

INTERFERON GAMMA RELEASING ASSAY

– LAO TIỀM ẨN – ĐỀ KHÁNG NHIỄM LAO

Ts. Bs. Lê Hồng Vân

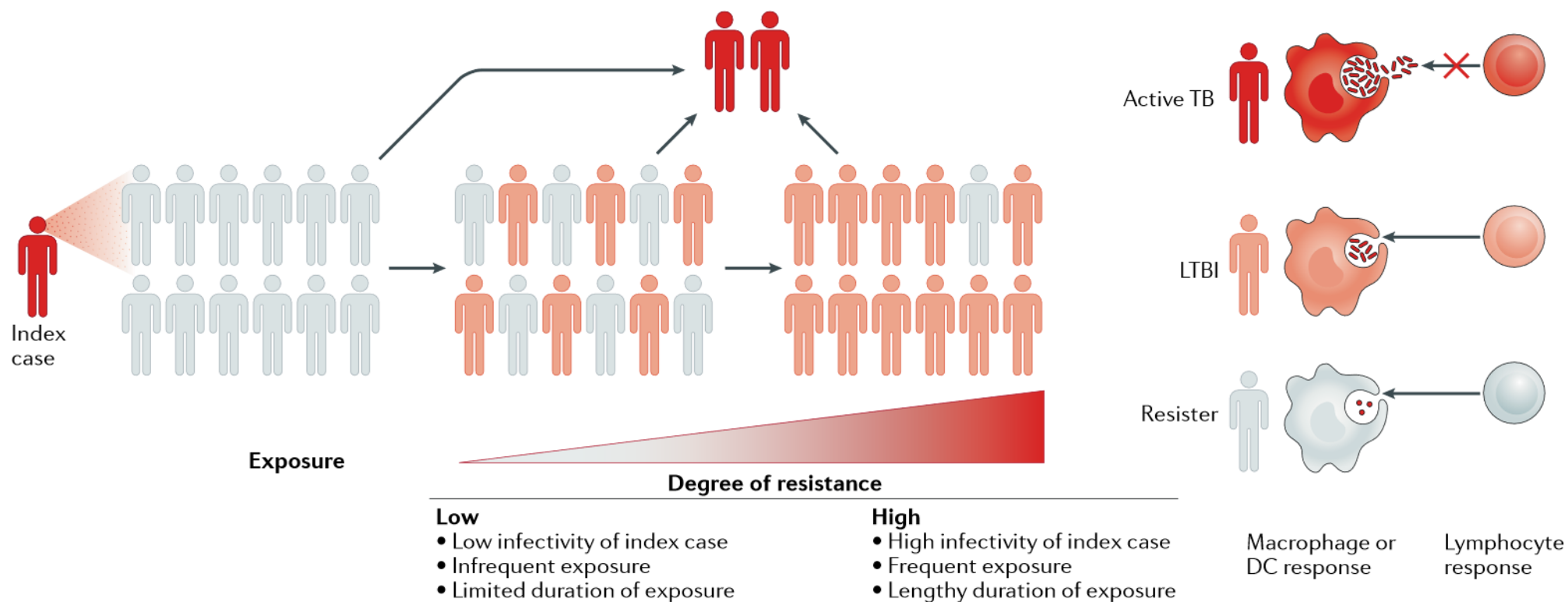
Nhóm nghiên cứu lao

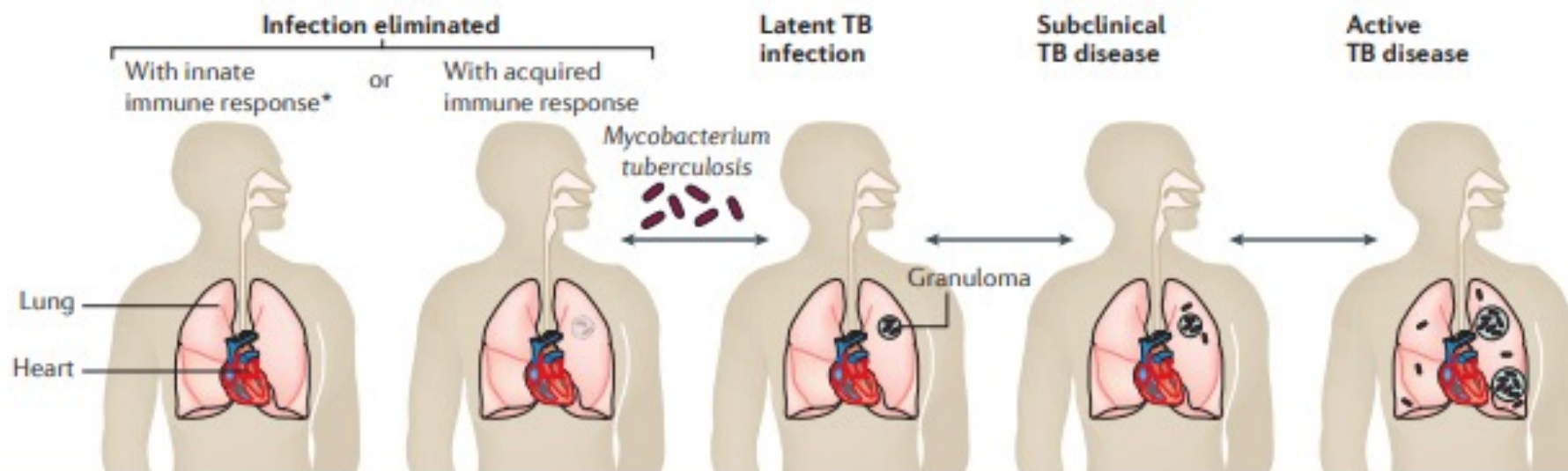
Đơn vị nghiên cứu lâm sàng Đại học Oxford

Nội dung

1. Các thể nhiễm lao
2. Lao tiềm ẩn và chẩn đoán
3. So sánh TST và IGRA
4. Các đọc kết quả Quantiferon TB Gold Plus
5. Các nghiên cứu về lao tiềm ẩn tại VN
6. Vài khái niệm về đề kháng nhiễm lao

CÁC THỂ LÂM SÀNG CỦA NHIỄM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

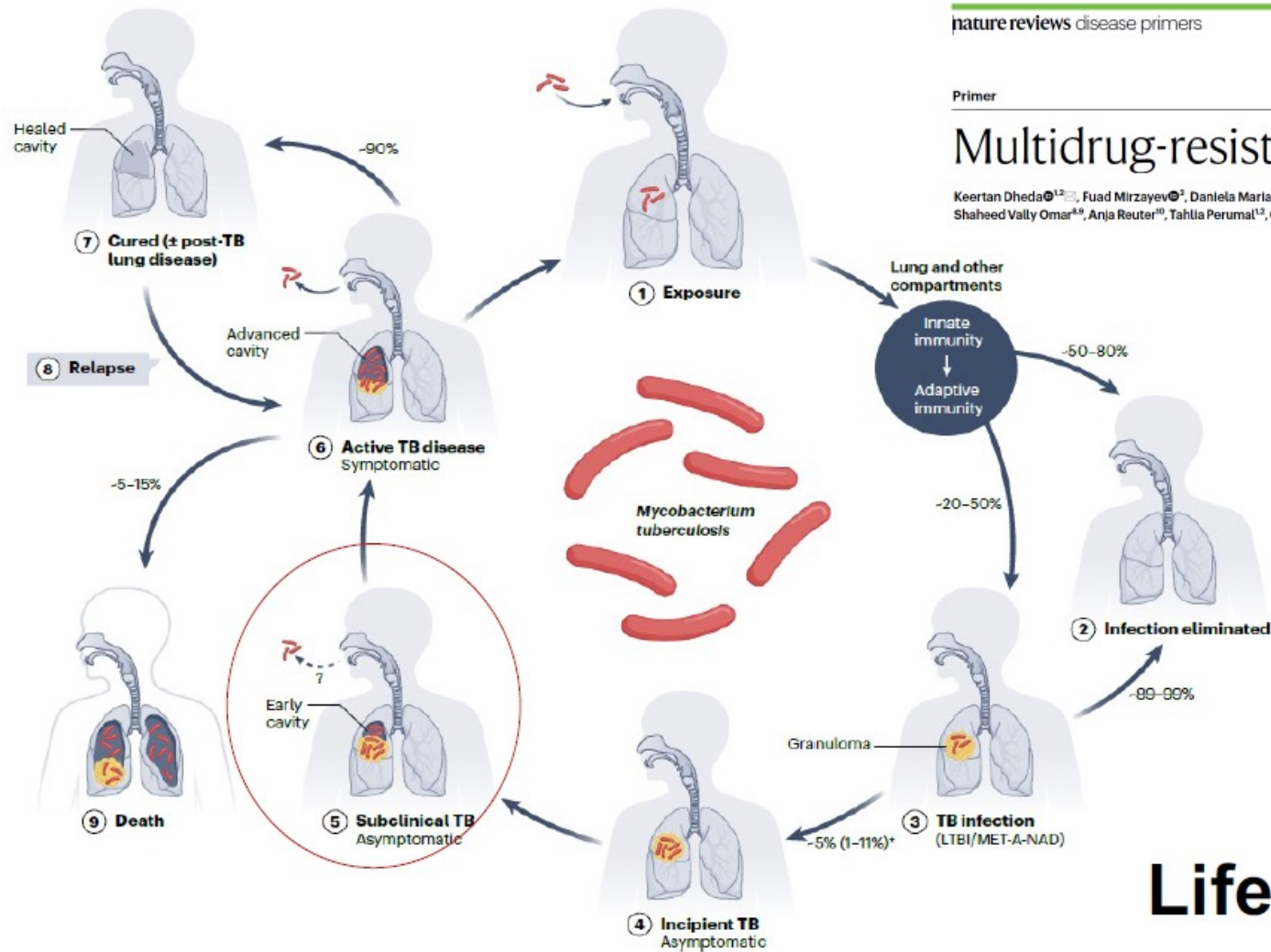




	Infection eliminated With innate immune response*	Infection eliminated With acquired immune response	Latent TB infection	Subclinical TB disease	Active TB disease
TST	Negative	Positive	Positive	Positive	Usually positive
IGRA	Negative	Positive	Positive	Positive	Usually positive
Culture	Negative	Negative	Negative	Intermittently positive	Positive
Sputum smear	Negative	Negative	Negative	Usually negative	Positive or negative
Infectious	No	No	No	Sporadically	Yes
Symptoms	None	None	None	Mild or none	Mild to severe
Preferred treatment	None	None	Preventive therapy	Multidrug therapy	Multidrug therapy

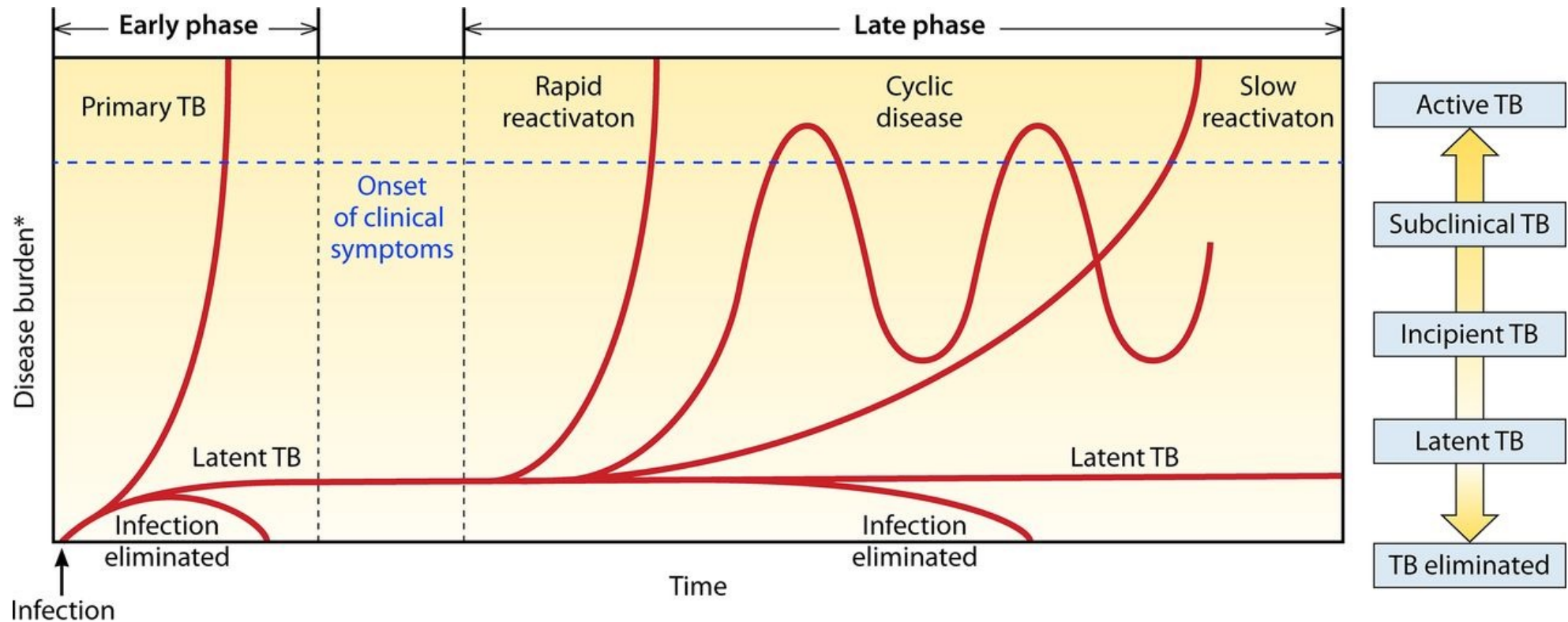
Multidrug-resistant tuberculosis

Keertan Dheda^{1,2,3}, Fuad Mirzayev⁴, Daniela Maria Cirillo⁵, Zarir Udwadia⁶, Kelly E. Dooley⁶, Kwok-Chiu Chang⁷,
Shaheed Vally Omar⁸, Anja Reuter¹⁰, Tahlia Perumal^{1,3}, C. Robert Horsburgh Jr⁹, Megan Murray¹² & Christoph Lange^{13,14,15}



Lifecycle of TB

DIỄN TIẾN SAU KHI NHIỄM LAO



*Rising TB burden implies an increase in abundance of TB and pathogen biomarkers, compartment-specific changes in immunological responses, and a decrease in the probability of disease resolution in the absence of treatment.

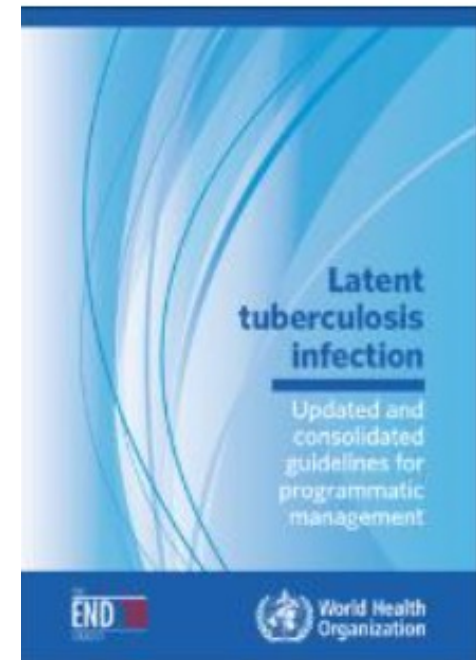
Table 1 Definitions of asymptomatic TB following a WHO consultation 2024 (compared with the current TB definitions according to the latest WHO guidance (13))

Current WHO definitions of TB	Definitions of asymptomatic TB
<i>TB disease:</i> A person with disease caused by the <i>M. tuberculosis</i> complex.	<i>Asymptomatic TB:</i> A person with TB disease who did not report symptoms suggestive of TB during screening.
<i>Bacteriologically confirmed TB:</i> A person from whom a biological specimen is positive by a WHO-recommended rapid diagnostic test, culture or smear microscopy.	<i>Asymptomatic TB, bacteriologically confirmed:</i> A person with bacteriologically confirmed TB who did not report symptoms suggestive of TB during screening.
<i>Clinically diagnosed TB:</i> A person who does not fulfil the criteria for bacteriological confirmation but has been diagnosed with TB disease by a medical practitioner who has decided to give the person a full course of TB treatment. This definition includes pulmonary cases diagnosed based on radiographic abnormalities and extrapulmonary cases diagnosed based on suggestive clinical presentation or histology. Clinically diagnosed cases subsequently found to be bacteriologically positive (before or after starting treatment) should be reclassified as bacteriologically confirmed.	<i>Asymptomatic TB, bacteriologically unconfirmed:</i> A person with bacteriologically unconfirmed TB who did not report symptoms suggestive of TB during screening. Of note: given the use of the term “bacteriologically unconfirmed” in the definition of asymptomatic TB, the term “clinically diagnosed” will be replaced with “bacteriologically unconfirmed” in future editions of WHO products and publications.

Lao tiềm ẩn là gì?

- Latent TB infection (LTBI) is defined as a state of persistent immune response to stimulation by *Mycobacterium tuberculosis* antigens with **NO** evidence of clinically manifest active TB.

WHO 2018



Lao tiềm ẩn là gì?

- Người khỏe mạnh có lao ở thể “ngủ” hoặc thể tiềm ẩn – mà **trong tương lai** họ có thể tiến triển thành bệnh lao.
- Hoàn toàn không triệu chứng. Không lây nhiễm
- Dấu hiệu duy nhất: **phản ứng miễn dịch** với kháng thể *M.tb*
- 10-20% có bất thường trên Xquang ngực (granuloma, xơ đỉnh phổi)

Chẩn đoán lao tiềm ẩn: các xét nghiệm hiện nay



Phản ứng lao tố - TST



**Xét nghiệm IGRAs:
Quantiferon/T.Spot TB**

WHO – LTBI: updated and consolidated guidelines for programmatic management 2018

	TST (Tuberculin Skin Test)	IGRA (Quantiferon/T-SPOT.TB)
Nguyên lý	Tiêm tuberculin dưới da. Sau đó đo đường kính nốt sẩn sau 48-72 giờ.	Định lượng nồng độ IFN- γ sau khi ủ tế bào máu với kháng nguyên đặc hiệu của M.tb: ESAT-6 và CFP-10
Số lần đến khám	2 lần: Lần 1: Tiêm PPD; Lần 2: Đọc kết quả	1 lần (lấy máu)
Ảnh hưởng bởi BCG	Có (có thể dương tính giả do chích ngừa BCG)	Không
Ảnh hưởng bởi NTMs	Có thể	Rất hiếm
Kỹ thuật	Cần tiêm đúng kỹ thuật. Đọc kết quả: chỉ đo đường kính nốt sẩn, không phải mảng đỏ (chủ quan)	Cần lấy máu đúng kỹ thuật. Lab xử lý mẫu phức tạp (T-SPOT.TB)
Khuyến cáo ở trẻ em dưới 5 tuổi	Có	Không
Giá thành	Rẻ	Đắt tiền

Quantiferon TB Gold Plus

Nguyên lý: Đo nồng độ IFN-gamma do T-cell tiết ra khi tiếp xúc kháng nguyên đặc hiệu của *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 và CFP-10

Mitogen – Positive Control

Low response may indicate inability to generate IFN- γ

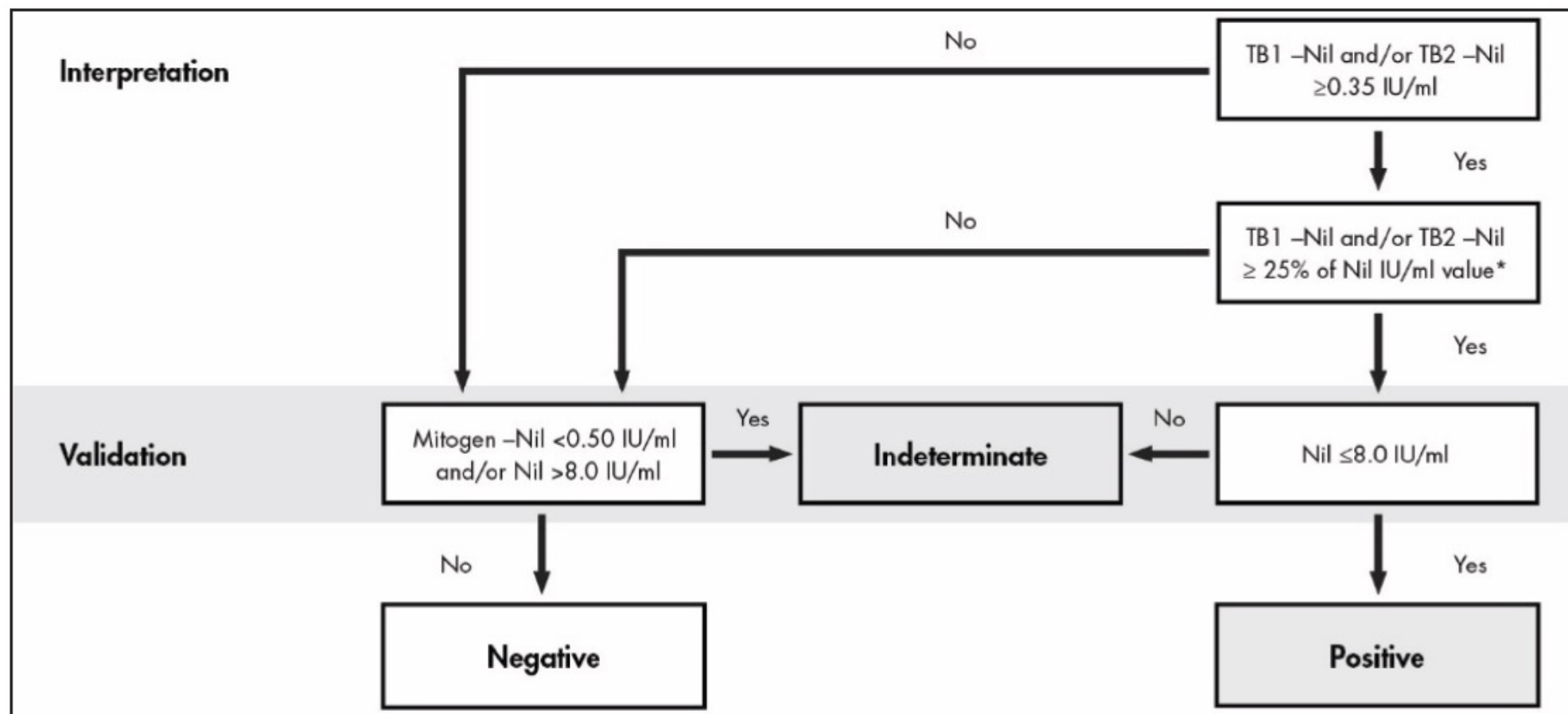
Nil – Negative Control

Adjusts for background IFN- γ

TB1 – Primarily detects CD4 T cell response

TB2 – Optimized for detection of CD4 and CD8 T cell responses





* For TB1 minus Nil or TB2 minus Nil to be valid, amount $\geq 25\%$ of Nil IU/ml value must be from the same tube as the original ≥ 0.35 IU/ml result.

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus Result	Report/Interpretation
≤8.0	≥0.35 and ≥ 25% of Nil value	Any	Any	Positive†	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	Any	≥0.35 and ≥ 25% of Nil value			
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	≥0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.5	Indeterminate‡	Likelihood of <i>M.</i> <i>tuberculosis</i> infection cannot be determined
>8.0§	Any			Indeterminate‡	Likelihood of <i>M.</i> <i>tuberculosis</i> infection cannot be determined

Tình huống thực tế

Tên xét nghiệm	Kết quả xét nghiệm
Quantiferon-TB Gold Plus	
Nil (IU/mL)	0.08
TB1 - Nil (IU/mL)	0.08
TB2 - Nil (IU/mL)	0.04
Mit - Nil (IU/mL)	> 10

Tình huống thực tế

Tên xét nghiệm	Kết quả xét nghiệm
Quantiferon-TB Gold Plus	
Nil (IU/mL)	> 10
TB1 - Nil (IU/mL)	0.13
TB2 - Nil (IU/mL)	-0.12
Mit - Nil (IU/mL)	0.04

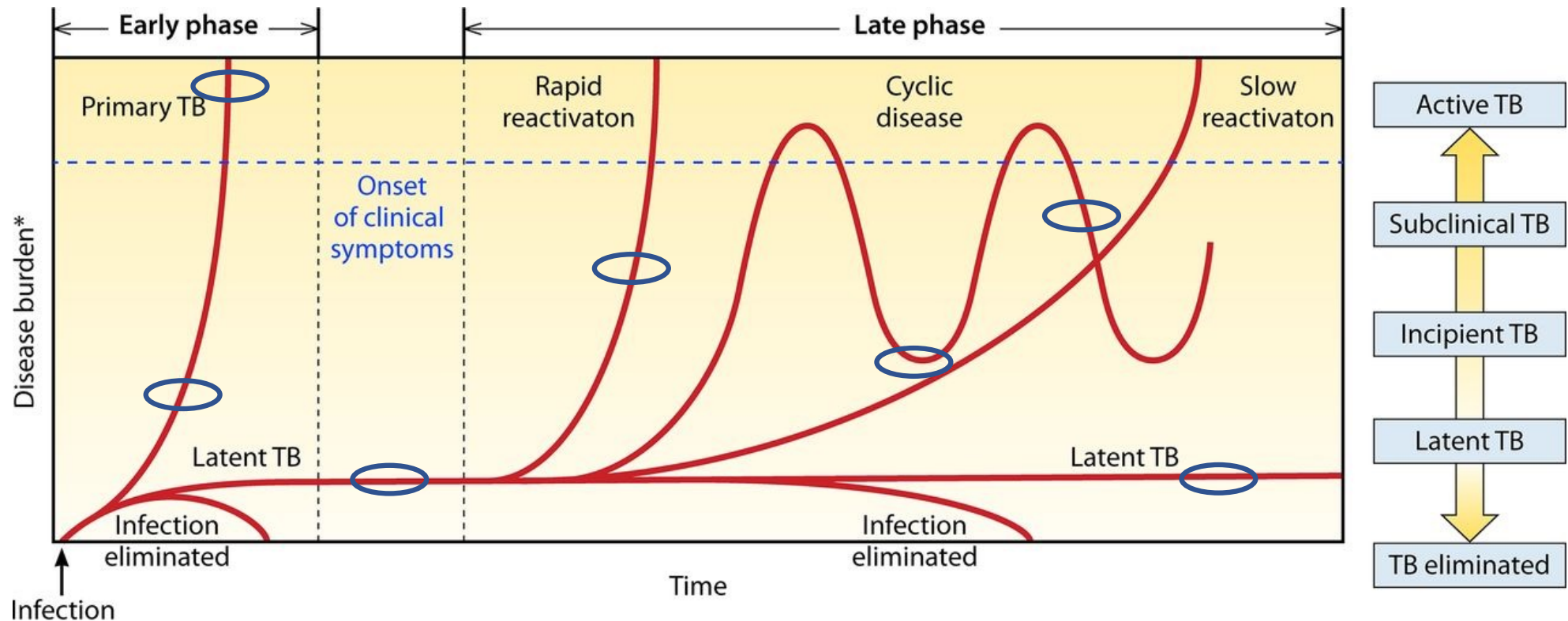
3 lần xét nghiệm tiếp theo (mỗi lần cách nhau 3 tháng) đều có kết quả “indeterminate”

Tình huống thực tế

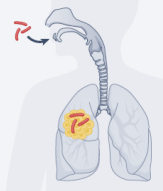
Tên xét nghiệm	Kết quả xét nghiệm
Quantiferon-TB Gold Plus	
Nil (IU/mL)	0.25
TB1 - Nil (IU/mL)	0.63
TB2 - Nil (IU/mL)	0.48
Mit - Nil (IU/mL)	9.04

Có phải là lao tiềm ẩn không? Có cần điều trị lao tiềm ẩn không?

DIỄN TIẾN SAU KHI NHIỄM LAO



PHẢI LOẠI TRỪ BỆNH LAO KHI CHẨN ĐOÁN LAO TIỀM ẨN

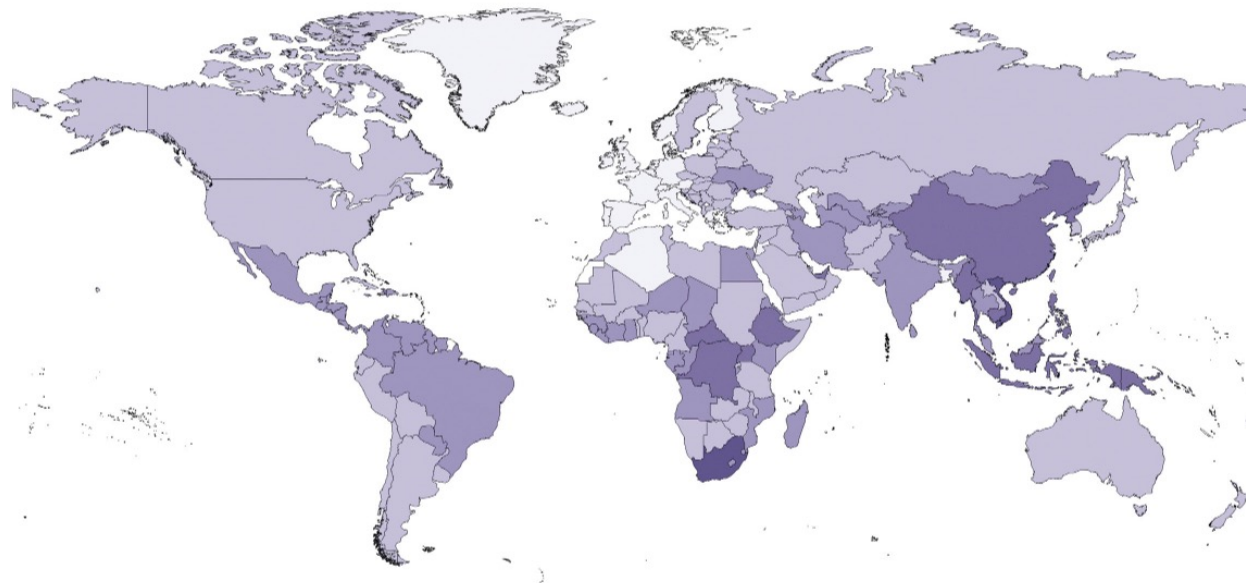
Bio-phenotype	Non-TB ^a	TB infection (MET-A-NAD) ^b	Asymptomatic TB (incipient)	Asymptomatic TB (subclinical)	Symptomatic TB (active TB disease)		Post-TB lung disease
Image	–						
Description of biotype	Unexposed or infection eliminated by innate or adaptive immunity, or cured	Probability of TB infection may be ascertained through several determinants (such as exposure history, smear positivity of transmitting patient, comorbidities in the host)	Incipient TB (microbiologically negative using conventional sampling ^c)	Subclinical TB (microbiologically positive using conventional sampling ^c)	Minimal disease extent	Moderate to extensive disease extent	Lung damage (obstructive airways disease, bronchiectasis, fibrocavitary disease)
Exposure and risk score ^d	Low to variable	Low to variable	Moderate to high	Moderate to high	Moderate to high	Moderate to high	Not applicable
Symptoms	Absent	Absent	Absent	Absent	Present	Present	Absent or present
Signs	Absent	Absent	Absent	Possibly present (e.g. lung crackles)	Present	Present	Absent or present
Microbial burden ^e	None	+	++	+++	++++	+++++	Absent/++
Imaging — chest radiograph	Normal	Normal	Usually normal	Often abnormal (may be normal)	Abnormal	Abnormal	Abnormal
Imaging — CT or PET-CT	Normal	Normal	May be abnormal	Abnormal	Abnormal	Abnormal	Abnormal
TB DNA in sputum or saliva ^f	Negative	Negative	Likely negative	Positive	Positive ^f	Positive ^f	May be positive
TB culture	Negative	Negative	Likely negative	Positive	Positive ^c	Positive ^c	Negative
TB antigen (urine)	Negative	Negative	Negative	Likely negative	Likely negative	Positive	May be positive
IGRA/TST ^g	Likely negative but may be positive	Likely positive but may be negative	Likely positive but may be negative	Likely positive but may be negative	Likely positive but may be negative	Likely positive but may be negative	Likely positive but may be negative
Endotype (biomarker) ^h	No reliable biomarker	Experimental ^h	Yes (transcriptomic signature)	Yes (transcriptomic signature)	Yes (transcriptomic signature)	Yes (transcriptomic signature)	Unclassified
Histopathology ⁱ	Normal	May develop granulomas ⁱ	May develop granulomas ⁱ	Granulomas and necrosis	Granulomas and necrosis	Granulomas and necrosis	Fibrosis, cavitation, airway damage, etc.

Dheda, K. *et al.* Multidrug-resistant tuberculosis. *Nat Rev Dis Primers* **10**, 22 (2024).

LAO TIỀM ẨN NĂM 2019

Prevalence Rate of Latent Tuberculosis Infection
(2019)

- Thế giới: 23.67%
- Việt Nam: 43.75%



Prevalence Rate (%)

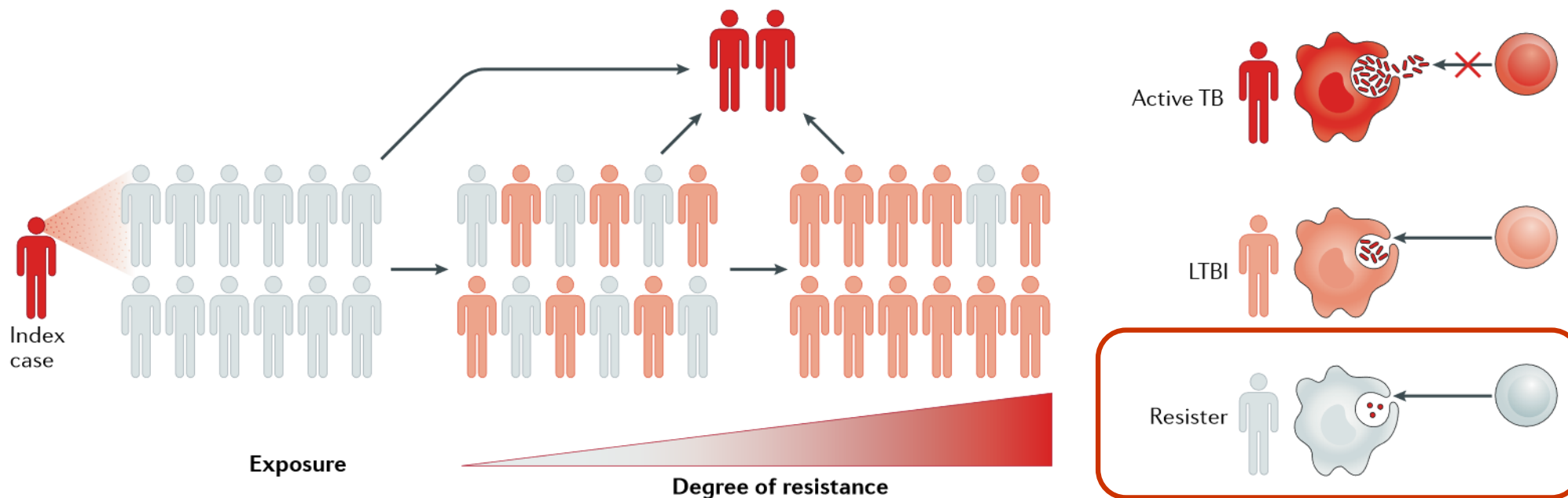


Ding, C., Hu, M., Guo, W., Hu, W., Li, X., Wang, S., Shangguan, Y., Zhang, Y., Yang, S., & Xu, K. (2022). Prevalence trends of latent tuberculosis infection at the global, regional, and country levels from 1990–2019. *International Journal of Infectious Diseases*, 122, 46–62. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.05.029>

Một số nghiên cứu lao tiềm ẩn tại Việt Nam

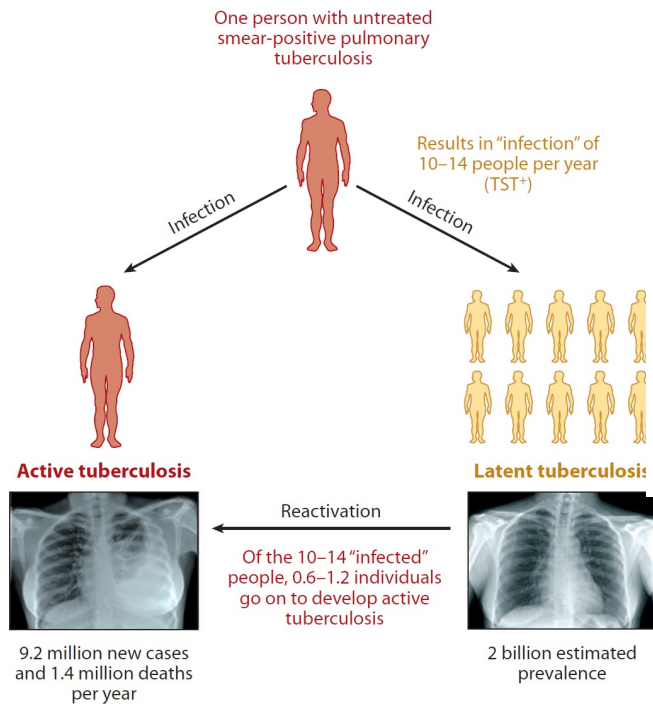
Nghiên cứu	Circulating granulysin levels in healthcare workers and latent tuberculosis infection estimated using interferon-gamma release assays	Prevalence of latent tuberculous infection among adults in the general population of Ca Mau, Viet Nam	Xác định tỷ lệ và yếu tố nguy cơ mắc lao tiềm ẩn của nhân viên y tế tại Bệnh viện Bạch Mai
Năm xuất bản	2016	2018	2022
Dân số nghiên cứu	109 NVYT công tác tại bệnh viện phổi và các tổ chống lao TP Hà Nội	1319 người dân ≥ 15 tuổi tại tỉnh Cà Mau	794 NVYT công tác tại BV Bạch Mai
Phương pháp chẩn đoán lao tiềm ẩn	QuantiFERON-TB Gold In-Tube	QuantiFERON-TB Gold In-Tube	TST
Tỉ lệ lao tiềm ẩn	37.6%	36.8%	44.1%
Tài liệu tham khảo	Thuong, P.H., Tam, D.B., Sakurada, S. et al. BMC Infect Dis 16, 580 (2016). https://doi.org/10.1186/s12879-016-1911-6	Marks GB, Nhung NV, Nguyen TA, et al. Int J Tuberc Lung Dis. 2018;22(3):246-251. doi:10.5588/ijtld.17.0550	Trần Thu Trang, Vũ Văn Giáp, Chu Thị Hạnh (2021), Tạp chí Y học Việt Nam, số 510(2), tr. 96-97

ĐỀ KHÁNG VỚI NHIỄM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*?

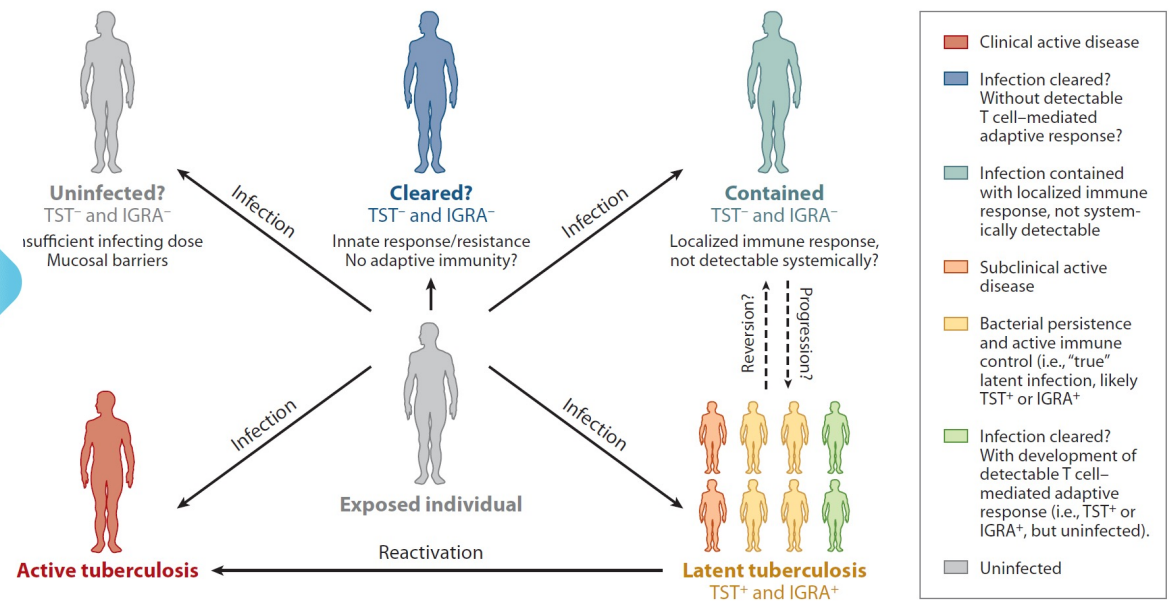


Đề kháng nhiễm lao: những người tiếp xúc lao **nhiều và kéo dài**, nhưng vẫn âm tính kéo dài cho xét nghiệm TST/IGRA.

Quan điểm “cổ điển”



Phổ của nhiễm lao Đa dạng phản ứng của cơ thể đối với nhiễm lao



ĐỀ KHÁNG NHIỄM LAO

RESISTANCE TO MTB INFECTION

Box 1 | Proposed criteria to define the resister phenotype

Resisters (individuals who show resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection despite long-term, intense exposure to the bacillus) are exemplified by the following characteristics:

Extent of exposure to *Mycobacterium tuberculosis*

- Intensity: high bacillary burden of index case (for example, sputum-positive), closed environment (household, mine shafts and so on) and use of validated epidemiological risk scoring^{12,13}
- Duration: cumulative exposures (that is, health-care workers, miners, household contacts or adults with community exposure in hyperendemic areas)

Result of diagnostic tests

- Negative result in both the purified protein derivative (PPD) skin reactivity test and the IFN γ release assay (IGRA)

Durability of responses

- Multiple negative results for the PPD skin reactivity test and the IGRA in the first year following exposure
- Additional longitudinal testing, when available and if exposures persist, to minimize false negative test results and enrich for conversions after cumulative exposure

ĐỀ KHÁNG NHIỄM LAO

RESISTANCE TO MTB INFECTION

Table 1 | Prevalence of the resister phenotype

Exposed population	Length of follow-up	Cumulative resister prevalence (percentage) ^a
<i>Historical purified protein derivative studies</i>		
Sailors sharing berthing compartment with an individual with active TB	>6 months	9/65 (13.8)
Sailors with frequent contact with two individuals with incident TB aboard ship	6–12 months	76/226 (33.7)
Young nursing students working in heavy-burden TB hospital in Norway	3 years	0/1,453
Nursing students at Philadelphia General Hospital (USA) in 1935–1939	3 years	0/637
Nurses training at Boston City Hospital (USA) in 1932–1936	3 years	6/126 (4.8)
University of Minnesota nursing classes graduating in 1932–1935 (before removal of TB ward and installation of infection control)	3 years	16/184 (8.7)
Professional students of Wisconsin General Hospital and Wisconsin State Sanatorium in 1934–1944 (RNs) and 1934–1943 (MDs)	RNs: 3 years MDs: 4 years	RNs: 30/112 (26.8) MDs: 50/283 (17.7)

Jason et al, [Nature Reviews Immunology](#) volume 18, pages 575–589 (2018)

TB resister phenotype:
Đề kháng nhiễm lao:
chiếm 0-34%

- Cường độ tiếp xúc
- Thông khí
- Thời gian tiếp xúc, tần suất tiếp xúc
- Yếu tố miễn dịch, gene của người tiếp xúc
- Chủng vi khuẩn

Đề kháng nhiễm lao: liên quan đến gene và miễn dịch

Type of study	Gene/Locus	Chromosomal region(s)	Phenotype	Population
Candidate gene	<i>ULK1</i>	12q24	TST positivity	Seattle
	<i>SLC6A3</i>	5p15	Persistent TST-	Uganda
	<i>IL10</i>	1q32	TST positivity	Ghana
Genome-wide linkage	<i>GTDC1,ZEB2</i>	2q21-q24*	Persistent TST-	Uganda
		5p13-q22*		
	<i>TST1*</i> [€]	11p14*	TST positivity (cross-sectional)	South Africa
Genome-wide association	<i>TST2*</i> [€]	5p15*	Reactivity (quantitative)	South Africa
	<i>IL9*</i>	5q31*	TST positivity and reactivity	Tanzania and Uganda
		10q26.2	TST and IGRA positivity	South Africa, France, Vietnam
	<i>ABHD6</i>	3p14	RSTR	Uganda
	<i>THRB</i>	3p24-p22		
	<i>LINC01861 ZHX3, LPIN3, KIF6</i>	5q33		
	<i>FAF2</i>	20q12		
		6p21		
		5q35		
	<i>HLA-DRB1, DQB1, and DPB1</i> ^E	6q21	RSTR	Uganda

Catherine M. Stein, Genes Immun. . 2023 Apr 22;24(3):117–123

Tóm tắt

- **Lao tiềm ẩn:** Không triệu chứng – không lây nhiễm, nhưng có nguy cơ tiến triển thành bệnh lao.
- Xét nghiệm **QuantiFERON**: xét nghiệm máu đo phản ứng miễn dịch qua định lượng nồng độ Interferon- γ , không bị ảnh hưởng bởi tiêm BCG.
- **Đề kháng nhiễm lao:** cá nhân tiếp xúc với nguồn lây lao, nhưng không bị nhiễm (TST/IGRA âm tính kéo dài)
- Quá trình nhiễm lao – đề kháng nhiễm lao sau phơi nhiễm là một phổ phản ứng của cơ thể - liên quan miễn dịch và gene: quan trọng cho tìm hiểu cơ chế giúp phát triển vaccine và chiến lược phòng ngừa bệnh.