

介紹檢測潛在結核感染的第四代 QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) 的干擾素 γ 釋放試驗 (IGRA)

【高雄榮總微生物科 陳綺鄉 摘評】

全球估計有四分之一的人口感染結核分枝桿菌，其中5%至10%的人終其一生進展為活動性結核病(TB)，為實現2035年結核病發病率減少90%的策略目標，世界衛生組織(world health organization, WHO)建議對高風險群體進行潛伏性結核菌感染(latent tuberculosis infection, LTBI)的測試和預防性治療。這些群體包括：HIV感染的同住者、活動性TB病人的家庭接觸者、以及開始免疫療法、接受透析或準備器官移植的病人。廣泛測試LTBI是實現目標的重要條件。

潛伏性結核菌感染(LTBI)是無傳染性、無症狀的，結核菌會潛伏在已受感染病人身上數月，甚至數年才發病。及早診斷和治療可以大幅降低病人發展成活動性結核病的風險。然而，目前對於LTBI診斷並沒有黃金標準，市場上有兩種測試LTBI的選擇，包括傳統結核素皮膚試驗(TST)和最近的干擾素 γ (IFN- γ)

釋放試驗(interferon-gamma release assay, IGRAs)。IGRAs是一種體外的血液測試，它量測受*M. tuberculosis* 抗原刺激全血中的T細胞所分泌的干擾素 γ ，加以定量測定個案是否感染結核菌之技術。相較於TST的優點是IGRAs不會與卡介苗疫苗(BCG)和非結核分枝桿菌發生交叉反應 [*M. kansasii* (*Mycobacterium kansasii*)、*M. szulgai* (*Mycobacterium szulgai*) 和 *M. marinum* (*Mycobacterium marinum*) 例外]。但IGRAs與TST皆有一些局限性，包括兩者皆不能可靠地區分LTBI和活動性TB，兩者在免疫受損病人的敏感性皆降低，且對於進展為活動性TB的陽性預測值均不高。此外，IGRAs在低風險族群，尤其是低風險的醫護人員，其特異性較低且變異性較大。

檢測IGRAs最廣泛使用的是QuantiFERON和T-SPOT.TB。近來第四代QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)獲得美國FDA批准，用

來替代第三代 QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) 試劑，本篇著重在第四代 QFT-Plus 的探討。

QFT-Plus 是一種檢測全血的酵素免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)，測量 T 細胞對 ESAT-6 和 CFP-10 抗原的干擾素 γ 反應。結果以每毫升國際單位 (IU) 表示。QFT-Plus 試劑共有四管抽血管，比前代 QFT-GIT 僅針對 CD4 T 細胞反應還多一管，分別為陰性對照 (nil) 管，用於測量背景干擾素 γ 反應，一個陽性對照管，用於測量抗原獨立的 T 細胞反應，TB1 抗原管內含 ESAT-6 和 CFP-10 抗原，主要檢測 CD4 T 細胞反應，TB2 抗原管內含 ESAT-6 和 CFP-10 及短鏈肽 (MHC class I) 的抗原，用於檢測 CD4 和 CD8 T 細胞反應。TB1 抗原管與 QFT-GIT TB 抗原管作用相同，只是 QFT-Plus 缺少 TB7.7 抗原，但新增 CD8 T 細胞反應，目的在擴大對 *M. tuberculosis* 抗原的免疫反應，希望提高 *M. tuberculosis* 感染敏感性，特別是在接觸者、免疫受損者和年幼兒童。活動性結核病人，相較於潛伏性結核感染個案，發現抗原特異性 CD8 T 細胞產生的干擾素 γ 和其他細胞激素更頻繁被偵測到。同樣在與結核病人近距離接觸的族群中也有相同的情況。報告還指出，增加的結核桿菌量也會產生更強的 CD8 T 細胞反應。文獻指出，特別是在 5 歲以下兒童中活動性結核病與結核曝露之間可以透

過 CD8 T 細胞反應的強度區分。在 HIV 共感染者中，即使在 CD4 細胞計數較低的個案中也觀察到對 CD8 T 細胞有反應。然而，除了這些潛在的優點外，QFT-Plus 測試需多抽一管血液管和額外的 ELISA 檢測孔，與 QFT-GIT 相比，減少了測試通量，增加每次測試與人力成本。因此，QFT-Plus 的改良對於臨床性能是否相對提高變得格外引起重視。

在這篇小型綜述中，作者使用 PubMed 電子數據庫進行文獻檢索，收集至 2019 年 12 月的文獻，比較有關 QFT-Plus 與 QFT-GIT 的新興文獻。總結兩種方法在活動性結核病人、高風險病人和低風險個案中的性能，藉以獲得兩種試劑的準確評估。

比較 QFT-Plus 對 QFT-GIT 在活動性結核病人中的敏感性，皆使用微生物學和臨床參考標準，均在成年病人中進行研究，只有一項兒科研究，而且 HIV 共感染和免疫受損條件病人的文獻很少。

整體來說，這些研究顯示兩者之間的敏感性差異並不顯著（範圍為 85% 至 100%），敏感性的差異範圍在 -4.0% 至 2.0% 之間。

從定量結果看，QFT-GIT 中的 IFN- γ 反應（TB 抗原減去空白抗原）比 QFT-Plus 的 TB1 或 TB2 抗原減去空白抗原高得多。可能是由於 QFT-Plus 中抗原的改變所致，及 QFT-Plus 中去除 TB7.7 抗原也可能造成 TB1 和 TB2 管中的反應較低。此外，

在一些研究中，TB2 管的陽性率和 IFN- γ 水平的中位數都比 TB1 管高，這可能是由於 TB2 管中激發了 CD8 及 CD4 T 細胞的原因。有些報告還指出，在缺乏對 TB1 的反應的情況下，對 TB2 抗原呈現單獨的反應。

QFT-Plus 在 HIV 和結核病共感染患者中的敏感性，在尚比亞進行的研究顯示，HIV 陽性的活動性結核病人中，QFT-Plus 的敏感性為 85%。雖然這項研究沒有直接與 QFT-GIT 直接的比較，但作者認為，在同一環境中的早期研究中，QFT-GIT 的敏感性為 63%，因此認為 QFT-Plus 在 HIV 共感染患者中具有更高的敏感性。該研究還顯示，在 HIV 感染者中，隨著 CD4 T 細胞計數的減少，陽性率也會下降。因此，儘管 QFT-Plus 在 HIV 陽性的結核病人中似乎有提高敏感性，但仍需要更多研究，並根據 CD4 T 細胞計數進行調整，以準確展現 QFT-Plus 在這族群中的更高敏感性。

在斯威士蘭的一項小型研究，也顯示 QFT-Plus 和 QFT-GIT 在兒童活動性結核病人的敏感性相同。

QFT-Plus 和 QFT-GIT 在高風險人群中檢測 LTBI 的表現。研究涵蓋高風險族群，包括活動性結核病人的密切接觸者、來自高風險國家的移民、免疫受損個案（如 HIV 感染者、接受器官或造血幹細胞移植的病人、免疫治療病人、5 歲以下兒童和住院者）。總體而言，除了一項研究外，

其他所有研究均顯示兩個測試之間存在顯著的一致性 ($\geq 93.7\%$)，Kappa 系數值為 0.80 至 0.91。QFT-Plus 與 QFT-GIT 在檢測 LTBI 方面的敏感性相當，大多數不一致的結果是由於 TB 反應接近測試臨界值範圍 (0.2 至 0.7 IU/ml)。唯一的兒科研究中，對有家庭 *M. tuberculosis* 暴露的 46 名兒童進行的研究顯示，兩者的一致性為 96%，陽性率相同。有研究報告指出，QFT-Plus 的陽性率比 QFT-GIT 高了 $\geq 10\%$ ；但是，TB1 和 TB2 的陽性率是相同的。

在 QFT-Plus 中 TB2 和 TB1 之間的干擾素 - γ 反應差，被一些研究學者當作 CD8 T 細胞反應的指標。他們將 TB2 TB1 差異差大於或等於 0.6 IU/ml 視為 CD8 T 細胞反應的閾值。一些研究利用這種方法顯示 CD8 T 細胞反應與曝露強度、與接觸密切程度以及感染時間的接近有關聯。然而，其他研究未能重現這些發現。這部分原因可能在於 TB1 抗原也通過 I 型主要組織相容性複合物抗原呈進引起 CD8 T 細胞反應。需要進一步的研究證明 TB2 TB1 差異是否可以作為 CD8 T 細胞反應的準確測量。

比較 QFT-Plus 和 QFT-GIT 在低風險族群中的特異性。低風險人群包括沒有或低風險接觸結核病的健康成年人和在結核病發病率低的醫療環境中的醫護人員。兩者的特異性相當。有一項研究顯示，QFT-Plus 的特異性不受兩種最常見的非結核分枝桿菌

(*M. avium* 複合體和 *M. abscessus*) 感染影響。

有 626 名沒有 LTBI 風險因素的醫護人員中，QFT-Plus 的陽性率為 3.0%，而 QFT-GIT 的陽性率為 2.1%，在低風險醫護人員中，QFT-Plus 和 QFT-GIT 的結果在質和量上一致。於偽陽性率上高於 TST，CDC 最近撤回對低風險醫護人員使用 IGRAs 進行結核病篩查的建議。

影響 IGRA 變異性的因素分為分析前、分析中、分析後和免疫。過去多對 QFT-GIT 變異性進行大量的研究，這些可能也適用於 QFT-Plus。另外 Agarwal 研究 QFT-Plus 採血方法的變異性。發現當血液直接在 QFT-Plus 管中採集 (plus-direct)，或單獨採血管中採集，再分裝到 QFT-Plus 管中 (plus-transfer) 的結果有差異。直接在 QFT-Plus 管中採集的陽性率為 12%，而單獨採血管採集再分裝到 QFT-Plus 管的陽性率為 17%。兩者之間的一致性為 85% (kappa 係數 0.37； $P < 0.001$)。此發現凸顯在接受長期測試的個案需要一致的採血方法的重要性。

對於 QFT-Plus 陽性結果對潛伏感染轉變為活動性結核病的預測價值尚未有相關研究發表。儘管 QFT-Plus 推出時表示增加 CD8 T 細胞反應可以提高性能，但兩者在結核病人、高風險群體和低風險群體中的研究並未顯示性能有顯著改善。另外在免疫受損個體和兒童，需要進一步研究，以

確定 QFT-Plus 在這些群體中的實際性能。

【譯者評】

QFT-Plus 是已獲得美國 FDA 核准的新一代干擾素 γ 釋放試驗，具有激活 CD8 T 細胞的能力，比 QFT-GIT 增加從 T 細胞亞群中收集到更廣泛的反應。開發目的是改善對潛伏性結核感染的檢測，特別是在最近接觸過結核病人、免疫受損者和年幼兒童。

此篇文獻指出，目前的研究文獻並不支持 QFT-Plus 在活動性結核病人和潛伏性結核感染病人中表現卓越的性能。在活動性結核病人中，兩者之間的敏感性在所有研究中差異並不顯著。在高危人群中，兩者之間的一致性在 89.9% 至 96.0%。對於低風險人群，QFT-Plus 的特異性略低於 QFT-GIT。2022 年 Yuzhen Xu [2] 研究指出在長期接受免疫抑制劑治療病人，QFT-Plus 可能比 QFT-GIT 更能檢測到潛伏性結核感染。

台灣疾管署自 2008 年開始推動 LTBI 治療，目前針對 2 歲（含）以上的接觸者提供干擾素 γ 釋放試驗做為潛伏結核感染檢驗工具，自 2021 年也由 QFT-GIT 升級使用 QFT Plus，此文提供檢驗同仁參考 [3]。

參考文獻

1. Shafeque A, Bigio J, Hogan CA, et al: Fourth-generation quantiFERON-TB gold plus: What is the evidence? J Clin Microbiol 2020;58:e01950-19

2. Xu Y, Yang Q, Zhou J, et al: Comparison of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold-plus in the diagnosis of mycobacterium tuberculosis infections in immunocompromised patients: A real-world study. *Microbiol Spectr* 2022; 10:e0187021.
3. QIAGEN (2023, 9月)。QFT-Plus 試劑包裝說明書。摘自 file:///C:/Users/user/Downloads/HB-3304-010_R10_1132999_IFU_QF-TB_GoldPlus_BCT_0923_FDA_FINAL_ZHTW.pdf