

ZAKLJUČNO POROČILO

*o rezultatih internega raziskovalnega projekta UKC Maribor
za obdobje od 18. 9. 2020 do 17. 9. 2023*

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta:	IRP-2020/01-02	
Naslov projekta:	UVEDBA IN VREDNOTENJE NOVEGA AVTOMATIZIRANEGA QUANTIFERONSKEGA TESTA ZA OPREDELITEV LATENTNE TUBERKULOZE	
Vodja projekta:	doc. dr. Evgenija HOMŠAK, mag. farm.	
Trajanje projekta (leta, od-do):	3 leta	18. 9. 2020 - 17. 9. 2023
Velikost projekta	<input checked="" type="checkbox"/> mali (do 10.000,00 EUR)	<input type="checkbox"/> veliki (do 50.000,00 EUR)

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

1. Poročilo o realizaciji predloženega programa raziskovalnega projekta - opis raziskave (izhodišča, predstavitev problema, metode dela), ugotovljeni rezultati in uporaba (*največ do 3 strani*)

Tuberkuloza (TB) je infektivna bolezen, ki jo povzroča bakterija *Mycobacterium tuberculosis* in se manifestira predvsem s prizadetostjo pljuč. Incidenca (5,5 / 100.000) v Sloveniji zaradi učinkovitega programa cepljenja sicer sodi med najnižje v svetu in še upada. Vendar pa zaradi izrazitih migracijskih tokov in prisotnosti kontaktov z ljudmi iz držav z večjo ogroženostjo in obolevnostjo tovrstna diagnostika bolezní še zmeraj predstavlja velik pomen in izziv. Bolezen se prenaša s kapljično okužbo. Stik posameznika z bolnikom aktivne oblike TB ima lahko različne posledice. Odvisno od imunskega sistema posameznika, oseba lahko zbolí za aktivno boleznijo, nikoli ne razvije bolezní, je prenašalec bolezní, vendar ne zbolí, ali pa okužba poteka asimptomatsko in persistira več let v obliki latentne TB (LTB).

Za LTB je značilno da se bakterija po okužbi ne razmnožuje in tudi ne povzroča bolezní ali z boleznijo povezanih simptomov. V tej obliki se tudi ne prenaša na osebe v stiku. Približno četrtina svetovne populacije ima LTB infekcijo. Vendar le določen delež bolnikov z LTB (10%) kasneje lahko zbolí in razvije akutno obliko TB, ki omogoča širjenje okužbe.

LTB predstavlja veliko tveganje predvsem za kronične bolnike in bolnike z oslabiljenim imunskim sistemom, kot so bolniki na terapiji z imunosupresivi ali biološkimi zdravili. Zaradi primarne bolezní in slabšega imunskega odziva je pri teh bolnikih razvoj aktivne bolezní iz LTB lahko pogostejši ali v povezavi z dodatnimi zapletí. Zato je prepoznava LTB pomembna za oceno njihove ogroženosti, nadaljnje obravnave in spremljanja.

Quantiferonski test je pomemben presejalni test za opredelitev bolnikov z LTB. Omogoča kompleksno določitev aktivnosti limfocitov (Ly) T4 in LyT8 pri tvorbi INF- γ , ključnega citokina pri imunskem odzivu bolnikov z LTB. Do sedaj v praksi uvedeni testi so temeljili le na ročnih ELISA metodah, ki zahtevajo kompleksno analizo in interpretacijo 4 vzorcev/bolnika in delo v serijah.

V preteklem letu pa je prišlo do razvoja nove, avtomatizirane metode za določitev QTF na analizatorju Liaison, firme DiaSorin, ki ob uporabi ustreznih algoritmov omogoča hitrejšo, sprotno določitev, z manjšo možnostjo napak, ki so značilne za ročne metode.

Predstavitev problema: Quantiferonski test se je do sedaj izvajal le v laboratorijih zunaj UKC Maribor (Klinika Golnik, IMI Ljubljana), kar je zahtevalo daljši čas od naročila do dobljenih

rezultatov ter večje stroške za izvedbo testa. Prav tako se je v obeh institucijah izvajal test le z ročno ELISA metodo. Dodaten problem je predstavljal tudi transport vzorcev, ki ob neustreznih pogojih (čas, temperatura) lahko močno vpliva tudi na pravilnost rezultata.

Nova avtomatizirana metoda QFT na obstoječem analizatorju Liaison, firme DiaSorin, ki bi se izvajala v hormonskem laboratoriju UKC Maribor, bi imela številne prednosti, ne le v povezavi z nižjimi stroški izvedbe, temveč bi omogočala sprotno določanje in hitro dostopnost do rezultatov, ker določitev ni vezana na delo v seriji kot pri ELISA. Prav tako bi v primerjavi z ročnim ELISA testom zmanjšali možnost tveganja napak pri izračunu in vrednotenju rezultatov. Ta avtomatiziran test je nov na tržišču, zato je njegova evaluacija v vsakdanji praksi zelo pomembna tudi za širšo mednarodno strokovno javnost. Možnost določanja QFT v lastni instituciji pa prinaša tudi možnost širjenja znanja, pridobivanja lastnih izkušenj in novih dognanj na tem področju.

Za bolnike s kroničnimi boleznimi (dializni bolniki, diabetični bolniki, bolniki z avtoimunskimi boleznimi, ki so na terapiji z biološkimi zdravili) je značilno, da so zaradi oslabiljenega imunskega sistema tudi izpostavljeni večjemu tveganju za življenjsko ogrožajoče dogodke in smrt. Prisotnost okužbe s TBC to tveganje še povečuje, tudi če gre le za asimptomatsko obliko LTB, saj so ti bolniki izpostavljeni tudi večjemu tveganju, da se aktivna bolezen TB, tudi zaradi oslabiljenega imunskega sistema/odziva, v kasnejšem obdobju razvije. Zato je opredelitev in presejalno testiranje teh bolnikov za prisotnost LTB toliko večjega pomena.

Prav tako je pomembno testiranje oseb, ki so bile v stiku z okuženo osebo, ki je razvila aktivno obliko TBC. Na ta način bi lahko pregledali in spremljali morebitne stike/poti okužbe in potencialne bolnike s LTB.

Med ogroženo populacijo, ki ima lahko tudi LTB, sodi zdravstveno osebje, ki prihaja lahko v neposreden ali posreden stik z bolnikom ali njegovim biološkim materialom (sputum, brisi).

Namen naše raziskave je:

- Namen naše naloge je bil uvesti novo avtomatizirano metodo za določitev QFT na analizatorju Liaison, firme DiaSorin in jo primerjati z obstoječo in uveljavljeno ELISA metodo.
- Proučili smo prevalenco LTB pri kroničnih diabetičnih, dializnih bolnikih in pri bolnikih namenjenih za zdravljenje z biološkimi zdravili. Na ta način smo lahko opredelili tudi njihovo tveganje za razvoj aktivne TBC oziroma za drugačno obravnavo teh bolnikov v kolikor bi bila LTB potrjena (spremljanje in napotitev na dodatne preiskave ob prisotnih znakih).
- Pri skupini bolnikov z aktivno obliko TBC smo določili diagnostično občutljivost in specifičnost QFT. S tem smo tudi opredelili diagnostično vrednost QFT in namen/pomen njegovega določanja.
- Ob pridobljenih rezultatih je pomemben cilj tudi uvedba smernic za uporabo QFT v UKC Maribor.

Metode dela

V raziskavo smo vključili populacijo (okvirno 2000) oseb, obeh spolov in različnih starosti: 30 zdravih oseb (asimptomatskih-zdravstveno osebje), 65 oseb, ki so prišle v stik z obolelimi za TBC (potencialne LTB), 16 obolelih z akutno obliko TBC, 80 diabetičnih bolnikov, 80 dializnih bolnikov, 1000 bolnikov na zdravljenju z biološkimi zdravili (pred uvedbo zdravljenja): iz gastroenterološkega oddelka, revmatološki bolniki dermatološki bolniki, iz očesnega oddelka ter bolnike (800) drugih oddelkov (infekcijski, nevrološki, pediatrični, pljučni oddelek).

Vključene osebe smo seznanili z raziskavo in pridobili njihovo privolitvev sodelovanja v raziskavi.

Preiskovanci na posameznih oddelkih so bili klinično pregledani, pri čemer so se beležili vsi morebitni klinični znaki, ki bi morda nakazovali možnost okužbe s TBC ali drugo bakterijo/virusom. V primeru suma na okužbo s TBC se je v okviru rednih pregledov izvedel tudi pregled pljuč z RTG in odvzem kužnin na določitev prisotnosti TBC.

Skupina bolnikov z akutno obliko TBC je bila diagnosticirana/potrjena v skladu s protokolom: klinični pregled, odvzem kužnin (sputum, vzorec odvzet z bronhoskopijo) in določitev *Mycobacterium Tuberculosis* s PCR ter RTG pljuč.

Vsem preiskovancem smo v sklopu rednih preiskav dodatno odvzeli kri za določitev QFT v ta namen

ustrezne epruvete (4 za vsakega preiskovanca, skupaj 4 ml krvi), ki vsebujejo TBC antigen kot aktivator in stimulator imunskega odziva limfocitov T4 in T8. Odvzemi bodo potekali v UKC Maribor: na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko, na Oddelku za pljučne bolezni, na Oddelku za dializo in na Oddelku za endokrinologijo.

Analize (meritve QFT in vrednotenje rezultatov) odvzetih vzorcev so potekale v Hormonskem laboratoriju na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor. Po ustrezni inkubaciji (37° C) in hranjenju (4° C v roku do 28 dni) smo meritve opravili na analizatorju Liaison XL, DiaSorin.

Za 100 preiskovancev so bile izvedene tudi primerjave vzporednih meritev QFT z ELISA metodo na Kliniki za pljučne bolezni Golnik, ki že potekajo v sklopu rutinskih preiskav.

Rezultati:

Dobljene rezultate smo statistično ovrednotili s pomočjo MedCalc statističnega programskega orodja; določili primerljivost nove metode QFT z obstoječo ELISA metodo, določili prevalenco pozitivnega QFT v posamezni specifični populaciji preiskovancev in diagnostično specifičnost in občutljivost QFT pri skupini bolnikov z akutno TBC. Ugotovili smo, da je najvišja prevalenca pozitivnega QFT v populaciji pljučnih bolnikov (24%), sledi nefrološki-dializni bolniki (19,5%), bolniki z diabetesom oz. endokrinološki kronični bolniki (16%), ter bolniki z revmatološkimi in dermatološkimi obolenji pred uvedbo terapije z biološkimi zdravili (pri obeh skupinah je bil delež pozitivnih 11,1%).

Pri skupini bolnikov z aktivno tuberkulozo je bil pričakovani najvišji delež pozitivnih bolnikov (68%), pri čemer je bil delež pozitivnih QFT pri posameznikih, ki so prišli v stik z obolelimi za TBC, 15,4%.

Na osnovi opravljenih primerjav z ELISA metodo smo ugotovili primerljivost in ustreznost nove avtomatizirane metode (ujemanje v 94%). Tako smo s 1.7. 2021 pričeli z rutinskim izvajanjem QFT v našem laboratoriju za potrebe oddelkov iz UKC Maribor. Vključili smo se tudi v zunanjo oceno kakovosti, ki kaže na ustreznost (pravilnost in točnost) naše metode in izvedbe testa v vseh do sedaj opravljenih ocenah.

Na osnovi sprejetih smernic se QFT rutinsko izvaja pri vseh bolnikih s sumom na TBC ali pri potencialnih stikih s TBC, ter pred uvedbo bioloških zdravil.

Analizo dobljenih rezultatov smo ob prvotno zastavljenih ciljih tako dodatno razširili na širšo populacijo hospitaliziranih in ambulantno obravnavanih bolnikov v UKC Maribor, ki so bili obravnavani zaradi namena odkrivanja TBC ali potencialne okužbe (latentne tuberkuloze).

Rezultate smo predstavili širši strokovni javnosti

- na Strokovnem srečanju Slovenskega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino, Maribor, junij 2022
HOMŠAK, Evgenija. *Quantiferonski test in njegov pomen : predavanje na strokovnem srečanju Slovenskega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko diagnostiko v organizaciji Oddelka za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor, Jarenina pri Pesnici, 2. junij 2022.* [COBISS.SI-ID [113147651](#)]
- na Izobraževanju za laboratorijske strokovnjake iz različnih področij (klinična biokemija, transfuziologija, patologija), iz UKC Maribor in okolice, Maribor, december 2022

2. Ocena stopnje realizacije in zastavljenih raziskovalnih ciljev (obkrožite)

x DA NE


Če je odgovor NE, napišite kratko utemeljitev

3. Pridobitev za UKC Maribor - doktorska disertacija, članek, prispevek na znanstveni konferenci/simpoziju ali kongresu, patent, uvedba novih dejavnosti, smernic in metod ali izboljšanje že obstoječih itd. (največ do 1 stran)

Doktorska disertacija, magistrska naloga, raziskovalna naloga, specialistična naloga:
Objavljeni članki: V pripravi sta dva članka za objavo v mednarodni reviji
<p>Novе metode, smernice, dejavnosti: Uvedba nove metode določanja QFT v rutinsko diagnostiko. S sprotnim avtomatiziranim določanjem je omogočen hitri dostop do rezultatov, ki pomembno prispevajo k obravnavi obolelih s TBC, potencialno okuženih oseb (stiki s TBC), ter bolnikov, ki sodijo v skupino bolnikov z visokim tveganjem oz. s kroničnimi boleznimi (dializni bolniki, diabetični bolniki, bolniki z avtoimuskimi boleznimi, ki so na terapiji z biološkimi zdravili). Z izvajanjem QFT v lastni inštituciji je zmanjšano tudi tveganje za predanalitične napake (neustrezen transport, hranjenje), ki so v preteklosti lahko vodile do nepravilnih rezultatov.</p> <p>Pridobljene izkušnje v lastni ustanovi krepijo tudi odmevnost UKC Mb v širšem nacionalnem in mednarodnem strokovnem prostoru. V Sloveniji smo namreč prvi, ki smo uvedli avtomatizirano metodo določitve QFT.</p> <p>Na osnovi opravljene reziskave smo dobili pomemben vpogled v pogostnost latentne tuberkuloze pri različni populaciji bolnikov in na ta način hkrati uvedli pomemben presejalni test pred uvedbo bioloških zdravil.</p>
<p>Prispevki (konference, srečanja, kongresi, simpoziji): Rezultati so bili predstavljeni slovenski strokovni javnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> na Strokovnem srečanju Slovenskega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko medicino, Maribor, junij 2022 HOMŠAK, Evgenija. <i>Quantiferonski test in njegov pomen : predavanje na strokovnem srečanju Slovenskega združenja za klinično kemijo in laboratorijsko diagnostiko v organizaciji Oddelka za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor, Jarenina pri Pesnici, 2. junij 2022.</i> [COBISS.SI-ID 113147651] na Izobraževanju za laboratorijske strokovnjake iz različnih področij (klinična biokemija, transfuziologija, patologija), iz UKC Maribor in okolice, Maribor, december 2022

4. Sumaričen prikaz ciljev projekta (obvezno izpolnite!)

	Doktorat, magisterij, raziskovalna ali specialistična naloga	Objavljeni članki	Novе metode, smernice, dejavnosti	Prenos znanja (konference, srečanja, kongresi, simpoziji)
(DA/NE)	NE	NE	DA	DA
Število			2	2

Datum: 15.10.2023	Podpis vodje projekta: 
----------------------	---

Izpolni Oddelek za znanstveno-raziskovalno delo

REALIZACIJA PROJEKTA

- CILJI IZPOLNJENI V CELOTI
- CILJI DELNO IZPOLNJENI
- CILJI NISO IZPOLNJENI

Porabljena sredstva (v EUR):

Pregledal in ocenil predstojnik OZRD:

Podpis: _____

Datum: _____