

Use of the T-spot.TB test for the diagnosis of latent tuberculosis infection

Andrea Amodeo, Francesco Caccamo, Emanuela Fichera, Patrizia Grassi, Elena Grasso, Giuliana Guardo, Silvana Mastrojeni, Ildebrando Patamia, Vanessa Scriffignano, Agata Sciacca, Giuseppe Nicoletti

Laboratorio Analisi Azienda- Policlinico, Università Catania, Catania, Italia

Key words: diagnosis of tuberculosis, T-spot

Utilità del test T-spot.TB nella diagnosi di infezione tubercolare latente

SUMMARY

Background: Tuberculosis (TB) represents a major health problem both in developing and both in industrialized countries. The identification of individuals latently infected with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) play a key role for the efficacy of TB control. These individuals with a latent tuberculosis infection (LTBI), especially those with high risk of reactivation (e.g. HIV + / AIDS-infected individuals, patients undergoing immunosuppressive therapy and children younger than 5 years) could benefit from a preventive treatment with isoniazid reducing the risk of progression from LTBI to active TB. Until recently, detection of LTBI has relied on the tuberculin skin test (TST), but despite the widespread use in clinical practice, TST does not reliably diagnose LTBI because several drawbacks, e.g. lacking in specificity, particularly in who were exposed to non-tuberculous mycobacteria (NTM) or were vaccinated with Bacille Calmette-Guerin (BCG). In addition, in young subjects, TST sensitivity is hampered by impaired T cell function leading frequently to false negative results. These several drawbacks limit the use of TST for the diagnose an LTBI in patients who may benefit from preventive chemotherapy. On the other hand, an accurate diagnosis of LTBI avoid the over-treatment of those patients with a positive TST results but not latently infected with Mtb.

Recently, new tests based on the detection of interferon-gamma (IFN- γ) after stimulation with Mtb-specific antigens: Early secretory Antigenic Target-6 (ESAT-6) and Culture Filtrate Protein-10 (CFP-10) have been proposed for the diagnosis of active TB and LTBI.

Methods: During the period from January 2009 to June 2009, in our laboratory 70 patients were tested with T-SPOT.TB (Oxford Immunotech, Abingdon, United Kingdom). We enrolled transplant patients and subjects ongoing transplant, patients immigrants from high prevalence TB countries, patients screened for immunosuppressive treatment, HIV / AIDS – infected individuals. We also tested 3 patients with clinical / radiological suspicion of active TB and 3 patients with positive tuberculin skin test and with a positive direct examination for mycobacteria in the urinary sediment.

Results: In 2 patients with symptoms suggestive of TB in place, T-SPOT.TB showed a higher response of (IFN-g), more than 100 spots. Among individuals ongoing renal transplant, 6 patients tested T-SPOT.TB positive and 4 subjects were T-SPOT.TB -negative. Two patients with an autoimmune disease showed an high response to Mtb-specific antigens with T-SPOT.TB test tested before to start any treatment. T-SPOT.TB test tested strongly negative in 4 paediatric patients and in one HIV-infected individuals, regardless a positive response to a internal positive response (phytohaemagglutinin (PHA), suggesting a normal immune response.

Conclusions: This preliminary data suggest that the T.SPOT.TB showed high sensitivity and specificity, producing a strongly negative response to Mtb-specific antigens in subjects who had a history of previous BCG-vaccination. In addition, T-SPOT.TB test provides, unlike the TST, indication about the potential immunosuppression of tested patient with an internal positive control that can highlight the production of IFN- γ by lymphocytes resulting in the application of this test in immunocompromised patients, e.g. children and transplanted patients and others.

INTRODUZIONE

La tubercolosi (TB) rappresenta, ancor oggi, un problema sanitario di grande rilievo sia nei paesi in via di sviluppo, sia in quelli industrializzati. In questo ambito, l'identificazione di quei soggetti che sono stati infettati con *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) e quindi portatori di una infezione tubercolare latente (ITBL) diventa di fondamentale importanza. Questi soggetti, soprattutto se appartenenti a "categorie ad alto rischio di riattivazione, come ad esempio individui con HIV+/AIDS, pazienti sottoposti a terapie immunosoppressive, bambini di età inferiore a 5 anni, potrebbero trarre notevoli vantaggi da un trattamento preventivo con isoniazide che ridurrebbe il rischio di progressione da ITBL verso una TB attiva. A tal fine risulta indispensabile fare una corretta diagnosi di ITBL. Fino ad ora, la diagnosi di infezione da Mtb si è basata principalmente sulla intradermoreazione tubercolinica secondo Mantoux, il *test* cutaneo tubercolinico (TCT). Nonostante il vasto impiego del TCT nella pratica clinica, la specificità di questo *test* è alquanto bassa, poiché influenzata da precedenti vaccinazioni con BCG o da un contatto con micobatteri ambientali non tubercolari (MOTT). Il *test* TCT mostra, inoltre, una bassa sensibilità soprattutto nei pazienti immunocompromessi. Tutte queste caratteristiche limitano notevolmente l'uso del TCT in quei soggetti che potrebbero trarre beneficio da una chemiopprofilassi preventiva eseguita con isoniazide 300 mg/die per 9 mesi e che con il solo uso del

TCT difficilmente sarebbero identificati come soggetti portatori di una ITBL con conseguente possibilità di sviluppare una TB attiva. Inoltre, quei soggetti non infettati con Mtb ma con un *test* TCT positivo potrebbero di converso essere esposti agli eventi avversi di una profilassi non necessaria.

Recentemente, sono stati introdotti nella pratica clinica per la diagnosi di TB e di ITBL, nuovi *test* basati sulla identificazione e conta delle cellule T produttrici di interferone gamma (IFN- γ) dopo stimolazione con antigeni-specifici tubercolari, tra questi Early Secretory Antigenic Target 6 (ESAT-6) e Culture Filtrate Protein 10 CFP-10)

MATERIALI E METODI

Nel periodo compreso Gennaio 2009 e Giugno 2009, nel nostro laboratorio sono stati arruolati 70 pazienti sui quali è stato eseguito il *test* T-SPOT.TB (Oxford Immunotech Ltd, Abingdom, United Kingdom). I pazienti arruolati comprendevano: pazienti trapiantati od in lista di attesa per trapianto, soggetti extracomunitari provenienti da aree ad alta prevalenza per TB, pazienti sottoposti od in attesa di intraprendere una terapia immunosoppressiva, pazienti con infezione da HIV/AIDS.

Sono stati inoltre sottoposti al *test* T-SPOT.TB, 3 pazienti con sospetto clinico/radiografico di TB attiva e 3 pazienti con risultato positivo al TCT e positivi all'esame microscopico diretto per micobatteri nel sedimento urinario, risultati in seguito non appartenenti al complesso MTB.

Corresponding author: Agata Sciacca

Laboratory Analysis Unit Policlinico,
University of Catania, Italy
E-mail: a.sciacca@unict.it

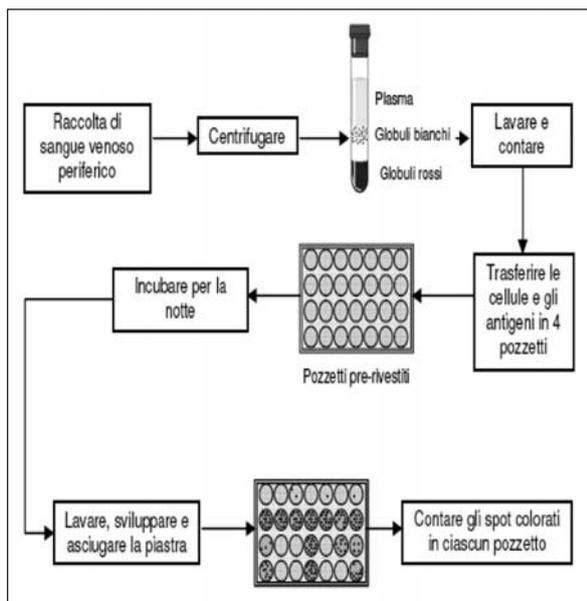
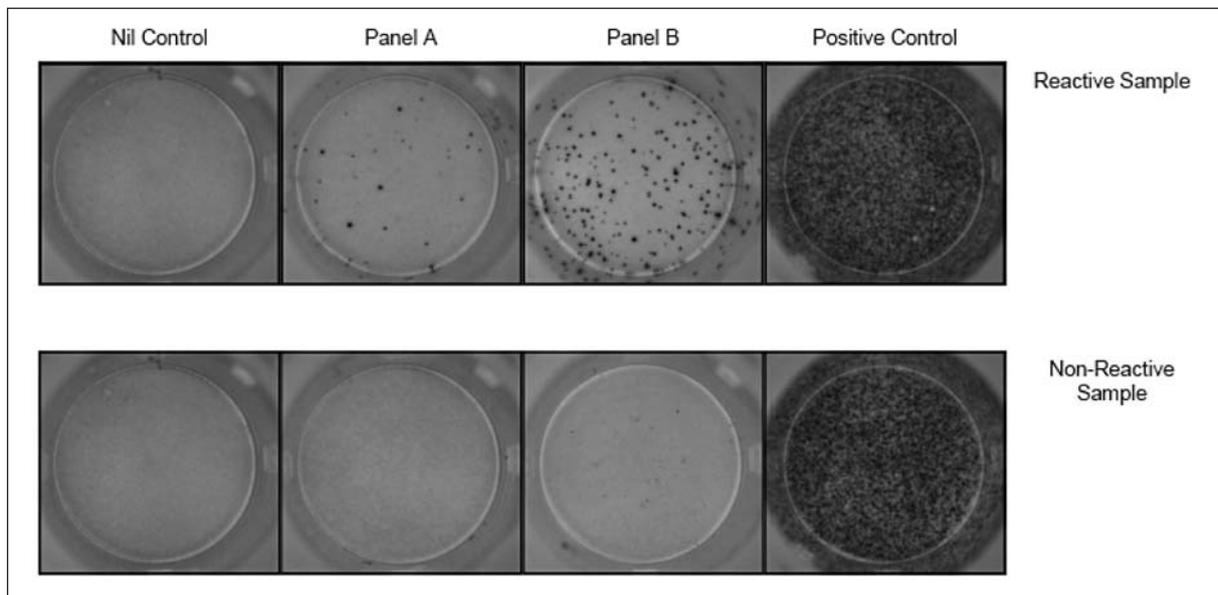


Figura 1. Schema che illustra i passaggi principali del test T-Spot.TB.

RISULTATI

In 2 pazienti con una sintomatologia ed un sospetto clinico/radiologico suggestiva di TB attiva in atto, il test T-SPOT.TB ha mostrato una notevole produzione di interfero-

ne-gamma: superiore a 100 "spots".

Sei (60%) pazienti candidati a trapianto renale e 4 con una patologia autoimmune testati prima della somministrazione della terapia immunosoppressiva sono risultati positivi con il test per IFN- γ .

In 4 dei soggetti di età pediatrica ed in 1 paziente con HIV/AIDS, il T-SPOT.TB ha dato esito francamente negativo, grazie alla presenza di un controllo interno positivo rappresentato da fitoemoagglutinina (PHA), che permette di evidenziare l'efficienza di produzione di interferone-gamma da parte delle cellule linfocitarie del soggetto testato.

CONCLUSIONI

In questo studio preliminare, il test T-SPOT.TB ha dimostrato sensibilità e specificità elevate.

Nonostante la modesta numerosità della popolazione studiata, il test T-SPOT.TB ha fornito risultati inequivocabilmente negativi anche in soggetti che presentavano anamnesi positive per pregressa vaccinazione con BCG e risultati positivi in soggetti immunosoppressi, che potevano risultare falsamente negativi con test TCT.

BIBLIOGRAFIA

1. American Thoracic Society/CDC and Prevention/Infectious Disease Society of America: Controlling Tuberculosis in the USA. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005; 172 (9): 1169-227.
2. Huebner RE, Schein MF, Bass JB, Jr. The tuberculin skin test.
3. Ligue Pulmonaire Suisse. Manuel de la tuberculose. 2nd ed Berne, 2007.
4. Taylor Z, O'Brien RJ. Tuberculosis elimination: are we willing to pay the price? *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 163 (1): 1-2.