

Mojemu Synowi Jarkowi

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Katarzyna Kruczak

**Ocena stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy za pomocą testu
QuantiFERON®-TB Gold In Tube w grupach ryzyka zachorowania na
gruźlicę oraz wśród osób zdrowych**

Praca doktorska

Klinika Pulmonologii

II Katedra Chorób Wewnętrznych UJCM

Kierownik Kliniki i Promotor Pracy:

Prof. dr hab. med. Ewa Niżankowska-Mogilnicka

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. med. Jacek Musiał

Kraków 2011

***Bardzo serdecznie dziękuję
mojemu Promotorowi
Pani Profesor Ewie Niżankowskiej-Mogilnickiej
za okazaną życzliwość i wsparcie
oraz cenne merytoryczne wskazówki i rady
podczas pisania tej pracy***

***Składam również serdeczne podziękowania
Pani Alicji Ziółkowskiej, Mgr Krystynie Moćko,
Mgr Ewie Figiel i Mgr Markowi Grzywaczowi
za pomoc w realizacji pracy***

SPIS TREŚCI

Spis skrótów	6
1. Wstęp	7
1.1. Przebieg zakażenia i zachorowania na gruźlicę	8
1.2. Diagnostyka zakażenia prątkiem gruźlicy	13
1.2.1. Odczyn tuberkulinowy (OT)	14
1.2.2. Testy IGRA (<i>Interferon Gamma Release Assays</i>) w diagnostyce zakażenia prątkiem gruźlicy	17
Rekomendacje dla testów IGRA	20
Czułość i swoistość testów IGRA	20
Zjawisko wzmocnienia po wykonanym OT	22
1.2.3. Rozbieżność wyników między testami IGRA a OT	23
1.2.4. Zastosowanie i wartość prognostyczna testów IGRA w grupach ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy	24
IGRA w aktywnej gruźlicy płucnej i pozapłucnej	26
IGRA w gruźlicy płuc niepotwierdzonej bakteriologicznie	26
IGRA po leczeniu gruźlicy	26
Wartość prognostyczna testów IGRA	27
Przewaga ekonomiczna zastosowania testów IGRA	27
1.2.5. Perspektywy zwiększenia czułości testów IGRA	28
2. Cel pracy	29
3. Materiał i metody	30
Analiza statystyczna	33
4. Wyniki	35
4.1. Charakterystyka badanych grup	35
4.2. Wyniki testu QuantiFERON®-TB-Gold In Tube (QFT-GIT)	39
4.2.1. Stężenia IFN- γ w poszczególnych grupach badanych	39
4.2.2. Wyniki testu QFT-GIT w zależności od wieku badanych	41

4.2.3. Wyniki testu QFT-GIT w zależności od płci badanych	45
4.2.4. Czynniki wpływające na częstość dodatnich wyników testu QFT-GIT	48
4.3. Wyniki badania odczynu tuberkulinowego (OT)	50
4.3.1. Wyniki OT w poszczególnych badanych grupach	50
4.3.2. Wyniki OT w zależności od wieku badanych	52
4.3.3. Wyniki OT w zależności od płci	56
4.3.4. Czynniki wpływające na dodatni wynik OT	59
4.4. Zależności pomiędzy poziomem wydzielanego IFN- γ a średnicą nacieku w teście tuberkulinowym	61
4.4.1. Analiza korelacji	61
4.5. Rozkład dodatnich i ujemnych wyników testu QFT-GIT w grupach badanych w poszczególnych zakresach średnicy nacieku OT	65
4.6. Ocena zgodności testów GFT-GIT i OT	68
5. Dyskusja	79
Ocena stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy w badanych grupach ryzyka za pomocą testu GFT-GIT i odczynu tuberkulinowego	80
Zgodność między testem GFT-GIT a odczynem tuberkulinowym w badanych grupach	88
6. Wnioski	92
7. Streszczenie	93
8. Piśmiennictwo	96

SPIS SKRÓTÓW

- AIDS** – zespół nabytego niedoboru odporności (ang. *acquired immune deficiency syndrome*)
- BCG** – łac. *Bacillus Calmette-Guérin*
- CDC** – Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorobom (ang. *Center for Diseases Control and Prevention*)
- CFP-10** – białko przesączu hodowli o masie 10 kDa (ang. *Culture Filtrate Protein 10*)
- ELISA** – test immunoenzymatyczny (ang. *enzyme linked immunosorbent assay*)
- ESAT-6** – wczesne białko antygenowe o masie 6 kDa (ang. *early secretory antigenic target 6*)
- ERS** – Europejskie Towarzystwo Oddechowe (ang. *European Respiratory Society*)
- HIV** – ludzki wirus upośledzenia odporności (ang. *Human Immunodeficiency Virus*)
- IFN- γ** – interferon γ
- IGRA** – test uwalniania interferonu γ (ang. *interferon gamma release assay*)
- IL** – interleukina
- IU** – jednostka międzynarodowa (ang. *international unit*)
- IUATLD** – Międzynarodowa Unia Przeciwko Gruźlicy i Chorobom Układu Oddechowego (ang. *International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases*)
- LTBI** – utajona infekcja gruźlicza (ang. *latent tuberculosis infection*)
- MTB** – prątek gruźlicy (łac. *Mycobacterium tuberculosis*)
- NICE** – Narodowy Instytut Zdrowia i Doskonałości Klinicznej (ang. *National Institute for Health and Clinical Excellence*)
- OT** – odczyn tuberkulinowy
- PPD** – oczyszczona pochodna białkowa (ang. *purified protein derivative*)
- QFT-GIT** – QuantiFERON®-TB Gold In Tube
- RD** – region zróżnicowania (ang. *region of differentiation*)
- TNF- α** – czynnik martwicy nowotworu α (ang. *tumor necrosis factor alpha*)
- WHO** – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

1. WSTĘP

Gruźlica jest ciągle jedną z głównych przyczyn chorobowości i śmiertelności z powodu chorób zakaźnych. Jest to choroba, wywołana przez prątki kwasooporne z grupy *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis complex: M.tuberculosis, M. africanum, M. bovis, M. bovis – BCG, M. microti*) [1].

Zakażenie prątkiem gruźlicy – według definicji ERS, WHO i IUATLD (1999 r.) jest to zakażenie *M. tuberculosis* przejawiające się dodatnim odczynem tuberkulinowym. W Stanach Zjednoczonych obowiązuje definicja CDC, według której zakażenie *M. tuberculosis* to gruźlica utajona (*latent tuberculosis infection – LTBI*) [1].

Ocenia się, że co najmniej 32% ludności na świecie (ok. 1,8 mld) jest zakażonych prątkiem gruźlicy. Co roku zapada na gruźlicę co najmniej 9 mln osób, a umiera z jej powodu prawie 2 mln [1,2]. 98% zgonów występuje w krajach rozwijających się, w dużej części są to zakażenia HIV. Przyczyną dużej nadal chorobowości na gruźlicę są nie tylko warunki społeczno-ekonomiczne ale pandemia zakażeń HIV oraz pojawienie się prątków opornych na leki przeciwaprątkowe [1-3].

Ze względu na złą sytuację epidemiologiczną w przeszłości, ocenia się, iż więcej niż 20% populacji (ok. 8 mln ludzi) w Polsce jest zakażonych prątkiem gruźlicy, a w grupie wiekowej powyżej 40 lat odsetek ten jest zapewne jeszcze większy. Co roku zakażeniu prątkiem ulega do 100 000 osób. W Polsce zapadalność na gruźlicę ciągle się zmniejsza; w 2009 roku zarejestrowano 8236 nowych zachorowań na wszystkie postaci gruźlicy (współczynnik zapadalności 21,6/100 000); około 90% przypadków to gruźlica płuc. Najczęściej chorują osoby po 65. rż. Ciągle odnotowuje się wznowy procesu chorobowego (około 12% przypadków) i przypadki gruźlicy włóknisto-jamistej (około 1%). Gruźlica pozapłucna najczęściej dotyczy opłucnej, węzłów chłonnych, układu moczowo-płciowego i układu kostno-stawowego. W 2009 roku rozpoznano w Polsce 9 przypadków gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych.

U dzieci i młodzieży gruźlica niemal zawsze jest następstwem kontaktu z dorosłymi prątkującymi chorymi na gruźlicę. W Polsce gruźlica wśród dzieci do lat 14 występuje rzadko, w 2009 roku zarejestrowano 99 przypadków.

Z powodu gruźlicy zmarło w Polsce w 2008 roku 810 osób (współczynnik umieralności 2.1/100 000) [4].

1.1. PRZEBIEG ZAKAŻENIA I ZACHOROWANIA NA GRUŻLICĘ

Naturalny przebieg gruźlicy składa się z 3 etapów: ekspozycji, zakażenia i aktywnej choroby [1,5].

EKSPOZYCJA

W wyniku ekspozycji na prątek gruźlicy jedynie niewielka część osób narażonych ulegnie zakażeniu, a wśród nich u niewielu rozwinie się pełnoobjawowa postać choroby.

Źródłem prątków gruźlicy jest chory wydalający prątki podczas oddychania, mówienia, a szczególnie podczas kaszlu. Mieszczą się one w drobnych kropelkach plwociny, które wysychają w powietrzu, tworząc tzw. jądra kropelek o średnicy 1–5 μm . Znajdują się w nich 2 lub 3 prątki, które mogą być inhalowane aż do pęcherzyków płucnych, zwłaszcza do dolnych części płatów górnych i górnych części płatów dolnych. Prątki są fagocytowane przez makrofagi pęcherzykowe. Jeśli prątków jest mało, mogą być całkowicie usunięte przez nieswoiste mechanizmy bakteriobójcze leukocytów wielojądrzastych i makrofagów płucnych. U takich osób nie stwierdza się żadnych objawów zakażenia prątkiem (ujemny odczyn tuberkulinowy, brak jest również jakichkolwiek objawów klinicznych i radiologicznych) [1,5-7].

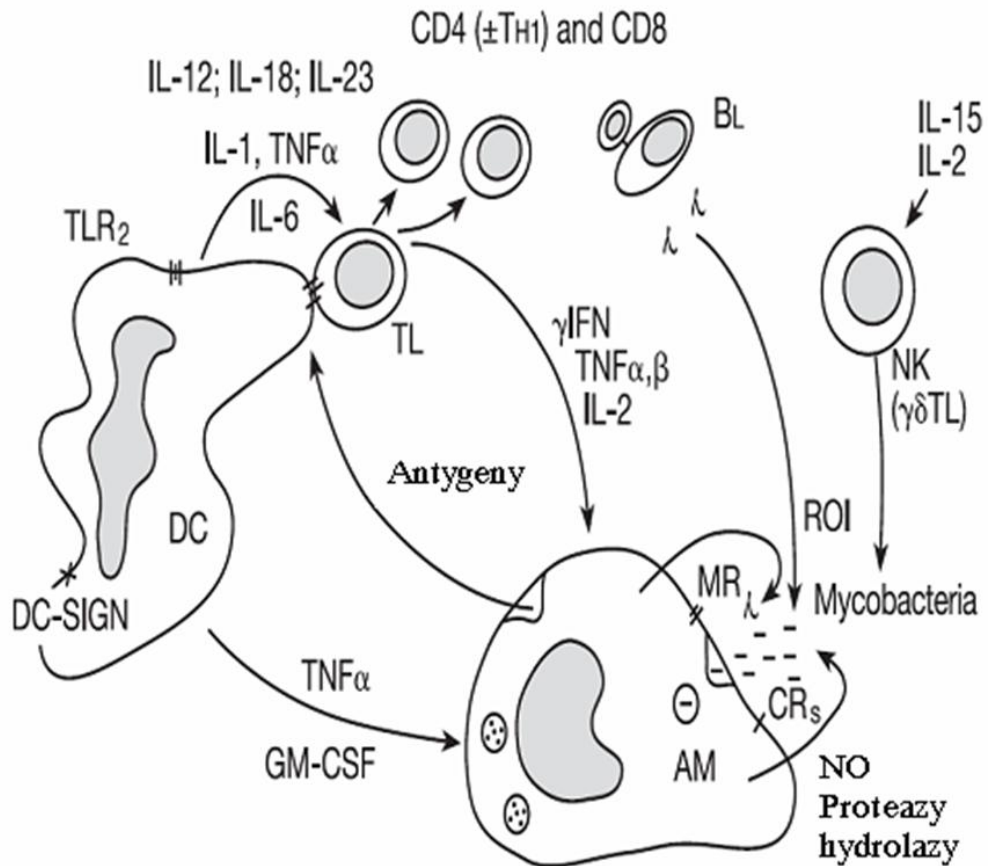
ZAKAŻENIE

Przy dużej liczbie zainhalowanych prątków lub przy niesprawnych nieswoistych mechanizmach obronnych makrofagów, przez 2–3 tygodni prątki namnażają się wewnątrzkomórkowo i zwykle dochodzi do zniszczenia makrofaga; bakterie wydostają się na zewnątrz i zostają pochłonięte przez inne makrofagi pęcherzykowe i monocyty; prątki namnażają się wówczas swobodnie w ich wnętrzu (jest to okres logarytmicznego wzrostu prątków, trwający 2–3 tygodni); w tym czasie może dochodzić do rozsiewu prątków drogami chłonnymi i krwionośnymi do różnych części organizmu. Rozwija się miejscowy odczyn zapalny i dochodzi do wytworzenia reakcji obronnych ustroju, które są dwojakiego rodzaju.

Pierwsza z nich to eliminacja komórek nieefektywnie niszczących prątki (początek tworzenia martwicy serowatej); główną rolę odgrywają tu: komórki NK, limfocyty $\gamma\delta$, limfocyty CD8 (częściowo limfocyty CD4).

Drugi typ reakcji obronnych zależy od tzw. aktywacji makrofagów, które zostają pobudzone przez limfocyty T (CD4, CD8) i wydzielany przez nie m.in. IFN- γ . Limfocyty te mogą zostać pobudzone dopiero po zaprezentowaniu antygeny przez inną komórkę. Komórką tą jest komórka dendrytyczna, która wiąże antygeny prątka ze swoją molekułą DC-SIGN (*D specific inter-cellular adhesion molecullar-3 grabbing non-integrin*); głównym ligandem DC-SIGN jest lipoarabinomannan ściany prątka (LAM). Następnie dochodzi (przez receptory komórki dendrytycznej, tzw. *Toll-like receptors 2* - TLR2) do pobudzenia tejże komórki dendrytycznej, która staje się komórką prezentującą antygeny prątka. Antygeny prątka są prezentowane limfocytom po związaniu przez receptory APC w kontekście (łącznie) z antygenami zgodności tkankowej (MHC) typu I dla limfocytów CD8 i typu II dla limfocytów CD4. Limfocyty CD8 są głównie cytotoksyczne, zabijają, podobnie jak komórki NK i limfocyty $\gamma\delta$, makrofagi i monocyty nieefektywnie niszczące prątki. Limfocyty CD4 mogą również odgrywać rolę cytotoksyczną, ale głównym ich zadaniem jest pobudzanie makrofagów (rys. 1).

Rola komórek dendrytycznych (DC), makrofagów pęcherzykowych (AM); limfocytów T (TL): CD4, CD8, NK oraz limfocytów B (BL) w obronie przeciwko mykobakteriom
 TLR-2 - toll like receptor
 DC-SIGN - DC specific intracellular molecular 3 grabbing non-integrin
 ROI - reactive oxygen intermediates
 NO - tlenek azotu
 TNF - czynnik martwicy nowotworów alfa
 IFN - interferon
 IL - interleukina



Rysunek 1. Proces zakażenia prątkiem gruźlicy [7]

W obrębie limfocytów CD4 możemy wydzielić limfocyty Th1 (produkują m.in. IL-2 oraz IFN- γ) oraz Th2 (produkujące m.in. IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 i IL-13). Pojawiają się badania, w których stwierdzono, że w rozwoju gruźlicy obok osłabienia odpowiedzi Th1 pewną rolę odgrywa właśnie zwiększenie odpowiedzi Th2 (zwiększenie stężenia przeciwciał przeciwprątkowych oraz IL-4) [8].

IFN- γ jest jedną z najważniejszych cytokin pobudzających makrofagi; IL-2 powoduje rozmnażanie kolejnych komórek CD4; powstaje klon komórek CD4 uczulonych na antygeny prątka, które są rekrutowane do miejsca choroby. Dochodzi do ukierunkowania odpowiedzi immunologicznej na Th1. Powstają również komórki pamięci CD4 i CD8 stanowiące centralny komponent odporności stymulowanej przez szczepienia BCG [1,5-7,8].

W aktywowanych makrofagach dochodzi do indukcji 1-hydroksylazy makrofagów i przejścia nieaktywnej formy 25-OH witaminy D w formę aktywną (1,25 (OH)-kalcetriolu) oraz do

wydzielania IL-12 oraz TNF- α . Makrofagi stają się tzw. komórkami żernymi, a ich podstawowymi mechanizmami cytotoksycznymi są reaktywne formy tlenu i azotu [9].

Niszczenie własnych komórek w celu zahamowania wzrostu prątków jest przyczyną tworzenia się martwicy serowatej. W jej patogenezie biorą udział: TNF- α , czynniki krzepnięcia, reaktywne pochodne tlenu i azotu. Ważnym elementem jest uszkodzenie komórek śródbłonna naczyń (prezentujących również antygeny prątka) przez cytotoksyczne limfocyty T, czego skutkiem jest ich zakrzepica, niedotlenienie i dalsza martwica tkanek. Wokół martwicy serowatej gromadzą się aktywowane makrofagi, tzw. komórki nabłonkowate oraz komórki olbrzymie Langhansa.

Zgrupowanie komórek wokół martwicy serowatej tworzy tzw. gruzełek gruźliczy. Przyleganie komórek w gruzełku jest mediowane przez cząsteczki adhezji, pobudzone przez TNF- α , IL-6 i IFN- γ . W centrum gruzełka znajduje się martwica serowata, makrofagi, komórki olbrzymie i nabłonkowate, a na obrzeżu limfocyty CD4 (również CD8).

Wyżej wymienione mechanizmy cytotoksyczne hamują wzrost populacji prątków po około 3 tygodniach, dzięki czemu obszar martwicy serowatej jest niewielki, a pobudzone makrofagi przeciwdziałają rozprzestrzenianiu się zakażenia prątkami. U osób z upośledzoną odpowiedzią komórkową dochodzi do upłynnienia martwicy serowatej, bardzo znacznego mnożenia się prątków i ewentualnego tworzenia się jam. Zanim rozwinię się swoista odpowiedź immunologiczna, makrofagi ze sfagocytowanymi prątkami mogą się przedostawać przez układ limfatyczny do krwi, powodując bakteremię. W ten sposób prątki docierają do wielu narządów, pozostając jednak tylko w miejscach o korzystnych warunkach dla ich wzrostu.

Najczęściej gruzełek zostaje otoczony wałem tkanki łącznej, potem odkładają się w nim sole wapnia, a w tkance płucnej powstaje ognisko nazwane „ogniskiem pierwotnym Ghona” (*focus primarius tuberculosis*). Prątki w gruzełku mogą się znajdować w stanie „uśpienia”, nie dając objawów choroby; jest to stan immunologicznej równowagi z organizmem gospodarza. Makrofagi mogą długo pozostawać miejscem bytowania prątków w organizmie człowieka i nawet po wielu latach dać początek gruźlicy płuc lub pozapłucnej.

Po zachwianiu równowagi immunologicznej z organizmem gospodarza prątki mogą się bowiem wydostać z gruźlika, rozmnażać, po czym może dojść do rozwoju choroby. Może również dochodzić do przebijania upłynnionych mas serowatych do oskrzeli i dalszych rozsiewów prątków drogą oskrzelową do innych części płuc [1,5-7,9].

Część limfocytów T CD4+ pozostaje komórkami pamięci immunologicznej umożliwiając odporność typu opóźnionego (*delayed type hypersensitivity* -- DTH), która leży u podstawy odczynu tuberkulinowego [1,6,7,9]. Rozróżniamy dwa rodzaje komórek pamięci: efektorowe (*effector memory cells*) oraz centralne (*central memory cells*). Limfocyty pamięci efektorowe znajdują się w miejscu reakcji zapalnej w tkankach i szybko reagują na kontakt z antygenami prątka. Limfocyty pamięci centralne znajdują się w węzłach chłonnych, przekształcają się w limfocyty efektorowe w wyniku ponownego zetknięcia z antygenami prątka [6].

Zakażenie prątkiem gruźlicy jest częste (jak wspomniano wcześniej, dotyczy około 20% populacji polskiej), ale u większości osób odporność immunologiczna jest na tyle skuteczna, że przebiega ono bezobjawowo, tylko z konwersją odczynu tuberkulinowego.

Odsetek zakażonych zależy od masywności narażenia, zjadliwości szczepu prątka, czasu i bliskości kontaktu z chorym oraz od stanu wrodzonych mechanizmów obronnych osoby narażonej. Częstość występowania zakażenia prątkiem w danej populacji zależy m.in. od tego, czy gruźlica występuje na danym terenie sporadycznie, endemicznie czy epidemicznie, od struktury wieku danej społeczności, od warunków społeczno-ekonomicznych, geograficznych czy klimatycznych. W krajach, w których odsetek populacji zakażonej jest wysoki, bezwzględna liczba zachorowań będzie wyższa niż w krajach, w których odsetek ten jest niższy [1,9,10].

CHOROBA

Prątki pozostają w gruźlikach w wielu narządach i w niekorzystnych warunkach może dojść do ich „reaktywacji”. Na gruźlicę zachoruje w ciągu życia tylko 5–10% zakażonej populacji. Około 5% choruje bezpośrednio po zakażeniu (chorobę nazywa się wówczas gruźlicą pierwotną), pozostali znacznie później (gruźlica popierwotna). Miejscem rozwoju gruźlicy w 90% przypadków są płuca. W pozostałych 10% rozwija się gruźlica innych narządów lub

współistnieją oba umiejscowienia choroby. Gruźlica pierwotna (najczęstsza u dzieci) charakteryzuje się wystąpieniem zespołu pierwotnego (jednoczesne zmiany w płucu i w węzłach chłonnych wnęki lub śródpiersia). Objawem gruźlicy pierwotnej może być także wysiękowe zapalenie opłucnej. Rzadko ma postać ciężkiego krwiopochodnego rozsiewu (prosówka gruźlicza i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych) [1,5,9,].

Gruźlica popierwotna najczęściej dotyczy płuc, chociaż może się rozwinąć w każdym narządzie, zwykle z przetrwałych ognisk gruźliczych. U osób z upośledzoną odpornością może dochodzić również do ciężkiego, krwiopochodnego rozsiewu prątków.

Osoby zakażone wykazują pewną odporność na kolejne zakażenie prątkiem. Uważa się, że większość przypadków gruźlicy u osób dorosłych jest wynikiem „reaktywacji” istniejących ognisk, chociaż ostatnio (dzięki rozwojowi metod genetycznych i możliwości ustalania wzorów genetycznych szczepów prątków) zwraca się uwagę na znaczący udział ponownego zakażenia egzogenego [1,5,10].

1.2. DIAGNOSTYKA ZAKAŻENIA PRĄTKIEM GRUŻLICY

W krajach o małym i średnim współczynniku zapadalności na gruźlicę leczenie tzw. utajonej infekcji gruźliczej (*latent tuberculosis infection* – LTBI), czyli zakażenia prątkiem gruźlicy, służące do zahamowania progresji zakażenia w czynną postać choroby, jest również (poza leczeniem aktywnej postaci choroby) istotnym elementem walki z tą chorobą. Dotyczy to szczególnie osób obciążonych dużym ryzykiem zachorowania: niedawno zakażonych, będących w bliskim kontakcie z chorym prątkującym, zakażonych wirusem HIV i osób z uprzednio nieleczonymi zmianami włóknistymi w szczytach płuc [10].

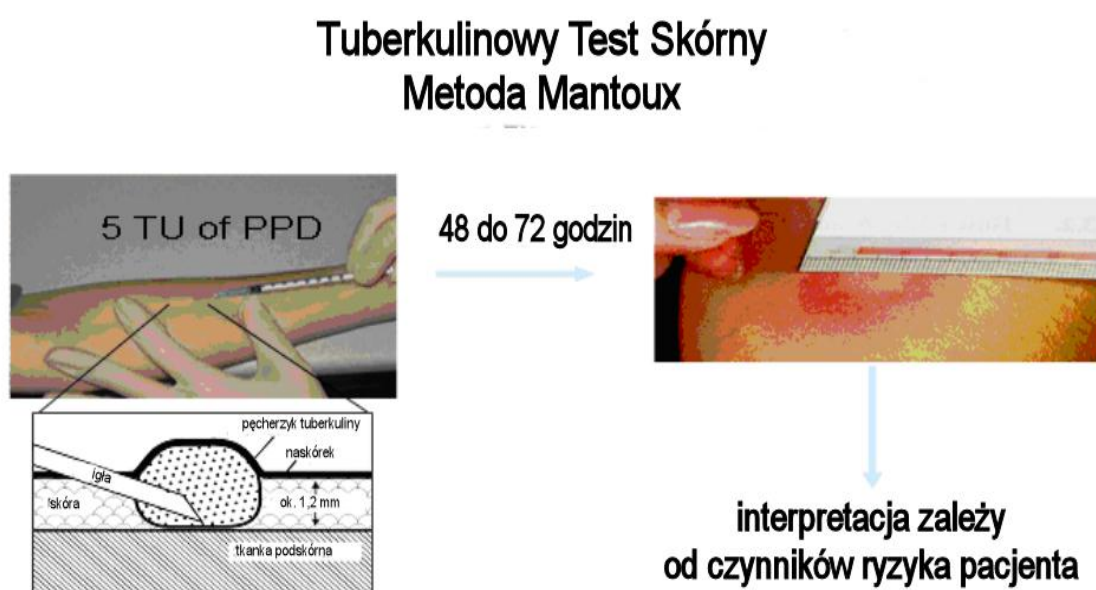
Ocenę zjawiska zakażenia prątkiem gruźlicy umożliwia test tuberkulinowy. Jednak zjawisko alergii tuberkulinowej powstaje zarówno po naturalnym zakażeniu prątkiem, jak i w wyniku podania szczepionki BCG. Dlatego w krajach, w których szczepienia, a zwłaszcza powtórne tzw. rewakynacje, były obowiązkowe (do nich należy też Polska) dokładny pomiar współczynnika zakażenia prątkiem poprzez wykonanie testu tuberkulinowego jest praktycznie niemożliwy. W tych krajach parametr ten jest szacowany na podstawie tzw.

modeli epidemiometrycznych gruźlicy - według tych oszacowań obecnie w Polsce około 20% populacji zostało w sposób naturalny zakażone prątkiem gruźlicy (80% zakażonych przypada na ludzi powyżej 40. rż.) [1,5,9]. Leczenie utajonej infekcji gruźliczej obniża ryzyko przejścia w aktywną postać choroby o około 90% [9,10]. W Polsce, odmiennie niż w krajach o małym współczynniku zapadalności na gruźlicę, leczenie utajonej infekcji gruźliczej obejmowało dotąd jedynie dwie grupy zakażonych, tj. dzieci i osoby HIV dodatnie [9,10].

Czynnikami ryzyka przejścia zakażenia w czynną chorobę jest świeża infekcja prątkiem gruźlicy, a także wiele czynników zależnych od gospodarza, takich jak: młody wiek (zwłaszcza dzieci poniżej 5. rż.), zakażenie HIV, choroby przewlekłe (niewydolność nerek, cukrzyca), leczenie immunosupresyjne, biologiczne (leki anty-TNF- α , stan po przeszczepie narządu), układowa kortykosteroidoterapia [1,10].

1.2.1. ODCZYŃ TUBERKULINOWY (OT)

Klasyczną i jedyną dotąd metodą diagnostyki zakażenia prątkiem gruźlicy był tuberkulinowy test skórny (*tuberkulin skin test* – TST), znany również jako test Mantoux (rys. 2).



Rysunek 2. Odczyn tuberkulinowy

Podstawą immunologiczną testu jest obecność w ustroju uczulonych limfocytów (limfocyty pamięci centralne -- *central memory cells*), które w przypadku ponownej stymulacji antygenowej tuberkuliną (mieszanina ok. 200 antygenów prątka) szybko gromadzą się i rozmnażają, nie dopuszczając do inwazji patogenu, który imituje tuberkulina. Pierwszym badaczem reakcji organizmu na tuberkulinę był Robert Koch (odkrywca prątka gruźlicy), który próbował ją wykorzystać (niestety nieskutecznie) w celach leczniczych. Obserwując w swoich doświadczeniach różne reakcje zwierząt na wszczepianie wyciągu z hodowli prątków gruźlicy, doszedł do wniosku, że zawierają one swoistą substancję, która mogłaby być także szczepionką chroniącą organizm przed zachorowaniem. Sugerował, że ustrój, lokalizując infekcję przez miejscowy stan zapalny, nie dopuszcza do uogólnionej choroby. Początkowo wyciąg nazywano: limfą Kocha, płynem Kocha lub bacyliną. Nazwa „tuberkulina” została zaproponowana przez Odonu Bujwida (1857--1942) i przyjęła się na całym świecie [11]. Tzw. stara tuberkulina Kocha zawierała w sobie produkty przemiany materii prątków, składniki otrzymywane w czasie autolizy oraz produkty z podłoża. Ostatecznie otrzymanie oczyszczonego produktu tuberkuliny udało się w 1928 roku Florance Seibert; nazwała ją *purified protein derivative* (PPD) – oczyszczoną pochodną białkową [12]. W 1958 roku w Instytucie Serologii w Kopenhadze Magnusson i Benson [12] wyprodukowali nową serię tuberkuliny PPD pod nazwą RT 23, a w następnych latach tuberkulinę RT 23+ Tween 80.

Jest wiele sposobów aplikacji tuberkuliny; najczęściej stosowaną (odczyn Mantoux) jest podanie śródskórne oczyszczonej tuberkuliny PPD-S (*purified protein derivative-S*) w dawce 5 jednostek międzynarodowych (IU). Odpowiednikiem 5 jednostek PPD-S jest stosowanie w Polsce i w innych krajach europejskich 2 jednostek tuberkuliny RT 23. Tuberkulinę podaje się śródskórnie na dłoniową powierzchnię przedramienia, tak by powstał pęcherzyk o średnicy 6—10 mm. Po upływie 48--72 godzin odczytujemy wynik, wyrażony jako średnica nacieku poprzecznie do długiej osi kończyny [9,10,12,13]. Aplikacja tuberkuliny indukuje tzw. opóźniony typ nadwrażliwości komórkowej DTH (*delayed type of hypersensitivity*), w której uczestniczą wspomniane już limfocyty T i makrofagi, w związku z tym test ten jest mało czuły w przypadku obniżonej odporności typu komórkowego. Test tuberkulinowy jest także mało swoisty, ponieważ PPD jest mieszaniną białek, których determinanty antygenowe obecne są w większości gatunków prątków ze szczepionką BCG włącznie. U osób szczepionych BCG oraz

zakażonych prątkami atypowymi tzw. prątkami środowiskowymi wynik testu tuberkulinowego może być fałszywie dodatni [10,12,13].

Przyczynami ujemnego odczynu tuberkulinowego może być bardzo młody lub bardzo podeszły wiek, choroby wirusowe, cukrzyca, niewydolność nerek, sarkoidoza, choroby nowotworowe, w tym przede wszystkim choroby dotyczące układu chłonnego (w tym ziarnica złośliwa), choroby zakaźne (odra, ospa, różyczka). Odczyn tuberkulinowy może również stać się ujemny w przebiegu leczenia immunosupresyjnego, lekami cytoredukcyjnymi, cyklosporyną czy surowicami antylimfocytarnymi. Może być on przejściowo ujemny w czasie ciąży. Najważniejszy jest fakt, że może być on ujemny w bardzo ciężkich przypadkach gruźlicy, a więc w przebiegu prosówki gruźliczej, serowatego zapalenia płuc czy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych na tle gruźliczym [9,10,13].

Ujemne wyniki OT uniemożliwiają właściwą kwalifikację osób zakażonych do zastosowania chemioprophylaktyki gruźlicy.

Odczyn tuberkulinowy interpretujemy zgodnie z zaleceniami amerykańskiego Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC) i Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Klatki Piersiowej (ATS) [1] (tab. 1).

Tabela 1. Kryteria dodatniego OT wg CDC/ATS

Kryteria dodatniego odczynu tuberkulinowego w zależności od grupy ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy	
≥5 mm	<ul style="list-style-type: none">• osoby zakażone HIV• osoby kontaktujące się z chorym na gruźlicę• osoby ze zmianami w badaniu RTG odpowiadającymi przebytej gruźlicy• osoby leczone przewlekłe lekami immunosupresyjnymi
≥10 mm	<ul style="list-style-type: none">• imigranci z krajów o dużej zachorowalności na gruźlicę• chorzy na cukrzycę, pacjenci z przewlekłą niewydolnością nerek• osoby mające kontakt z prątkiem gruźlicy w ramach wykonywania zawodu• więźniowie, narkomani, osoby przebywające w domach opieki społecznej
≥15 mm	<ul style="list-style-type: none">• inne osoby

W Polsce Narodowy Program Zwalczania Gruźlicy rekomenduje średnicę nacieku wynoszącą co najmniej 10 mm jako dodatni OT dla całej populacji (z wyjątkiem osób zakażonych HIV, dla których za dodatni przyjmuje się odczyn wynoszący co najmniej 5 mm) [1,10].

Wskazania do wykonywania OT [1]:

1) podejrzenie gruźlicy, 2) badanie kontaktów (zwłaszcza z chorymi z dodatnim wynikiem rozmazu) w celu kwalifikacji do chemioprophylaktyki, 3) badania imigrantów z krajów o dużej zapadalności na gruźlicę, 4) podejrzenie zakażenia prątkiem gruźlicy u osób zakażonych wirusem HIV.

1.2.2. TESTY IGRA (*INTERFERON GAMMA RELEASE ASSAYS*) W DIAGNOSTYCE ZAKAŻENIA PRĄTKIEM GRUŹLICY

W ciągu ostatnich kilku lat pojawiły się nowe możliwości rozpoznania utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Powstały testy: QuantiFERON®-TB Gold (Cellestis, Carnegie, Australia) oraz T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Abingdon, Wielka Brytania), które są wysoce specyficzne i czułe w wykrywaniu zakażenia prątkiem gruźlicy. Zasada ich działania opiera się na pomiarze IFN- γ wydzielanego do surowicy przez swoiste limfocyty T stymulowane przez antygeny specyficzne dla *M. tuberculosis* i nielicznych innych gatunków prątków (*M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. microti*).

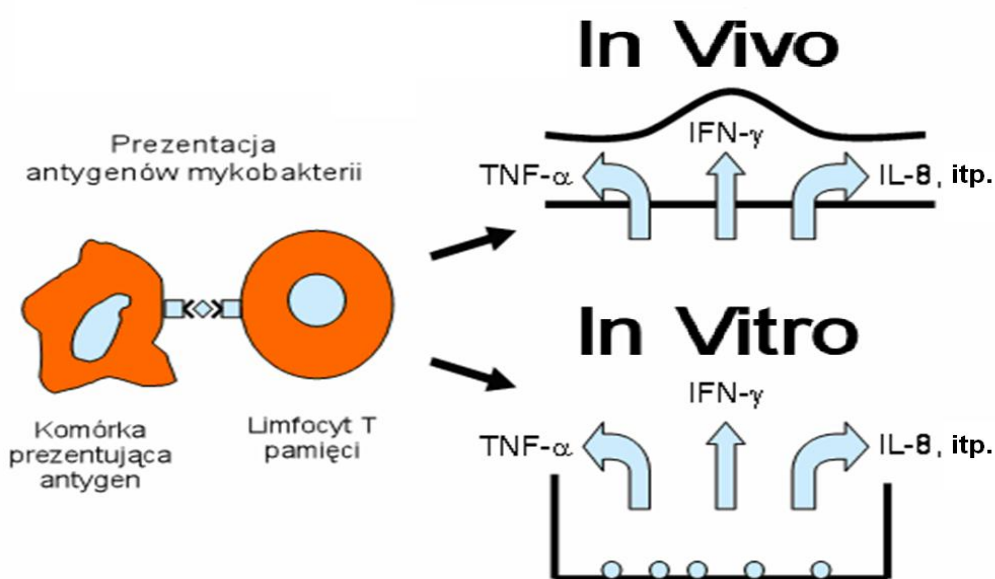
Antygenami tymi są: ESAT 6 (*early secretory antigen target 6*) oraz CFP-10 (*culture filtrate protein 10*), a w nowszej wersji testu QuantiFERON®-TB Gold In Tube, tzw. QuantiFERON-GIT w zestawie antygenów jest jeszcze TB7,7 (swoisty antygen dla prątków gruźlicy) [13-39]. Antygenów tych nie ma u bakterii szczepu BCG, co podnosi wartość diagnostyczną testów.

Antygeny ESAT-6 oraz CFP-10 kodowane są przez tzw. *region of difference 1* (RD1). Jest to fragment genomu prątka, który jak wykazały badania prowadzone od lat 90. XX wieku występuje w *M. tuberculosis*, nie ma go natomiast w genomie prątków BCG oraz w większości prątków środowiskowych, z wyjątkiem wspomnianych powyżej *M. kansasii*, *M. szulgai* i *M. microti* [40].

RD1 koduje tzw. ESX1 system (geny Rv3870 – Rv3879, ESAT-6 oraz CFP-10). Antygeny ESAT-6 i CFP-10 odpowiedzialne są za zjadliwość *M. tuberculosis*. Są dowody na to, że

komplementacja szczepów BCG przez RD1 powoduje wzrost ich zjadliwości oraz namnażanie się w płucach, podobnie delecje RD1 ze zjadliwych szczepów *M. tuberculosis* H37Rv skutkują utratą zdolności wewnątrzkomórkowego wzrostu prątków w makrofagach [40]. Oba antygeny są współdzielane w ilościach 1:1 w krótkotrwałych hodowlach prątków. Zarówno ESAT-6, jak i CFP-10 to antygeny o małej masie cząsteczkowej, preferencyjnie rozpoznawane i będące głównymi stymulatorami produkcji IFN- γ we wczesnych fazach eksperymentalnego zakażenia prątkiem. Oba antygeny występują na tym samym operonie, pozostają pod kontrolą tego samego promotora i są aktywnie wydzielane przez *M. tuberculosis*, po czym formują dimer. Są one prezentowane komórkom układu odpornościowego w ilościach równomolarnych i w tym samym czasie, a więc mogą być traktowane jako jeden antygen. W późniejszych fazach zakażenia prątkiem odpowiedź immunologiczna limfocytów jest bardziej różnorodna, a więc reakcja na te antygeny prawdopodobnie jest słabsza. Testy oparte na tych wczesnych antygenach mogą być więc przydatne do diagnostyki zakażenia jeszcze przed rozwojem aktywnej postaci choroby [5,10,40]. Porównanie mechanizmów OT i testów IGRA przedstawia rys. 3.

Testy Diagnostyczne



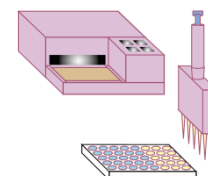
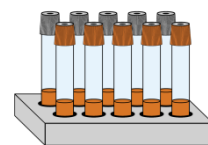
Andersen P, et al. Lancet 2000;356: 1099

Rysunek 3. Testy *in vivo* i *in vitro* w diagnostyce gruźlicy

Zasada działania testu QuantiFERON-TB GOLD oparta jest na metodzie ELISA [13,16].

Kolejne jego etapy to:

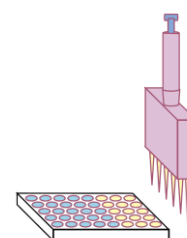
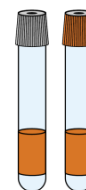
- inkubacja krwi pobranej od osoby badanej przez 24 godziny w obecności specyficznych antygenów prątka (u osób zakażonych prątkiem gruźlicy dochodzi do zwiększonej produkcji IFN- γ przez uczulone antygenami prątka limfocyty T krwi obwodowej)
- IFN- γ z osocza jest wychwytywany przez specyficzne dla niego przeciwciała
- przeciwciała te łączą się następnie z innymi przeciwciałami skoniugowanymi z enzymem katalizującym reakcję kolorymetryczną
- po pomiarze gęstości optycznej stężenie IFN- γ określa się przy użyciu krzywej standardowej.



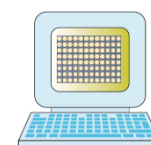
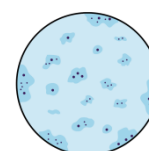
Przyjmuje się stężenie IFN $\geq 0,35$ IU/ml za dodatni wynik testu [19].

Etapy testu ELISpot (*enzyme-linked immunospot assay*) -- T SPOT.TB [13,16]:

- inkubacja komórek jednojądrzastych krwi obwodowej w obecności antygenów ESAT-6 i CFP-10 przez okres 16--24 godzin
- u osób zakażonych prątkiem dochodzi do produkcji IFN- γ przez uczulone limfocyty T osoby badanej



- połączenie IFN- γ w sąsiedztwie limfocytów T ze specyficznymi dla niego przeciwciałami i następnie połączenie przeciwciał specyficznych dla IFN- γ z innymi przeciwciałami skoniugowanymi z enzymem, który katalizuje kolorymetryczną reakcję dając obraz „plam”
- każda plama reprezentuje ślad komórki T, która odpowiedziała na antygeny ESAT-6 i CFP-10 produkcją IFN- γ .



Za wynik dodatni badania przyjmuje się liczbę plam wynoszącą co najmniej 6 [19].

W omawianych testach, jednocześnie z badaniem stopnia stymulacji swoistej, w odpowiednich kontrolach mierzy się „kondycję” limfocytów. Są to zazwyczaj pomiary spontanicznej oraz stymulowanej mitogenem sekrecji IFN- γ przez limfocyty T [10,13,16].

REKOMENDACJE DLA TESTÓW IGRA

W grudniu 2005 roku CDC oraz FDA zarekomendowało stosowanie testu QuantiFERON we wszystkich okolicznościach, w których jest stosowany OT, włączając w to badania osób będących w styczności z osobą prątkującą, imigrantów oraz seryjne badania pracowników ochrony zdrowia. Zalecenia te mówią wyraźnie, że test ten może być stosowany w zastępstwie, ale nie jako uzupełnienie OT. Test ten, jak również nowa jego wersja, tzw. QuantiFERON-GIT, która zawiera trzeci specyficzny dla *M. tuberculosis* antygen TB 7,7, stosowane są powszechnie w Stanach Zjednoczonych oraz w Europie. W Europie jest również szeroko stosowany T-SPOT.TB. Obydwa testy są zalecane przez wytyczne NICE (opublikowane w lutym 2006 r.). Zalecenia NICE rekomendują w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy strategię hybrydową, tzn. początkowe badania skринingowe z użyciem OT, a w przypadku otrzymania pozytywnego wyniku użycie testu IGRA dla potwierdzenia dodatniego wyniku OT [10].

CZUŁOŚĆ I SWOISTOŚĆ TESTÓW IGRA

Obydwa testy IGRA zdaniem większości autorów odznaczają się wysoką swoistością: 62--100%, znacząco większą niż OT, co jest uwarunkowane brakiem wpływu na nie szczepień BCG i zakażeń prątkami środowiskowymi. Testy te mają również dużą czułość. Wykazano, że czułość ELISpot wahała się w granicach 83--97% i była większa niż czułość osiągnięta metodą ELISA (70--89%) [13,37-39,41-43].

Wyniki metaanalizy przeprowadzonej przez Pai i wsp. [44] dowiodły, że czułość testu QuantiFERON-TB Gold wynosi 78%, QuantiFERON-TB Gold In-Tube 70%, testu T-SPOT.TB 90%. Dla obydwu powyższych testów QuantiFERON swoistość wśród osób nieszczepionych BCG wynosiła 99% i 96% wśród osób zaszczepionych. Swoistość testu T-SPOT.TB wynosiła

93%; dla porównania swoistość OT u osób nieszczepionych BCG wynosiła 97%, niestety u szczepionych tylko ok. 50%. Różnice w czułości obydwu testów IGRA można tłumaczyć tym, że ELISpot określa liczbę limfocytów produkujących IFN- γ po swoistym pobudzeniu, a test ELISA mierzy stężenie IFN- γ po wydzieleniu go do medium.

Według metaanalizy Diela i wsp. [45] opublikowanej w kwietniu 2010 roku w czasopiśmie „Chest” czułość testu QuantiFERON-TB wynosiła 84,5%, testu T-SPOT 88,5%, a OT 71,5%; swoistość tych 3 testów to odpowiednio: 99,2%, 86,3% oraz 59%.

Metaanaliza Diela i wsp. [46] z roku 2011 dowiodła, że swoistość testów IGRA wahała się od 98-100%.

Czułość testów IGRA określana była zazwyczaj w aktywnej postaci choroby, a swoistość na podstawie wyników dodatnich w populacjach, które praktycznie nie były narażone na zakażenie prątkiem gruźlicy.

Udowodnienie wyższej wartości diagnostycznej nowych testów w porównaniu z testem tuberkulinowym w przypadku utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy jest trudniejsze niż w przypadku czynnej postaci choroby, ponieważ nie istnieje „złoty standard” dla rozpoznania LTBI. Niestety nie jest możliwe dokładne oznaczenie czułości i swoistości w tym przypadku. Prawdopodobieństwo zakażenia prątkiem rośnie wraz ze wzrostem długości wspólnie spędzonego czasu i bliskością kontaktu z osobą chorą na gruźlicę; kluczowym wyznacznikiem zakażenia będzie liczba wspólnie spędzonych godzin. Tak więc jeśli nowe testy są w istocie bardziej czułe i swoiste niż OT, powinny one lepiej korelować z poziomem ekspozycji i być niezależne od szczepień BCG [16].

Prowadzono ostatnio badania z użyciem testu ELISpot, które objęły 1136 osób – kontaktów bliskich chorych na gruźlicę. Dowiodły one wysokiej swoistości testu i wykazały brak wpływu szczepień BCG na wynik tego testu w przeciwieństwie do testów tuberkulinowych przeprowadzonych równocześnie u tych osób. ELISpot korelował również lepiej z nasileniem ekspozycji na gruźlicę niż tuberkulinowy test skórny, sugerując większą czułość niż OT [16].

Badania oceniające test QuantiFERON wykazały, że test ten był również niezależny od przeprowadzonych w przeszłości szczepień BCG, a korelacja jego z nasileniem ekspozycji na gruźlicę była zbliżona do OT [16].

Być może optymalne wartości punktów odcięcia dla obydwu testów będą się różnić od rekomendowanych aktualnie [19]. Być może uda się ustalić takie punkty odcięcia dla obydwu testów przy których możliwe będzie uzyskanie lepszej zgodności między nimi [20].

Ostatnio wielu autorów wskazuje również na obecność naturalnych wahań stężenia IFN- γ w surowicy, które przy powtarzanych pomiarach oscylują w granicach punktów odcięcia. Te wyniki mogą być błędnie interpretowane jako konwersje i rewersje testu IGRA. Postuluje się zatem wyznaczenie granicy poziomu IFN- γ w surowicy uwzględniającej jego naturalną zmienność oraz ustanowienie nowych wartości dla rozpoznania konwersji i rewersji tych testów [47-49].

Obecnie pojawiają się również badania sugerujące, że powinno się przyjąć inne punkty odcięcia dla utajonego zakażenia gruźlicą i czynnej postaci gruźlicy [41], jednakże ustalenie ich będzie niezwykle trudne ze względu na to, że efektorowe limfocyty pamięci T są rekrutowane do miejsca toczącego się procesu chorobowego, a ich ilość w surowicy, a także wydzielanego przez nie IFN- γ jest niewielka, podobnie jak w utajonym zakażeniu. Prawdopodobnie więc z tego powodu nie obserwuje się znacząco wyższych stężeń IFN- γ w aktywnej postaci choroby [50,51].

Niektóre doniesienia wskazują na większą czułość testów IGRA w wykrywaniu utajonej infekcji gruźlicy, gdy wydłuży się do 6 dni okres inkubacji stymulowanych limfocytów T specyficznymi antygenami prątka. Prawdopodobnie w ten sposób można wykryć również nie tylko świeże, ale też dużo wcześniej nabyte zakażenie prątkiem gruźlicy. Istnieje duża zgodność między dodatnimi wynikami tak wykonanych testów IGRA a dodatnimi wynikami OT [52,53].

ZJAWISKO WZMOCNIENIA PO WYKONANYM OT

Ważne jest zwrócenie uwagi na istniejące w tym przypadku zjawisko stymulacji wydzielania IFN- γ pod wpływem wcześniej wykonanej próby tuberkulinowej. Tuberkulina (w przeciwieństwie do szczepionki BCG) zawiera antygeny ESAT-6 i CFP-10. Aby uniknąć zjawiska wzmocnienia (*booster*), należy krew do wykonania testu IGRA pobierać przed lub

w ciągu 3 dni po wykonaniu OT. W przeciwnym wypadku wyniki testu IGRA mogą być niewiarygodne [5,54-59].

1.2.3. ROZBIEŻNOŚĆ WYNIKÓW MIĘDZY TESTAMI IGRA A OT

Zgodność wyników między OT a testami IGRA oceniana jest w większości badań na 60--90% [13,60-62]. Niezgodność: OT dodatni/IGRA ujemne prawdopodobnie jest zależna od wcześniejszych szczepień BCG, a także od immunizacji niegruźliczymi prątkami środowiskowymi. Istnieje jednakże prawdopodobieństwo mniejszej czułości testów IGRA w pewnych sytuacjach klinicznych, jak również istnieje możliwość, że IGRA wykrywają tylko pewien etap odpowiedzi immunologicznej w zakażeniu prątkami, na przykład świeżą infekcję, która szybko ulega spontanicznej regresji lub mija pod wpływem leczenia [13]. Być może za niezgodność OT dodatni/IGRA ujemne odpowiedzialny jest (jak wspomniano powyżej) za krótki czas inkubacji ze specyficznymi antygenami prątka. Tę hipotezę mogą potwierdzić badania, w których przedłużano czas inkubacji w teście QuantiFERON do kilku dni, a test początkowo ujemny stawał się dodatni [52,53].

Niezgodność drugiego typu, tj. OT ujemny, ale IGRA dodatnie, jest bardziej niezrozumiała. Może należałoby zmienić stosowane do tej pory punkty odcięcia w celu zwiększenia czułości testów IGRA? Jest również prawdopodobne, że IGRA wykrywają, jak już wspomniano powyżej, świeże zakażenie prątkiem, za które są odpowiedzialne limfocyty T efektorowe (OT jest jeszcze ujemny, gdyż limfocyty T pamięci biorące udział w tej reakcji jeszcze nie zostały pobudzone i nie odpowiadają wyrzutem IFN- γ) [16,21,51,52,58-60]. Ponadto należy wziąć pod uwagę, że w krajach o wysokiej zapadalności na gruźlicę istnieje wiele czynników modulujących immunologiczną równowagę Th1/Th2, na przykład niedożywienie, mykobakteriozy środowiskowe, trąd, robaczyce, infekcje tropikalne [16].

1.2.4. ZASTOSOWANIE I WARTOŚĆ PROGNOSTYCZNA TESTÓW IGRA W GRUPACH RYZYKA ZAKAŻENIA PRĄTKIEM GRUŻLICY

Ukazuje się wiele prac poświęconych zastosowaniu IGRA w takich grupach ryzyka zachorowania na gruźlicę jak u zakażonych HIV, u chorych na cukrzycę, u chorych z niewydolnością nerek, u chorych poddanych leczeniu immunosupresyjnemu, po przeszczepianiu narządów, a także u małych dzieci i ludzi starszych. W tej grupie chorych IGRA odznaczają się większą czułością (szczególnie test T-SPOT-TB) niż stosowany dotąd OT. Obserwuje się tutaj małą lub umiarkowaną zgodność między OT a testami IGRA, być może dlatego, że testy IGRA w tej grupie chorych są prawdopodobnie ograniczane wysokim poziomem odcięcia oraz słabą odpowiedzią kontroli na stymulację niespecyficznym antygenem. Ujemne wyniki testów tuberkulinowych uniemożliwiają właściwą kwalifikację tych chorych do zastosowania chemioprophylaktyki gruźlicy. Testy IGRA w tych populacjach wykazują z jednej strony większą czułość niż OT, niestety z drugiej strony cechują się znaczną liczbą wyników tzw. *indeterminate*, czyli nieokreślonych, spowodowanych utratą zdolności odpowiedzi na mitogen (w tych przypadkach wskazane jest zawsze wykonanie dodatkowego testu z mitogenem), co wynika z nieprawidłowej liczby lub funkcji limfocytów CD4 [63-76].

Szczególną rolę przypisuje się testom IGRA w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów przed tzw. leczeniem biologicznym, w tym inhibitorami TNF- α . Chorzy ci przed włączeniem leczenia biologicznego najczęściej przyjmują inne leki immunosupresyjne, co dodatkowo zmniejsza czułość OT. Testy IGRA u tych chorych cechują się większą czułością [74-77].

Obiecujące jest zastosowanie testów IGRA w seryjnych badaniach pracowników ochrony zdrowia. Oceniają one obecność utajonego zakażenia prątkiem w tej populacji, a ich powtarzanie może wykryć „konwersję”, czyli świeże zakażenie prątkiem. Potrzeba jednakże wielu dalszych badań prospektywnych w celu ustalenia wartości progowych dla konwersji testów IGRA [78-88].

Istotne z punktu widzenia epidemiologicznego jest stwierdzenie utajonej infekcji gruźliczej u bliskich „kontaktów” chorego prątkującego oraz u imigrantów z krajów o wysokiej zapadalności na gruźlicę, często wielokrotnie szczepionych BCG. Grupy te (szczególnie dzieci pozostające w kontakcie domowym z chorym prątkującym) są szczególnie narażone na

zakażenie i rozwój aktywnej postaci choroby. Szybka diagnostyka czułym testem IGRA ma zasadnicze znaczenie przed decyzją o zastosowaniu odpowiedniej chemioprophylaktyki [89-97].

Niezwykle trudnym problemem jest diagnostyka utajonego zakażenia prątkiem u dzieci. Ryzyko przejścia takiego zakażenia w aktywną postać choroby u dzieci jest kilkakrotnie większe niż u osoby dorosłej (50% u niemowląt i 5--10% w ciągu całego życia u osób dorosłych). Progresa do aktywnej postaci choroby dokonuje się u dzieci najczęściej w ciągu roku od zakażenia. U małych dzieci istnieje ryzyko rozwoju najcięższych postaci gruźlicy, takich jak prosówka gruźlicza czy zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Dlatego tak istotna jest wczesna diagnostyka utajonego zakażenia prątkiem i szybkie zastosowanie chemioprophylaktyki [5]. U dzieci testy IGRA są bardzo wartościowym narzędziem diagnostycznym; przeszkodą jest tutaj jednak duża ilość wyników nieokreślonych, zwłaszcza w przypadku testu QuantiFERON, które są związane z mniejszą produkcją IFN- γ w grupie małych dzieci poniżej 4. roku życia [98-100]. W aktywnej postaci choroby obserwuje się natomiast u dzieci większą czułość OT (83%) niż testu QFT-GIT (80%) czy T-SPOT-TB (58%) [51].

O ile wspomniane tutaj grupy ryzyka zakażenia prątkiem i zachorowania na gruźlicę doczekały się swoich opracowań statystycznych, o tyle brakuje opracowań dotyczących stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy w takich grupach ryzyka jak bezdomni czy pensjonariusze i personel Domów Opieki Społecznej (DPS).

Bezdomni to znana grupa ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy ze względu na intensywność wzajemnych kontaktów wśród osób z tej grupy, z niej też wywodzi się znacząca ilość osób z aktywną postacią choroby. Bezdomni są szczególnie narażeni na zachorowanie na gruźlicę ze względu na obecność takich czynników jak: niedożywienie, alkoholizm, nikotynizm, liczne choroby przewlekłe, stosowanie narkotyków, bagatelizowanie objawów choroby, nieuczęszczanie na badania okresowe.

IGRA W AKTYWNEJ GRUŻLICY PŁUCNEJ I POZAPŁUCNEJ

Testom IGRA przypada tylko pomocnicza rola w diagnostyce aktywnej gruźlicy. Przyjmowano, że dodatni wynik testu w połączeniu z obrazem klinicznym i radiologicznym pozwala podjąć decyzję co do włączenia leczenia przeciwprątkowego [101,102]. Według najnowszej metaanalizy Sester i wsp. [103] czułość testu QuantiFERON-GIT w aktywnej postaci choroby w przypadku gruźlicy płucnej wynosiła 80%, a w teście T-SPOT.TB 81%; dla gruźlicy diagnozowanej z innych płynów ustrojowych (wysięk opłucnowy, osierdziowy) wyniki wynosiły odpowiednio: 48% i 88%. Swoistość wynosiła dla gruźlicy płucnej w teście QuantiFERON-GIT 79%, T-SPOT.TB 59%; dla gruźlicy pozapłucnej (oceniaanej przez badanie płynów wysiękowych jw.) 82% w obydwu testach IGRA.

IGRA W GRUŻLICY PŁUC NIEPOTWIERDZONEJ BAKTERIOLOGICZNIE

Badania Jafari i wsp. [104,105] wykonane u dorosłych z podejrzeniem gruźlicy płuc, której nie udało się potwierdzić bakteriologicznie, wykazało, że celowe u takich chorych jest wykonanie bronchoskopii z płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym oraz testu ELISpot z komórkami jednojądrzastymi uzyskanymi tą drogą. Grupa kontrolna miała znamienne mniej limfocytów T pobudzonych przez specyficzne antygeny ESAT-6 oraz CFP-10 w płynie oskrzelowo-pęcherzykowym niż chorzy na gruźlicę. Test ten może być ważnym narzędziem diagnostycznym w gruźlicy niepotwierdzonej bakteriologicznie.

IGRA PO LECZENIU GRUŻLICY

Wyniki testów IGRA po leczeniu gruźlicy są niejednoznaczne. Część badaczy wykazuje, że pozostają niezmienione [106-108], w części badań stwierdzono, że zmieniają się po leczeniu w zakresie odpowiedzi na niektóre tylko antygeny (np. CFP-10) [109]. W innych badaniach wykazano dużą różnorodność wyników testów, które nie odpowiadały obrazowi klinicznemu oraz wynikom leczenia [110], a w innych obserwowano negatywizację lub znaczące obniżenie poziomu IFN- γ czy „plam” w T-SPOT.TB po leczeniu [111,112] albo po chemioprophylaktyce gruźlicy [113].

WARTOŚĆ PROGNOSTYCZNA TESTÓW IGRA

Kluczowym i chyba najważniejszym jednak pytaniem pozostaje możliwość identyfikacji przez testy IGRA osób z dodatnim wynikiem testów, które zachorują na gruźlicę, czyli tych którzy mogliby odnieść korzyść z chemioprophylaktyki. Byłoby to szczególnie ważne w diagnostyce dzieci, osób zakażonych HIV lub u chorych w stanach immunosupresji. Diel i wsp. [114] w lutym 2008 roku opublikowali wyniki dwuletniej obserwacji dwóch grup osób pozostających w bliskich kontaktach z chorymi na gruźlicę (tzw. bliskich kontaktów), tj. grupy z dodatnim wynikiem OT oraz grupy z dodatnim wynikiem testu QuantiFERON-GIT. W grupie z dodatnim wynikiem OT odnotowano jedynie 2,3% (5/219) zachorowań na gruźlicę w trakcie obserwacji, a w grupie drugiej 14,6% (6/41). W metaanalizie tego samego autora z roku 2011 wykazano, że negatywna wartość predykcyjna dla przejścia utajonego zakażenia w aktywną chorobę w ciągu 2 lat wyniosła 99,8% dla testu QFT-GIT, a dla testu T-SPOT. TB 97,8%. Wśród osób z dodatnim wynikiem testu IGRA doszło do wystąpienia aktywnej gruźlicy u 8-15%, a dla OT 2-3% [46]. Wartość prognostyczna testów IGRA byłaby więc znacznie większa niż OT.

W innych pracach wykazano, że statystycznie większe stężenia IFN- γ w surowicy miały osoby z kontaktu, u których rozpoznano później aktywną postać choroby [115,116].

Istnieją już badania oceniające wartość predykcyjną testów IGRA u dzieci lub u osób zakażonych wirusem HIV, jednak nie dotyczą one dużych populacji [117,118].

Badania nad testami IGRA powinny być prowadzone na większej grupie osób; ważne jest stworzenie pomocnych modeli matematycznych ustalających wartość predykcyjną tych testów [119,120].

PRZEWAGA EKONOMICZNA ZASTOSOWANIA TESTÓW IGRA

Dotychczasowe obserwacje pozwalają przypuszczać, że testy IGRA zastąpią stosowane dotychczas testy skórne nie tylko ze względu na dużą czułość i większą swoistość, lecz także z powodów finansowych. W opublikowanych pracach Diela i wsp. [121] oraz Oxlade i wsp. [122] porównano koszt chemioprophylaktyki stosowanej u bliskich kontaktów na podstawie OT i testów IGRA na korzyść tych drugich. Być może znaczące korzyści finansowe płynące ze

stosowania testów IGRA w strategii opanowania gruźlicy będą przesłanką do ciągłego ich ulepszania i sukcesywnego włączania do diagnostyki w coraz liczniejszych krajach

1.2.5. PERSPEKTYWY ZWIĘKSZENIA CZUŁOŚCI TESTÓW IGRA

Ukazało się wiele badań wskazujących na możliwości zwiększenia czułości testów przez rozszerzenie spektrum stosowanych antygenów, na przykład w ELISpot dołączenie trzeciego antygeny kodowanego przez region RD1; RV3879c [10], a także przez pomiar innych cytokin (IL-2, IP10), których stężenie zmienia się wraz ze stężeniem antygenów *M. tuberculosis* i wraz z odpowiedzią na leczenie [10,123-125].

2. CEL PRACY

Celem pracy była:

- ocena stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy w wybranych grupach ryzyka zakażenia prątkiem, takich jak: bezdomni, kontakty bliskie oraz kontakty okresowe chorego na gruźlicę, pensjonariusze i personel DPS oraz wśród losowo wybranych mieszkańców Krakowa za pomocą testu QFT-GIT oraz OT
- ocena wpływu wieku oraz płci na wyniki testu QFT-GIT i OT
- ocena zależności między stężeniem IFN- γ w surowicy a średnicą nacieku OT oraz między liczbą dodatnich wyników testu QFT-GIT a średnicą nacieku OT
- ocena zgodności obydwu testów dla różnych wartości średnicy nacieku OT w poszczególnych badanych grupach ryzyka i wśród losowo wybranych mieszkańców Krakowa

3. MATERIAŁ I METODY

W okresie od lipca 2007 roku do września 2009 roku oceniano stopień zakażenia prątkiem gruźlicy przy pomocy testu QFT-GIT w czterech grupach ryzyka: wśród 145 bezdomnych, 171 kontaktów bliskich, 163 kontaktów okresowych, 152 pensjonariuszy i personelu Domów Opieki Społecznej oraz wśród 149 losowo wybranych mieszkańców Krakowa. Łącznie przebadano 785 osób.

Grupę **bezdomnych** stanowiły osoby, które miały jedynie czasowe zameldowanie w noclegowniach i przytuliskach miasta Krakowa i byli uznani za bezdomnych przez Miejski Ośrodek Pomocy Społecznej.

Kontakty bliskie stanowiły osoby, które pozostawały w kontakcie domowym z chorym prątkującym lub dzieliły z nim to samo pomieszczenie w pracy; kontakt ten trwał co najmniej 4 tygodnie przed ustaleniem rozpoznania gruźlicy u osoby prątkującej.

Kontakty okresowe stanowiły osoby, których praca zawodowa opierała się na stałych, krótszych, ale czasami intensywnych kontaktach z chorymi prątkującymi. Do grupy tej włączono lekarzy, pielęgniarki, salowe Oddziałów Pulmonologicznych Kliniki Pulmonologii UJCM oraz Specjalistycznego Szpitala Psychiatrycznego im. Babińskiego w Krakowie, a także pracowników socjalnych Miejskiego Ośrodka Pomocy Społecznej, kontaktujących się z racji swojego zawodu z bezdomnymi, alkoholikami, narkomanami, z których wywodzili się później niejednokrotnie liczni chorzy na gruźlicę płuc prątkującą.

Pensjonariusze i personel Domów Opieki Społecznej stanowiły osoby pozostające ze względu na stan zdrowia i stopień niepełnosprawności pod stałą opieką personelu pielęgniarsko-lekarskiego. Grupę tą stanowiła zarówno niesprawna umysłowo młodzież i młode osoby dorosłe jak i nieco starsze osoby o znacznym stopniu niepełnosprawności ruchowej i oraz osoby zaawansowane wiekowo wymagające głównie opieki pielęgnacyjnej. Osoby te niejednokrotnie obciążone były licznymi przewlekłymi chorobami, wymagającymi stałej farmakoterapii. Osoby stanowiące tą grupę były pensjonariuszami krakowskich Domów Opieki Społecznej zlokalizowanych przy ulicach: Barskiej, Łanowej, Wielickiej i chociaż oficjalna nazwa brzmiała Dom Pomocy Społecznej to w zasadzie należałoby tutaj mówić o Zakładach Opieki Długoterminowej.

Grupę kontrolną („zdrowych”) stanowili losowo wybrani (drogą komputerową) mieszkańcy dzielnicy Krakowa Podgórze, u których nie wykazano obecności czynników ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy.

Wszyscy badani odpowiadali na pytania zawarte w specjalnie opracowanym dla tej pracy kwestionariuszu dotyczącym aktualnych i przebytych chorób, nałogów, statusu socjalnego; u wszystkich badanych oceniana była blizna po szczepieniu BCG oraz przeprowadzone zostało badanie przedmiotowe; wszyscy badani podpisali uświadomioną zgodę na udział w badaniu, które zostało zaaprobowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Badani mieli zakładane OT przez podanie 0,1 ml tuberkuliny (2 j. PPD-Rt 23) śródskórną w dłoniową część przedramienia przez doświadczoną, tą samą pielęgniarkę, która również odczytywała wynik testu mierzony średnicą nacieku ocenianego po 72 godzinach – średnicę wynoszącą co najmniej 10 mm traktowano jako wynik dodatni testu.

W niniejszej pracy spośród testów IGRA użyto testu QuantiFERON®-TB Gold In-Tube, Cellestis Ltd, Carnegie, Australia.

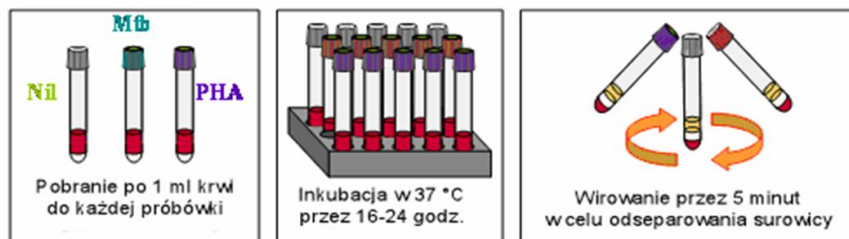
W dniu założenia OT pobierano po 1 ml krwi osoby badanej do trzech probówek: pierwszej opłaszczonej antygenami ESAT-6, CFP-10 i TB7.7, drugiej opłaszczonej mitogenem, który stanowiła fitohemaglutynina A (kontrola dodatnia) oraz trzeciej, stanowiącej kontrolę ujemną (buforowany roztwór soli z 0,1% thimerosalem).

Po pobraniu krwi probówki wytrząsano, aby krew obmyła ścianki probówek, na których osadzone były wspomniane wyżej antygeny.

Probówki w ciągu 6 godzin od pobrania krwi były transportowane w przenośnej cieplarni do laboratorium, a następnie inkubowane w temperaturze 37°C przez 16--24 godzin. Po tym czasie wirowano probówki przez 15 minut (2000--3000 g), separując surowicę. Z każdej probówki zbierano następnie surowicę i oceniano stężenie IFN- γ kolorymetryczną metodą ELISA; uzyskane dane przekształcano następnie na jednostki międzynarodowe przy użyciu krzywej standardowej i odpowiedniego oprogramowania (rys. 4).

QuantiFERON[®]-TB Gold In-Tube (QFT-GIT)

Etap 1. Pobranie krwi do próbek z antygenami



Etap 2. Pomiar poziomu interferonu i interpretacja



Rysunek 4. Zasada działania testu QFT-GIT (wg. Cellestis)

Dopuszczalne przez producenta było przechowywanie surowicy w temperaturze 2--8°C przez 3 dni, w temperaturze –20°C przez okres do 8 tygodni i w temperaturze –80°C przez ponad 2 miesiące.

Stężenie IFN- γ $\geq 0,35$ IU/ml i równocześnie $\geq 25\%$ od stężenia IFN- γ w kontroli ujemnej (jeżeli w kontroli ujemnej stwierdza się stężenie IFN- γ $\leq 8,0$ IU/ml) przyjmowano za wynik dodatni testu.

Stężenie IFN- γ $< 0,35$ IU/ml lub $< 25\%$ od stężenia IFN- γ w kontroli ujemnej (jeżeli w kontroli ujemnej stwierdzano stężenie IFN- γ $\leq 8,0$ IU/ml lub gdy różnica między kontrolą dodatnią i ujemną była $\geq 0,5$ IU/ml) traktowano jako wynik ujemny testu. Wynik testu oceniano jako nieokreślony (*indeterminate*) przy stężeniu IFN- γ w kontroli ujemnej powyżej 8,0 IU/ml lub różnicy między kontrolą dodatnią i ujemną $< 0,5$ IU/ml. (tab. 2; wg Cellestis, Australia).

Tabela 2. Interpretacja testu QFT-GIT (wg. Cellestis)

Wynik	Stężenie IFN- γ	Stężenie IFN- γ w kontroli ujemnej	Kontrola dodatnia – kontrola ujemna
dodatni	$\geq 0,35$ IU/ml i $\geq 25\%$ stężenia kontroli ujemnej	$\leq 8,0$ IU/ml	każdy wynik
ujemny	$< 0,35$ IU/ml lub $< 25\%$ stężenia kontroli ujemnej	$\leq 8,0$ IU/ml	$\geq 0,5$ IU/ml
nieokreślony	$< 0,35$ IU/ml lub $< 25\%$ stężenia kontroli ujemnej	$\leq 8,0$ IU/ml	$< 0,5$ IU/ml
	każdy wynik	$> 8,0$ IU/ml	każdy wynik

ANALIZA STATYSTYCZNA

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu R (R version 2.10.1 z 2009-12-14). Do opracowania bazy danych i analizy statystycznej użyto standardowych metod statystyki opisowej (porównanie w poszczególnych grupach):

- Zmienne jakościowe porównywano za pomocą testu niezależności χ^2 oraz w miarę potrzeby - testu χ^2 na równość proporcji lub dokładnego testu Fishera, lub testu z poprawką Yatesa jeśli wskazywały na to okoliczności i liczebność grup. Dane te przedstawiano w postaci tabel wielozmiennych (kontyngencji), raportując liczebności oraz procenty: całości, wierszy i kolumn oraz wykresów słupkowych (częstość występowania poszczególnych kategorii).
- Zmienne ilościowe porównywano testem Kruskala i Wallisa (nieparametryczny odpowiednik jednoczynnikowej analizy wariancji), ponieważ rozkład tych zmiennych odbiegał od rozkładu normalnego, co zostało sprawdzone testem Shapiro i Wilka. Jeżeli wykazano istotną statystycznie różnicę, to do analizy *post-hoc* użyto testu Dunkana. Z uwagi na asymetryczność niektórych rozkładów dane prezentowano, nie tylko podając wartość średnią oraz odchylenie standardowe, ale również wartości centyli. Dane przedstawiono również na wykresach pudełkowych (*box-plot*), w

których linia w pudełku przedstawia medianę, a wąsy stanowią 1,5 rozstępu międzykwartylowego (1,5 IQR).

Modele prognostyczne

- Do modelowania dodatnich i ujemnych wyników testu OT i QFT-GIT użyto modelu regresji logistycznej. Utworzono model pełny oraz model ograniczony tylko do zmiennych istotnych. W wynikach podano oceny oszacowania współczynników modelu, wartości ilorazów szans wraz z 95% przedziałami ufności oraz informacje o dobroci dopasowania – krzywe ROC (*receiver operating characteristics*).

Analizę korelacji

- Przeprowadzono dla wiekości średnicy nacieku OT oraz stężenia IFN- γ . Raportowano wartość liczbową współczynnika Spearmana wraz z jego istotnością oraz wykresy rozrzutu z zaznaczeniem wartości progowych dla danych testów.

Analizę zgodności

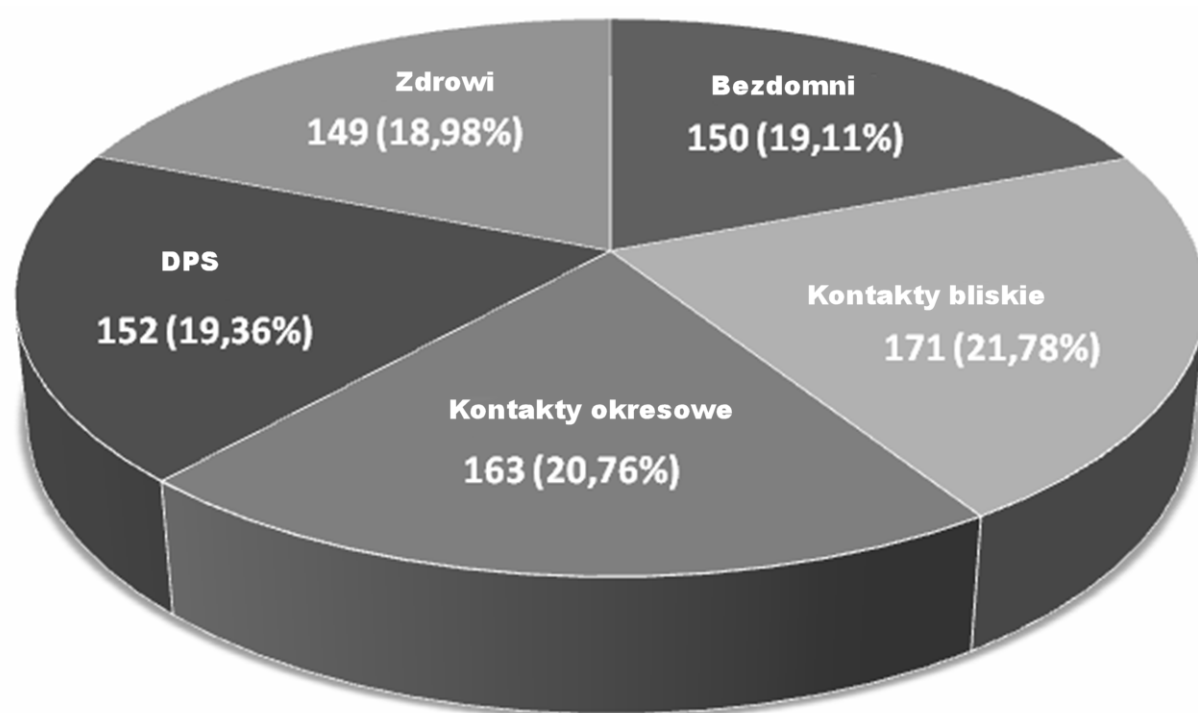
- Obliczono wartość współczynnika kappa (κ) wraz z 95% przedziałem ufności. Dane przedstawiono w postaci tabel kontyngencji, podając dodatkowo wartości p dla testu (χ^2) niezależności oraz krzywe ROC.

Poziom istotności dla wszystkich testów przyjęto jako 5% ($\alpha = 0,05$), a weryfikacje hipotez oparto na dwustronnych testach statystycznych.

4. WYNIKI

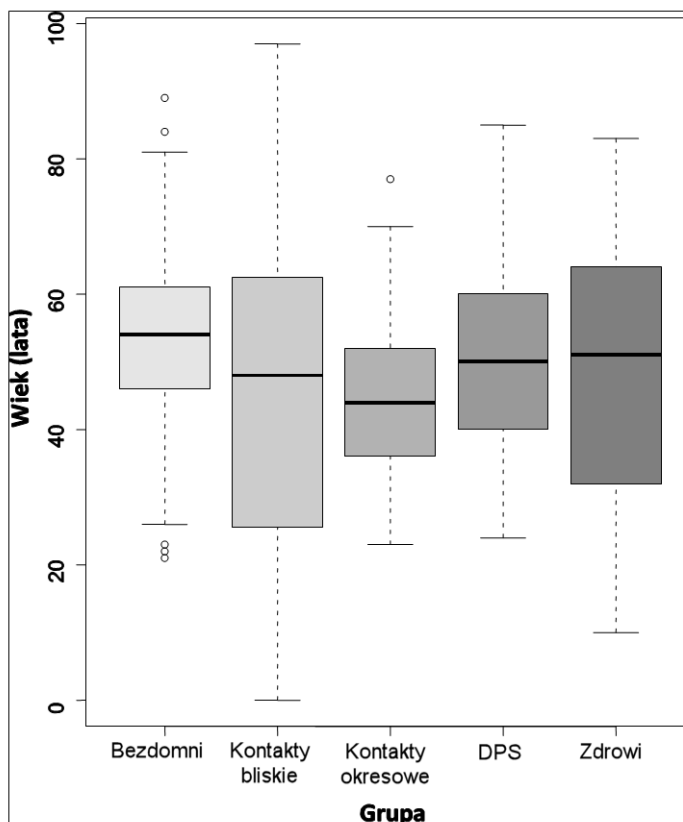
4.1. CHARAKTERYSTYKA BADANYCH GRUP

Łącznie przebadano 785 osób. Procentowy rozkład liczebności 4 analizowanych grup ryzyka i grupy osób zdrowych przedstawia rysunek 5.



Rysunek 5. Procentowy rozkład liczebności badanych grup

Strukturę wiekową badanych grup przedstawia rysunek 6.



Rysunek 6. Wykres pudełkowy wieku badanych w poszczególnych grupach

Wykazano statystycznie istotne różnice w rozkładzie wieku w poszczególnych grupach (wartość $p < 0,001$ - test Kruskala i Wallisa).

Uzyskane wartości $p < 0,001$ (test Shapiro i Wilka) wskazały na odstępstwo zmiennej jakościowej - wiek od rozkładu normalnego. Analiza *post-hoc* wykazała, że najbardziej różniącymi się grupami były grupa bezdomnych względem grupy kontaktów okresowych.

Do dalszych obliczeń przyjęto wiek jako zmienną kategoriową, dokonując podziału badanych na 3 grupy wiekowe: badani w wieku do 39. rż., od 40. do 59. rż. oraz w wieku 60 lat i starsi. Najwięcej, bo aż 45% badanych stanowiły osoby pomiędzy 40. a 59. rż. Najbardziej zbliżony ilościowo rozkład grup wiekowych zaobserwowano u zdrowych osób. W grupie kontaktów okresowych zaobserwowano najmniej osób starszych (powyżej 60. rż.), podczas gdy najwięcej osób „młodych” (do 39. rż.) – w grupie kontaktów bliskich. Wartość $p < 0,001$ (test niezależności χ^2) potwierdza brak podobieństw w strukturach grup wiekowych w poszczególnych grupach. Rozkład grup wiekowych w poszczególnych grupach badanych przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Liczebnościowy i procentowy rozkład grup wiekowych w poszczególnych grupach badanych

Grupy badane		Grupy wiekowe			Razem
		0--39	40--59	≥60	
bezdomni	liczebność	24	82	44	150
	odsetek (%)	16,00	54,67	29,33	100
kontakty bliskie	liczebność	73	49	49	171
	odsetek (%)	42,69	28,65	28,65	100
kontakty okresowe	liczebność	62	94	7	163
	odsetek (%)	38,04	57,67	4,29	100
DPS	liczebność	35	77	40	152
	odsetek (%)	23,03	50,66	26,32	100
zdrowi	liczebność	50	51	48	149
	odsetek (%)	33,56	34,23	32,21	100
łącznie	liczebność	244	353	188	785
	odsetek (%)	31,08	44,97	23,95	100

W analizowanych łącznie grupach kobiety stanowiły 56% ogółu badanych (442 osoby; tab. 4).

Tabela 4. Liczebnościowy i procentowy rozkład płci w poszczególnych grupach

Grupa badana		Płeć		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
bezdomni	liczebność	36	114	150
	odsetek (%)	24,00	76,00	100
kontakty bliskie	liczebność	91	80	171
	odsetek (%)	53,22	46,78	100
kontakty okresowe	liczebność	134	29	163
	odsetek (%)	82,21	17,79	100
DPS	liczebność	81	71	152
	odsetek (%)	53,29	46,71	100
zdrowi	liczebność	100	49	149
	% grupy	67,11	32,89	100
łącznie	liczebność	442	343	785
	odsetek (%)	56,31	43,69	100

Wartość $p < 0,001$ testu niezależności χ^2 potwierdza brak podobieństw w strukturze płci w poszczególnych grupach badanych. W grupie bezdomnych przeważali mężczyźni (76%), w grupie kontaktów okresowych -- kobiety (82%), również w pozostałych 3 grupach odsetek kobiet był znacząco większy.

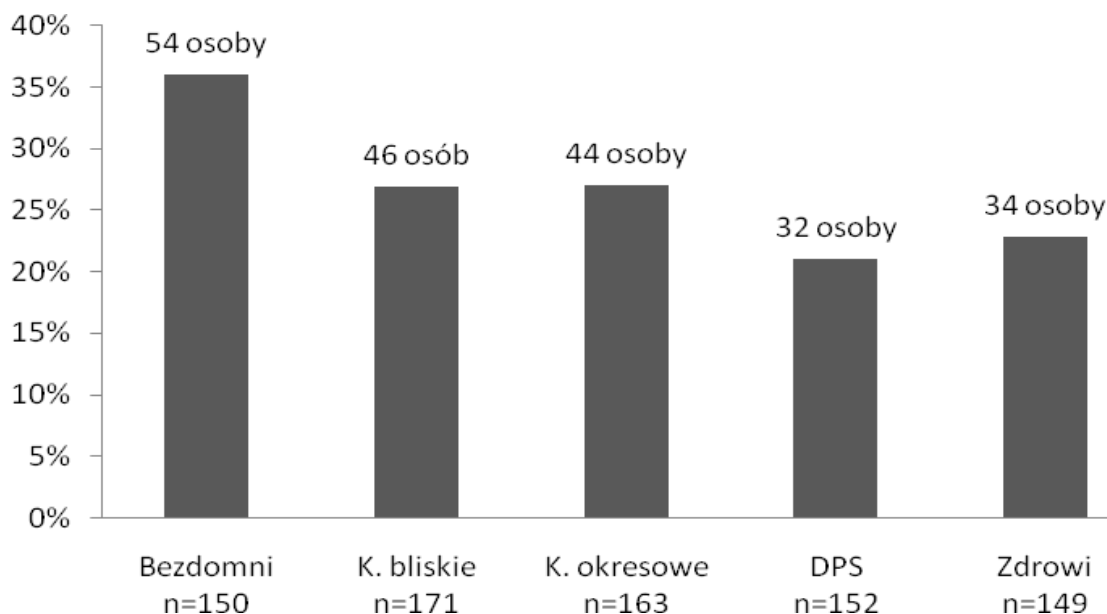
4.2. WYNIKI TESTU QUANTIFERON®-TB-GOLD IN TUBE (QFT-GIT)

4.2.1. STĘŻENIA INTERFERONU γ W POSZCZEGÓLNYCH GRUPACH BADANYCH

Za dodatni wynik testu QFT-GIT przyjmowano stężenie IFN- γ $\geq 0,35$ IU/ml. W analizowanych grupach u wszystkich badanych wykonano test QFT-GIT. U 210 badanych (26,96%) uzyskano wynik dodatni testu, u 569 osób (73,04%) wynik ujemny. U 6 osób uzyskano wynik nieokreślony (3 – u osób bezdomnych, 2 – u osób będących kontaktami bliskimi oraz 1 – u osoby z grupy zdrowych).

W grupie bezdomnych procent wyników dodatnich osiągnął największą wartość (37%), podczas gdy w grupie DPS wyników dodatnich było 21%; w grupie kontaktów bliskich osiągnięto 27% dodatnich wyników testu, w grupie kontaktów okresowych podobnie 27%, a u osób zdrowych 23%. Liczbowe i procentowe wartości dla poszczególnych grup przedstawia rysunek 7 i tabela 5.

Wartość $p = 0,03$ testu niezależności χ^2 (ew. równości proporcji) wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach ryzyka.



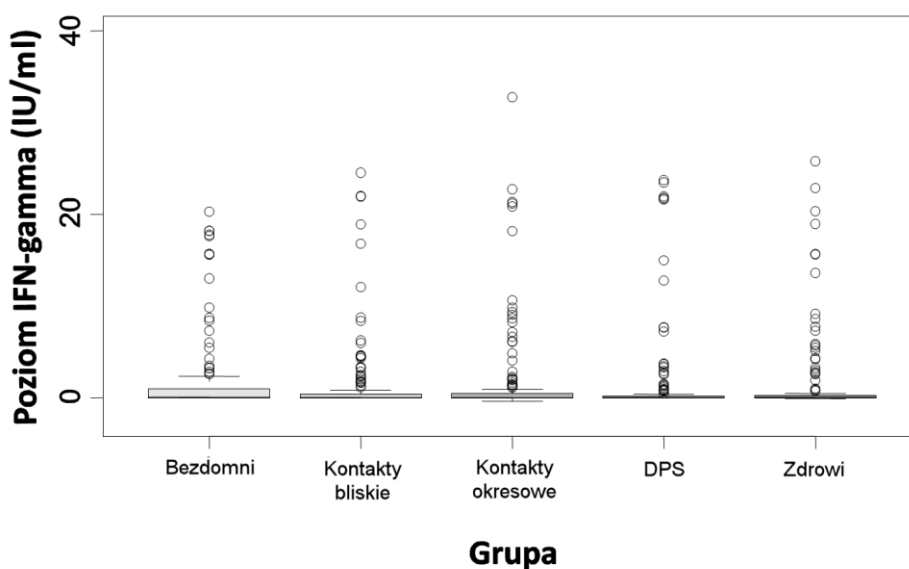
Rysunek 7. Procent oraz liczba wyników dodatnich testu QFT-GIT w poszczególnych grupach badanych

Tabela 5. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach.

Grupa badana		Wyniki testu QFT-GIT		Łącznie
		(+)	(-)	
bezdumni	liczebność	54	93	147
	odsetek (%)	36,73	63,27	100
kontakty bliskie	liczebność	46	123	169
	odsetek (%)	27,22	72,78	100
kontakty okresowe	liczebność	44	119	163
	odsetek (%)	26,99	73,01	100
DPS	liczebność	32	120	152
	odsetek (%)	21,05	78,05	100
zdrowi	liczebność	34	114	148
	odsetek (%)	22,97	77,03	100
łącznie	liczebność	210	569	779*
	odsetek (%)	26,96	73,04	100

*W 6 przypadkach – nieokreślona wartość dla testu QFT-GIT.

Mediana poziomu IFN- γ dla wszystkich badanych wyniosła 0,04, a 90. centyl 3,75. Tak więc tylko 10% stanowiły wyniki większe od wartości 3,75. Rozkład tego parametru przedstawia rysunek 8 ($p < 0,001$ otrzymane dla testu Shapiro i Wilka).



Rysunek 8. Rozkład stężeń IFN- γ w grupach badanych

Wartość $p = 0,12$ dla testu Kruskala i Wallisa wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w rozkładzie stężeń IFN- γ w poszczególnych grupach badanych.

4.2.2. WYNIKI TESTU QFT-GIT W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU BADANYCH

GRUPA BEZDOMNYCH

Odsetek wyników dodatnich testu QFT-GIT był najmniejszy w grupie najmłodszych bezdomnych (17%), podczas gdy liczba wyników dodatnich w pozostałych dwóch grupach wiekowych nie różniła się istotnie i była na poziomie około 40% (tab. 6). W grupie tej uzyskano 3 wyniki nieokreślone.

Tabela 6. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych dla grupy bezdomnych

Wyniki testu QFT-GIT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	4	32	18	54
	odsetek (%)	16,67	40,00	41,86	
(-)	liczebność	20	48	25	93
	odsetek (%)	83,33	60,00	58,14	
łącznie	liczebność	24	80	43	147
	odsetek (%)	16,33	54,42	29,25	

Wartość $p = 0,08$ testu niezależności χ^2 wskazuje jednak na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych, aczkolwiek wartość p znajduje się tylko nieco powyżej poziomu istotności statystycznej.

GRUPA KONTAKTÓW BLISKICH

Wraz z wiekiem badanych w grupie kontaktów bliskich wzrasta odsetek wyników dodatnich z 15% do 45%, co przedstawia tabela 7. Grupa ta miała 2 wyniki nieokreślone.

Tabela 7. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych dla grupy kontaktów bliskich

Wyniki testu QFT-GIT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	11	13	22	46
	odsetek (%)	15,49	26,53	44,9	
(-)	liczebność	60	36	27	123
	odsetek (%)	84,51	73,47	55,1	
łącznie	liczebność	71	49	49	169
	odsetek (%)	42,01	28,99	28,99	

Wartość $p = 0,002$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych.

GRUPA KONTAKTÓW OKRESOWYCH

W tej grupie podobnie jak w grupie kontaktów bliskich wraz z wiekiem wzrastał odsetek wyników dodatnich testu QFT-GIT z 16% do 43%, co przedstawia tabela 8.

Tabela 8. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych dla grupy kontaktów okresowych

Wyniki testu QFT-GIT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	10	31	3	44
	odsetek (%)	16,13	32,98	42,86	
(-)	liczebność	52	63	4	119
	odsetek (%)	83,87	67,02	57,14	
łącznie	liczebność	62	94	7	163
	odsetek (%)	38,04	57,67	4,29	

Wartość $p = 0,04$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych.

GRUPA PENSJONARIUSZY I PRACOWNIKÓW DOMÓW POMOCY SPOŁECZNEJ (DPS)

W grupie tej wraz z wiekiem wzrastał odsetek wyników dodatnich z 9% do 33%, co przedstawia tabela 9.

Tabela 9. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych dla grupy DPS

Wyniki testu QFT-GIT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	3	16	13	32
	odsetek (%)	8,57	20,78	32,50	
(-)	liczebność	32	61	27	120
	odsetek (%)	91,43	79,22	67,50	
łącznie	liczebność	35	77	40	152
	odsetek (%)	23,03	50,66	26,32	

Wartość $p = 0,04$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych.

GRUPA OSÓB ZDROWYCH

W losowo wybranej grupie osób zdrowych, mieszkańców miasta Krakowa, wraz z wiekiem badanych wzrastał odsetek wyników dodatnich z 4% do 44%, co przedstawiono w tabeli 10. Uzyskano 1 wynik nieokreślony.

Tabela 10. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych dla grupy osób zdrowych

Wynik testu QFT-GIT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	2	11	21	34
	odsetek (%)	4,08	21,57	43,75	
(-)	liczebność	47	40	27	114
	odsetek (%)	95,92	78,43	56,25	
łącznie	liczebność	49	51	48	148
	odsetek (%)	33,11	34,46	32,43	

Wartość $p < 0,01$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w poszczególnych grupach wiekowych

4.2.3. WYNIKI TESTU QFT-GIT W ZALEŻNOŚCI OD PŁCI BADANYCH

GRUPA OSÓB BEZDOMNYCH

Dodatni wynik testu QFT-GIT uzyskano u 25% bezdomnych kobiet, podczas gdy u mężczyzn test był dodatni u 41% badanych (tab. 11).

Tabela 11. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT z uwzględnieniem płci w grupie osób bezdomnych

Wyniki testu QFT-GIT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	9	45	54
	odsetek (%)	25,00	40,54	
(-)	liczebność	27	66	93
	odsetek (%)	75,00	59,46	
łącznie	liczebność	36	111	147
	odsetek (%)	24,49	75,51	100

Wartość $p = 0,09$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od płci. Należałoby jednak zaznaczyć, że wartość p ustanowiła się nieco powyżej istotności statystycznej; prawdopodobnie przy większej liczbie grup uzyskalibyśmy istotność statystyczną w różnicy wyników dodatnich u mężczyzn i kobiet wśród badanych bezdomnych.

GRUPA KONTAKTÓW BLISKICH

W badanej grupie kontaktów bliskich u 25% badanych kobiet uzyskano dodatni wynik testu QFT-GIT, natomiast u mężczyzn z tej grupy odsetek wyników dodatnich był zbliżony i wyniósł 29% (tab. 12).

Tabela 12. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT z uwzględnieniem płci w grupie kontaktów bliskich

Wyniki testu QFT-GIT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	23	23	46
	odsetek (%)	25,27	29,49	
(-)	liczebność	68	55	123
	odsetek (%)	74,73	70,51	
łącznie	liczebność	91	78	169
	odsetek (%)	53,85	46,15	100

Wartość $p = 0,54$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od płci.

GRUPA KONTAKTÓW OKRESOWYCH

W grupie tej uzyskano 29% dodatnich wyników testu wśród badanych kobiet i 17% wśród badanych mężczyzn (tab. 13).

Tabela 13. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT z uwzględnieniem płci w grupie kontaktów okresowych

Wyniki testu QFT-GIT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	39	5	44
	odsetek (%)	29,10	17,24	
(-)	liczebność	95	24	119
	odsetek (%)	70,90	82,76	
łącznie	liczebność	134	29	163
	odsetek (%)	82,21	17,79	100

Wartość $p = 0,19$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od płci.

GRUPA PENSJONARIUSZY I PRACOWNIKÓW DOMÓW POMOCY SPOŁECZNEJ (DPS)

W badanej grupie uzyskano zbliżone wyniki dodatnich wyników testu QFT-GIT w zależności od płci; u kobiet uzyskano 17% dodatnich wyników, podczas gdy u mężczyzn odsetek ten wyniósł 25% (tab. 14).

Tabela 14. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT z uwzględnieniem płci w grupie DPS

Wyniki testu QFT-GIT		Płeć badanych		
		Kobiety	Mężczyźni	Łącznie
(+)	liczebność	14	18	32
	odsetek (%)	17,28	25,35	
(-)	liczebność	67	53	120
	odsetek (%)	82,72	74,65	
łącznie	liczebność	81	71	152
	odsetek (%)	53,29	46,71	100

Wartość $p = 0,22$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od płci.

GRUPA OSÓB ZDROWYCH

W badanej grupie osób zdrowych zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn uzyskano zbliżony odsetek dodatnich wyników testu QT-GIT wynoszący 23% (tab. 15).

Tabela 15. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT z uwzględnieniem płci w grupie osób zdrowych

Wyniki testu QFT-GIT		Płeć badanych		
		Kobiety	Mężczyźni	Łącznie
(+)	liczebność	23	11	34
	odsetek (%)	23,00	22,92	
(-)	liczebność	77	37	114
	odsetek (%)	77,00	77,08	
łącznie	liczebność	100	48	148
	odsetek (%)	68	32	100

Wartość $p = 0,99$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od płci.

4.2.4. CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA CZĘSTOŚĆ DODATNICH WYNIKÓW TESTU QFT-GIT

Jak wykazały wcześniejsze analizy, zaobserwowano istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT w zależności od grupy wiekowej. Różnice te były obserwowane w każdej z badanych grup (oprócz grupy osób bezdomnych, w której osiągnięto wynik jedynie nieco powyżej istotności statystycznej). Za pomocą modelu regresji logistycznej, uzyskano taką samą informację, tworząc pełny model, czyli:

$$\begin{aligned}
 \text{Wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT} = & \text{grupa} + (\text{grupa wiekowa}) + \text{płeć} \\
 & + \text{grupa} * (\text{grupa wiekowa}) + \text{grupa} * \text{płeć} + \\
 & (\text{grupa wiekowa}) * \text{płeć} \\
 & + \text{grupa} * (\text{grupa wiekowa}) * \text{płeć}
 \end{aligned}$$

Uzyskano istotność statystyczną tylko dla grupy wiekowej ($p = 0,04$), dlatego stworzono model zawierający jako zmienną niezależną tylko grupę wiekową. Wyniki oszacowania parametrów tego modelu oraz ilorazów szans przedstawiają poniższe tabele (Tab 16-17).

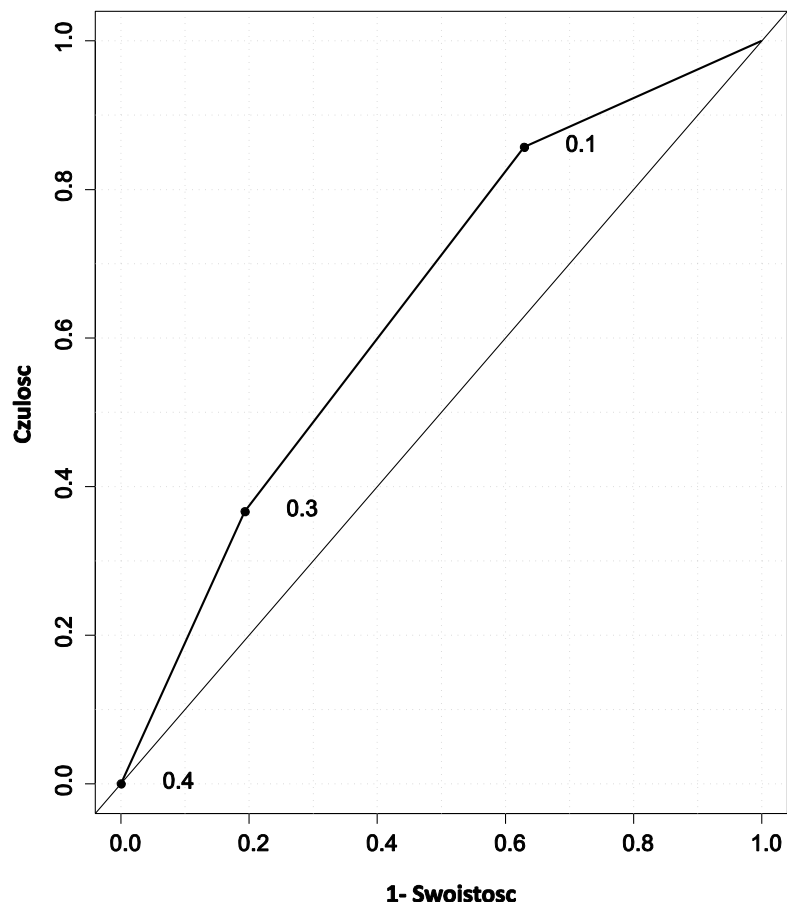
Tabela 16. Oszacowanie współczynników modelu QFT-GIT= (grupa wiekowa).

WYNIK DODATNI/UJEMNY TESTU QFT-GIT = (GRUPA WIEKOWA)	Ocena	Błąd st.	z – wartość	Pr (> z)
Wyraz wolny	-0,36	0,15	-2,4	0,02
Wiek: 0-39	-1,60	0,25	-6,5	<0,001
Wiek: 40-59	-0,52	0,19	-2,8	0,005

Tabela 17. Ilorazy szans wraz z 95% przedziałami ufności dla modelu QFT-GIT= (grupa wiekowa).

WYNIK DODATNI/UJEMNY TESTU QFT-GIT = (GRUPA WIEKOWA)	Iloraz szans	95% przedział ufności
Wyraz wolny	0,70	0,52-0,93
Wiek: 0-39	0,20	0,12-0,32
Wiek: 40-59	0,59	0,41-0,86

Dopasowanie modelu przedstawia poniższa krzywa ROC (Rys. 9). Pole pod krzywą wyniosło $AUC=0,64$, jest to wynik istotny statystycznie ($p < 0,001$). Krzywa ROC nie odchyła się bardzo od przekątnej, co pokazuje, że niezależnie od wyboru punktu odcięcia, oszacowany model nie uprawnia aby test QFT-GIT wykonywać tylko w określonych grupach wiekowych.



Rysunek 9. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT= (grupa wiekowa)

4.3. WYNIKI BADANIA ODCZYNU TUBERKULINOWEGO (OT)

4.3.1. WYNIKI OT W POSZCZEGÓLNYCH BADANYCH GRUPACH

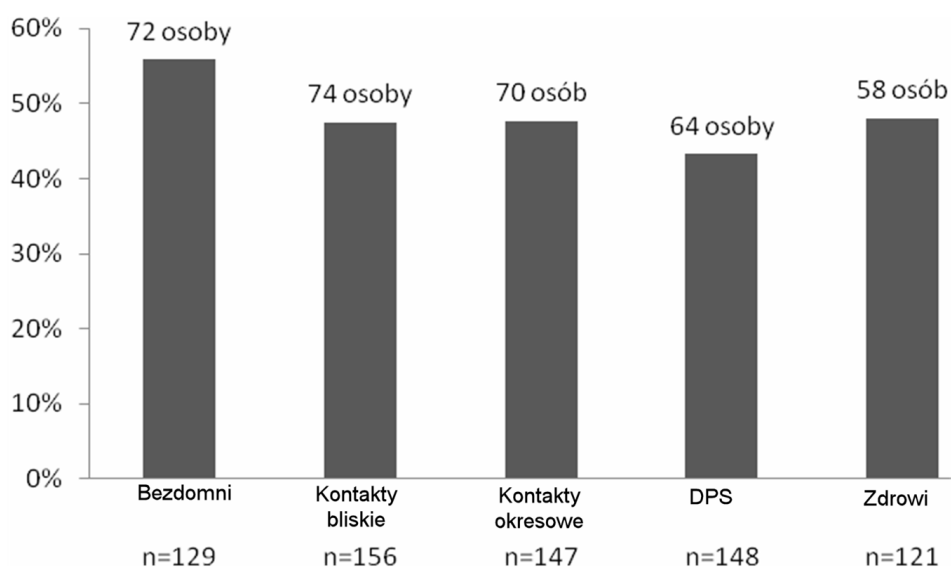
Za dodatni wynik OT przyjmowano średnicę nacieku ocenianego po 72 godzinach wynoszącą co najmniej 10 mm.

Odczyn tuberkulinowy wykonano u 701 (89%) osób spośród 785 badanych, u których wykonano test QFT-GIT, co przedstawia poniższa tabela (tab. 18).

Tabela 18. Liczebność i procent osób, u których wykonano OT w poszczególnych grupach

Grupa badana	Liczebność	% badanych
bezdumni	129	86,00
kontakty bliskie	156	91,23
kontakty okresowe	147	90,18
DPS	148	97,37
zdrowi	121	81,21

Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich OT w poszczególnych grupach przedstawia rysunek 10 oraz tabela 19.



Rysunek 10. Procent wyników dodatnich OT w poszczególnych grupach

Tabela 19. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach

Grupa badana		Wynik OT		Łącznie
		(+)	(-)	
bezdomni	liczebność	72	57	129
	odsetek (%)	55,81	44,19	
kontakty bliskie	liczebność	74	82	156
	odsetek (%)	47,44	52,56	
kontakty okresowe	liczebność	70	77	147
	odsetek (%)	47,62	52,38	
DPS	liczebność	64	84	148
	odsetek (%)	43,24	56,76	
zdrowi	liczebność	58	63	121
	odsetek (%)	47,93	52,07	
łącznie	liczebność	338	363	701
	odsetek (%)	48,22	51,78	

Procent wyników dodatnich OT w poszczególnych grupach badanych wynosił od 43% do 56%.

Wartość $p = 0,34$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach.

4.3.2. WYNIKI OT W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU BADANYCH

GRUPA OSÓB BEZDOMNYCH

W grupie osób bezdomnych dodatni wynik OT uzyskano u 50% badanych w wieku do 39 lat. W wieku 40–59 lat procent wyników dodatnich był największy (65%). U osób starszych liczba dodatnich wyników OT wyniosła 44% (tab. 20).

Tabela 20. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych w grupie bezdomnych

Wynik OT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	10	44	18	72
	odsetek (%)	50,00	64,71	43,90	
(-)	liczebność	10	24	23	57
	odsetek (%)	50,00	35,29	56,10	
łącznie	liczebność	20	68	41	129
	odsetek (%)	15,5	52,71	31,78	

Wartość $p = 0,09$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych, aczkolwiek p znajduje się jedynie nieco powyżej poziomu istotności statystycznej.

GRUPA KONTAKTÓW BLISKICH

Największą liczbę dodatnich wyników OT uzyskaliśmy w grupie osób w wieku 40–59 lat (59%) i w grupie osób najstarszych (52%); grupa najmłodsza charakteryzowała się najmniejszym odsetkiem wyników dodatnich OT (37%) (tab. 21).

Tabela 21. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych w grupie kontaktów bliskich

Wynik OT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	25	24	25	74
	odsetek (%)	37,31	58,54	52,08	
(-)	liczba	42	17	23	82
	odsetek (%)	62,69	41,46	47,92	
łącznie	liczebność	67	41	48	156
	odsetek (%)	42,95	26,28	30,77	

Wartość $p = 0,07$ testu niezależności χ^2 wskazuje wprawdzie na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych, ale znajduje się nieznacznie powyżej poziomu istotności statystycznej.

GRUPA KONTAKTÓW OKRESOWYCH

Największą liczbę wyników dodatnich testu OT w tej grupie otrzymano w grupie wiekowej 40–59 lat (56%), najmniejszą w grupie wiekowej najstarszej: 14% (dla osób co najmniej 60-letnich), a w grupie osób młodych, poniżej 40 rż. było 40% dodatnich wyników OT (tab. 22).

Tabela 22. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT w poszczególnych grupach wiekowych w grupie kontaktów okresowych

Wynik OT		Grupa wiekowa			Łącznie
		0–39	40–59	≥60	
(+)	liczebność	23	46	1	70
	odsetek (%)	39,66	56,1	14,29	
(-)	liczebność	35	36	6	77
	odsetek (%)	60,34	43,9	85,71	
łącznie	liczebność	58	82	7	147
	odsetek (%)	39,46	55,78	4,76	

Wartość $p = 0,03$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych.

GRUPA PENSJONARIUSZY I PRACOWNIKÓW DOMÓW POMOCY SPOŁECZNEJ

W grupie tej najmniej dodatnich wyników OT uzyskano w grupie osób najmłodszych, poniżej 40 rż. (33%). W pozostałych grupach wiekowych wyniki były zbliżone: w grupie 40 –59 rż. 47%, a w grupie najstarszej 45% dodatnich wyników OT (tab. 23).

Tabela 23. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT w poszczególnych grupach wiekowych w grupie DPS

Wynik OT		Grupa wiekowa			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	11	35	18	64
	odsetek (%)	33,33	46,67	45,00	
(-)	liczebność	22	40	22	84
	odsetek (%)	66,67	53,33	55,00	
łącznie	liczebność	33	75	40	148
	odsetek (%)	22,3	50,68	27,03	

Wartość $p = 0,42$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych.

GRUPA OSÓB ZDROWYCH

Wyniki dodatnie testu OT w badanej grupie w poszczególnych grupach wiekowych wynosiły: 42% w grupie wiekowej 40—59 r. ; natomiast zarówno w grupie młodych, poniżej 40 r., jak i w grupie osób najstarszych wyniki były zbliżone do 50%. (tab. 24).

Tabela 24. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT w poszczególnych grupach wiekowych w grupie osób zdrowych

Wynik OT		Grupy wiekowe			Łącznie
		0—39	40—59	≥60	
(+)	liczebność	23	16	19	58
	odsetek (%)	51,11	42,11	50,00	
(-)	liczebność	22	22	19	63
	odsetek (%)	48,89	57,89	50,00	
łącznie	liczebność	45	38	38	121
	odsetek (%)	37,19	31,4	31,4	

Wartość $p = 0,69$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w poszczególnych grupach wiekowych.

4.3.3. WYNIKI OT W ZALEŻNOŚCI OD PŁCI

GRUPA OSÓB BEZDOMNYCH

W badanej grupie stwierdzono 42% dodatnich wyników OT wśród kobiet i aż 60% u mężczyzn (tab. 25).

Tabela 25. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testu OT z uwzględnieniem płci w grupie bezdomnych

Wynik OT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	13	59	72
	odsetek (%)	41,94	60,20	
(-)	liczebność	18	39	57
	odsetek (%)	58,06	39,80	
łącznie	liczebność	31	98	129
	odsetek (%)	24,03	75,97	100

Wartość $p = 0,07$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych OT w zależności od płci w grupie osób bezdomnych.

GRUPA KONTAKTÓW BLISKICH

W grupie tej stwierdzono 53% dodatnich wyników OT u kobiet, natomiast u mężczyzn 42% (tab. 26).

Tabela 26. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT z uwzględnieniem płci w grupie kontaktów bliskich

Wyniki OT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	42	32	74
	odsetek (%)	53,16	41,56	
(-)	liczebność	37	45	82
	odsetek (%)	46,84	58,44	
Łącznie	liczebność	79	77	156
	odsetek (%)	50,64	49,36	100

Wartość $p = 0,15$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT zależności od płci.

GRUPA KONTAKTÓW OKRESOWYCH

Podobnie jak w grupie kontaktów bliskich przedstawiały się wyniki w grupie kontaktów okresowych: u kobiet stwierdzono 50% dodatnich wyników OT, natomiast u mężczyzn 37% (tab. 27).

Tabela 27. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT z uwzględnieniem płci w grupie kontaktów okresowych

Wyniki OT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	60	10	70
	odsetek (%)	50,00	37,04	
(-)	liczebność	60	17	77
	odsetek (%)	50,00	62,96	
łącznie	liczebność	120	27	147
	odsetek (%)	81,63	18,37	100

Wartość $p = 0,22$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w zależności od płci.

GRUPA PENSJONARIUSZY I PRACOWNIKÓW DOMÓW POMOCY SPOŁECZNEJ (DPS)

W grupie tej odsetek dodatnich wyników OT u badanych kobiet wynosił 39% oraz 49% u mężczyzn (tab. 28).

Tabela 28. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT z uwzględnieniem płci w grupie DPS

Wynik OT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	31	33	64
	odsetek (%)	38,75	48,53	
(-)	liczebność	49	35	84
	odsetek (%)	61,25	51,47	
łącznie	liczebność	80	68	148
	odsetek (%)	54,05	45,95	100

Wartość $p = 0,23$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT zależności od płci.

GRUPA OSÓB ZDROWYCH

W grupie osób zdrowych stwierdzono 44% dodatnich wyników OT u kobiet i 55% u mężczyzn (tab. 29).

Tabela 29. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych OT z uwzględnieniem płci w grupie osób zdrowych

Wynik OT		Płeć badanych		Łącznie
		Kobiety	Mężczyźni	
(+)	liczebność	35	23	58
	odsetek (%)	44,3	54,76	
(-)	liczebność	44	19	63
	odsetek (%)	55,7	45,24	
łącznie	liczebność	79	42	121
	odsetek (%)	65,29	34,71	100

Wartość $p = 0,27$ testu niezależności χ^2 wskazuje na statystycznie nieistotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu OT w zależności od płci.

4.3.4. CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA DODATNI WYNIK OT

Jak wykazały wcześniejsze analizy, nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w strukturze wyników dodatnich i ujemnych OT ani w zależności od płci, ani od grupy wiekowej. Pełny model regresji logistycznej, czyli:

$$\begin{aligned} \text{Wynik dodatni/ujemny testu OT} = & \text{grupa} + (\text{grupa wiekowa}) + \text{płeć} \\ & + \text{grupa} * (\text{grupa wiekowa}) + \text{grupa} * \text{płeć} + \\ & (\text{grupa wiekowa}) * \text{płeć} \\ & + \text{grupa} * (\text{grupa wiekowa}) * \text{płeć} \end{aligned}$$

nie wskazał istotnych statystycznie czynników wpływających na wynik OT. Jednakże zmienna -- grupa wiekowa – była nieco powyżej granicy istotności ($p = 0,09$), dlatego też stworzono model uwzględniający tylko ten czynnik. Model ten nie okazał się znamienne istotny. Wyniki

oszacowania parametrów ww. modelu regresji logistycznej oraz ilorazów szans przedstawiają tabele 30–31.

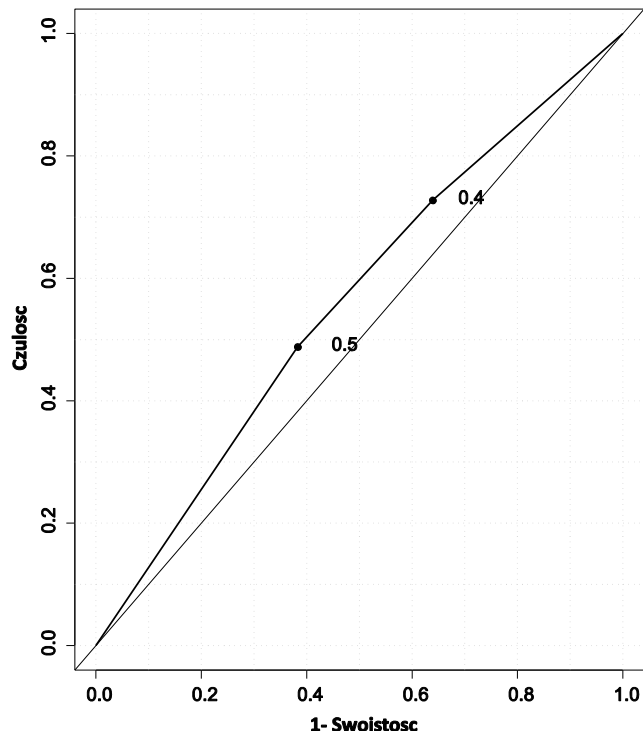
Tabela 30. Oszacowanie współczynników modelu OT= (grupa wiekowa)

WYNIK DODATNI/UJEMNY TESTU OT = (GRUPA WIEKOWA)	Ocena	Błąd st.	z - wartość	Pr (> z)
wyraz wolny	-0,14	0,15	-0,91	0,36
wiek: 0-39	-0,22	0,20	-1,06	0,29
wiek: 40-59	0,31	0,19	1,62	0,10

Tabela 31. Ilorazy szans wraz z 95% przedziałami ufności dla modelu OT= (grupa wiekowa)

WYNIK DODATNI/UJEMNY TESTU OT = (GRUPA WIEKOWA)	Iloraz szans	95% przedział ufności
wyraz wolny	0,87	0,65--1,17
wiek 0--39	0,81	0,54--1,20
wiek 40--59	1,36	0,94--1,98

Dopasowanie tegoż modelu przedstawia poniższa krzywa ROC (rys. 11). Pole pod krzywą wyniosło AUC = 0,56, jest to wynik istotny statystycznie ($p = 0,001$). Krzywa ROC odchyła się nieznacznie od przekątnej, co potwierdza jedynie wniosek, że model nie nadaje się do prognozowania.



Rysunek 11. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = (grupa wiekowa)

4.4. ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY POZIOMEM WYDZIELANEGO INF- γ A ŚREDNICĄ NACIEKU W TEŚCIE TUBERKULINOWYM

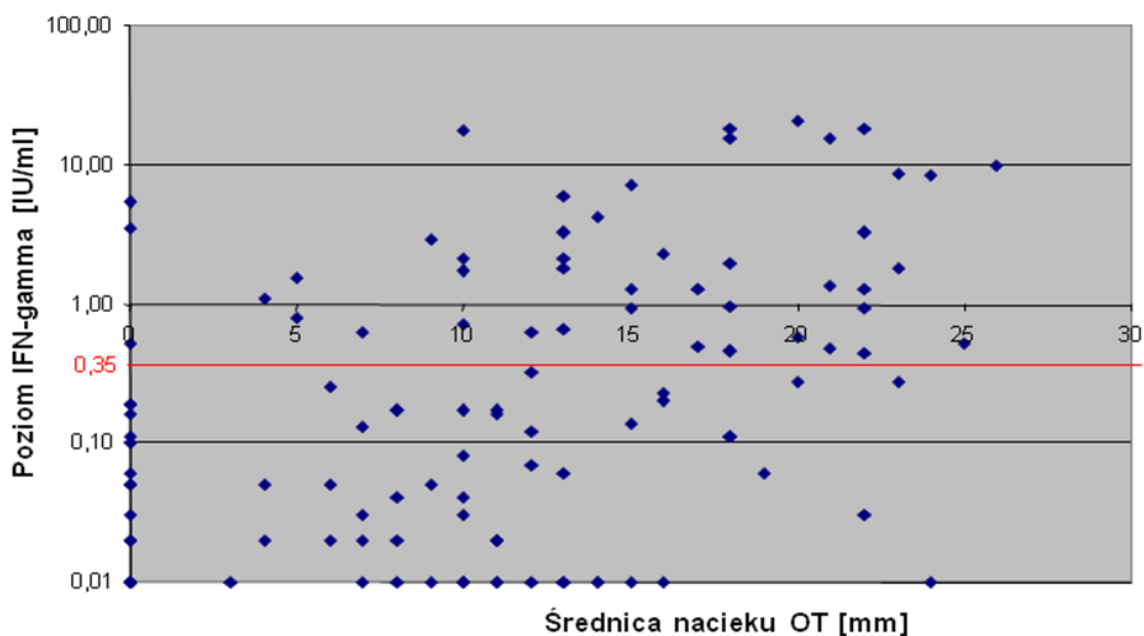
4.4.1. ANALIZA KORELACJI

Zaobserwowano, że ze wzrostem średnicy nacieku OT zwiększa się procent dodatnich wyników QFT-GIT w poszczególnych badanych grupach.

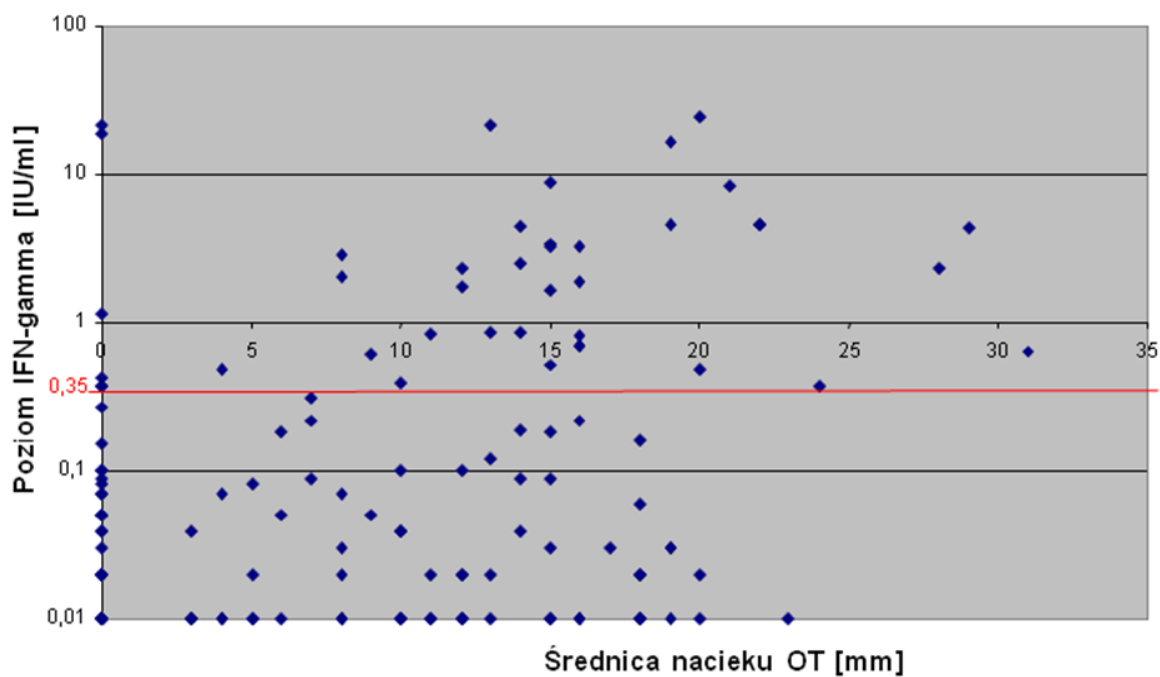
Istotnie statystycznie wartości współczynników korelacji Spearmana dla stężenia INF- γ i średnicy nacieku OT w poszczególnych grupach wynosiły 0,3--0,6, wskazując na korelację niską i umiarkowaną (tab. 32). Otrzymano oczekiwany kierunek zależności, czyli wzrastająca wartość średnicy nacieku pociągała za sobą większe wartości poziomu INF- γ , co przedstawiają poniższe rysunki (rys. 12–16).

Tabela 32. Współczynnik Spearmana wraz z poziomem istotności dla zależności pomiędzy poziomem IFN- γ a średnicą nacieku OT w poszczególnych grupach

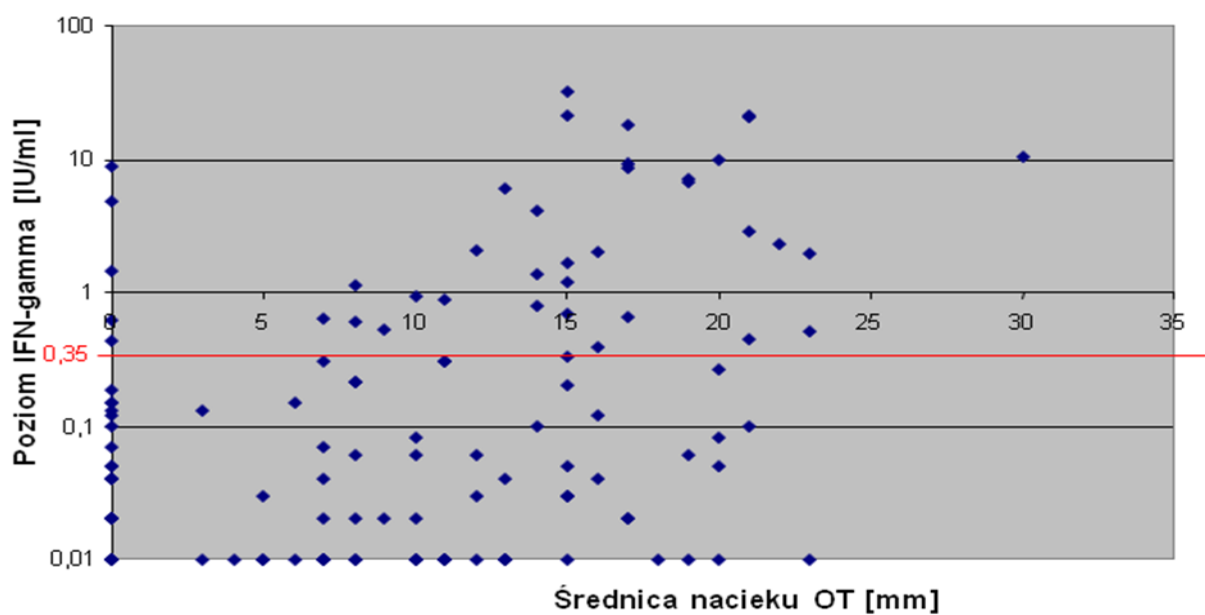
Grupa	Wsp. Spearmana	p -value
bezdomni	0,55	<0,001
kontakty bliskie	0,31	<0,001
kontakty okresowe	0,41	<0,001
DPS	0,41	<0,001
zdrowi	0,29	<0,001



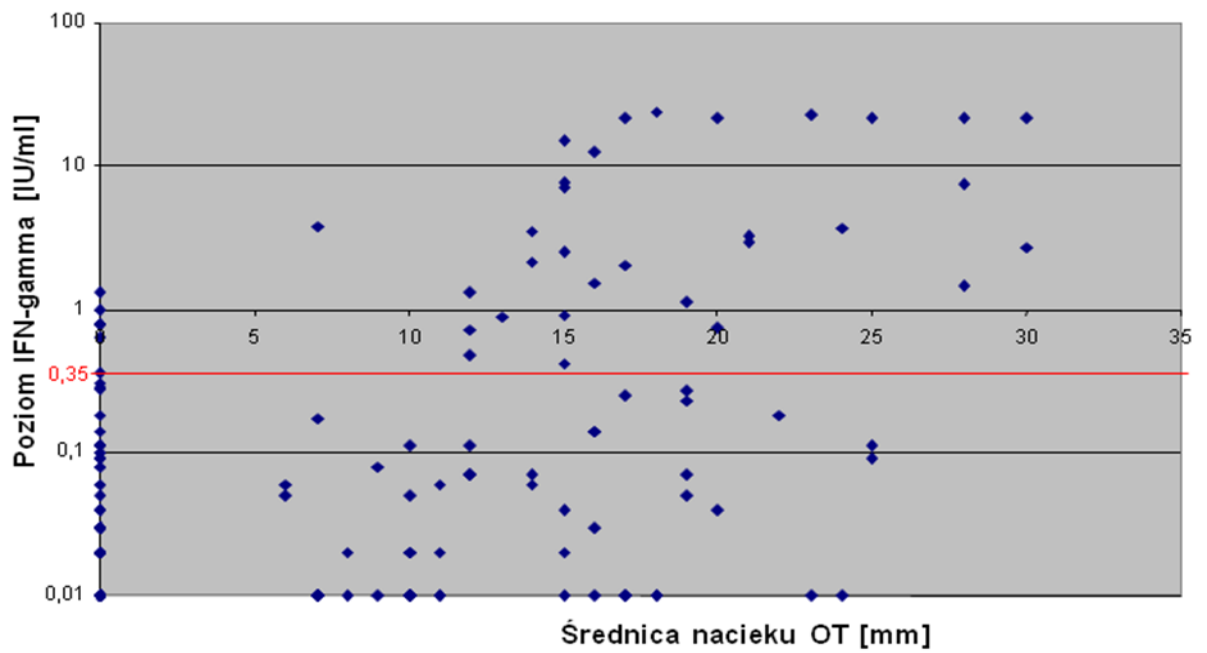
Rysunek 12. Wykres rozrzutu pomiędzy stężeniem IFN- γ a średnicą nacieku OT w grupie osób bezdomnych



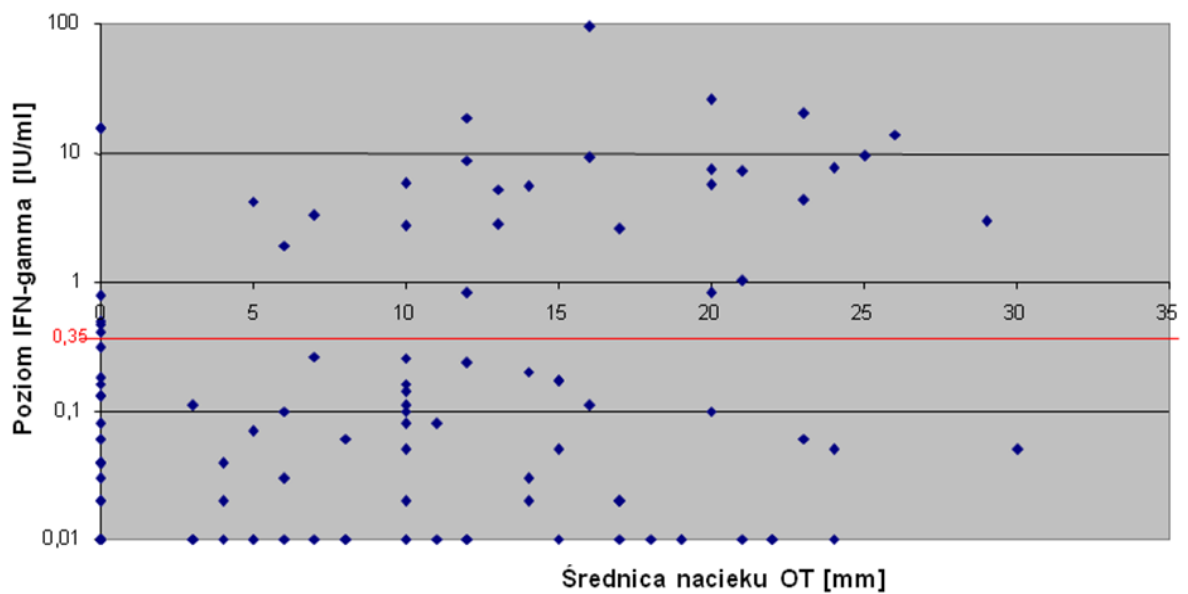
Rysunek 13. Wykres rozrzutu pomiędzy stężeniem IFN- γ a średnicą nacieku OT w grupie kontaktów bliskich



Rysunek 14. Wykres rozrzutu pomiędzy stężeniem IFN- γ a średnicą nacieku OT w grupie kontaktów okresowych



Rysunek 15. Wykres rozrzutu pomiędzy stężeniem IFN- γ a średnicą nacieku OT w grupie DPS



Rysunek 16. Wykres rozrzutu pomiędzy stężeniem IFN- γ a średnicą nacieku OT w grupie osób zdrowych

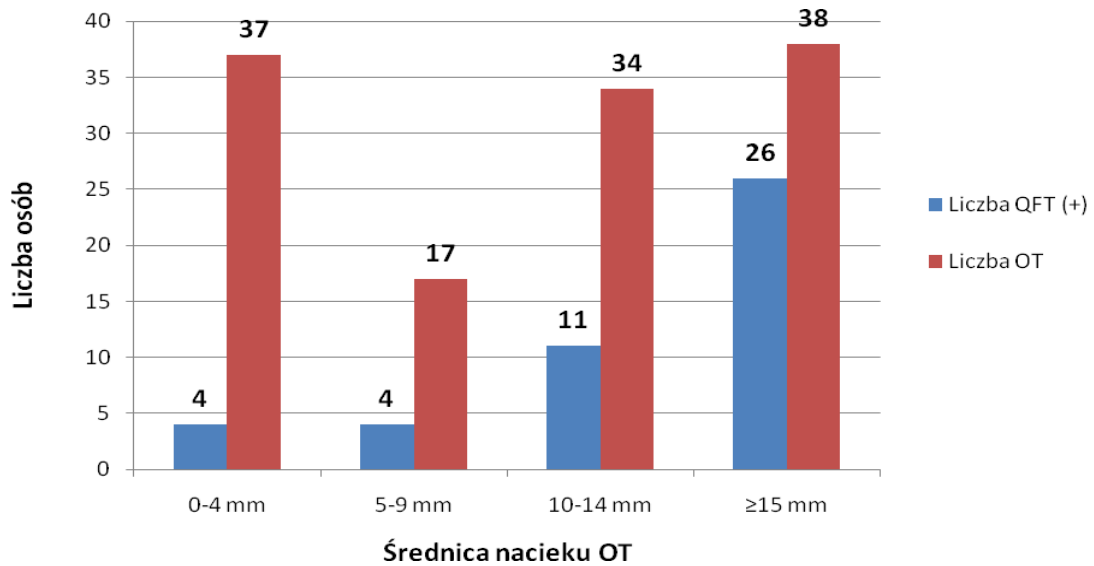
4.5. ROZKŁAD DODATNICH I UJEMNYCH WYNIKÓW TESTU QFT-GIT W GRUPACH BADANYCH W POSZCZEGÓLNYCH ZAKRESACH ŚREDNICY NACIEKU OT

Aby wykazać, że dodatnie wyniki testu QFT-GIT występują u badanych z każdą wartością średnicy nacieku OT, zdecydowano się na sklasyfikowanie wartości średnicy nacieku, tworząc następujące grupy:

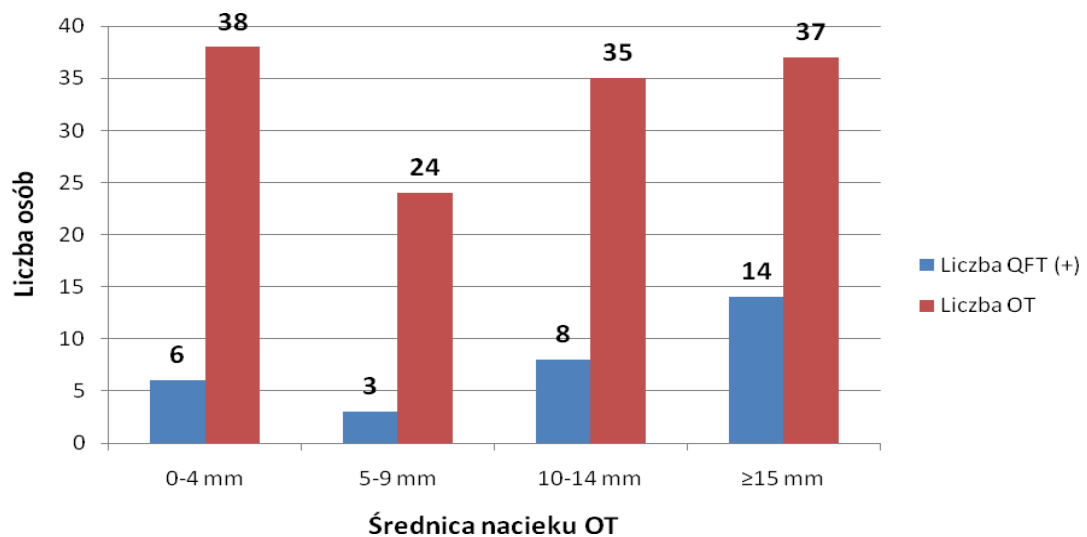
- 1) średnica nacieku <4 mm
- 2) średnica nacieku 5 - 9 mm
- 3) średnica nacieku 10 - 14 mm
- 4) ≥ 15 mm

Dla poszczególnych grup stworzono wykresy przedstawiające liczbę dodatnich wyników testu QFT-GIT w zależności od klasyfikacji wielkości średnicy nacieku OT oraz ilości wyników dodatnich OT w tych zakresach (rys. 17—21). We wszystkich badanych grupach stwierdzono wzrastającą liczbę dodatnich wyników testu QFT-GIT wraz ze wzrastającą wartością średnicy nacieku OT.

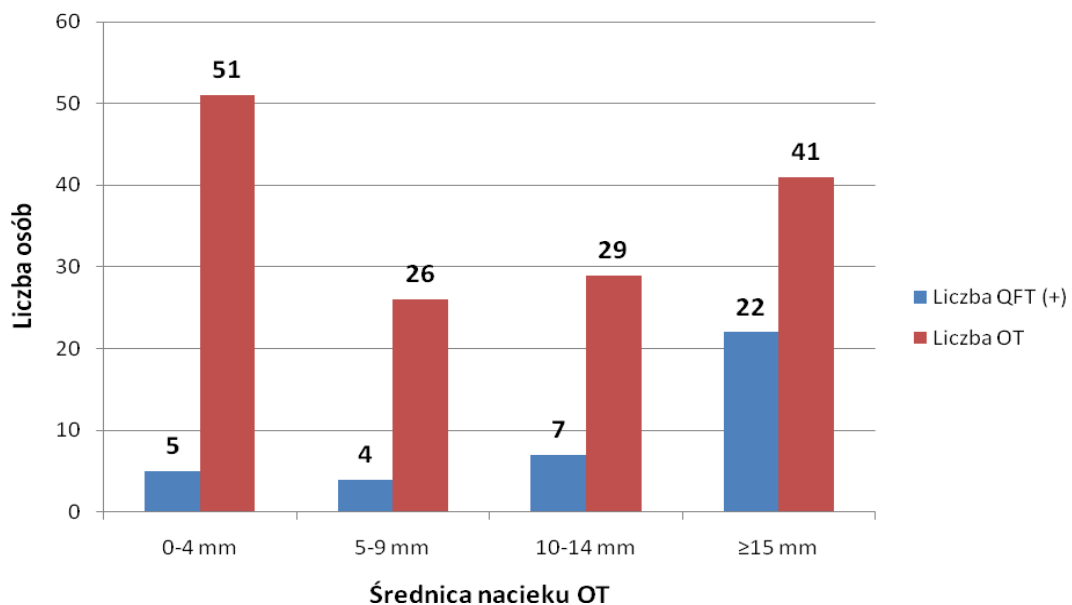
Wartości p testu niezależności χ^2 dla wszystkich grup wskazują na statystycznie istotne statystycznie różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT w zależności od średnicy OT (w grupie osób zdrowych $p = 0,02$, w pozostałych grupach $p < 0,001$).



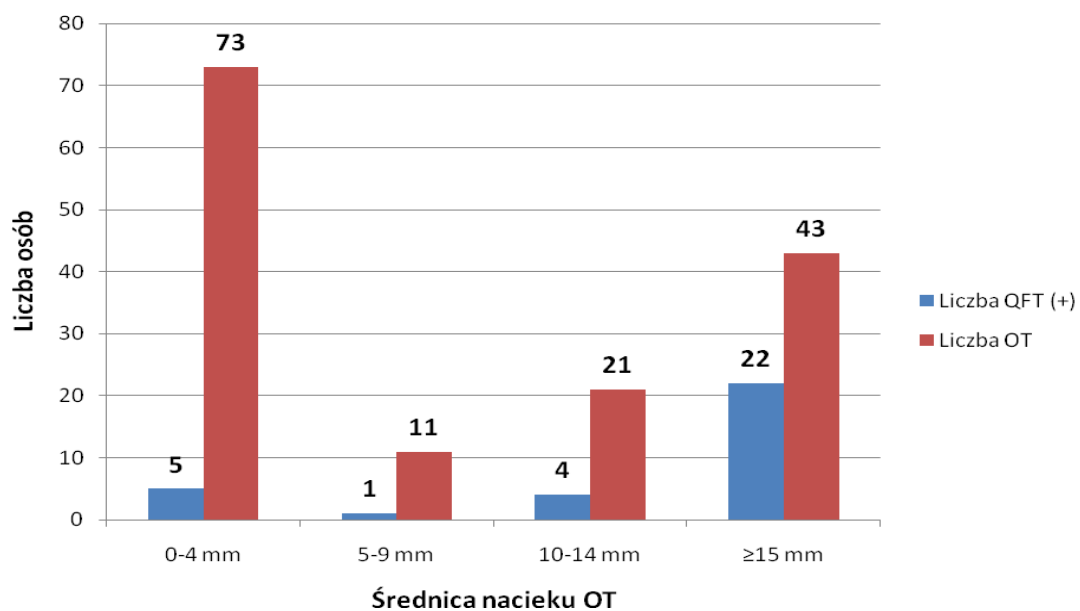
Rysunek 17. Rozkład dodatnich wyników testu QFT w poszczególnych grupach średnicy nacieku OT w grupie bezdomnych



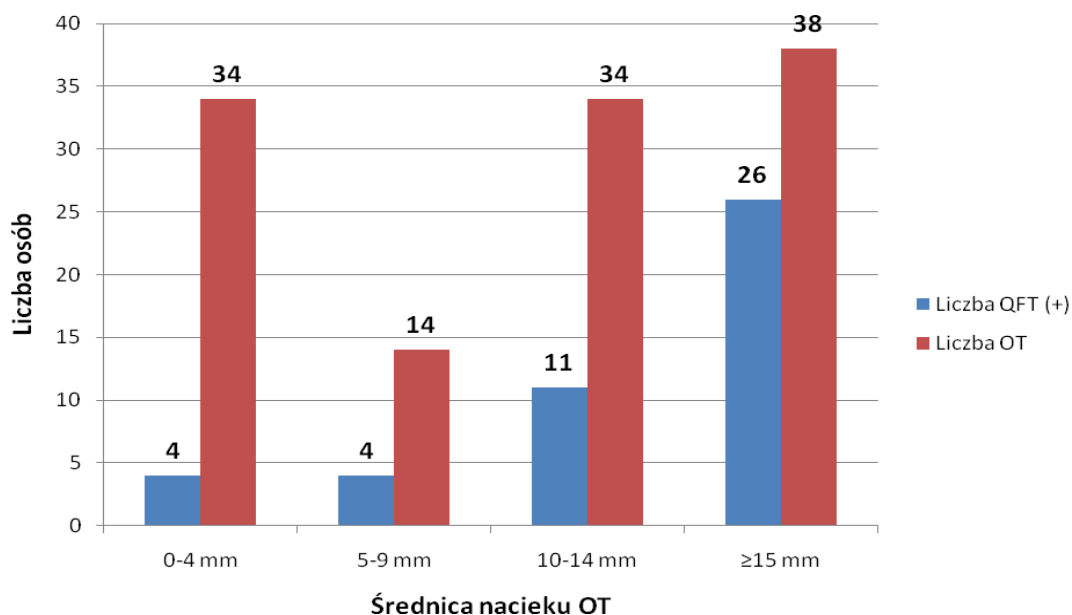
Rysunek 18. Rozkład dodatnich wyników testu QFT w poszczególnych grupach średnicy nacieku OT w grupie kontaktów bliskich



Rysunek 19. Rozkład dodatnich wyników testu QFT w poszczególnych grupach średnicy nacieku OT w grupie kontaktów okresowych



Rysunek 20. Rozkład dodatnich wyników testu QFT w poszczególnych grupach średnicy nacieku OT w grupie DPS



Rysunek 21. Rozkład dodatnich wyników testu QFT w poszczególnych grupach średnicy nacieku OT w grupie osób zdrowych

4.6. OCENA ZGODNOŚCI TESTÓW QFT-GIT I OT

GRUPA OSÓB BEZDOMNYCH

W grupie 126 osób badanych obydwoma testami było 37 osób, które miały dodatni zarówno test QFT-GIT jak i OT oraz 46 osób, u których obydwa te testy były ujemne.

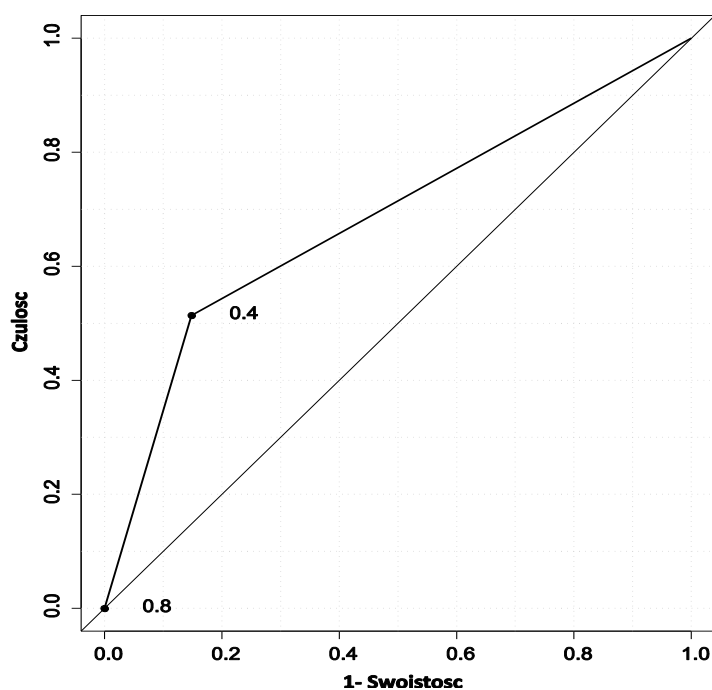
Współczynnik zgodności κ w grupie bezdomnych wyniósł 0,34 (95%CI; 0,20–0,49). Na jego wartość największy wpływ miało 35 przypadków, u których OT był dodatni zaś test QFT-GIT wypadł ujemnie (Tab. 33).

Tabela 33. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testów OT oraz QFT-GIT w grupie bezdomnych

Test OT	QFT-GIT		Razem
	(+)	(-)	
(+)	37	35	72
(-)	8	46	54
łącznie	45	81	126*

* 24 brak danych – 21 nie wykonano OT i 3 nieokreślone wyniki testu QFT-GIT
 $p < 0,001$ dla testu niezależności χ^2

Krzywą ROC dla grupy bezdomnych przedstawia rysunek 22.



Rysunek 22. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT w grupie bezdomnych. AUC 0,68, $p < 0,001$

GRUPA KONTAKTÓW BLISKICH

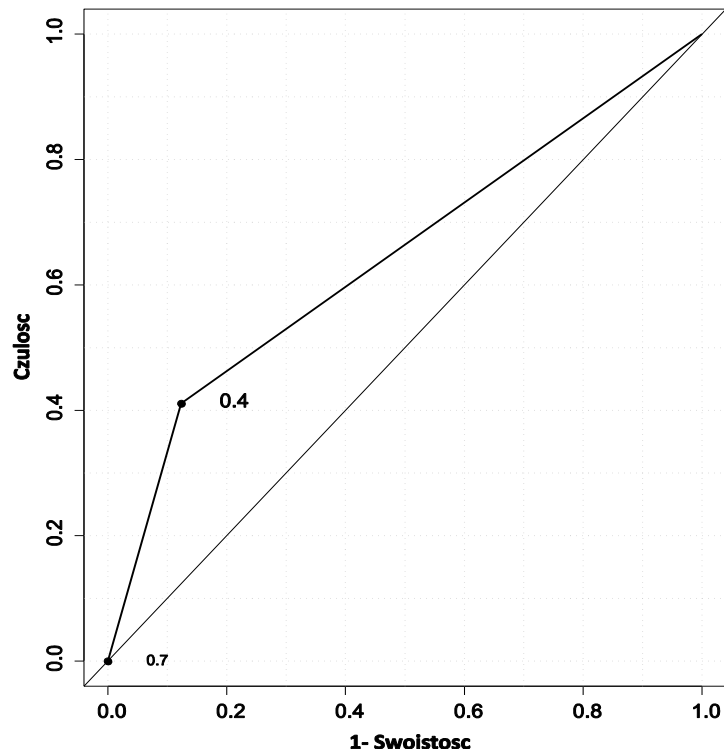
Współczynnik zgodności κ dla grupy kontaktów bliskich wyniósł 0,29 (95%CI; 0,16--0,43). Na jego wartość największy wpływ miało 43 przypadków, w których OT był dodatni, zaś test QFT-GIT wypadł ujemnie (Tab. 34).

Tabela 34. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testów OT oraz QFT-GIT w grupie kontaktów bliskich

OT	QFT-GIT		Razem
	(+)	(-)	
(+)	30	43	73
(-)	10	71	81
łącznie	40	114	154*

* 17 brak danych – 15 nie wykonano testu OT i 2 nieokreślone wyniki testu QFT-GIT
 $p < 0,001$ dla testu χ^2 – niezależności

Krzywą ROC dla grupy bliskich przedstawia rysunek 23.



Rysunek 23. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT w grupie kontaktów bliskich. AUC 0,64; $p < 0,001$.

GRUPA KONTAKTÓW OKRESOWYCH

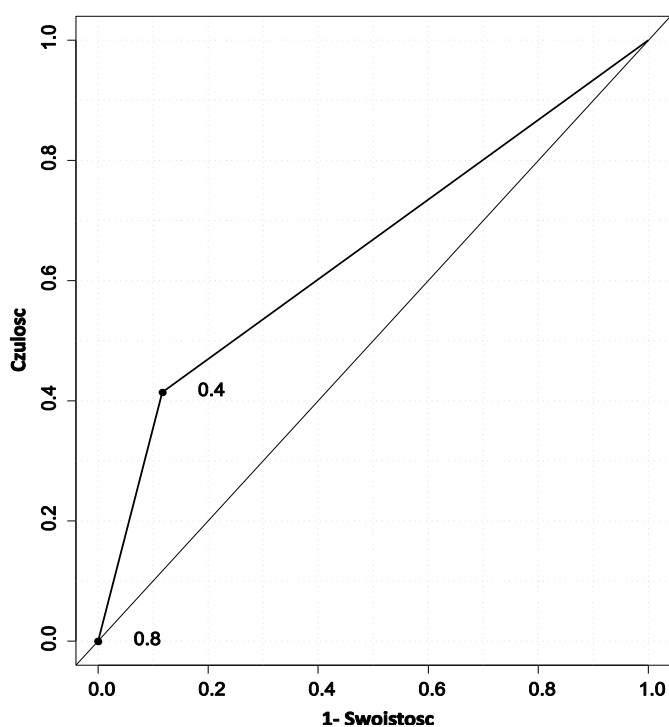
Współczynnik zgodności κ w grupie kontaktów okresowych wyniósł 0,30 (95%CI; 0,16--0,44). Na jego wartość największy wpływ miało 41 przypadków, u których OT był dodatni, podczas gdy test QFT-GIT ujemny (Tab. 35).

Tabela 35. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testów OT oraz QFT-GIT w grupie kontaktów okresowych

OT	QFT-GIT		Razem
	(+)	(-)	
(+)	29	41	70
(-)	9	68	77
łącznie	38	109	147*

* 16 braki danych – nie wykonano testu OT
 $p < 0,001$ dla testu niezależności χ^2

Krzywą ROC dla grupy kontaktów okresowych przedstawia rysunek 24.



Rysunek 24. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT w grupie kontaktów okresowych. AUC 0,65; $p < 0,001$.

PRACOWNICY I PENSJONARIUSZE DPS

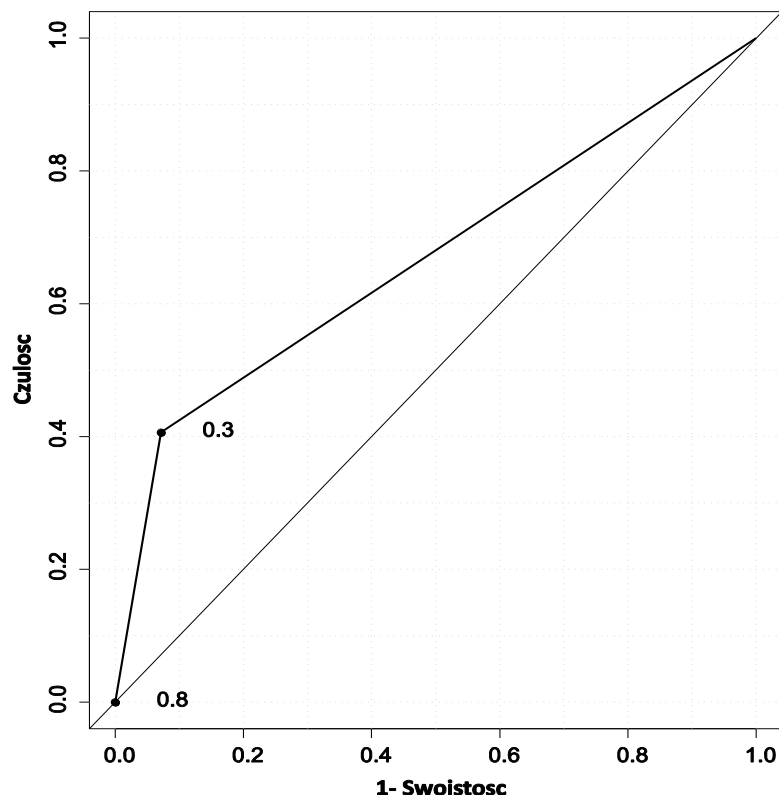
Współczynnik zgodności κ w grupie pensjonariuszy i personelu Domów Opieki Społecznej wyniósł 0,36 (95%CI – 0,22--0,50). Na jego wartość największy wpływ miało 38 przypadków, w których OT był dodatni, podczas gdy test QFT-GIT ujemny (Tab. 36).

Tabela 36. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testów OT oraz QFT-GIT w grupie pensjonariuszy i personelu DPS

OT	QFT-GIT		Razem
	(+)	(-)	
(+)	26	38	64
(-)	6	78	84
łącznie	32	116	148*

* 4 braki danych – nie wykonano testu OT
 $p < 0,001$ dla testu niezależności χ^2

Krzywą ROC dla grupy pensjonariuszy i personelu Domów Opieki Społecznej przedstawia rysunek 25.



Rysunek 25. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT w grupie DPS. AUC 0,67; $p < 0,001$.

GRUPA OSÓB ZDROWYCH

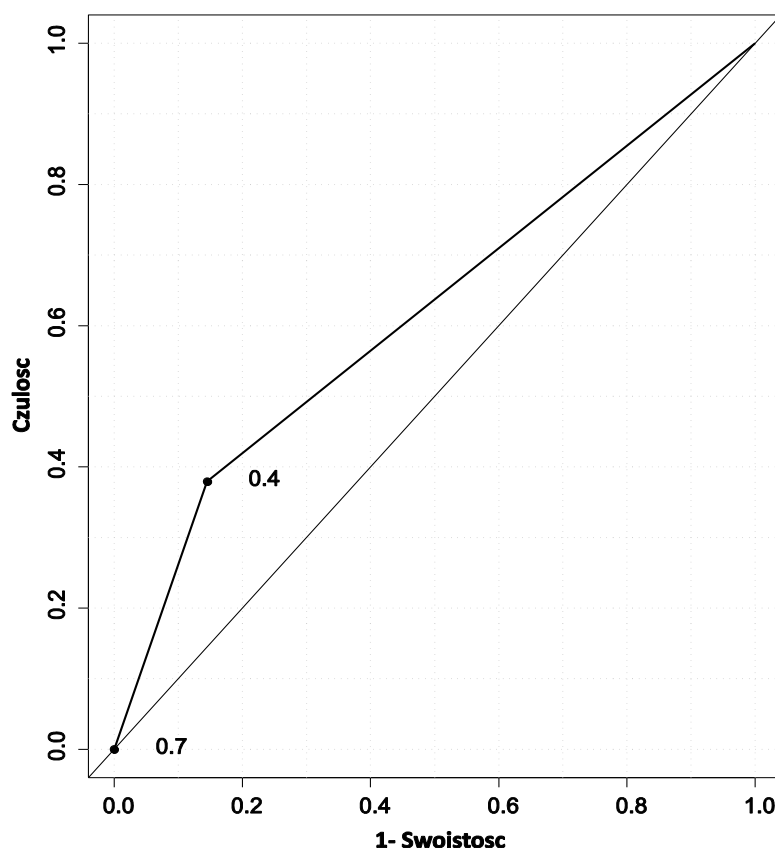
Współczynnik zgodności κ w grupie osób zdrowych wyniósł 0,24 (95%CI – 0,08--0,39). Na jego wartość największy wpływ miało 30 przypadków, u których OT był dodatni, podczas gdy test QFT-GIT ujemny (Tab. 37).

Tabela 37. Liczebnościowy i procentowy rozkład wyników dodatnich i ujemnych testów OT oraz QFT-GIT w grupie osób zdrowych

OT	QFT-GIT		Razem
	(+)	(-)	
(+)	22	36	58
(-)	9	53	62
łącznie	31	89	120*

* 29 braki danych – 28 nie wykonano testu OT i 1 nieokreślony test QFT-GIT
 $p = 0,003$ dla testu niezależności χ^2

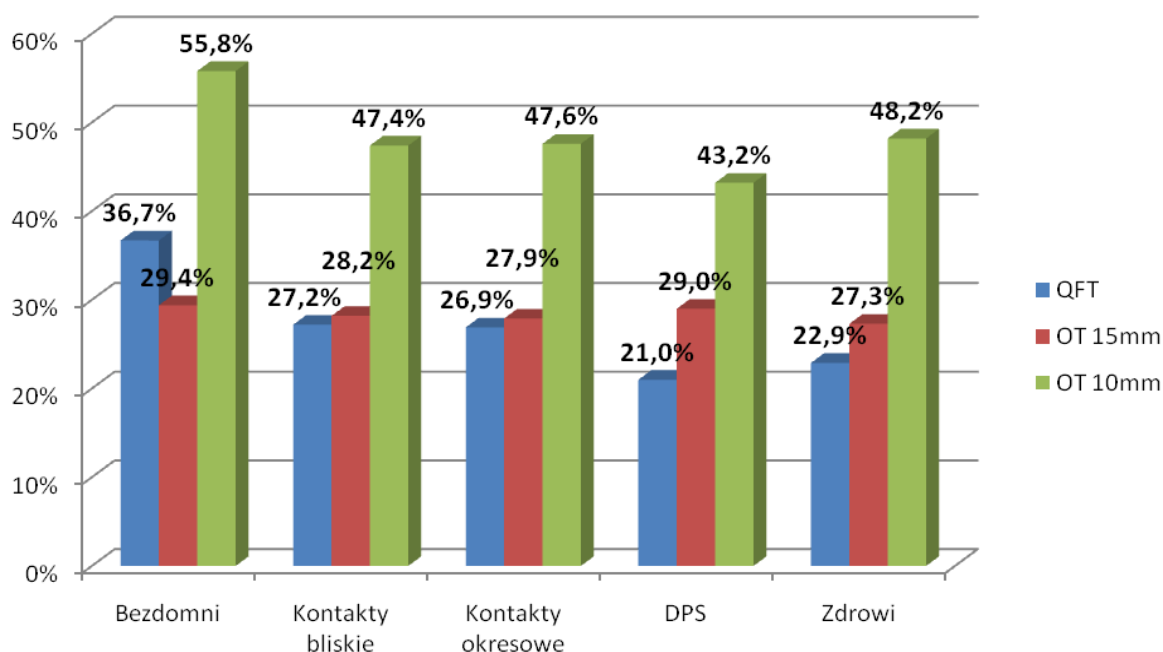
Krzywą ROC dla grupy osób zdrowych przedstawia rysunek 26.



Rysunek 26. Krzywa ROC dla modelu wynik dodatni/ujemny testu OT = wynik dodatni/ujemny testu QFT-GIT w grupie osób zdrowych. AUC 0,61; $p < 0,002$.

Wartości p dla testu niezależności χ^2 w prawie wszystkich grupach osiągnęły wartości $<0,001$ (dla grupy zdrowych $p = 0,002$), co wskazuje na istotne statystycznie różnice w rozkładzie wyników obu testów. Nie możemy więc na podstawie wartości OT (przyjmując za granicę dodatniego wyniku testu średnicę 10 mm) wnioskować o wyniku testu QFT-GIT (na co wskazują również krzywe ROC).

Za dodatni wynik OT przyjęto następnie średnicę 15 mm porównując ilości dodatnich wyników testu QFT-GIT z OT o średnicy zarówno równej i większej od 10 mm, jak i równej i większej od 15 mm. Rysunek 27 przedstawia rozkład % dodatnich wyników testu QFT-GIT oraz dodatnich wyników OT (zarówno gdy za wynik dodatni OT przyjmowano 10 jak i 15 mm).



Rysunek 27. Ocena stopnia zakażenia prątkiem za pomocą testu QFT i odczynu tuberkulinowego (10 i 15 mm) w grupach ryzyka i u osób zdrowych.

Procentowa częstość dodatnich wyników OT była prawie dwukrotnie większa gdy za dodatni wynik testu przyjęto średnicę nacieku równą lub większą 10 mm. Gdy za dodatni wynik OT przyjęto średnicę równą lub większą 15 mm to częstość dodatnich wyników tak ocenianego OT była podobna do częstości dodatnich wyników testu QFT-GIT.

Powstało więc pytanie, czy po przyjęciu granicy dodatniej wartości OT wynoszącej 15 mm można by uzyskać wysoką zgodność tych dwóch testów (współczynnik κ : 0,8—1,0).

Toteż oceniono również zgodność testu QFT-GIT i OT przyjmując za dodatnią wartość OT 15 mm.

OCENA ZGODNOŚCI OT I QFT-GIT GDY ZA DODATNI WYNIK OT PRZYJMUJE SIĘ ŚREDNICĘ NACIEKU CO NAJMNIEJ 15 MM

Jeżeli za punkt odcięcia dzielący wyniki dodatnie i ujemne OT przyjęto średnicę wynoszącą co najmniej 15 mm, to zgodność między testami OT a QFT-GIT przedstawia tabela 38.

Tabela 38. Wartości współczynnika κ wraz z 95% przedziałem ufności oraz procent dobrze dopasowanych wyników (zgodność, agreement) w poszczególnych grupach dla średnicy OT \geq 15 mm

Grupa	Zgodność	
	κ (95%CI)	%*
bezdomni	0,45 (0,28--0,61)	75,39
kontakty bliskie	0,32 (0,16--0,49)	73,38
kontakty okresowe	0,40 (0,23--0,56)	76,19
DPS	0,45 (0,29--0,61)	79,05
zdrowi	0,23 (0,04--0,42)	70,00

* Procent dla wartości:

[QFT-GIT=(-) i Test OT=(-)] lub [QFT-GIT=(+) i Test OT=(+)]

Tabele 39-43 przedstawiają poziomy zgodności oraz wartości współczynników κ dla średnicy OT równej lub większej od 10 mm (OT 10 mm) oraz równej lub większej od 15 mm (OT 15 mm).

Tabela 39. Bezdomni - zgodność i współczynnik κ między testem QFT-GIT a OT

	OT 10 mm	OT 15 mm
zgodność	60,7%	75,4%
współczynnik κ	0,34	0,45

Tabela 40. Kontakty bliskie – zgodność i współczynnik κ między testem QFT-GIT a OT

	OT 10 mm	OT 15 mm
zgodność	79%	73,4%
współczynnik κ	0,29	0,32

Tabela 41. Kontakty okresowe – zgodność i współczynnik κ między testem QFT-GIT a OT

	OT 10 mm	OT 15 mm
zgodność	75,0%	76,1%
współczynnik κ	0,30	0,40

Tabela 42. DPS – zgodność i współczynnik κ między testem QFT-GIT a OT

	OT 10 mm	OT 15 mm
zgodność	79,6%	79,0%
współczynnik κ	0,36	0,45

Tabela 43. Zdrowi – zgodność i współczynnik κ między testem QFT-GIT a OT

	OT 10 mm	OT 15 mm
zgodność	60,9%	70,0%
współczynnik κ	0,24	0,23

Otrzymane wyniki wskazują, że wraz ze wzrostem średnicy nacieku OT wzrasta zgodność i wartość współczynników κ w prawie wszystkich badanych grupach ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy. Współczynniki κ nigdy nie osiągnął wartości 0,6–0,8.

5. DYSKUSJA

Badanie kontaktów osób chorych na gruźlicę prątkującą ma na celu szybką identyfikację osób z czynną postacią choroby jak i z utajoną infekcją gruźliczą. Jest ono ważnym elementem kontroli gruźlicy w krajach o niskim współczynniku zapadalności na tę chorobę do których, na skutek sukcesywnie obniżającego się współczynnika zapadalności, należeć może wkrótce Polska. Działanie to ma zapobiegać dalszej transmisji gruźlicy przez szybkie zdiagnozowanie i leczenie aktywnej postaci choroby, natomiast wykrycie utajonej infekcji gruźliczej u osób z kontaktu zobowiązuje lekarzy do wykonywania u nich systematycznych badań kontrolnych oraz rozważenia zastosowania leczenia chemioprophylaktycznego. Jak wspomniano na wstępie, ryzyko progresji zakażenia w aktywną postać choroby jest największe po pierwszych 6 tygodniach od zakażenia, niezbędnych do namnożenia się prątków oraz do wytworzenia się odpowiedzi immunologicznej w organizmie. Zaobserwowano, że ryzyko to rośnie w ciągu następnych 7 lat poczym utrzymuje się na stałym poziomie lub nawet opada [126]. W badaniu prowadzonym w USA, po 7 letnim okresie obserwacji zapadalność na gruźlicę wśród osób zainfekowanych była minimalna i wynosiła 1/1000 osób na rok [126]. Zapadalność na gruźlicę wśród osób zakażonych prątkiem gruźlicy jest więc największa wkrótce po zakażeniu i może wynosić 30-40% zakażonych wśród małych dzieci i około 2% wśród dzieci szkoły podstawowej [126].

Jak już wspomniano w Polsce leczenie chemioprophylaktyczne obecnie obejmuje jedynie dzieci oraz młodzież, a także osoby HIV dodatnie. Ciągłe stosunkowo wysoki współczynnik zapadalności na gruźlicę w naszym kraju (21,6/100 tys. w 2009 roku) nie upoważniał nas do leczenia utajonej infekcji gruźliczej u większej grupy osób zakażonych prątkiem tym bardziej, że trudno te osoby było zdiagnozować ze względu na małą swoistość OT z powodu powtarzalnych szczepień BCG.

Jeszcze do niedawna bowiem obowiązywał w Polsce kalendarz szczepień BCG, w którym oprócz szczepienia noworodków obowiązkowe były rewakcynacje w 1., 6., 12. i 18. roku życia. Po jednorazowym podaniu szczepionki BCG odczynowość organizmu utrzymuje się 10-15 lat; po tym czasie, gdyby nie było rewakcynacji, wszystkie dodatnie odczyny tuberkulinowe można by traktować jako zakaźne (pomijamy tu minimalny wpływ na odczyn tuberkulinowy mykobakterii środowiskowych w naszym kraju). Niestety liczne rewakcynacje

po okresie niemowlęcym powodują utrzymywanie się przez całe lata nawet dużego odczynu tuberkulinowego [127,128]; w związku z tym nie było dotąd możliwości pewnego odróżnienia odczynu poszczepiennego od pozakaźnego. Z pomocą określeniu stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy w naszym kraju przychodziły badania K. Styblo, który opracował regułę oszacowania rocznego ryzyka zakażenia prątkiem, znając aktualną zapadalność na gruźlicę potwierdzoną badaniem bakterioskopowym (ustalił, że przy współczynniku zapadalności 50/100 000 roczne ryzyko zakażenia będzie wynosić 1%) [wg.9]. Dzięki badaniom K. Styblo ustalano modele epidemiometryczne i liczbę osób zakażonych w poszczególnych latach [9]. Niestety dane te stawały się mało dokładne przy zmniejszaniu się liczby przypadków gruźlicy potwierdzonej w badaniu bakterioskopowym.

Aktualnie w ustaleniu stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy w wielu krajach główną rolę odgrywają testy IGRA (w tym wykorzystany w niniejszej pracy QFT-GIT), których swoistość sięga prawie 98%-100% [46]. Szczególne znaczenie diagnostyczne będą one miały zwłaszcza w tych krajach (do których należy też Polska), gdzie stosowane są lub były liczne rewakynacje BCG. Niestety, nie możemy aktualnie stwierdzić, czy dodatni wynik testu IGRA jest wynikiem obecności żywych, „uśpionych” bakterii w organizmie lub jest tylko wynikiem obecności limfocytów pamięci, które zetknęły się z prątkiem w przeszłości przy braku ich aktualnej obecności, co również dotyczy odczynu tuberkulinowego jako testu diagnostycznego utajonej infekcji gruźliczej [129].

OCENA STOPNIA ZAKAŻENIA PRĄTKIEM GRUŹLICY W BADANYCH GRUPACH RYZYKA ZA POMOCĄ TESTU QFT-GIT I ODCZYNU TUBERKULINOWEGO

Szczególnie istotna jest diagnostyka utajonej infekcji gruźliczej w tak zwanych grupach ryzyka zakażenia prątkiem i zachorowania na gruźlicę. Grupy ryzyka zakażenia prątkiem to grupy, w których dochodzi częściej do utajonej infekcji gruźliczej na skutek częstszego kontaktu z chorym na aktywną postać choroby. W opublikowanym w 2010r. European Consensus [126] kontakty z osobą prątkującą podzielono na:

- Kontakty bliskie domowe – obejmują osoby mieszkające we wspólnym mieszkaniu, korzystające ze wspólnych pomieszczeń

- Kontakty bliskie niedomowe – inne bliskie kontakty z chorym prątkującym podczas których dojść może do zainfekowania, na przykład w trakcie kontaktu „twarzą w twarz” podczas bronchoskopii, badania laryngologicznego chorego lub podczas przebywania we wspólnym pomieszczeniu w pracy, w szkole, w więzieniu; czas tych kontaktów powinien wynosić co najmniej 8 godzin dziennie, jeżeli chory ma dodatni rozmaz lub 40 godzin łącznie w przypadku dodatniej hodowli.
- Kontakty okresowe – obejmują osoby spędzające z chorym mniej czasu, na przykład przyjaciół chorego w szkole, w pracy, członków klubu, uczestników długich lotów samolotem (powyżej 8 godzin), pracowników ochrony zdrowia, takich jak lekarze, pielęgniarki, salowe, pracownicy socjalni, którzy kontaktują się z chorymi prątkującymi często, ale nie są to kontakty intensywne.
- Kontakty społeczne - dotyczą osób żyjących w tej samej społeczności, na przykład w szkole, w pracy, w klubie, ale mających sporadyczny kontakt z chorym na gruźlicę.

Grupy wyodrębnionych kontaktów stanowią równocześnie swoiste grupy ryzyka zakażenia prątkiem. Sposób wyodrębnienia rodzajów „kontaktów” zastosowany w niniejszej pracy jest zbliżony do wyżej wymienionego. W czasie rozpoczynania niniejszych badań stanowisko European Consensus nie było jeszcze znane.

Oprócz grup ryzyka zakażenia prątkiem istnieją grupy zachorowania na gruźlicę osób już zakażonych. Grupy ryzyka zachorowania na gruźlicę stanowią osoby, u których -- na skutek obniżonej odporności organizmu wynikającej z leczenia immunosupresyjnego, długotrwałej sterydoterapii, obecności przewlekłych chorób (niewydolność nerek, cukrzyca, krzemica), zakażenia HIV, leczenia biologicznego anty-TNF -- dochodzi do częstszego przejścia zakażenia utajonego w aktywną postać choroby lub do łatwiejszego zakażenia egzogenego i szybkiego rozwoju choroby. W tej grupie ryzyka zastosowanie testów IGRA staje się coraz powszechniejsze na całym świecie. Powstało wiele publikacji analizujących diagnostykę utajonej infekcji gruźliczej za pomocą testów IGRA w tych grupach i porównujących te wyniki ze starszą metodą diagnostyczną, jaką jest odczyn tuberkulinowy [63-77]. Niemal w każdej z tych grup testy IGRA charakteryzują się większą czułością i swoistością i często aktualnie na nich opiera się diagnostykę przed zastosowaniem leczenia utajonej infekcji gruźliczej.

W niniejszej pracy oceniano stopień zakażenia prątkiem gruźlicy w wybranych grupach ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy oraz wśród osób losowo wybranych z populacji miasta Krakowa (tzw. zdrowi).

Należy zaznaczyć, że osoby będące w grupie bezdomnych, podobnie jak personel i pensjonariusze Domów Opieki Społecznej, należeć mogą do każdej z nowo wyodrębnionej grupy kontaktów – zarówno bliskich, jak i sporadycznych. Również pracownicy ochrony zdrowia mogą mieć kontakty bliskie z chorymi prątkującymi, na przykład wykonujący bronchoskopię lub kontakty okresowe, na przykład podczas rutynowego badania chorego w trakcie wizyty lekarskiej. Nie dzielono już jednak każdej z badanych grup ryzyka na podgrupy odpowiadające określonym definicjom kontaktów, lecz oceniano je pod kątem oceny zakażenia prątkiem gruźlicy całościowo jako jedną grupę społeczną.

W badanych grupach ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy stwierdzono statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT; nie stwierdzono tych różnic w strukturze wyników dodatnich i ujemnych OT. We wszystkich badanych grupach ryzyka stwierdzono stosunkowo wysoki stopień zakażenia prątkiem gruźlicy oceniany za pomocą testu QFT-GIT; prawie dwukrotnie częściej w badanych grupach ryzyka stwierdzano dodatnie odczyny tuberkulinowe (o średnicy co najmniej 10 mm). Nie stwierdzono jednak istotnej statystycznie różnicy w częstości występowania dodatnich OT w poszczególnych grupach.

W grupie bezdomnych uzyskano największy stopień zakażenia prątkiem gruźlicy oceniony testem QFT-GIT i wynoszący aż 36,7% dodatnich wyników tego testu. W tej samej grupie u 55,8% badanych dodatnie były wyniki OT. W grupie tej istotną rolę w obniżeniu ogólnej odporności odgrywa alkoholizm, niedożywienie, nikotynizm i obecność chorób przewlekłych. W tej stwierdza się częstsze niż w ogólnej populacji występowanie przypadków gruźlicy i częste kontakty w grupach pijących wspólnie alkohol. Zapadalność na gruźlicę wśród bezdomnych jest olbrzymia – Story i wsp. [131] badający problem gruźlicy w grupach takich jak: bezdomni, narkomani, więźniowie w Londynie w opublikowanej w 2007 roku pracy ocenili współczynnik zapadalności na gruźlicę wśród bezdomnych w tym mieście na 788/100 000 wobec ogólnej zapadalności wśród mieszkańców Londynu wynoszącej

27/100 000. W badaniu tym stwierdzono, że bezdomność częściej wiązała się z postacią infekcyjną gruźlicy (OR 2,2; 95%CI 1,6-2,9), częstszym występowaniem gruźlicy wielolekoopornej (OR 2,1; 95%CI 1,1-4,1) oraz z gorszą współpracą z personelem medycznym (OR 2,5; 95%CI 1,6-3,7) i jej utratą z dalszej obserwacji (OR 3,8; 95%CI 2,0-7,4). Transmisja gruźlicy wśród bezdomnych jest bardzo częsta. Curtis i wsp. [132] stwierdzili, że 8 na 10 przypadków gruźlicy wśród bezdomnych jest genetycznie tożsamy (*fingerprinting, spoligotyping*) oraz że w tej grupie bardzo wskazany jest rutynowy skrining w kierunku utajonego zakażenia prątkiem oraz zastosowanie chemioprophylaktyki gruźlicy. W dostępnym piśmiennictwie brak jest opracowań dotyczących badań skringowych bezdomnych za pomocą testów IGRA; w badaniu retrospektywnym Yuna i wsp. [133] oceniano stopień zakażenia prątkiem gruźlicy za pomocą OT i wynosił on w 1996 r. wśród bezdomnych z Denver 17,6%; tylko 44% zakażonych ukończyło zalecone leczenie chemioprophylaktyczne. W takich grupach jak bezdomni, zwłaszcza w populacjach szczepionych, istotny jest wybór metody skringowej dla oceny zakażenia. Bezdomni często nie zgłaszają się na drugą wizytę celem oceny OT, tak więc zasadne jest zastosowanie jako metody skringowej testu IGRA, który wymaga tylko jednej wizyty badanego.

W niniejszej pracy w przypadku kontaktów bliskich, najczęściej domowych, uzyskano również spory odsetek zakażonych oceniony za pomocą testu QFT-GIT: 27,2% i znacznie większy odsetek oceniany przy pomocy OT: 47,4%. W badaniu Funayamy i wsp. [97] nad japońskim studentem chorującego na gruźlicę prątkującą, a dotyczącym jego kontaktów bliskich, uzyskano podobne jak w niniejszej pracy wartości procentowe zakażonych badanych za pomocą testu QuantiFERON-TB-2G (33,7%), zaś w grupie kontaktów kwalifikowanych w tym badaniu jako „nie bliskie” stopień zakażenia badany tym testem wyniósł tylko 0,8%. Dodatni OT określany w Japonii (odmiennie niż w Polsce) jako średnica rumienia wynosząca co najmniej 30 mm obecny był aż u 57,7% badanych z grupy kontaktów bliskich i u 18,2% u pozostałych, niebliskich kontaktów. Podobnie Diel i wsp. [23], badając bliskie kontakty chorych prątkujących za pomocą testu QFT-GIT, uzyskali wynik 30,2% dodatnich wyników testu, zbliżony do wyników uzyskanych w niniejszej pracy. Diel i wsp. [89] w innej wcześniejszej swojej pracy podali stopień zakażenia wśród kontaktów bliskich wynoszący 10% oceniony za pomocą testu QFT-G i 44,3% za pomocą OT. Dodatkowo OT obecne były głównie u osób wcześniej szczepionych BCG (OR 24,7; 95%CI 11,7-52,5). Niezwykle istotna

jest ocena stopnia utajonej infekcji gruźliczej u dzieci pozostających w bliskim, domowym kontakcie z dorosłym prątkującym. Tsiouris i wsp. [100] ocenili za pomocą testu QFT-GIT stopień zakażenia prątkiem u takich dzieci na 33,2% i na 43,5% za pomocą OT. Podobny stopień zakażenia prątkiem u dzieci uzyskał Hesseling i wsp. [93]: 39,6% za pomocą QFT-GIT, a za pomocą OT 54%; u dorosłych wyniki przedstawiały się odpowiednio: 38,1% i 78%. Wartości uzyskane w teście QFT-GIT są tylko nieco wyższe od uzyskanych w niniejszej pracy. Oceniając stopień zakażenia prątkiem w grupie kontaktów bliskich zawsze należy wziąć pod uwagę możliwość wcześniejszego zakażenia, na przykład na skutek przebywania w środowisku o dużej chorobowości na gruźlicę np. w Afryce, w Azji, w krajach byłego Związku Radzieckiego. Kik i wsp. [90] badając stopień zakażenia prątkiem u bliskich kontaktów chorego prątkującego, ale będących imigrantami z krajów o wysokich współczynnikach zapadalności na gruźlicę, stwierdziła wysoki stopień utajonej infekcji gruźliczej oceniony testem QFT-GIT na 54%, a OT na 74%. Na tak wysokie wartości niewątpliwie miało wpływ zakażenie nabyte we wcześniejszym etapie życia, przed imigracją.

W niniejszej pracy wśród kontaktów okresowych zaobserwowano 26,9% dodatnich wyników testu QFT-GIT i aż 47,6% dodatnich wyników OT. Grupę tą stanowił głównie personel ochrony zdrowia, tj. lekarze, pielęgniarki, salowe oddziałów pulmonologii, a także pracownicy pomocy społecznej kontaktujący się z powodu wykonywania swojego zawodu z chorymi prątkującymi. Grupa ta stanowi przedmiot intensywnych badań w wielu krajach, jednakże wyniki tych badań cechują się bardzo dużą rozpiętością. Prawie taką samą częstość utajonej infekcji gruźliczej jak w niniejszej pracy w grupie kontaktów okresowych (pracowników ochrony zdrowia) uzyskała w Polsce U. Demkow i wsp. [83] – stwierdzili oni w tej grupie 27% zakażonych badanych testem QFT-GIT. Wśród pracowników ochrony zdrowia w Danii, gdzie zapadalność na gruźlicę jest $<5/100\ 000$, tylko 1% badanych miał dodatni test QFT-TB i aż 34% z nich miało dodatni OT [88]. Nieco więcej dodatnich wyników testu QFT-GIT osiągnęli pracownicy ochrony zdrowia w Hiszpanii: 5,9%; natomiast dodatni OT miało 8,9% badanych [79]. W Japonii (powszechne szczepienia BCG) w badaniu Harady i wsp. [86] osiągnięto 9,9% dodatnich wyników w teście QFT-G i aż 93,1% badanych miało średnicę nacieku OT równą lub większą niż 10 mm. W Niemczech w badaniach Nienhausa i wsp. [80] uzyskano: 9,6% dodatnich wyników QFT-GIT i 24,1% dodatnich OT. W Rosji, gdzie szczepienia i rewakynacje BCG są również powszechne, a zapadalność na gruźlicę jest

kilkakrotnie większa niż w Polsce, w badaniu Drobniewskiego i wsp. [81] wykazano największy stopień zakażenia mierzony za pomocą testu QFT-GIT - wśród lekarzy oddziałów leczenia gruźlicy wynoszący 55%, nieco niższy (25,5%) wśród lekarzy pierwszego kontaktu, zaś wśród studentów medycyny 10,1%. Nieco większy stopień zakażenia studentów medycyny wykazał Pai i wsp. [82]: za pomocą testu QFT-GIT osiągnięto w tej grupie 18% dodatnich wyników, dodatni OT występował u 22% badanych. Bardzo duży jest stopień zakażenia prątkiem gruźlicy wśród pracowników ochrony zdrowia w Turcji – mierzony za pomocą testu QFT wyniósł on 85,5% i co zaskakujące tylko 53,9% za pomocą OT (15mm) [87].

W grupie pensjonariuszy i personelu Domów Pomocy Społecznej uzyskano w pracy najmniejszy odsetek zakażonych badany za pomocą QFT-GIT-- ogółem 21,0%, a za pomocą OT -- 43,2% badanych. W grupie tej częściej niż wśród zdrowych występuje więcej czynników ryzyka zakażenia prątkiem, takich jak: obecność chorób przewlekłych wpływających na stan immunologiczny ustroju, skupienie osób na mniejszej powierzchni, a także możliwe częstsze kontakty z niezdiagnozowanymi chorymi prątkującymi. Być może na nieco mniejszą niż w ogólnej populacji (patrz poniżej) ilość dodatnich wyników QFT-GIT wpłynął fakt, że przewagę wśród badanych stanowiły osoby młodsze (40—59 r.). Niemniej jednak i w tej grupie dużo było wyników dodatnich testu QFT-GIT wśród najstarszych osób. Według najnowszego Europejskiego Konsensusu z 2010r., dotyczącego badania skринingowego kontaktów w krajach o niskiej zapadalności na gruźlicę, powinno się przeprowadzać badania kontaktów w domach opieki dla ludzi starszych ale następowa chemioprophilaktyka nie jest rutynowo zalecana z powodu narastającego z wiekiem ryzyka większej liczby działań niepożądanych leków [126]. W grupie tej rekomenduje się zwracanie szczególnej uwagi na wystąpienie objawów aktywnej gruźlicy z następowym wykonywaniem zdjęć przeglądowych klatki piersiowej wśród kontaktów tychże osób oraz prowadzenie wśród personelu szerokiej edukacji dotyczącej umiejętności wczesnego rozpoznawania objawów gruźlicy [126].

Aby uzyskać bazę odniesienia dla badanych grup ryzyka, jakie stanowili: bezdomni, kontakty bliskie, kontakty okresowe oraz pensjonariusze i personel Domów Opieki Społecznej, wykonano badanie grupy osób losowo wybranych wśród mieszkańców Krakowa, nie podających w wywiadzie chorób układu oddechowego, określanych w badaniu jako „zdrowi”.

W tej grupie uzyskano 22,9% dodatnich wyników testu QFT-GIT, porównywalny z grupą pensjonariuszy i personelu DPSów. Wydaje się, że jest to wynik wysoki – jest on jednak zgodny z szacowanym według modeli epidemiometrycznych stopniem zakażenia prątkiem gruźlicy w Polsce [10]. W kraju sąsiadującym z Polską – w Niemczech -- Nienhaus i wsp. [60] osiągnęli dodatni wynik QFT-GIT (w populacji ogólnej i pracowników ochrony zdrowia) u 9,7%; w kraju tym zapadalność na gruźlicę jest jednak znacznie niższa niż w Polsce (poniżej 10/100 000). W Japonii, kraju o zbliżonych do Polski danych epidemiologicznych gruźlicy, Mori i wsp. [128] wykazali w badaniu populacji ogólnej 7,1% dodatnich wyników QFT-G natomiast Kang i wsp. [62] w Korei Płd. – kraju o dosyć wysokim współczynniku zapadalności na gruźlicę (w momencie publikacji: 92/100 000) uzyskali w grupie o niskim ryzyku zakażenia prątkiem, którą stanowili zdrowi studenci medycyny, jedynie 4% dodatnich wyników QFT-G oraz 51% dodatnich OT. Tak wysoki stopień utajonej infekcji gruźliczej w naszym kraju tłumaczyć można dużym odsetkiem zakażonych osób w starszym wieku, którzy ulegli zakażeniu w młodości, w czasach kiedy w Polsce zapadalność na gruźlicę była bardzo wysoka (ok. 400/100 000); jak wykazano bowiem w niniejszej pracy w najmłodszej grupie wiekowej w populacji ogólnej jedynie 4% badanych miało dodatni test QFT-GIT.

W przedstawionej pracy znamienne były wysokie dodatnie korelacje testu QFT-GIT z wiekiem badanych; wraz z wiekiem wzrastała liczba dodatnich wyników testu. Jedynie w grupie bezdomnych duże odsetki dodatnich wyników testu QFT obserwowane były zarówno w najstarszej jak i młodszej grupie wiekowej. Tłumaczyć to można faktem, że w tej grupie wyjątkowo silnie działają czynniki ułatwiające zakażenie prątkiem, jak alkoholizm, częste występowanie wśród tej grupy aktywnej gruźlicy i zbyt późne jej rozpoznanie, niechętnie poddawanie się leczeniu, przerywanie leczenia. Te czynniki wydają się przewyższać wpływ wieku jako istotnego czynnika wpływającego na dodatni wynik testu QFT. Podobne wyniki wskazujące na wzrastającą liczbę dodatnich wyników testu QFT-GIT z wiekiem uzyskiwali w swoich badaniach inni autorzy [60,76,86]; jest to o tyle istotne, że badania te były prowadzone w krajach (Niemcy, Włochy, Japonia), które brały udział w II wojnie światowej, a w czasie wojny i po jej zakończeniu wskaźniki zapadalności na gruźlicę były bardzo wysokie; z tych okresów wywodzą się w największym stopniu zakażeni badani, którzy obecnie mają 65--80 lat.

Nie obserwowano natomiast dodatniej korelacji między liczbą dodatnich wyników testu QFT-GIT, a płcią osób badanych, mimo że zapadalność na gruźlicę wśród mężczyzn jest w Polsce prawie dwukrotnie większa niż wśród kobiet [4]. Tłumaczyć to można m.in. tym, że mimo zbliżonego poziomu zakażenia prątkiem w grupie mężczyzn i kobiet, u tych pierwszych istnieje więcej czynników sprzyjających przejściu utajonego zakażenia w jawną postać choroby (alkoholizm, nikotynizm, większa aktywność zawodowa, a co się z tym wiąże -- częstsze nabywanie przewlekłych chorób, sprzyjających obniżonej odporności).

Jedynie w grupie osób bezdomnych stwierdzono niewielką zależność dodatnich wyników QFT-GIT od płci (wartość p mieściła się nieco powyżej istotności statystycznej); być może gdyby badana grupa była większa, uzyskano by istotność statystyczną.

Analiza regresji czynników wpływających na dodatni wynik QFT-GIT doprowadziła do wniosku, że jedynie czynnik w postaci „grupy wiekowej” wpływa w istotny sposób na wynik testu QFT-GIT. Dodatkowo wyniki testu QFT-GIT są skorelowane z wiekiem badanych; najwięcej ich jest w starszych grupach wiekowych; świadczy to o wysokiej czułości testu w tych grupach i wskazuje na dużą ich przydatność diagnostyczną w odróżnieniu od OT, który u starszych osób jest mniej czuły i tym samym mniej przydatny.

W badanych grupach w teście QFT-GIT uzyskano 5 wyników „nieokreślonych”: w grupie bezdomnych 3 wyniki, w grupie kontaktów bliskich 2 wyniki i 1 wynik nieokreślony wśród osób zdrowych. Te wyniki spowodowane były słabą odpowiedzią limfocytów T w kontroli dodatniej, co najbardziej tłumaczy 3 wyniki nieokreślone w grupie bezdomnych, u których można podejrzewać występowanie częstszej anergii układu immunologicznego.

Zupełnie odmiennie przedstawiał się udział zakażonych prątkiem gruźlicy w badanych grupach ryzyka mierzony za pomocą OT. W Polsce za dodatni wynik przyjmuje się OT o średnicy nacieku co najmniej 10 mm. W losowo wybranej grupie mieszkańców Krakowa uzyskano aż 47,9% dodatnich odczynów tuberkulinowych przy punkcie odcięcia 10 mm. Podobne wyniki uzyskano w Korei Płd. (51% dodatnich wyników OT wśród studentów przy punkcie odcięcia średnicy OT 10 mm), której populacja jest szczepiona przy urodzeniu, a następnie w 12. r.ż. [62]. Również w Szwajcarii, populacji zbliżonej pod kątem szczepień BCG do Polski, uzyskano 48% dodatnich wyników OT przy takim samym punkcie odcięcia 10 mm [130].

W pozostałych grupach wyniki OT (10 mm) przedstawiały się następująco: bezdomni 55,8%, kontakty bliskie 47,4%, kontakty okresowe 47,6%, pensjonariusze i personel Domów Opieki Społecznej 43,2%. Prawie dwukrotnie większe odsetki zakażonych stwierdzone za pomocą OT we wszystkich badanych grupach ryzyka w porównaniu z wynikami testu QFT-GIT wydają się potwierdzać słabszą wartość diagnostyczną odczynu tuberkulinowego w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Najbardziej prawdopodobną przyczyną takiego wyniku wydaje się (jak już wspomniano) wpływ licznych szczepień BCG w populacji polskiej. OT ma jednak niewątpliwie ustaloną wartość diagnostyczną w krajach gdzie nie przeprowadza się obowiązkowo szczepień BCG. Niewątpliwie ze wzrostem średnicy nacieku OT maleje wpływ szczepień BCG, a wartości nacieku OT przekraczające 15 mm w większym stopniu uważa się za odczyny zakaźne, zwłaszcza po upływie wielu lat od szczepienia BCG u osób nie będących w immunosupresji [126].

Biorąc pod uwagę wyniki OT, nie obserwowano w badanych grupach dodatniej korelacji (przy punkcie odcięcia OT 10 mm) między OT a wiekiem badanych oraz między OT a płcią. Brak dodatniej korelacji między OT a wiekiem badanych świadczy o słabszej czułości OT w grupie osób starszych.

ZGODNOŚĆ MIĘDZY TESTEM QFT-GIT A ODCZYNYM TUBERKULINOWYM W BADANYCH GRUPACH

W przedstawionej pracy uzyskano oczekiwany kierunek zależności – wzrastające wartości średnicy OT pociągały za sobą wzrastające wartości stężeń IFN- γ w surowicy w teście QFT-GIT. W obydwu bowiem typach reakcji biorą udział te same cytokiny; w przypadku QFT-GIT uwalniane są one przez limfocyty T do surowicy po stymulacji specyficznymi antygenami prątka, a w przypadku OT cytokiny uwalniane są w miejscu wstrzyknięcia tuberkuliny. Wartości współczynników Spearmana kształtowały się w granicach 0,3-0,6 wskazując jednak na niskie (grupa bezdomnych) lub umiarkowane (pozostałe grupy) dodatnie korelacje między stężeniem IFN- γ a średnicą odczynu tuberkulinowego. Korelacja ta nasuwa prawdopodobieństwo obecności większego stężenia IFN- γ (a tym samym dodatniego wyniku testu QFT-GIT) u pacjenta z dużą średnicą nacieku OT. Również dodatnia korelacja między liczbą dodatnich wyników testu QFT-GIT a średnicą odczynu tuberkulinowego pozwala nam

przypuszczać, że wraz ze wzrostem średnicy OT rośnie szansa na dodatni wynik QFT-GIT u badanej osoby. Niemniej jednak uzyskane wyniki nie pozwalają stwierdzić, że wysokie wartości OT (np. ponad 15 mm średnicy nacieku) będą równoznaczne z dodatnimi wartościami testu QFT-GIT u badanej osoby, bo jak wynika z badania dodatnie wyniki testu QFT-GIT (jak również wysokie poziomy IFN- γ) spotykane były zarówno u osób ze średnicą OT 0 mm jak i 20 mm. W dalszych etapach pracy zdecydowano o przeprowadzeniu testów zgodności między wynikami QFT-GIT oraz OT w badanych grupach przy przyjęciu granicy dodatniego wyniku OT zarówno 10 mm jak i 15 mm średnicy nacieku OT.

W niniejszej pracy stwierdzono 2 rodzaje zgodności: dodatni OT i dodatni QFT-GIT oraz ujemny OT i ujemny QFT-GIT oraz 2 rodzaje niezgodności: dodatni OT i ujemny QFT-GIT oraz ujemny OT i dodatni QFT-GIT. Większość niezgodności dotyczyła ujemnego wyniku QFT-GIT u osób z dodatnim OT, co -- jak się wydaje -- związane jest głównie z wpływem wielokrotnych szczepień BCG na wynik OT. W poszczególnych grupach wraz ze wzrostem średnicy odczynu tuberkulinowego stwierdzono wzrastające wartości zgodności obu testów oraz współczynników κ .

W wielu badaniach innych autorów uzyskiwane wyniki były zbliżone do tych uzyskanych w niniejszej pracy. Diel i wsp. [23,114] w grupie osób szczepionych BCG uzyskiwali zgodność obu testów 63,8%-69,2% (κ 0,2- 0,28), a w grupie osób nieszczepionych: 89,5%-90,7% (κ 0,58-0,62). Podobnie Ferrara i wsp. [24] uzyskali zgodność w grupie szczepionych wynoszącą 41% (κ 0,09), a w grupie nieszczepionych 80% (κ 0,56). W badaniu dużej grupy kontaktów prowadzonym przez Arendt i wsp. [20] przy punkcie odcięcia średnicy nacieku OT 10 mm uzyskano wśród nieszczepionych zgodność 75,4% (κ 0,33); przy OT wynoszącym co najmniej 15 mm zgodność wyniosła 86,5% (κ 0,49).

Wyniki niniejszej pracy świadczą o wzrastającej wartości diagnostycznej OT wraz ze wzrostem średnicy nacieku u osób szczepionych. Należy jednak zauważyć, że obserwowane zgodności i współczynniki κ w żadnej z badanych w niniejszej pracy grup nigdy nie osiągnęły wysokiej zgodności, a współczynniki κ nie osiągnęły wartości ponad 0,8 w badanych grupach. Wydaje się, że można jedynie sugerować przyjęcie dla OT wartości średnicy nacieku co najmniej 15 mm jako bardziej prawdopodobnego dla stwierdzenia zakażenia prątkiem gruźlicy. W badaniu stwierdzono również obecność dodatnich wyników testu QFT-GIT,

świadczących o zakażeniu wśród osób, u których stwierdzono małe rozmiary OT lub zupełny brak nacieku OT (sugerujące brak zakażenia prątkiem gruźlicy). Przyjmowanie więc określonych punktów odcięcia średnicy nacieku OT wskazujących na zakażenie prątkiem gruźlicy musi być bardzo ostrożne.

Podsumowując, w niniejszej pracy wykazano wysoki stopień zakażenia prątkiem gruźlicy w wybranych grupach ryzyka zakażenia prątkiem oceniony za pomocą testu QFT-GIT, wzrastający wraz ze stopniem narażenia na kontakt z aktywną postacią gruźlicy. Największy stopień utajonego zakażenia prątkiem uzyskano wśród bezdomnych, tam też spotyka się dużą ilość chorych na gruźlicę prątkującą. W przeciwieństwie do badań osób z bliskiego czy nawet okazjonalnego kontaktu bezdomni nie są poddawani w Polsce rutynowym akjom profilaktycznym, na przykład przez wykonywanie okresowych zdjęć przeglądowych klatki piersiowej i OT. Kontakty bliskie są nadal diagnozowane za pomocą odczynów tuberkulinowych, cechujących się małą specyficnością, a pracownicy ochrony zdrowia nawet mimo częstych zawodowych kontaktów z chorymi na gruźlicę niejednokrotnie nie wykonują kontrolnych zdjęć przeglądowych klatki piersiowej. W tych obszarach bardzo duże zastosowanie miałyby testy IGRA, które zresztą można powtarzać bez wzbudzenia zjawiska „booster”. Testy te jako cechujące się dużą specyficnością powinny być wykonywane w celu diagnostyki utajonej infekcji gruźliczej w każdej grupie ryzyka. Diagnostyka prowadzona za pomocą OT jest mało specyficzna i tym samym mniej przydatna (ponad dwukrotnie więcej dodatnich wyników OT niż dodatnich wyników QFT-GIT). OT cechuje się ponadto małą czułością u osób w starszym wieku, natomiast, jak wykazano w niniejszej pracy test QFT-GIT był w tej grupie wiekowej bardziej czuły. Na podstawie rozmiaru nacieku OT nie można pewnie prognozować o obecności zakażenia prątkiem, a zgodność obydwu testów, mimo że wzrastająca ze średnicą nacieku OT, jest niezadowalająca. Wydaje się więc, że diagnostyka utajonej infekcji gruźliczej powinna się opierać na testach IGRA. Pozostaje pytanie, jak należy postępować z osobami ze stwierdzoną utajoną infekcją gruźliczą – czy pozostawić te osoby jedynie w obserwacji i wykonywać kontrolne badania radiologiczne klatki piersiowej, czy zastosować u nich chemioprophylaktykę. To pytanie pozostaje na razie bez odpowiedzi, podobnie jak wiele innych zadawanych przez badaczy i klinicystów [127]:

- U kogo spośród zakażonych rozwinie się aktywna postać choroby, a tym samym kto powinien otrzymać leczenie profilaktyczne?

- Jaki jest najlepszy schemat lekowy leczenia profilaktycznego i jak poprawić gotowość pacjenta do leczenia?
- Jaki jest najlepszy test, dzięki któremu da się przewidzieć, u kogo rozwinie się aktywna choroba?
- Jaka jest najbardziej korzystna finansowa strategia diagnostyki utajonego zakażenia prątkiem?

Wydaje się, że udzielenie odpowiedzi na te pytania wymagać będzie jeszcze wielu lat badań i obserwacji prospektywnych dużych grup badanych z krajów o różnym stopniu rozwoju społeczno-ekonomicznego i różnej sytuacji epidemiologicznej gruźlicy.

6. WNIOSKI

- W badanych grupach ryzyka zakażenia prątkiem gruźlicy stwierdzono statystycznie istotne różnice w strukturze wyników dodatnich i ujemnych testu QFT-GIT; nie stwierdzono tej różnicy w strukturze wyników dodatnich i ujemnych OT.
- Częstość utajonej infekcji prątkiem gruźlicy oceniana na podstawie wyniku testu OT była prawie 1,5—2 razy większa niż w przypadku oceny za pomocą testu QT-GIT.
- Najwyższy stopień utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy badanego zarówno testem QFT-GIT, jak i OT stwierdzono w grupie bezdomnych.
- Częstość dodatnich wyników testu QFT-GIT dobrze korelowała z wiekiem badanych; nie stwierdzono powyższej zależności w przypadku OT. Brak dodatniej korelacji między częstością dodatnich wyników OT a wiekiem badanych świadczy o mniejszej czułości OT w grupie osób starszych.
- Stwierdzono oczekiwany kierunek zależności między średnicą nacieku OT a stężeniem IFN- γ w surowicy oraz między średnicą nacieku OT a liczbą dodatnich wyników testu QFT-GIT we wszystkich badanych grupach ryzyka.
- Zgodność testów QFT-GIT i OT jest niewielka, chociaż wzrasta wraz ze zwiększaniem się średnicy nacieku OT, nigdy jednak nie przekracza wartości umiarkowanej. Nasuwa to wątpliwości co do możliwości przyjęcia wyższych punktów odcięcia średnicy nacieku OT dla diagnostyki utajonej infekcji gruźliczej.
- OT w porównaniu z testem QFT-GIT ma mniejszą wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy w szczepionej BCG populacji Polski, poddawanej ponadto w latach ubiegłych licznym rewakcynom.

7. STRESZCZENIE

Diagnostyka utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy (utajonej infekcji gruźliczej) w Polsce jest trudna ze względu na obowiązkowe szczepienia BCG i małą swoistość skórny odczyn tuberkulinowy. Do niedawna obowiązywały w Polsce szczepienia BCG po urodzeniu i powtarzane w 1., 6., 12. i 18. rż. Rewakcynacje są powodem utrzymujących się przez wiele lat po szczepieniu dodatnich odczynów tuberkulinowych. Szczególnie zagrożone zakażeniem prątkiem gruźlicy są tzw. grupy ryzyka, do których należą osoby pozostające w kontakcie z osobą chorą na gruźlicę tzw. kontakty bliskie, okresowe i sporadyczne.

Aktualnie w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy coraz większa rola przypada testom opartym na pomiarze wydzielanego do surowicy INF- γ po stymulacji antygenami specyficznymi w głównej mierze dla prątków gruźlicy.

Celem pracy była ocena stopnia zakażenia prątkiem gruźlicy za pomocą nowego testu in vitro QFT-GIT i klasycznego OT w grupach ryzyka zakażenia prątkiem, takich jak: bezdomni, kontakty bliskie i kontakty okresowe chorego na gruźlicę, pensjonariusze i personel Domów Opieki Społecznej oraz losowo wybrani mieszkańcy w populacji miasta Krakowa. Oceniano również zależność wyników obu testów od wieku i płci badanych, a także wzajemne korelacje testów, tj. średnicy nacieku OT od wielkości stężenia IFN γ w surowicy badanych, a także średnicy nacieku OT od liczby dodatnich wyników testu QFT-GIT. Badano także zgodność obydwu testów i oceniano współczynniki κ . Tym samym starano się ocenić przydatność testu QFT-GIT w diagnostyce utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy w badanych grupach ryzyka w Polsce.

W okresie od lipca 2007 roku do września 2009 roku przebadano za pomocą testu QFT-GIT 785 osób z tzw. grup ryzyka zakażenia prątkiem: 150 bezdomnych, 171 kontaktów bliskich, oraz 163 kontaktów okresowych chorych na gruźlicę, 152 osoby – pensjonariuszy i personel Domów Opieki Społecznej oraz 149 losowo wybranych z populacji mieszkańców Krakowa. Skórny odczyn tuberkulinowy (OT) był oceniony odpowiednio u: 129, 156, 147, 148 i 121 badanych z wyżej wymienionych grup; wszyscy odpowiadali na pytania zawarte w specjalnie opracowanym kwestionariuszu. Dotyczył on przebytych i aktualnych chorób, nałogów, kontaktów z chorym na gruźlicę, obecności blizny po szczepieniu BCG. U wszystkich chorych

przeprowadzono badanie przedmiotowe. Badanie testem QFT-GIT przeprowadzono ściśle według zaleceń producenta (Cellestis, Carnegie, Australia). Krew pobierano do 3 probówek: do opłaszczonej specyficznymi antygenami prętka gruźlicy (ESAT-6, CFP-10, TB7,7), do probówki z kontrolą dodatnią, którą stanowiła fitohemaglutynina oraz z kontrolą ujemną. OT (2 j. PPD Rt-23) zakładany był w tym samym dniu i odczytywany po 3 dniach przez tę samą, doświadczoną pielęgniarkę. Wynik testu QFT-GIT (badany metodą ELISA) ustalany był za pomocą krzywej standardowej i specjalnego oprogramowania, podawany był w jednostkach międzynarodowych na mililitr. Wartości stężenia IFN- γ wynoszące co najmniej 0,35 IU/ml przyjmowane były jako wynik dodatni testu.

Stwierdzono dużą częstość dodatnich wyników testu QFT-GIT w poszczególnych grupach ryzyka - wśród bezdomnych 37%, kontaktów bliskich 27%, kontaktów okresowych 25%, wśród personelu i pensjonariuszy Domów Opieki Społecznej 21% oraz wśród osób zdrowych 23%; stopień zakażenia był zależny od intensywności kontaktów z chorym na gruźlicę. W badaniu wykazano obecność znamienych dodatnich korelacji między dodatnim wynikiem testu QFT-GIT a wiekiem badanych, między liczbą dodatnich wyników testu QFT-GIT a średnicą skórny odczynu tuberkulinowego, słabe lub umiarkowane korelacje między stężeniem INF γ w surowicy a średnicą nacieku w odczynach tuberkulinowych w badanych grupach. W każdej z badanych grup wraz ze wzrastającą średnicą odczynu tuberkulinowego (punkty odcięcia wartości OT: 10 mm, 15 mm) obserwowano wzrastającą zgodność z testem QFT-GIT oraz zwiększające się wartości współczynników κ ; nie osiągały one jednak w żadnej grupie wartości większych niż umiarkowane; wynika z tego, że nie można wnioskować o wynikach testu QFT ze średnicy OT.

Test QFT-GIT cechujący się dużą specyficznością powinien być wykonywany w celu diagnostyki utajonej infekcji gruźliczej w tzw. grupach ryzyka i wśród osób zdrowych. Diagnostyka prowadzona za pomocą OT jest mniej przydatna ze względu na małą specyficzność w populacjach szczepionych BCG, do których należy też Polska; test ten (co wykazano w niniejszej pracy) cechuje się małą czułością u osób w starszym wieku.

Dalsze badania prospektywne dużych grup ryzyka zakażonych prątkiem powinny odpowiedzieć na pytanie: u kogo z osób zakażonych (mających dodatni wynik testu IGRA)

zastosować leczenie profilaktyczne, przynoszące wymierne rezultaty w stosunku do osób nieleczonych z utajoną infekcją gruźliczą.

8. PIŚMIENICTWO

1. I. Grzelewska-Rzymowska, K. Kruczak: Gruźlica i inne mykobakteriozy. W: A. Szczeklik: Choroby wewnętrzne. Kraków, Medycyna Praktyczna, 2010: 591-603.
2. Global Tuberculosis Control- WHO report 2010, Geneva, World Health Organization (WHO/HTM/TB/2010).
3. J.H. Bates, G.A. Huitt: Gruźlica i zakażenia prątkami atypowymi. W: Atlas chorób płuc. Gdańsk, Via medica, 2007: 119-132.
4. M. Korzeniowska-Koseła: Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2009 roku. Warszawa, 2010.
5. A. Raja: Immunology of tuberculosis. Indian. J. Med. Res., 2004; 120: 213-232.
6. H.E. Kaufmann, W.J. Britton: Handbook of tuberculosis. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co. KgaA, 2008: 1-10: (1-295).
7. L.P. Nicod: Immunology of tuberculosis, Swiss Med. Wkly., 2007; 137: 357-362.
8. J. Winek, U. Demkow, E. Rowińska-Zakrzewska i wsp.: Odpowiedź Th1-Th2 u chorych na gruźlicę oraz osób zdrowych pozostających z nimi w styczności. Pneumonol. Alergol. Pol., 2009; 77: 446-452.
9. E. Rowińska-Zakrzewska: Gruźlica w praktyce lekarskiej. Warszawa, PZWL, 2000; 3: 49-61.
10. K. Kruczak, E. Niżankowska-Mogilnicka: Nowe możliwości diagnostyki utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. U. Demkow: Komentarz do artykułu. Pneumonol. Alergol. Pol., 2008; 76: 446-450.
11. Z. Zwolska: Robert Koch twórca bakteriologii chorób zakaźnych. Gdańska, Via media, 2006.
12. M. H. Zapaśnik-Kobierska: Szczepienia przeciwgruźlicze. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, 1966.
13. M. Pai, S. Kalantri, K. Dheda: New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis. Part I. Latent tuberculosis. Expert Rev. Mol. Diagn., 2006; 6: 413-422.
14. A. Lalvani, M. Thillai: Diagnosis tuberculosis: principles and practice of using interferon-gamma release assays (IGRAs). Breathe, 2009; 5: 303-309.
15. L. Richeldi: An update on the diagnosis of tuberculosis infection. Am. J. Respir. Crit. Care. Med., 2006; 174: 736-742.
16. A. Lalvani: Diagnosing Tuberculosis Infection in the 21st Century: new tools to tackle an old enemy. Chest, 2007; 131: 1898-1906.
17. M. Pai, L.W. Riley, J.M.Jr. Colford i wsp.: Interferon- γ assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systemic review. Lancet Infect. Dis., 2004; 4: 761-776.
18. R. Diel, M. Ernst, G. Doscher i wsp.: Avoiding the effect of BCG vaccination in detecting Mycobacterium tuberculosis infection with a blood test. Eur. Respir. J., 2006; 28: 16-23.
19. S.T. Anderson, A.J. Williams, J.R. Brown i wsp.: Transmission of Mycobacterium tuberculosis undetected by tuberculin skin testing. Am. J. Respir. Crit. Care. Med., 2006; 173: 1038-1042.
20. M.S. Arend, F.S. Thijsen, S.M. Leyten: Comparision of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. Am. J. Crit. Care Med., 2007; 175: 618-627.
21. M. Pai, D. Menzies: The new IGRA and the old TST. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2007; 175: 529-530.

22. K.A. Young, L. Hye, H.S. Seung: Usefulness of whole-blood interferon-gamma assay and interferon-gamma enzyme-linked immunospot assay in the diagnosis of active tuberculosis. *Chest*, 2007; 132: 959-965.
23. R. Diel, R. Loddenkemper, W. Meywald i wsp.: Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In Tube assay, and T-Spot.TB in contact investigations for tuberculosis. *Chest*, 2009; 135: 1010-1118.
24. G. Ferrara, M. Losi, M. Meacci i wsp.: Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005; 172: 631-635.
25. A. Sood, M. Schuyler: Finally, a perfect diagnostic test for pulmonary tuberculosis- or is it? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 174: 963-964.
26. H. Mohamed: Comparison of mantoux skin test with three generations of a whole blood IFN-gamma assay for tuberculosis infection. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2006; 10: 310-316.
27. H. Miyashita, K. Higuchi, N. Higashiyama i wsp.: Detection of tuberculosis infection using a whole blood interferon gamma assay in a contact investigation-evaluation using QuantiFERON TB-2G. *Kekkaku*, 2005; 80: 557-564.
28. E. Porsa, L. Cheng, M.M. Seale i wsp.: Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate risk population. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2006; 13: 53-58.
29. D. Menzies, M. Pai, G. Comstock: Meta-analysis: New tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann. Intern. Med.*, 2007; 146: 340-354.
30. N. Harada, K. Higuchi, Y. Sekiya i wsp.: Basic characteristics of a novel diagnostic method (QuantiFERON TB-2G) for latent tuberculosis infection with the use of Mycobacterium tuberculosis-specific antigens, ESAT-6 and CFP-10. *Kekkaku*, 2004; 79: 725-735.
31. D. Goletti, D. Vincenti, S. Carrara i wsp.: Selected RD1 peptides for active tuberculosis diagnosis: comparison of a gamma interferon whole-blood enzyme-linked immunosorbent assay and an enzyme-linked immunospot assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005; 129: 1311-1316.
32. J.Y. Lee, H.J. Choi, I.N. Park i wsp.: Comparison of two commercial interferon gamma assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur. Respir. J.*, 2006; 28: 24-30.
33. T. Mori, M. Sakatani, F. Yamagishi i wsp.: Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004; 170: 59-64.
34. M.G. Madariaga, Z. Jalali, S. Swindells: Clinical utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis. *J. Am. Board Fam. Med.*, 2007; 20: 540-547.
35. E.S. Leyten, M.Y. Lin, K.L. Franken i wsp.: Human T-cell responses to 25 novel antigens encoded by genes of the dormancy regulon of Mycobacterium tuberculosis. *Microbes Infect.*, 2006; 8: 2052-2060.
36. B. Hauer, R. Loddenkamper, A. Detjen i wsp.: Interferon-gamma assay – description and assessment of a new tool in the diagnosis of tuberculosis. *Pneumonologiae*, 2006; 60: 29-44.
37. R.M. van Leeuwen, A.W.J. Bossink., S.F.T. Thijsen: Exclusion of active Mycobacterium tuberculosis complex infection with the T-SPOT.TB assay. *Eur. Respir. J.*, 2007; 29: 605-607.
38. M. Pai, D.M. Lewinsohn: Interferon-gamma assays for tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005; 172: 519-520.

39. P. Ravn, M.E. Munk, A.B. Andersen: Prospective evaluation of a whole-blood test using Mycobacterium tuberculosis- specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005; 12: 491-496.
40. D.J. Ernst, G. Trevejo-Nunez, N. Banaiee: Genomics and evolution, pathogenesis, and diagnosis of tuberculosis. *J. Clin. Inv.*, 2007; 117: 1738–1745.
41. J.P. Janssens, J. Roux-Lombard, T. Perneger, i wsp.: Quantitative scoring of an interferon gamma assay for differentiating active from latent tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2007; 30: 722-727.
42. K. Dheda, R.N. van Zyl-Smit, R. Melday i wsp.: Quantitative lung T cell responses aid the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Thorax* 2009; 64: 847-853.
43. T. Nishimura, N. Hasegawa, M. Mori i wsp.: Accuracy of an interferon-gamma release assay to detect active pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2008; 12: 269-274.
44. M. Pai, A. Zwerling, D. Menzies: Systemic Review: T-Cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. *Ann. Intern. Med.*, 2008; 149: 177-184.
45. R. Diel, R. Loddenkemper, A. Nienhaus: Evidence-based comparison of commercial interferon- γ release assays for detecting active Tb. *Chest*, 2010; 137: 952-968.
46. R. Diel, D. Goletti, G. Ferrara i wsp.: Interferon- γ release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systemic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2011; 37: 88-99.
47. R.N. van Zyl-Smit, M. Pai, K. Peprah i wsp.: Within-subject variability and boosting of T-cell interferon-gamma responses after tuberculin skin testing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 180: 49-58.
48. A.K. Detjen, L. Loebenberg, H.M.S. Grewal i wsp.: Short term reproducibility of a commercial interferon gamma release assay. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2009; 16: 1170-1175.
49. M. Pai, R. O'Brien: Serial testing for tuberculosis: can we make a sense of T cell assay conversions and reversions? *PLoS Med.*, 2007; 4: 206-212.
50. C. Lange, M. Pai, F. Drobniewski, G.B. Migliori: Interferon-gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis: sensible or silly? *Eur. Respir. J.*, 2009; 33: 1250-1253.
51. B. Kampmann, E. Whittaker, A. Williams i wsp.: Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur. Respir. J.*, 2009; 33: 1374-1382.
52. A. Cehovin, M. Cliff, C. Hill i wsp.: Extended culture enhances sensitivity of a gamma interferon assay for latent Mycobacterium tuberculosis infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 796-798.
53. E.M. Leyten, S.M. Arend, C. Prins, i wsp.: Discrepancy between Mycobacterium tuberculosis-specific gamma interferon release assays using short and prolonged in vitro incubation. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 880-885.
54. C.A. Baker, W. Thomas, W.M. Stauffer i wsp.: Serial testing of Refugees for latent tuberculosis using the QuantiFERON-Gold-In-Tube: effects of an antecedent tuberculin skin test, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2009; 80: 628-633.
55. E.M. Leyten, C. Prins, A.W. Bossink i wsp.: Effect of tuberculin skin testing on a Mycobacterium tuberculosis-specific interferon-gamma assay. *Eur. Respir. J.*, 2007; 29: 1212-1216.
56. M. Nguyen, S. Perry, J. Parsonet: QuantiFERON-TB predicts tuberculin skin test boosting in US foreign-born. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2005; 9: 985-991.

57. W.P. Franken, B.F. Koster, A.W. Bossink i wsp.: Follow-up study of tuberculosis-exposed supermarket customers with negative tuberculin skin test results in association with positive gamma interferon release assay results. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 1239-1241.
58. H. Igari, A. Watanabe, T. Sato: Booster phenomenon of QuantiFERON-TB Gold after prior intradermal PPD injection. *Inter. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2007; 4: 788-791.
59. L.D. Cohn: The effect of BCG vaccination on tuberculin skin testing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001; 164: 915-916.
60. A. Nienhaus, A. Schablon, R. Diel: Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent TB infection-analysis of discordant results, when compared to the tuberculin skin test. *PLoS One*, 2008; 3: e2665.
61. M. Pai, S. Kalantri, D. Menzies.: Correspondence. Disordance between tuberculin skin test and interferon-gamma assays. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2006; 10: 942-944.
62. A.W. Kang, W.H. Lee, H. I. Yoon i wsp.: Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon-gamma assay infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *J. Am. Med. Associat.*, 2005; 293: 2756-2761.
63. I. Brock., M. Ruhwald, B. Lundgren i wsp.: Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the M. tuberculosis specific interferon gamma test. *Respir. Res.*, 2006; 7: 56.
64. Y. Kobashi, K. Mouri, Y. Obase, i wsp.: Clinical evaluation of QuantiFERON TB-2G test for immunocompromised patients. *Eur. Respir. J.*, 2007; 30: 945-950.
65. A.M. Mandalakas, A.C. Hesseling, N.N. Chegou i wsp.: High level of discordant IGRA results in HIV infected adults and children. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2008; 12: 417-423.
66. D. Kunimoto, T. Birse, A. Lindemulder, i wsp.: QuantiFERON-TB Gold testing of HIV patients for latent TB infection. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, 2006; 17: 33.
67. A.F. Luetkemeyer, E.D. Charlebois, L.L. Flores i wsp.: Comparison of an interferon-gamma release assay to tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2007; 175: 737-742.
68. P.F. Barnes: Weighing Gold or Counting Spots. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 174: 731-732.
69. O. Manuel, A. Humar, J. Preiksaitis i wsp.: Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation.. *Amer. J. Transpl.*, 2007; 7: 2797-2801.
70. P. Ravn, M.E. Munk, A.B. Andersen i wsp.: Reactivation of tuberculosis during immunosuppressive treatment in a patient with a positive QuantiFERON-RD1 test. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2004; 36: 499-501.
71. P.A. Triverio, P.O. Bridevaux, P. Roux-Lombard i wsp.: Interferon-gamma release assays versus tuberculin skin testing for detection of latent tuberculosis in chronic haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2009; 24: 1952-1956.
72. M.S. Silverman, D. Reynolds, P.A. Kavsak i wsp.: Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.*, 2007; 40: 913-915.
73. S.K. Kurup, R. Buggage, G.L. Clarke i wsp.: Gamma interferon assay as an alternative to PPD skin testing in selected patients with granulomatous intaocular inflammatory disease. *Can. J. Ophthalmol.*, 2006; 41: 737-740.

74. S.M. Arend, E.M. Leyten, W.P. Franken et al.: A patient with de novo tuberculosis during anti-tumor necrosis factor-alpha therapy illustrating diagnostic pitfalls and paradoxical response to treatment. *Clin. Infect. Dis.*, 2007; 45: 1470-1475.
75. A. Pratt, K. Nicholl, L. Kay: Comment on: Use of the QuantiFERON-TB Gold test as part of screening programme in patients with RA under consideration for treatment with anti-TNFalpha agents: the Newcastle (UK) experience: reply. *Reumatology*, 2007; 46: 1864-1865.
76. F. Bartalesi, S. Vicidomini, D. Goletti et al.: QuantiFERON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.*, 2009; 33: 586-593.
77. I. Solovic, M. Sester, J.J. Gomez-Reino et al.: The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. *Eur. Respir. J.*, 2010; 36: 1185-1206.
78. P. Vinton, S. Mirshahi, P. Jonhson et al.: Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent Mycobacterium tuberculosis infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 2009; 30: 215-221.
79. E. E. Alvarez-Leon, E. Espinosa-Vega, E. Santana-Rodriguez et al.: Screening for tuberculosis infection in Spanish healthcare workers: comparison of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test with the Tuberculin Skin Test. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2009; 30: 876-883.
80. A. Nienhaus, A. Schablon, C.L. Baclei et al.: Evaluation of the interferon-gamma release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 2008; 81: 295-300.
81. F. Drobniewski, Y. Balabanova, E. Zakamova et al.: Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.*, 2007; 4: 1-7.
82. M. Pai, R. Joshi, S. Dogra: Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon- γ assay. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 174: 349-355.
83. U. Demkow, M. Filewska, K. Łuczak et al.: Ocena częstości występowania zakażenia prątkiem gruźlicy u pracowników służby zdrowia na podstawie testu uwalniania interferonu gamma. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2006; 74: 285.
84. M. Pai, J. Rajnish, D. Sandeep et al.: Tuberculosis infection among health care workers in India: a preliminary report. *J. Occup. Med. Toxicol.*, 2006; 1: 7.
85. S.Y. Eum, Y.I. Lee, H.K. Kwak et al.: Evaluation of the diagnostic utility of a whole-blood interferon-gamma assay for determining the risk of exposure to Mycobacterium tuberculosis in Bacille Calmette-Guerin (BCG)-vaccinated individuals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008; 61:181-186.
86. N. Harada, Y. Nakajima, K. Higuchi et al.: Screening for tuberculosis infection using whole-blood interferon -gamma and mantoux testing among Japanese healthcare workers. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 2006; 5: 442-448.
87. D. Ozdemir, A.N. Annakaya, G. Tarhan et al.: Comparison of the tuberculin skin test and the quantiferon test for latent Mycobacterium tuberculosis infections in health care workers in Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2007; 60: 102-105.
88. B. Soborg, A.B. Andersen, H.K. Larsen et al.: Detecting a low prevalence of latent tuberculosis among health care workers in Denmark detected by M. Tuberculosis specific IFN-gamma whole blood test. *Scandin. J. Infect. Dis.*, 2007; 39: 554-559.
89. R. Diel, A. Nienhaus, C. Lange et al.: Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.*, 2006; 7: 77.

90. S.V. Kik, W.P. Franken, S.M. Arend i wsp.: Interferon-gamma release assays in immigrant contacts and effect of remote exposure to *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2009; 13: 820-828.
91. A. Karimina, Z. Sharifnia, A. Aghakhani i wsp.: Comparison of quantiFERON TB-G-test to TST for detection latent tuberculosis infection in a high-incidence area containing BCG-vaccinated population. *J. Evaluat. Clin. Pract.* 2009; 15: 148-151.
92. J. Janssens, P. Roux-Lombard, T. Perneger i wsp.: Contribution of a IFN-gamma assay in contact tracing for tuberculosis in a low-incidence, high immigration area. *Swiss Med. Weekly*, 2008; 138: 585-593.
93. A.C. Hesseling, A.M. Mandalakas, H.L. Kirchneri i wsp.: Highly discordant T cell responses in individuals with recent exposure to household tuberculosis. *Thorax*, 2009; 64: 840-846.
94. G.H. Mazurek, J. Margan, A. Zajdowicz i wsp.: Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in United States Navy recruits using the tuberculosis blood Interferon-gamma release assays. *Clin. Inf. Dis.*, 2007; 45: 826-836.
95. A. Machado, K. Emodi, I. Takenami i wsp.: Analysis of discordance between the tuberculin skin test and the interferon-gamma release assay. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2009; 13: 446-453.
96. W.P.J. Franken, J.F. Timmermans, C. Prins i wsp.: Comparison of Mantoux and QuantiFERON TB Gold tests for diagnosis of latent tuberculosis infection in army personnel. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 477-480.
97. K. Funayama, A. Tsujimoto, M. Mori i wsp.: Usefulness of QuantiFERON TB-2G in contact investigation of a tuberculosis outbreak in a university. *Kekkaku*, 2005; 80: 527-534.
98. B.M. Bergamini, M. Losi, F. Vaianti i wsp.: Performance of commercial blood test for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics*, 2009; 123: e419-e424.
99. J. Lighter, M. Rigaud, R. Eduardo i wsp.: Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics*, 2009; 123: 30-37.
100. S.J. Tsiouris, J. Austin, P. Toro i wsp.: Results of a tuberculosis-specific IFN-gamma assay in children at high risk for tuberculosis infection. *Int. J. tuberc. Lung Dis.*, 2008; 10: 939-941.
101. K.A. Wilkinson, R.J. Wilkinson, A. Pathan i wsp.: Ex vivo characterization of early secretory antigenic target 6-specific T cells at sites of active disease in pleural tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.*, 2005; 40: 184-187.
102. M.M. Thomas, T.S. Hinks, S. Raghuraman i wsp.: Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* meningitis by enumeration of cerebrospinal fluid antigen-specific T-cells. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2008; 12: 651-657.
103. M. Sester, G. Sotgiu, C. Lange i wsp.: Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systemic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.*, 2011; 37: 100-111.
104. C. Jafari, M. Ernst, B. Kalsdorf: Rapid diagnosis of smear-negative tuberculosis by bronchoalveolar lavage enzyme-linked immunospot. *Am. J. Crit. Care Med.* 2006; 174: 1048-1054.
105. C. Jafari, M. Ernst, A. Strassburg i wsp.: Local immunodiagnosis of pulmonary tuberculosis by enzyme-linked immunospot. *Eur. Respir. J.*, 2008; 31: 261-265.
106. M. Pai, R. Joshi, S. Dogra i wsp.: Persistently elevated T cell interferon gamma responses after treatment for latent tuberculosis infection among health care workers in India: a preliminary report. *J. Occup. Med. Toxicol.*, 2006; 1: 7.

107. S.J. Lee, H.S. Kim, J.E. Ma i wsp.: Tuberculin Skin Test and QuantiFERON-TB Gold Assay before and after Treatment for Latent Tuberculosis Infection among Health Care Workers in Local tertiary Hospital. *Tuberc. Respir. Dis.*, 2007; 62: 270-275.
108. C. B. Chee, W.K. KhinMar, S.H. Gan i wsp.: Latent tuberculosis infection treatment and T-cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2007; 175: 282-287.
109. V. Boosshard, P. Roux-Lombard, T. Perneger i wsp.: Do results of the T-SPOT.TB interferon-gamma release assay change after treatment of tuberculosis? *Respir. Med.*, 2009; 103:30-34.
110. W.P. Franken, S.M.Arend, S.F. Thijsen i wsp.: Interferon-gamma release assays during follow-up of tuberculin skin test-positive contacts. *Tuberc. Lung Dis.*, 2008; 12: 1286-1294.
111. R. Markova, R. Drenska, Y. Todorova i wsp.: Monitoring the efficacy of anti-TB therapy by using the QuantiFERON-TB Gold In Tube test. *Eur. Respir. Rev.*, 2008; 17: 74-75.
112. S.K. Katiyar, A. Sampath, S. Bihari i wsp.: Use of the QuantiFERON-TB Gold in-tube tests to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tubercul. Lung Dis.*, 2008; 12: 1146-1152.
113. D. Goletti, M.P. Parracino, O. Butera i wsp.: Isoniazid prophylaxis differently modulates T-cell responses to RD1-epitopes in contacts recently exposed to *Mycobacterium tuberculosis*: a pilot study. *Respir. Res.*, 2007; 8: 5.
114. R. Diel, R. Loddenkemper, K. Meywald-Walter i wsp.: Predictive value of a whole blood IFN- γ assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2008; 177: 1164-1170.
115. W.W. Yew, C.C. Leung: Update in tuberculosis 2008. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 179: 337-343.
116. J.E. Stout, D. Menzies: Predicting tuberculosis: does the IGRA tell the tale. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2008; 177: 1055-1056.
117. M. Bakir, K.A. Millington, A. Soysal i wsp.: ELISpot as a predictor for development of TB in children with TB contact. *Ann. Intern. Med.*, 2008; 149: 777-786.
118. M.C. Aichelburg, A. Rieger, F. Breitenecker i wsp.: Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. *Clin. Infect. Dis.*, 2009; 48: 954-962.
119. M. Pai, K. Dheda, J. Cunningham i wsp.: T-cell assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: moving the research agenda forward. *Lancet Infect. Dis.*, 2007; 7: 428- 438.
120. A.L. Davidow: Interferon- gamma release assay test characteristics depend upon the prevalence of active tuberculosis. *Int. J. Tubercul. Lung Dis.*, 2009; 13: 1411-1415.
121. R. Diel, P. Wrighton-Smith, J.P. Zellweger: Cost-effectiveness of interferon-gamma release assay testing for the treatment of latent tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2007; 30: 321-332.
122. O. Oxlade, K. Schwartzman, D. Menzies: Interferon-gamma release assays and TB screening in high-income countries: a cost-effectiveness analysis. *Int. J. Tubercul. Lung Dis.*, 2007; 11: 16-26.
123. D. Goletti, C. Stefania, O. Butera i wsp.: Accuracy of immunodiagnostic tests for active tuberculosis using single and combined results: a multicenter TBNET-Study. *PLoS One*, 2008; 3: e3417.
124. M. Ruchwald, T. Bodmer, C. Maier i wsp.: Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as a biomarker for the diagnosis of tuberculosis. *Eur. Respir. J.*, 2008; 32: 1607-1615.
125. K.A. Millington, J.A. Innes, S. Hacforth i wsp.: Dynamic relationship between IFN-gamma and IL-2 profile of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells and antigen load. *J. Immunol.*, 2007; 178: 5217-5226.

126. C.G.M. Erkens, M. Kamphorst, I. Abubakar i wsp.: Tuberculosis contact investigation in low prevalence countries: a European consensus. *Eur Respir J.*, 2010; 36: 925-949.
127. L. Wang, M.O. Turner, R.K. Elwood i wsp.: A meta analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. *Thorax*, 2002; 57: 804-809.
128. T. Mori, N. Harada, K. Higuchi, i wsp.: Waning of the specific interferon-gamma response after years of tuberculosis infection. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2007; 9: 1021-1025.
129. U. Mack, G.B. Migliori, M. Sester, i wsp.: LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to M. tuberculosis? A TB-NET consensus statement. *Eur. Resp. J.*, 2009; 33: 956-973.
130. F. Tissot, G. Zanetti, P. Francioli i wsp.: Influence of bacille Calmette-Guerin vaccination on size of tuberculin skin test reaction: to what size? *Clin. Inf. Dis.*, 2005; 40: 211-217.
131. A. Story, S. Murad, W. Roberts i wsp.: Tuberculosis in London: the importance of homelessness, problem drug use and prison. *Thorax*, 2007; 62: 667- 671.
132. A. B. Curtis, R. Ridzon, L. F. Novick i wsp.: Analysis of Mycobacterium tuberculosis transmission patterns in a homeless shelter outbreak. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2000; 4: 308-313.
133. L.W.H. Yun, R.R. Reves, M.R. Reichler i wsp.: Outcomes of contact investigation among homeless persons with infectious tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2003; 7: Suppl. 3, S405-S411.