



A Quantiferon teszt alkalmazása az immunológiai laboratóriumi diagnosztikában – saját tapasztalatok

Nagy Eszter¹, Pálvölgyi Gabriella², Rásonyi Rita¹, Kiss Emese¹, Gergely Péter¹, Poór Gyula¹

¹Országos Reumatológiai és Fizioterápiás Intézet, Budapest, ²BMSZKI, Orvosi Krízis Szolgálat, Budapest

Bevezetés

A TNF-alfa az egyik kulcsfontosságú proinflammatorikus citokin a vírusos fertőzések elleni védelemben, ugyanakkor az autoimmun betegségek patomechanizmusában is fontos szerepet játszik. Az utóbbi években a TNF-alfa gátló biológiai terápia egyre nagyobb teret kapott a krónikus gyulladásos kórképek kezelésében. Mivel a TNF-antagonista kezelés a szervezet immunreakcióinak gyengítését eredményezi, a terápia egyik nemkívánatos mellékhatásaként megnő bizonyos fertőzések kialakulásának a kockázata, melyek közül az egyik leggyorsabbnak és legagresszívebbnek a tuberkulózis (TBC) számít. Ezért, mind az aktív, mind a látens TBC szűrés elengedhetetlen feltétele a terápia megkezdésének. A szűrésnek arany standard módszere nincs, az utóbbi években a tuberkulin bőrteszt (Mantoux próba) mellett az in vitro IFN-gamma tesztek is bevezetésre kerültek, de az egyes szűrési módszerek tekintetében még mindig nincs egységes állásfoglalás.

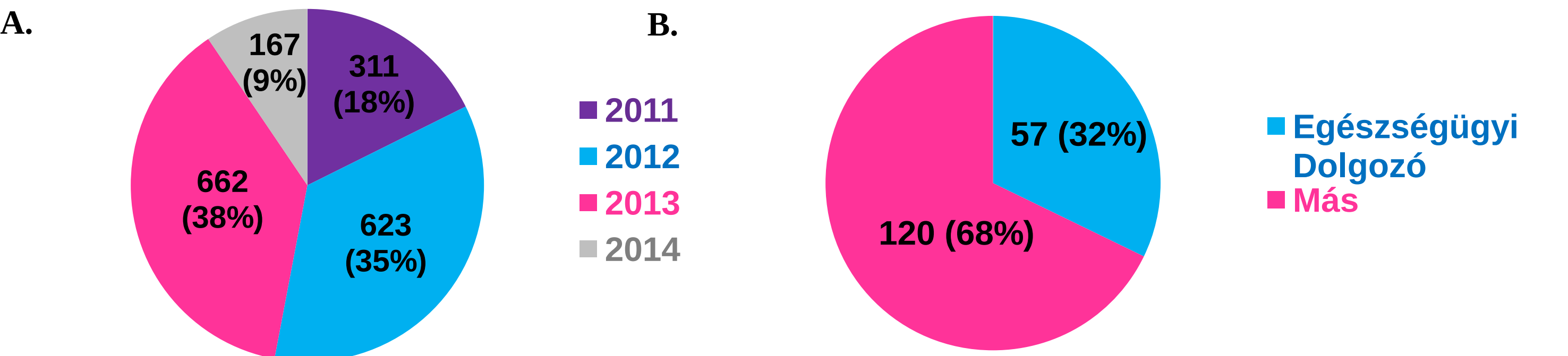
Célkitűzések

Az Országos Reumatológiai és Fizioterápiás Intézet Laboratóriumában a Quantiferon teszt 2011 áprilisától vált elérhetővé a hagyományos Mantoux próba alternatívájaként. Vizsgálatunk elsődleges célja a teszt jellemzőinek elemzése az intézetünkben ellátott krónikus gyulladásos betegcsoport vizsgálatá alapján. A teszt hatékonyságának megállapítása céljából, fenti betegcsoporttal párhuzamosan egy másik, a TBC fertőzés szempontjából magasabb rizikójú csoport szűrését is elvégeztük.

Betegek és Módszerek

Betegek: Az ORFI Központi Laboratóriumának Immunológiai részlegén 2011 április 1 és 2014 március 31 között 1430 TNF-alfa gátló terápia alatt lévő, vagy a terápia megkezdése előtt álló beteg Quantiferon tesztje készült el (BT csoport). 1165 beteg esetén egyszeri mérés történt, míg 265 betegnél 2, 3, vagy 4 alkalommal végeztünk ismételt vizsgálatokat (598 mérés). Ennek megfelelően, a BT csoportban elvégzett összes vizsgálat száma 1763 volt (1. ábra. A.). A BMSZKI Orvosi Krízis Központ közreműködésével egy további 166 személyből álló rizikócsoportot is vizsgáltunk (elsősorban hajléktalanok és az őket ellátó egészségügyi dolgozók). Ebben a csoportban 11 esetben történt ismételt mérés (1. ábra. B.).

Módszerek: Vizsgálatainkhoz a gyári forgalomban lévő Quantiferon TB Gold tesztet használtuk, a gyártó által megadott használati utasításnak megfelelően (Cellestis Limited, Victoria, Ausztrália). A *Mycobacterium tuberculosis*-specifikus antigénekkkel (TBAG: ESAT-6, CFP-10, TB7.7), mitogénnel (Phytohemagglutinin: MIT), valamint foszfát pufferrel (NIL) való 16-24 órás stimuláció hatására termelt IFN-gamma mennyiségét ELISA módszerrel határoztuk meg. A kiértékelést a gyártó által forgalmazott szoftver segítségével végeztük (v2.62.exe; Cellestis, Ausztrália). Az eredményeket a Multiskan RC 351 ELISA fotométer Genesis szoftverével is ellenőriztük (Thermo Labsystems, Finnország).



1. ábra. Az ORFI Központi Laboratóriumában elvégzett Quantiferon tesztek száma (db) a BT csoportban éves bontásban (A.), valamint a magasabb rizikójú csoportban (B.).

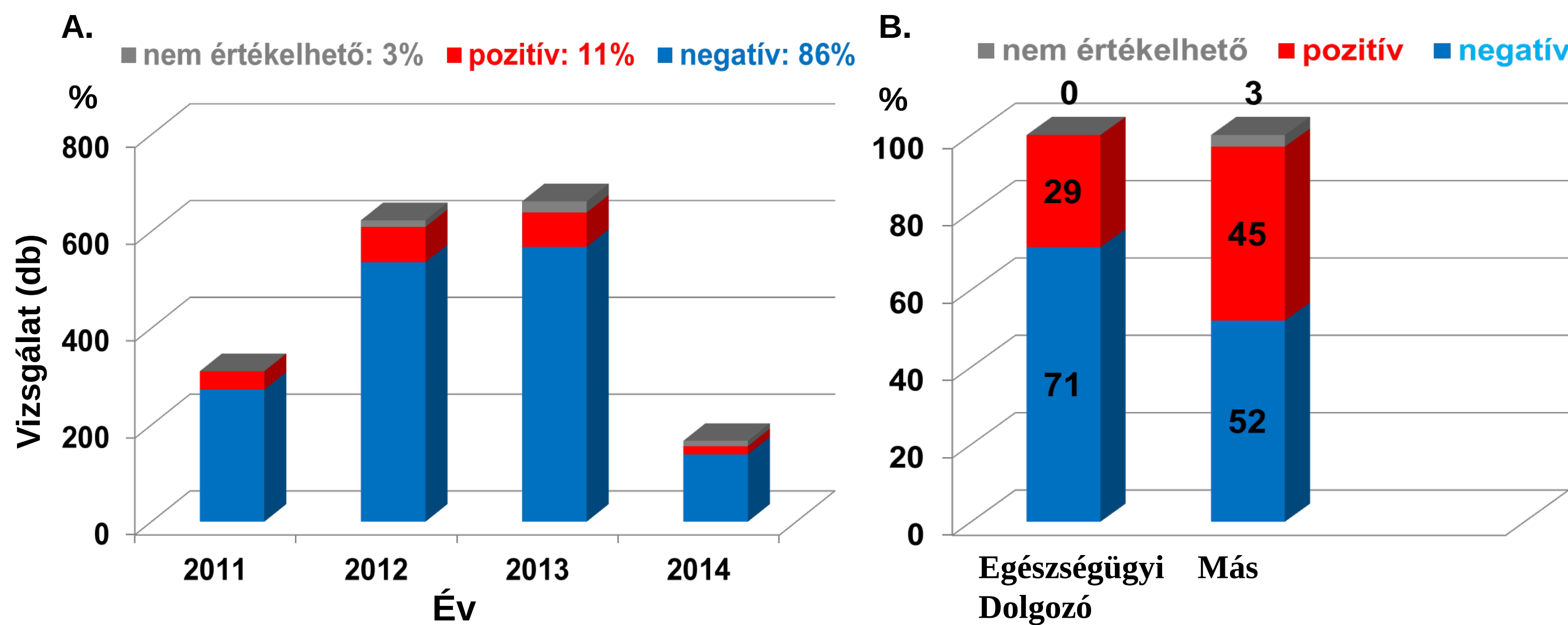
Eredmények

Eredményeink alapján a Quantiferon teszt a BT csoport 11%-ban bizonyult pozitívnak (2. ábra. A.). Ezzel szemben a magas rizikójú csoportban a pozitív eredmények aránya ennél magasabb volt: a hajléktalanok csoportjában 45 %, míg az őket ellátó egészségügyi dolgozók körében 29 % (2. ábra. B.). A két nagy csoportban a nem értékelhető eredmények előfordulása megegyezett (3%). A BT csoportban végzett ismételt mérések során 36 beteg esetén tapasztaltunk eltérő eredményeket, melyek háttérben leggyakrabban az alacsonyabb MIT (< 2 IU/mL), valamint az alacsonyabb (<0,800 IU/mL), sokszor határérték körüli (0,300 IU/mL) TBAG állt (1. táblázat). A magas rizikójú csoportban az ismétlések során 1 esetben tapasztaltunk eltérő eredményt szintén határértékű TBAG miatt. A BT csoportban a mérések 4%-a volt ebben az alacsonyabb tartományban, 8%-a viszont 0,800 IU/mL fölötti értéket mutatott TBAG-re (2. ábra. A.). A magas rizikójú csoportban a vizsgált minták 9%-a bizonyult alacsonyabbnak TBAG-re, míg 32%-a meghaladta a 0,800 IU/mL értéket (3. ábra. A.). A BT csoportban a mitogénre (MIT) adott válasz a betegek 7%-ban bizonyult alacsonyabbnak (< 2 IU/mL), szemben a magasabb rizikójú csoport 4%-val (2. és 3. ábra. B.). A NIL kontrol tekintetében az eredmények mindkét csoportban hasonló eloszlást mutattak: a vizsgált minták 96%-a 0,20 IU/mL alatt volt, míg 1 IU/mL fölötti értéket csak a betegek 1%-ban tapasztaltunk (1. és 2. ábra. C.).

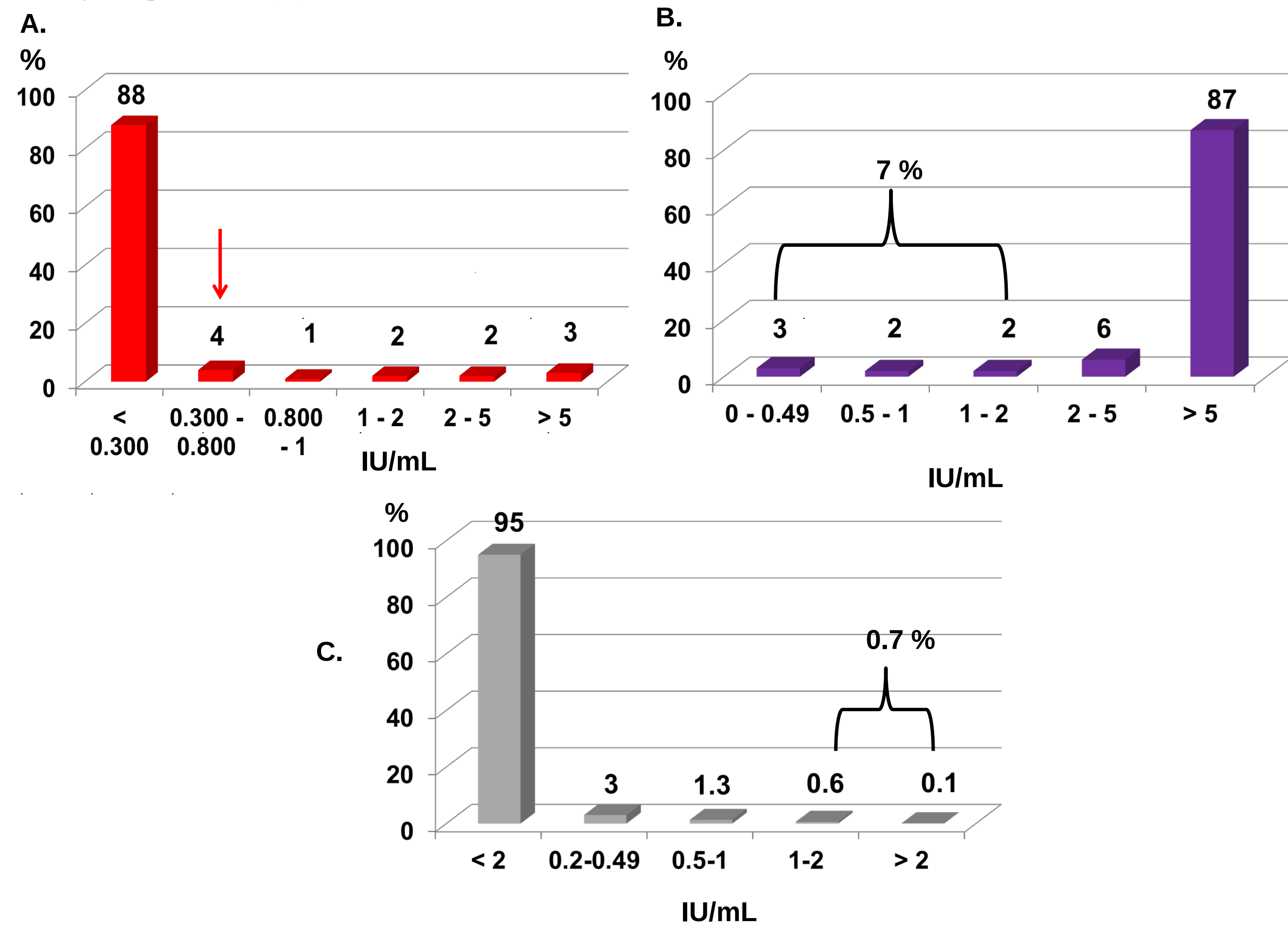
1. táblázat. Az ismétlések során tapasztalt eltérő eredmények lehetséges okai a BT csoportban (36 beteg, 99 mérés).

Eltérő eredmények oka	Esetszám	Lehetséges tényezők
Alacsony MIT	19	MIT < 2 IU/mL: 12 esetben alacsony Ly és / vagy más ok, 7 esetben Th
Határérték / Alacsonyabb TBAG	12	TBAG minden esteben 0,300 – 0,800 IU/mL
Alacsony MIT & Alacsonyabb / Határérték TBAG	2	A két előző feltétel mindegyike tapasztalható
Konverzió	2	Negatív → Pozitív
Reverzió	1	Pozitív → Negatív

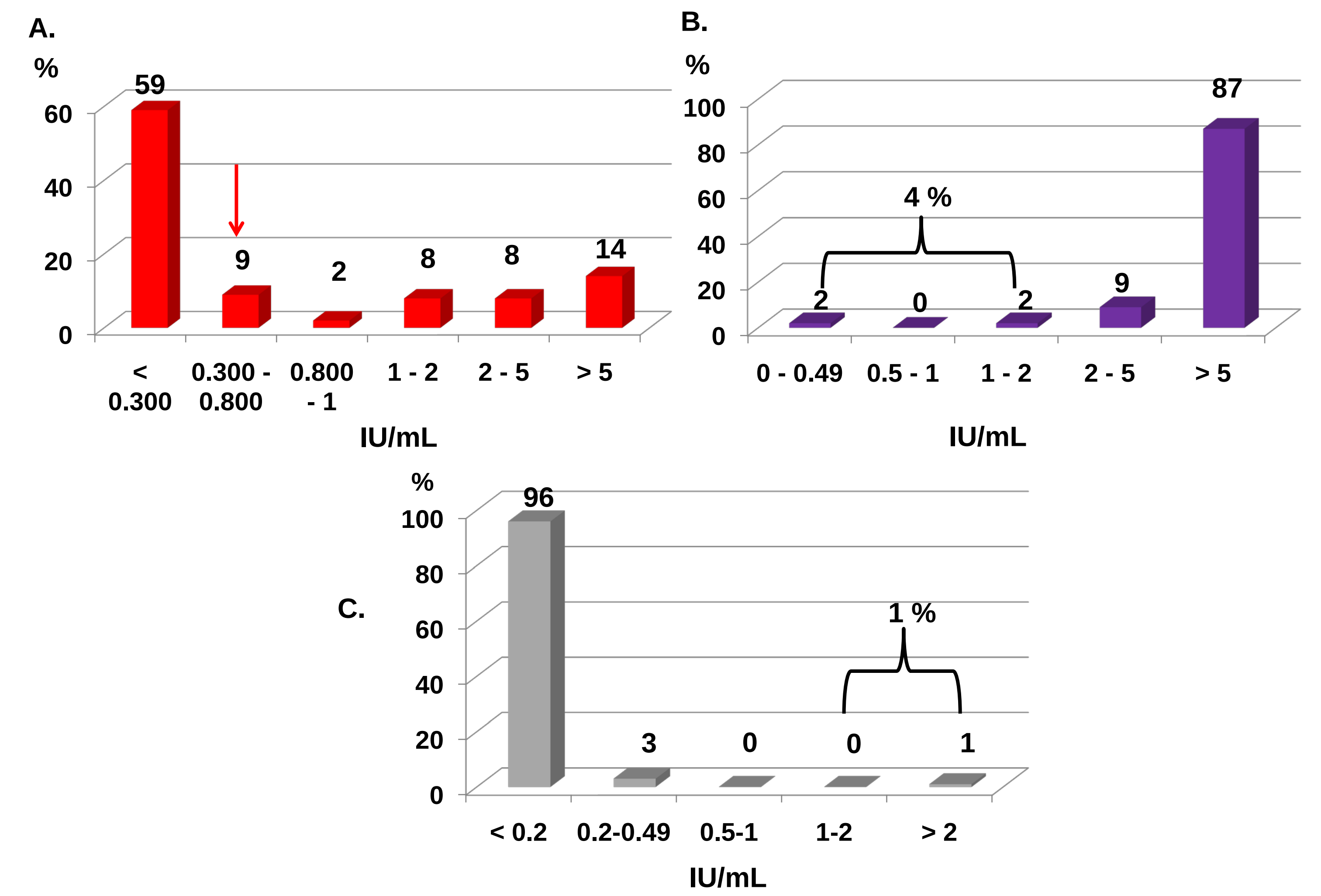
Rövidítések: MIT: Mitogén, TBAG: *Mycobacterium tuberculosis* specifikus antigének, Ly: *Lymphocita* szám, Th: technikai hiba, NEG: negatív, POZ: pozitív



2. ábra. Pozitív, negatív, valamint nem értékelhető eredmények %-os aránya a BT csoportban (A.) és a magasabb rizikójú csoportokban (B.).



3. ábra. A mért IFN-gamma koncentrációk %-os eloszlása az egyes stimulációk során a BT csoportban. A.: TBAG, B.: MIT, C.: NIL.



4. ábra. A mért IFN-gamma koncentrációk %-os eloszlása az egyes stimulációk során a magasabb rizikójú csoportban. A.: TBAG, B.: MIT, C.: NIL.

Következtetések

Eredményeink egyértelműen alátámasztják a pozitív Quantiferon teszt magasabb arányban való előfordulását Magyarországon a magas rizikójú csoportokban. A vizsgálatok értékelhetősége szempontjából a gyártó által javasolt preanalitikai mintakezelési javaslatok (mintavétel, szállítás, inkubáció) nagyon fontosak, betartásával a technikai hibák, valamint az ebből adódó nem értékelhető eredmények jelentős része kiküszöbölhető. A gyártó által javasolt normál tartományok tekintetében fontosnak tartjuk a populációs sajátságok mérlegelését is. Ennek értelmében a gyártó által az egyes stimulációk esetén megadott cut-off értékek feltüntetése mellett (NIL: < 8 IU/mL, TBAG: < 0,35 IU/mL, MIT: > 0,5 IU/mL) a leleten a vizsgálat szöveges interpretációja is fontos. Vizsgálataink arra utalnak, hogy különösen a határérték körüli (0,300 IU/mL), vagy 0,800 IU/mL alatti TBAG értékek, valamint a mitogén stimuláció (MIT) esetében a 2 IU/mL alatti eredmények interpretációja nagyobb körültekintést igényel, és minden ilyen esetben javasolt a kapott érték háttérének tisztázása, illetve a tüdőgyógyász szakemberrel való konzultáció.