

C'è ancora la Mantoux nel cassetto dello specialista?

Present role of Mantoux tuberculin skin test

IL PUNTO DI VISTA DELL'INFETTIVOLOGO

Infezione tubercolare latente

Usando un approccio clinico pragmatico, l'infezione tubercolare latente è definita dalla presenza di una risposta immunitaria specifica a *M. tuberculosis* rilevata dal test cutaneo tubercolinico dell'intradermoreazione secondo Mantoux o un saggio di rilascio di IFN- γ (IGRA), in assenza di sintomi e criteri microbiologici e radiologici di tubercolosi attiva^{1,2}.

L'infezione tubercolare latente è definita dalla presenza di risposta immunitaria specifica a *M. tuberculosis* rilevata dal test dell'intradermoreazione tubercolinica secondo Mantoux.

L'infezione tubercolare latente può progredire a malattia tubercolare dopo un declino della risposta immunitaria, come dopo infezione da HIV, malnutrizione, o dopo uso di farmaci immunosoppressori somministrati per un trapianto o per malattie autoimmuni.

Intradermoreazione secondo Mantoux

Caratteristiche del prodotto

Questo test è in uso da circa 100 anni. Consiste nell'iniezione intradermica della tubercolina o proteina purificata derivato (PPD), che induce una risposta di ipersensibilità di tipo ritardato. Il PPD è una miscela grezza di antigeni molti dei qua-

li sono condivisi da *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis Bacillus Calmette Guerin* (BCG) e diverse specie di micobatteri ambientali. La reazione è misurata in "mm" di diametro di indurimento, 48-72 h dopo l'iniezione di antigene^{1,2}.

Caratteristiche della reazione immunologica

Dal punto di vista istologico, il modello classico di infiltrazione cellulare durante una risposta di ipersensibilità di tipo ritardato suggerisce che la migrazione cellulare sia bifasica, che comprende inizialmente un'infiltrazione cellulare non specifica (neutrofilii) che si verifica anche in soggetti non sensibilizzati, e successivamente da una seconda infiltrazione, di tipo specifico, mediata principalmente da cellule T CD4 di memoria con fenotipo CD45RO³.

Cut-off di lettura

In base alla grandezza dell'infiltrato cutaneo, sono stati definiti dei cut-off per definire una reazione positiva tenendo conto di vari fattori, quali la vaccinazione con BCG, la data di esposizione a *M. tuberculosis* (recente verso remota), l'immunocompromissione dovuta a infezione da HIV o a terapia immunosoppressiva⁴. Queste stime sono state fatte basandosi su studi realizzati nel corso di vari decenni ed hanno coinvolto centinaia di migliaia di pazienti nel mondo⁵. Queste analisi sono state poi fondamentali per proporre politiche sanitarie che hanno promosso la terapia preventiva su larga scala con conseguente riduzione della riattivazione della malattia⁵.

Gli IGRA sono stati introdotti solo recentemente e quindi non si è ancora pensato alle possibilità di definire cut-off diversi in base alle caratteristiche del paziente. Al momento è stata proposta solo un'attenzione particolare a risultati che sono all'interno della cosiddetta "zona grigia" (gray-zone)⁶.



Delia Goletti

Unità di Ricerca Traslationale,
Dipartimento di Epidemiologia
e Ricerca Preclinica, Istituto
Nazionale per le Malattie Infettive L.
Spallanzani, Roma



Delia Goletti
Unità di Ricerca Traslationale,
Dipartimento di Epidemiologia
e Ricerca Preclinica,
Istituto Nazionale per le Malattie
Infettive L. Spallanzani
via Portuense, 292
00149 Roma
delia.goletti@inmi.it

Accuratezza diagnostica dell'intradermoreazione secondo Mantoux

Non esiste un gold standard di riferimento per la diagnosi di infezione tubercolare latente poiché non si può isolare il *M. tuberculosis*. Di conseguenza, come surrogato dello standard si usa lo stato di tubercolosi attiva⁷⁻⁸. Diverse metanalisi riportano una sensibilità della Mantoux per diagnosi di malattia attiva intorno al 65-77% ed una specificità del 99% tra i non-BCG-vaccinati e del 96% tra i gruppi a basso rischio BCG-vaccinati⁷⁻⁸. Tuttavia, in una meta-analisi condotta su pazienti arruolati con sospetto di malattia tubercolare, la specificità per TB attiva diminuisce (59-79%)⁷. Questo test quindi non può distinguere tra tubercolosi attiva e infezione tubercolare latente⁷⁻⁹⁻¹⁰.

La Mantoux non può distinguere tra tubercolosi attiva e infezione tubercolare latente.

Per quanto attiene i dati relativi alla possibilità del test di predire lo sviluppo di tubercolosi, si è stimato che il valore predittivo negativo è elevato (99%); diversamente, il valore predittivo positivo, è stato valutato come debole, con un rischio relativo di circa 2-3 considerando sia studi condotti in paesi ad alta che a bassa prevalenza¹¹⁻¹⁵.

Limiti

Sebbene largamente utilizzata, la Mantoux ha alcune limitazioni (Tabella I). Essendo un test immunologico la sua capacità di risposta dipende dalla integrità del sistema immunitario. Quando questa si riduce, si possono avere riduzioni drammatiche di sensibilità come ad esempio in corso di infezione da HIV, o terapie immunosoppressive per trapianto, o insufficienza renale cronica, malattie autoimmunitarie, uso di farmaci biologici²⁻¹⁵⁻¹⁶. Dall'altra parte, la specificità può essere ridotta in caso di esposizione a

micobatteri non-tubercolari (NTM) ed a vaccinazione con BCG anche se, dopo 10 anni, l'effetto della vaccinazione sull'esito della risposta intradermica è limitato¹⁷. Inoltre sono possibili errori sistematici di lettura, non essendo un test automatizzato di laboratorio. Infine il test può essere falsamente negativo in una persona con infezione tubercolare remota, motivo per cui si consiglia la sua ripetizione dopo 20 giorni, almeno nei soggetti che riferiscano test positivi precedenti (effetto booster).

Potenziali benefici da confermare nel tempo

In uno studio prospettico multicentrico condotto recentemente dal TBnet in 17 centri europei su 1537 persone arruolate con immunodeficit di diversa natura si è valutato quale tra i test disponibili per la diagnosi di infezione tubercolare latente avesse la migliore capacità di predire lo sviluppo di TB attiva a 5 anni¹⁵. In questo studio sono stati usati contemporaneamente l'intradermoreazione di Mantoux e i 2 test IGRA. Si è dimostrato che, tra i pazienti con infezione da HIV seguiti nel tempo, l'intradermoreazione di Mantoux aveva il valore predittivo più alto per lo sviluppo di tubercolosi a due anni dopo l'esecuzione del test (3,26 casi/100 persone-anno) rispetto ai test IGRA [T SPOT TB (1,80/100 persone-anno) e QuantiFERON TB Gold In tube (1,37/100 persone-anno)]. Risultati simili sono stati ottenuti dopo 1 e 5 anni di follow-up. Questo studio è molto interessante, ma necessita comunque di essere confermato.

Linee guida Italiane

Recentemente sono state stilate 2 linee guida italiane di aggiornamento delle raccomandazioni sull'attività di controllo della tubercolosi¹⁸⁻¹⁹.

Gestione dei contatti e della tubercolosi in ambito assistenziale

Si raccomanda l'esecuzione dell'intradermoreazio-

Tabella I. Vantaggi e svantaggi dell'uso dell'intradermoreazione di Mantoux.

Intradermoreazione di Mantoux	
Vantaggi	Svantaggi
Standardizzazione del test in base a studi internazionali eseguiti su larga scala in numerose popolazioni seguite nel tempo. In particolare i cut-off del test sono stati definiti in base a: <ul style="list-style-type: none"> • tipo di esposizione (recente o remota) • stato di immunodepressione del paziente • età • comorbilità • contesto lavorativo (in ambiente sanitario) 	False positività per l'influenza di una vaccinazione con Baccillo di Calmète et Guérin o per esposizione a micobatteri non tubercolari
Possibilità di eseguire il test su larga scala senza la necessità di eseguire prelievi di sangue e senza la necessità di coinvolgere laboratori per dare l'esito della risposta	False negatività in caso di immunodeficienze causate da malattie infettive (HIV), o età (minori di 5 anni) o da terapia farmacologica (biologici, immunosoppressori)
Economicità del test rispetto a test IGRA	Reazione booster nel caso di test ripetuti
	Predisposizione ad errori sistematici di lettura non essendo un test di laboratorio

Legenda: HIV: Human Immunodeficiency Virus; IGRA: Interferon release assays.

ne di Mantoux nello screening dei contatti non vaccinati con BCG che siano stati esposti a pazienti con tubercolosi bacillifera. Si definisce il test come positivo qualora si rilevi un infiltrato cutaneo del diametro pari o superiore a 5 mm dopo 48-72 ore dall'inoculazione.

Si raccomanda l'esecuzione dell'intradermoreazione di Mantoux nello screening dei contatti non vaccinati con BCG che siano stati esposti a pazienti con tubercolosi bacillifera.

Negli individui vaccinati con BCG, l'uso dei test IGRA è raccomandato come test di conferma nei pazienti risultati positivi all'intradermoreazione. La negatività del test IGRA può essere considerata indicativa di assenza di infezione tubercolare anche in presenza di positività dell'intradermoreazione di Mantoux¹⁸.

Prevenzione della tubercolosi negli operatori sanitari e soggetti ad essi equiparati

Negli operatori sanitari si conferma la raccomandazione di eseguire l'intradermoreazione di Mantoux. Si puntualizza che l'utilizzo esclusivo dei test IGRA, se disponibili, può essere valutato se il gruppo in esame ha alti tassi di vaccinazione con BCG o se sono attesi alti tassi di positività all'intradermoreazione di Mantoux¹⁹.

Conclusioni

L'intradermoreazione di Mantoux è in uso da circa 100 anni. Pur presentando dei limiti di accuratezza (in termini di specificità e sensibilità) e di esecuzione (per la riproducibilità), è importante avere la consapevolezza che questo test è stato valutato nel corso degli anni in numerose popolazioni seguite nel tempo portando ad una standardizzazione del test^{4,5}. Sono stati stabiliti cut-off in base al tipo di esposizione (recente o remota), allo stato di immunosoppressione del paziente (infezione da HIV, immunodeficit indotti da terapia con biologici per malattie autoimmunitarie o da immunosoppressori per trapianto), all'età (popolazione pediatrica)^{2,15,16,20,21}.

Pur presentando limiti di accuratezza ed esecuzione la Mantoux è stata valutata in numerose popolazioni seguite nel tempo portando ad una standardizzazione del test.

Le informazioni sui test IGRA sono numerose, ma non ancora organizzate in modo sistematico come è stato possibile fare nel corso dei decenni scorsi per il test cutaneo. Inoltre l'intradermoreazione di Mantoux può essere eseguita in popolazioni numerose, secondo alcuni studi, in termini probabilmente più

economici rispetto agli IGRA²². Non comporta l'esecuzione di prelievi di sangue e l'organizzazione logistica di spedire il prelievo ad una struttura esterna (un laboratorio).

In conclusione, in base a quanto riportato, l'intradermoreazione di Mantoux ha ancora un posto significativo nel cassetto dello specialista.

Bibliografia

- Mack U, Migliori GB, Sester M, et al. *TBI: latent tuberculosis infection or lasting immune responses to M. tuberculosis? A TBNET consensus statement*. Eur Respir J 2009;33:956-73.
- Goletti D, Sanduzzi A, Delogu G. *Performance of the tuberculin skin test and interferon- γ release assays: an update on the accuracy, cutoff stratification, and new potential immune-based approaches*. J Rheumatol Suppl 2014;91:24-31.
- Sarrazin H, Wilkinson KA, Andersson J, et al. *Association between tuberculin skin test reactivity, the memory CD4 cell subset, and circulating FoxP3-expressing cells in HIV-infected persons*. J Infect Dis 2009;199:702-10.
- Horsburgh CR Jr. *Priorities for the treatment of latent tuberculosis infection in the United States*. N Engl J Med 2004;350:2060-7.
- Lobue P, Menzies D. *Treatment of latent tuberculosis infection: an update*. Respirology 2010;15:603-22.
- Pai M, Joshi R, Dogra S, et al. *T-cell assay conversions and reversions among household contacts of tuberculosis patients in rural India*. Int J Tuberc Lung Dis 2009;13:84-92.
- Sester M, Sotgiu G, Lange C, et al. *Interferon-gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis*. Eur Respir J 2011;37:100-1.
- Pai M, Zwerling A, Menzies D. *Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update*. Ann Intern Med 2008;149:177-84.
- Goletti D, Carrara S, Butera O, et al. *Accuracy of immunodiagnostic tests for active tuberculosis using single and combined results: a multicenter TBNET-Study*. PLoS One 2008;3:e3417.
- Goletti D, Vincenti D, Carrara S, et al. *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;12:13116.
- Rangaka MX, Wilkinson KA, Glynn JR, et al. *Predictive value of interferon-gamma release assays for incident active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis*. Lancet Infect Dis 2012;12:45-5.
- Zellweger JP, Sotgiu G, Block M, et al. *TBNET. Risk assessment of tuberculosis in contacts by interferon- γ release assays (IGRAs). A TBNET study*. Am J Respir Crit Care Med 2015;191:1176-84.
- Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. *Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis*. Eur Respir J 2011;37:88-99.
- Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. *Predictive value of interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for progression from latent TB infection to disease state*. Chest 2012;142:63-75.
- Sester M, van Leth F, Bruchfeld J, et al; TBNET. *Risk assessment of tuberculosis in immunocompromised patients. A TBNET study*. Am J Respir Crit Care Med 2014;190:1168-76.
- Bumbacea D, Arend SM, Eyuboglu F, et al. *The risk of tuberculosis in transplant candidates and recipients: a TBNET consensus statement*. Eur Respir J 2012;40:990-1013.

- ¹⁷ Farhat M, Greenaway C, Pai M, et al. *False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria?* Int J Tuberc Lung Dis 2006;10:1192-1204.
- ¹⁸ http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1661_allegato.pdf
- ¹⁹ http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1221_allegato.pdf
- ²⁰ Bartalesi F, Vicidomini S, Goletti D, et al. *QuantiferON-TB Gold and the TST are both useful for latent tuberculosis infection screening in autoimmune diseases.* Eur Respir J 2009;33:586-93.
- ²¹ Antonucci G, Girardi E, Raviglione MC, et al. *Risk factors for tuberculosis in HIV-infected persons. A prospective cohort study. The Gruppo Italiano di Studio Tuberculosis e AIDS (GISTA).* JAMA 1995;274:143-8.
- ²² Steffen RE, Caetano R, Pinto M, et al. *Cost-effectiveness of Quantiferon®-TB Gold-in-Tube versus tuberculin skin testing for contact screening and treatment of latent tuberculosis infection in Brazil.* PLoS One 2013;8:e59546.

IL PUNTO DI VISTA DELLO PNEUMOLOGO

Ricordo ancora quando, appena iniziata la mia frequenza da specializzando al Policlinico di Modena, chiesi allo specialista al quale ero stato affidato di poter somministrare un test cutaneo tubercolinico ad un paziente. Il buon Dr. Fontana, modenese DOC, mi rispose: “Vede Dr. Ferrara, lei con noi imparerà che la Mantoux è una filosofia” – “Come una filosofia..? La medicina moderna è basata su prove solide e riproducibili...come può essere una filosofia?”. Rimasi un po' perplesso, ma imparai presto che interpretare una Mantoux non era semplice; di lì a poco, i *Centers for Disease Prevention and Control* americani pubblicarono le “Millennium guidelines” sull'uso del test tubercolinico e sul trattamento dell'infezione tubercolare latente (ITBL). Il documento, che contava tra gli autori mostri sacri come George Comstock e Michael Iseman, chiariva in maniera cristallina come l'obiettivo dell'intervento doveva essere la riduzione del rischio di progressione in malattia attiva, sulla base di un'attenta e puntuale valutazione del rischio del singolo paziente ¹.

Il documento modulava i cut-off del test tubercolinico sulla base del rischio di riattivazione tubercolare in specifiche popolazioni di pazienti: i gruppi a più alto rischio venivano considerati “positivi” a 5 mm di indurimento cutaneo, mentre quelli a più basso rischio sarebbero stati trattati solo con un test con almeno 15 mm di indurimento, in modo da ottimizzare la specificità del test, notoriamente non eccezionale. Questo approccio era possibile grazie alle informazioni ottenute da grossi studi di popolazione sulla trasmissione dell'infezione tubercolare che stabilivano i paradigmi del rischio connesso alle infezioni recenti e l'efficacia del trattamento preventivo con isoniazide ^{2,3}. Il peso di altri fattori di rischio poteva poi essere som-

mato al rischio di base proveniente dall'infezione tubercolare ⁴.

I test diagnostici basati sul rilascio dell'interferone- γ (o *interferon- γ release assay*, IGRA) sono stati introdotti più di 10 anni fa nella pratica clinica ed hanno riscosso un grosso successo commerciale, grazie soprattutto alla loro semplicità di esecuzione ed al fatto di essere sicuramente dotati di una migliore specificità rispetto al test tubercolinico ⁵. Punto di forza degli IGRA è l'uso di peptidi tubercolari ricombinanti prodotti in laboratorio abitualmente non sintetizzati dal Bacillo di Calmette e Guérin (BCG) e dalla maggior parte dei micobatteri non tubercolari (NTM) ⁶. Semplicità d'uso, livello tecnologico superiore e risposta chiara e semplice da interpretare sembrerebbero offrire la chiave per mandare in pensione la complicata “filosofia” della Mantoux e di ottimizzare interventi accurati ed efficaci per l'ITBL.

Esistono oggi prove schiacciati della superiorità degli IGRA sulla Mantoux? Purtroppo no, questo non è giustificato dai dati e dalla qualità degli studi disponibili.

Esistono oggi prove schiacciati della superiorità degli IGRA sulla Mantoux? Il mio parere è, purtroppo, che questa conclusione non sia giustificata dai dati e soprattutto dalla qualità degli studi disponibili. Due grossi problemi nel disegnare studi di confronto di diagnostici per l'ITBL sono rappresentati dal fatto che non esista un gold standard di infezione (se non si consideri come tale la Mantoux) e che l'efficacia di ogni intervento diagnostico-terapeutico debba essere valutata su un evento a bassa frequenza, cioè la progressione da ITBL a malattia tubercolare conclamata. È noto che solo il 5-10% dei soggetti con un'infezione recente svilup-



Giovanni Ferrara

Department of Respiratory Disease and Allergy, Karolinska University Hospital Solna, Dept. of Medicine, Karolinska Institutet, Stoccolma, Svezia, Dipartimento di Medicina Interna, Università di Perugia, Perugia



Giovanni Ferrara
Lung Allergi Kliniken
Karolinska Universitetssjukhuset Solna
17176 Stoccolm, Sweden
giovanni.ferrara@ki.se