687
	Cx+ Medie	0.2507	0.1967	0.1995	0.2310	0.2533	0.2323
	Cx+ Deviația standard	0.0800	0.0827	0.0844	0.0617	0.0714	0.0633

comparativ cu lotul martor, iar în timp scade la 45 de minute și revine la 60 de minute. Pentru lotul CX+, reacția la tuberculină pare asemănătoare martorului, iar variația în timp este inversă comparativ cu celelalte loturi: creșterea la 45 și revenire la 60 minute.

Variația valorilor activității fagocitare la timpii de lucru 0, 45 și 60 de minute pare să urmeze o tendință crescătoare la toate cele trei loturi, comparativ cu lotul martor. Distribuția norului de puncte pe graficul de tip „scatter” pare să se apropie de dreapta de regresie pentru toate loturile studiate. Coeficienții de regresie cei mai buni se observă însă la compararea lotului BK+ cu lotul martor (tabelul II).

Tabelul II. Coeficienții de regresie ai activității fagocitare comparativ cu martorul.

<i>R² / Timp/Lot</i>	BK+	Rx	Cx
0	0,7390	0,2707	0,3118
45	0,7777	0,2123	0,6514
60	0,8072	0,3412	0,6705

În cadrul fiecărui lot studiat pentru variația valorilor activității fagocitare, pe toate intervalele de timp: 0–45, 45–60 și 0–60 minute, se observă o tendință crescătoare și o posibilă legătură liniară de tip pozitiv. Distribuția norului de puncte se apropie foarte mult de dreapta de regresie la toate cele trei loturi, ceea ce ne îndreptățește să considerăm relația între activitatea fagocitară și timp ca fiind liniară (toate valorile $R^2 > 0,93$). Pentru evaluarea existenței acestei legături s-a recurs la regresie liniară simplă și multiplă. Pentru cuantificarea legăturii dintre activitatea fagocitară și timp s-au calculat coeficienții de corelație, respectiv de determinare. În regresie liniară simplă, modelul de regresie este bun pentru toate loturile studiate ($p < 0,05$) și implicit există o legătură între variația activității fagocitare în funcție de timp. La toate loturile studiate, gradul de corelație în regresie liniară simplă este foarte bun (multiple $R > 0,9$, tabelul III). În regresie multiplă se păstrează semnificative statistic doar legăturile între activitatea fagocitară la 45 minute ($p = 0,018$) pentru pacienții BK+ și la 45 ($p = 0,04$), respectiv 60 de minute ($p = 0,01$) pentru lotul CX+ (tabelul III). Coeficienții de determinare sunt foarte buni pentru regresia multiplă (adjusted $R^2 > 0,9$) pentru toate loturile studiate.

Tabelul III. Rezultatul testului ANOVA pentru activitatea fagocitară.

<i>Parametrii statistici/Lot studiat</i>	BK+	Rx	Cx
Regresie liniară simplă (multiple R)	0.9965	0.9961	0.9975
Regresie multiplă			
p (0–45)	0.0185	0.0862	0.0408
p (0–60)	0.1706	0.2090	0.0107
Coeficienți de determinare (adjusted R²)	0.9931	0.9922	0.9949

Putem concluziona că variațiile activității fagocitare în timp sunt liniar-pozitive și semnificative statistic la toate cele trei grupe studiate în analiză univariată, dar fără semnificație statistică în analiză multivariată.

Pentru analiza performanței testului activității fagocitare în diagnosticul TB pulmonare active s-a practicat regresia logistică. Au fost comparate rezultatele testului de înglobare a particulelor de carbonin vitro ale întregului lot (tabelul I) cu testul standard, examenul bacterioscopic al sputei (tabelul III). Modelul regresiei logistice nu pare să aibă semnificație statistică ($p > 0,05$), astfel încât nu se poate dovedi o legătură între activitatea fagocitară și diagnosticul de TB pulmonară activă (tabelul IV) la nici unul dintre timpii analizați. În aceste condiții, analiza ratei șansei a fost nerelevantă.

Tabelul IV. Rezultatul regresiei logistice pentru activitatea fagocitară.

<i>Parametrii statistici/Activitate fagocitară</i>	0	45	60
Chi squared	0.5139	0.1478	0.3449
p	0.4735	0.7006	0.5570
Odds Ratio	6.6696	2.6342	4.0145

Testul de transformare blastică

Rezultatele testului de transformare blastică la loturile experimentale se găsesc în tabelul V.

Tabelul V. Statistică descriptivă: testul de transformare blastică la cele trei loturi.

<i>Parametrii statistici</i>	BK+	Rx+	Cx+
Mean	61,2081	53,0031	55,4815
Standard Error	3,7037	2,7178	2,6576
Standard Deviation	14,3443	10,5262	10,9574
Confidence Level (95,0%)	7,9436	5,8292	5,6337

Indicii de stimulare la testul de transformare blastică pentru testarea cu tuberculină umană demonstrează un răspuns maxim la lotul BK+ (61,208), urmat de lotul CX+ (55,482) și lotul RX+ (53,003). Valorile indicilor de blastizare, comparativ cu martorul, pe cele trei loturi par să urmeze o tendință crescătoare. Distribuția norului de puncte pe graficul de tip „scatter” pare să se apropie de dreapta de regresie pentru toate loturile studiate, iar coeficienții de regresie sunt $< 0,50$ pentru toate loturile. Aceeași tendință liniară se păstrează și pentru compararea lotului BK+ cu loturile BK negative: RX+ pentru care relația pare direct proporțională, respectiv CX+ pentru care relația pare invers proporțională. Coeficienții de regresie sunt $< 0,25$. Pentru a evalua existența unei legături între indicii de stimulare blastică la cele trei loturi s-a recurs la regresie liniară simplă și multiplă, iar pentru cuantificarea legăturii la calcularea coeficienților de corelație și determinare (tabelul VI).

Tabelul VI. Rezultatul testului ANOVA pentru testul de transformare blastică comparativ cu martorul.

<i>Parametrii statistici/Lot studiat</i>	BK+	Rx	Cx
Multiple R	0.3462	0.2810	0.5304
p	0.2062	0.3103	0.0285

În regresie liniară simplă modelul de regresie este bun doar pentru lotul CX+ ($p < 0,05$) și implicit există o legătură între variația indicelui de stimulare blastică comparativ cu martorul. Gradul de corelație în regresie liniară simplă este acceptabil pentru loturile BK+, respectiv RX+ și moderat pentru lotul CX+ (multiple R, tabelul VI).

Tabelul VII. Rezultatul testului ANOVA pentru testul de transformare blastică.

<i>Parametrii statistici/Lot studiat</i>	BK+/RX+	BK+/CX+
Multiple R	0.3046	0.3242
p	0.2697	0.2385

Modelul regresiei liniare simple nu este bun pentru aprecierea legăturii dintre indicii de blastizare la loturile BK+ pe de o parte și RX+, respectiv CX+, pe de altă parte, iar gradul de corelație este acceptabil (multiple R, tabelul VII). În regresie multiplă legăturile între variabile nu sunt semnificative statistic ($p > 0,5$), gradul de corelație și determinare neavând semnificație statistică în această caz.

Pentru compararea capacității diagnostice a testului de transformare blastică s-a recurs la regresia logistică, testul standard fiind examenul microscopic al sputei. În regresie logistică relația dintre examenul sputei și indicele de stimulare blastică nu are semnificație statistică, astfel încât rata riscului este nerelevantă (tabelul VIII).

Tabelul VIII. Regresia logistică pentru testul de transformare blastică.

<i>Parametrii statistici</i>	BK/IS
Chi squared	3.3930
p	0.0779
Odds Ratio	1.0509

Testul QuantiferonTB-Gold

În cazul testului QFT-G, la compararea cu microscopia directă (testul standard) s-au adăugat și testele clasice: RX și IDR. Rezultatele testelor χ^2 necorectat și Fischer (necesar în compararea BK-IDR datorită numărului redus de pacienți incluși) sunt semnificative statistic doar pentru aprecierea capacității diagnostice a Rx ($F = 0,00012$, $\chi^2 = 0,00027$), comparativ cu testul standard (tabelul IX).

Tabelul IX. Calculul semnificației statistice a corelației dintre testul standard și QTB-G, Rx și IDR.

<i>Parametrii statistici/Test studiat</i>	BK/QTB-G	BK/IDR	BK/Rx
F	0,58	0,25	0,0001185
X uncorrected	0,93	0,24	0,000271

Testul QFT-G are valoare statistică redusă comparativ cu testul standard în diagnosticul TB la pacienții cu boală activă (tabelul X). IDR are sensibilitate de 100%, dar specificitate redusă pentru diagnosticul TB active.

Tabel X. Valoarea indicilor de performanță ai QTB-G, IDR și Rx în TB pulmonară activă confirmată prin microscopie.

<i>Indici de performanță/Test studiat</i>	QTBG	IDR	Rx
Sensibilitatea	53 %	86 %	100 %
Specificitatea	48 %	39 %	52 %
Valoarea predictivă pozitivă	1,02	0,11	0,16
Valoarea predictivă negativă	0,92	0,97	1

O oarecare sensibilitate pentru identificarea TB active o are și Rx ($Se = 61\%$). Toți ceilalți indici de performanță ai testelor diagnostice sunt slabi, astfel încât testele evaluate au o calitate diagnostică aproape absentă.

DISCUȚII

Activitatea fagocitară reprezintă unul dintre mijloacele de protecție celulară nespecifică antimicrobiană. Celulele implicate intervin în epurarea virusurilor, bacteriilor sau paraziților. Activarea sistemului macrofagic este prima linie a apărării imune. Finalitatea acestui proces este fagocitoza și îndepărtarea microbilor. În cazul micobacteriilor, particularitățile peretelui celular cero-lipidic inhibă diapedeza și inițierea procesului de fagocitoză. Activitatea fagocitară, măsurată ca reacție la tuberculina de tip uman, este diferită la cele trei loturi. Rezultatele obținute relevă o reactivitate spontană maximă (timpul 0) a fagocitelor netratate cu tuberculină la pacienții care au răspuns pozitiv la testul bacterioscopic, dar care scade în timp (valori minime la 45 minute). Deoarece infecția tuberculoasă reduce activitatea fagocitară, reactivitatea diferită la pacienții cu tuberculoză activă constă în faptul că fagocitele sunt deja sensibilizate de M. Tuberculosis. Reacția imună față de tuberculină nu mai este, în această situație, la fel de intensă. Activitatea fagocitară pare să fie un bun indicator al proceselor patogenetice din TB pulmonară, dar calitățile sale diagnostice sunt inferioare examenului microscopic al sputei în cazul TB pulmonare active.

Rezultatele testului de transformare blastică a limfocitelor în vitro au demonstrat reactivitatea celulară spontană crescută la pacienții BK+ față de media loturilor CX+, respectiv RX+. Indicii de blastizare în prezența tuberculinei umane sunt mai mari la lotul pozitiv și de o amplitudine ușor diminuată la loturile RX+ și CX+. Statistic nu s-a identificat existența unei relații între indicii de stimulare la cele trei loturi și testul standard.

Toți indicii de performanță ai testului QTF-G în diagnosticul TB pulmonare active sunt inferiori examenului bacterioscopic al sputei. Deoarece vechimea diagnosticului și tratamentul TB pulmonară activă sunt diferite la pacienții selectați, nivelul IFN- γ poate fi

un factor de confuzie pentru calitatea diagnosticului. Comparativ cu metodele clasice, sensibilitatea IDR și RX sunt superioare QFT-G pentru diagnosticul TB pulmonare active. Specificitatea lor este însă redusă, fără semnificație statistică. Datorită ratei ridicate a rezultatelor fals pozitive, QFT-G a înlocuit IDR în diagnosticul ITBL. Pentru loturile RX+ și CX+ procentul ITBL este 58% conform IDR și de doar 42% conform QFT-G. Diferența de 16% ar putea reprezenta cazurile fals pozitive.

CONCLUZII

Prezența micobacteriilor în organismele cu boală evolutivă reduce capacitatea fagocitară spontană a macrofagelor.

Testarea globală a indicilor de stimulare ai limfocitelor este probabil nepotrivită unui diagnostic precis, luând în considerare complexitatea interacțiunilor intercelulare și umorale ce au loc în cursul bolii.

La pacienții cu boală activă confirmată prin microscopie, QTBG nu poate fi folosit în locul testului standard sau a testelor clasice, IDR sau Rx. Puterea diagnostică redusă a QTBG ar trebui interpretată cu atenție în contextul asocierii unor factori perturbatori precum: stadiul bolii tuberculoase, statusul nutrițional, deficite imunologice altele decât coinfecția HIV (criteriu de excludere pentru studiul de față). Astfel în intervalul până la confirmarea

infecției TB prin cultură, la 2 luni, nu este indicată orientarea terapiei în funcție de rezultatul QTBG. Examenul microscopic BAAR al sputei și radiografia toracică rămân metodele principale de susținere a diagnosticului TB pulmonare active până la confirmarea bacteriologică.

În concluzie, nici unul dintre testele studiate nu se ridică la calitățile testului standard, examenul bacterioscopic al sputei, astfel încât nu pot fi recomandate pentru diagnosticul bolii TB pulmonare active.

Bibliografie

1. Flyn JL. Major MHC I-restricted T cells are required for resistance to M.tuberculosis infection. Proc Natl Acad Sci USA. 1992; 89:12013-12017.
2. Fulton SA. Interleukin-12 production by human monocytes infected with M.tuberculosis: role of phagocytosis. Infection and Immunity, 1996; 64(7):2523-2531
3. Alito A, McNair J, Girvin RM, et al. Identification of Mycobacterium bovis antigens by analysis of bovine T-cell responses after infection with a virulent strain. Braz J Med Biol Res, 2003; 36(11):1523-1533.
4. Fietta A, Francioli C, Gialdroni G. Mycobacterial lipoarabinomannan affects human polymorphonuclear and mononuclear phagocyte functions differently. Haematologica, 2000; 85(1):11-18.