

Giovanni Delogu

## Quantiferon-plus: il nuovo test di valutazione tubercolare

Professore Associato di Microbiologia e Microbiologia Clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore - Fondazione Policlinico Universitario Gemelli - Roma

**RIASSUNTO.** L'infezione da *Mycobacterium tuberculosis* si caratterizza, anche nei soggetti nei quali non vengono evidenziati segni o sintomi di malattia (TB latente), per un rapporto dinamico tra il sistema immunitario ed il bacillo che si caratterizza per eterogeneità e spettro di condizioni che nell'uomo siamo in grado solo in parte di comprendere. Gli studi condotti negli ultimi anni nei soggetti con infezione tubercolare e la caratterizzazione della risposta immunitaria mediante test IGRA in coorti di grandi dimensioni hanno permesso di comprendere la complessità del rapporto ospite-parassita. Lo sviluppo di nuovi test capaci di distinguere la risposta immunitaria sviluppata dai soggetti con infezione (TB attiva o TB latente) e di correlare tale risposta con le condizioni cliniche può aiutare a comprendere meglio il processo infettivo ed individuare correlati immunologici di rischio che potranno essere di grande utilità per il controllo della malattia.

**Parole chiave:** tubercolosi, IGRA, infezione latente.

**ABSTRACT.** A main feature of *Mycobacterium tuberculosis* infection, even among subject without overt signs or symptoms of the disease (latent TB subjects), is the dynamic equilibrium between the host immune system and the bacilli, as highlighted by the heterogeneity and spectrum of conditions which we can only partially understand in humans. The many studies carried out in large cohorts of subjects infected with *M. tuberculosis* with IGRAs allowed a better understanding of the host immune response against the tubercle bacillus and comprehend the complexity of the host-bacilli interplay. The development of new IGRAs, capable of distinguishing the immune responses elicited in infected subjects (active TB patients and latent TB subjects) and the possibility to correlate these immune responses with clinical conditions and outcomes may pave the way for a better understanding of the infectious process and identify immunological correlates of risk which may be instrumental for a better control of the disease.

**Key words:** tuberculosis, IGRA, latent infection.

Gli ultimi decenni hanno visto il riemergere, anche in Italia, dei casi di tubercolosi (TB), anche in seguito alla diffusione dell'infezione da HIV e più recentemente delle migrazioni di persone da paesi in cui la TB è ancora endemica. Sebbene la TB sia una malattia curabile, lo stigma cui è stata storicamente associata fa sì che ancora oggi la comparsa di un caso di TB in particolari popolazioni o nei luoghi di lavoro, e la conseguente potenziale diffusione della malattia ad altri soggetti, sia motivo di preoccupazione.

L'infezione da *Mycobacterium tuberculosis* causa nella maggior parte dei casi (90-95%) un'infezione latente, che non evidenzia segni o sintomi di malattia (1). Tra i soggetti infetti, il rischio di sviluppare la malattia è più alto nei primi due anni successivi all'infezione e maggiore in alcuni soggetti (bambini, soggetti con infezione HIV o altra immunodeficienza acquisita o genetica, soggetti con trattamento con farmaci immunosoppressivi). L'infezione latente rappresenta pertanto la forma più comune di infezione ed il serbatoio della malattia e per tali ragioni è importante comprenderne le caratteristiche, anche al fine di individuare dei più appropriati metodi di diagnosi e di interpretazione dei risultati.

*M. tuberculosis* si trasmette per via aerogena ed una volta raggiunto lo spazio alveolare si ritiene venga rapidamente fagocitato dai macrofagi alveolari, che nella maggior parte dei casi sono in grado di uccidere il batterio ed evitare così lo sviluppo dell'infezione (2). Quando il bacillo riesce a resistere questa prima risposta immunitaria innata, si assiste ad una rapida moltiplicazione di *M. tuberculosis* che infetta così nuove cellule, promuove un processo infiammatorio che richiama altre cellule del sistema immunitario che ne favorisce la moltiplicazione e la successiva diffusione ad altri organi attraverso i vasi linfatici ed il sangue. L'emergere della risposta immunitaria adattativa, caratterizzata in particolare dalla popolazione di linfociti CD4 e CD8, coincide nella maggior parte dei casi con il controllo dell'infezione tubercolare, con la restrizione della crescita batterica ed una assenza di segni e sintomi di malattia, tipici dello stato latente. Le più recenti acquisizioni indicano che lo stato di infezione latente è caratterizzato da un equilibrio dinamico tra il batterio ed il sistema immunitario (1). Il batterio è presente in diversi organi e tessuti, infetta tipi di cellule diverse e si trova prevalentemente in uno stato di dormienza, caratterizzato dall'attivazione di specifici geni, stati

metabolici ed incapacità di replicazione. I batteri allo stato dormiente possono passare ad uno stato di replicazione attiva grazie all'attivazione di alcuni fattori (fattori di risuscitazione) che modificano i profili di espressione genica. I batteri in fase attiva sono generalmente riconosciuti ed uccisi da parte del sistema immunitario e quando, per svariate ragioni, ciò non avviene si verifica lo sviluppo della forma attiva della malattia. L'equilibrio tra batterio e sistema immunitario è complesso e dinamico e copre un'ampia gamma di condizioni (spettro di infezione) che contraddistinguono la caratteristica eterogeneità dell'infezione tubercolare.

L'introduzione dei saggi di stimolazione linfocitaria (Interferon-gamma release assay, IGRA) nella diagnosi dell'infezione tubercolare hanno contribuito a definire il quadro dinamico dell'infezione, grazie alla determinazione dei linfociti T circolanti e specifici che riconoscono tre antigeni di *M. tuberculosis* attivamente secreti ed immunogenici. Tali saggi sono utilizzati come surrogato del classico test della tubercolina (TST), sebbene le differenze tra i due test siano importanti e significative e misurino aspetti diversi della risposta immunitaria contro *M. tuberculosis* (3). In ogni caso, sia TST che i test IGRA possono essere utilizzati per la diagnosi dell'infezione da *M. tuberculosis* ma non hanno valore prognostico, vale a dire non sono in grado di distinguere tra soggetti con infezione latente e pazienti con malattia attiva o individuare, tra i primi, quelli che con più probabilità possono sviluppare la malattia. Negli ultimi anni, la ricerca volta ad individuare saggi IGRA con valore prognostico è stata molto intensa ed alcuni studi hanno evidenziato come ciò sia potenzialmente possibile (4). Al fine di migliorare la sensibilità dell'IGRA Quantiferon in termini di sensibilità e specificità è stato sviluppato un nuovo test Quantiferon (Quantiferon TB Gold plus), in cui la stimolazione linfocitaria con antigeni specifici (Esat6 e CFP10) di *M. tuberculosis* viene eseguita su due tubi (TB1 e TB2) e non più su un solo

tubo. Nel TB1 sono presenti peptidi specifici per i due antigeni che stimolano i linfociti CD4 mentre nel TB2 sono presenti antigeni che sono in grado di stimolare anche linfociti CD8. I risultati ottenuti nei primi studi evidenziano le potenzialità del nuovo saggio, in particolare nei contatti con pazienti con TB attiva polmonare è stata osservata una importante differenza tra i vari soggetti in ragione dell'esposizione. Inoltre, la valutazione in pazienti con TB attiva è stato possibile dimostrare come la sensibilità del test sia leggermente superiore o comparabile rispetto al Quantiferon TB Gold. Studi futuri condotti con il nuovo test potranno chiarire se sarà possibile, in ragione del rapporto tra CD4 e CD8, distinguere categorie diverse tra i soggetti con TB latente (5).

## Bibliografia

- 1) Delogu G, Goletti D. The spectrum of tuberculosis infection: new perspectives in the era of biologics. *J Rheumatol* 2014; Suppl 91: 11-16. doi:91/0/11 [pii];10.3899/jrheum.140097 [doi].
- 2) Delogu G, Provvedi R, Sali M, Manganelli R. Mycobacterium tuberculosis virulence: insights and impact on vaccine development. *Future Microbiol* 2015; 10:1177-1194. doi:10.2217/fmb.15.26 [doi].
- 3) Goletti D, Sanduzzi A, Delogu G. Performance of the tuberculin skin test and interferon-gamma release assays: an update on the accuracy, cutoff stratification, and new potential immune-based approaches. *J Rheumatol* 2014; Suppl 91: 24-31. doi:91/0/24 [pii];10.3899/jrheum.140099 [doi].
- 4) Delogu G, Chiacchio T, Vanini V, Butera O, Cuzzi G, Bua A, Molicotti P, Zanetti S, Lauria FN, Grisetti S, Magnavita N, Fadda G, Girardi E, Goletti D. Methylated HBHA produced in *M. smegmatis* Discriminates between Active and Non-Active Tuberculosis Disease among RD1-Responders. *PLoS ONE* 2011; 6:e1815.
- 5) Barcellini L, Borroni E, Brown J, Brunetti E, Campisi D, Castellotti PF, Codecasa LR, Cugnata F, Di SC, Ferrarese M, Goletti D, Lipman M, Rancoita PM, Russo G, Tadolini M, Vanino E, Cirillo DM. First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening. *Eur Respir J* 2016; doi:13993003.00510-2016 [pii];10.1183/13993003.00510-2016 [doi].

**Corrispondenza:** Giovanni Delogu, PhD, Istituto di Microbiologia, Policlinico Universitario A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Largo A. Gemelli 8, 00168 Roma, Italy, Tel: ++390630154964, Fax: ++39063051152, E-mail: giovanni.delogu@unicatt.it