

Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc
Zakład Mikrobiologii



Dagmara Borkowska-Tatar

Ewaluacja testu QuantiFeron TB-Gold Plus w diagnozowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i poszukiwanie nowych alternatywnych biomarkerów

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. n. med. Ewa Augustynowicz-Kopeć

Promotor pomocniczy: dr n. med. Anna Zabost

Praca wykonana w Zakładzie Mikrobiologii

Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc

Kierownik Zakładu Mikrobiologii: prof. dr hab. n. med. Ewa Augustynowicz-Kopeć

Warszawa 2025

Podziękowania

Serdeczne podziękowania kieruję do mojej Promotor, Pani Prof. dr hab. n. med. Ewy Augustynowicz-Kopeć, za nieocenioną opiekę naukową, merytoryczne wskazówki oraz zaangażowanie w powstanie niniejszej rozprawy.

Szczególne wyrazy wdzięczności składam Pani dr n. med. Annie Zabost, mojej Promotor Pomocniczej, za liczne sugestie, życzliwość oraz nieustanne wsparcie na każdym etapie przygotowania pracy.

Dziękuję Panu Prof. dr hab. n. wet. Michałowi Czopowiczowi za pomoc w opracowaniu analiz statystycznych oraz za wartościowe uwagi, które znacząco przyczyniły się do ostatecznego kształtu rozprawy.

Pragnę również serdecznie podziękować Pani dr hab. n. med. Marii Korzeniewskiej-Kosele, prof. IGiChP oraz Pracownikom Zakładu Epidemiologii i Organizacji Walki z Gruźlicą za życzliwość i pomoc w analizie danych Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę, które miały istotne znaczenie dla przeprowadzenia analizy badawczej.

Słowa podziękowania kieruję także do moich Koleżanek z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc za pomoc, życzliwość oraz codzienne wsparcie w trakcie przygotowywania pracy.

SKRÓTY	7
1 WSTĘP	11
1.1 Gruźlica: podstawowe fakty i wyzwania zdrowotne	11
1.1.1 Aktualna sytuacja epidemiologiczna gruźlicy	12
1.1.1.1 Gruźlica na świecie	12
1.1.1.2 Gruźlica w Regionie Europejskim	13
1.1.1.3 Gruźlica w Polsce	15
1.2 Przebieg zakażenia <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
1.2.1 Pierwszy punkt interakcji - tchawica i oskrzela	18
1.2.2 Drugi i trzeci punkt interakcji – oskrzeliki i pęcherzyki płucne	19
1.2.3 Czwarty punkt interakcji - ziarniniak gruźliczy	20
1.3 Rola cytokin w immunologicznej odpowiedzi na zakażenie prątkiem gruźlicy	21
1.3.1 Wczesne mediatory reakcji zapalnej w płucach	22
1.3.2 Pośrednie mediatory reakcji zapalnej w węzłach chłonnych i płucach	23
1.3.3 Późne mediatory reakcji zapalnej w płucach	24
1.4 Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy oraz dwie koncepcje zakażenia <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	25
1.5 Porównanie dostępnych metod diagnostycznych latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy	27
1.5.1 Próba tuberkulinowa	28
1.5.2 Testy IGRA – szczególna rola testu QuantiFeron	29
1.5.3 Inne testy IGRA i innowacje w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy	30
1.5.4 Nowe testy skórne	31
1.5.5 Rekomendacje Światowej Organizacji Zdrowia dotyczące diagnostyki latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy	32
1.6 Poszukiwanie biomarkerów rozróżniających latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej gruźlicy	33
2 CEL PRACY	35
3 MATERIAŁY	36
3.1 Charakterystyka trzech grup pacjentów biorących udział w badaniu	36
3.2 Pobieranie krwi i przygotowanie próbek osocza do testów IGRA	37

3.3	Przygotowanie próbek osocza do oznaczenia stężeń 20 białek za pomocą systemu Bio-Plex 200.....	37
4	METODY	38
4.1	Test QuantiFeron-TB Gold Plus	38
4.2	Test Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus	42
4.3	System Bio-Plex 200 w oznaczeniu stężeń cytokin.....	43
4.4	Metodyka statystyczna.....	45
5	WYNIKI	49
5.1	Ewaluacja testu QuantiFeron-TB Gold Plus stosowanego w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy.....	49
5.1.1	Kryteria kwalifikacji pacjentów do analizy testu QuantiFeron-TB Gold Plus.....	49
5.1.1.1	Charakterystyka epidemiologiczna 712 pacjentów, z podziałami na wiek i płeć	50
5.1.2	Analiza wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus.....	51
5.1.2.1	Wyniki testu QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od płci i wieku pacjentów	51
5.1.2.2	Zależność między wynikiem testu QuantiFeron-TB Gold Plus, a zgłoszeniem gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę	52
5.1.2.3	Ryzyko zachorowania na gruźlicę w zależności od wyniku testu QuantiFeron-TB Gold Plus.....	53
5.1.2.4	Charakterystyka 125 chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę, u których wykonano test QuantiFeron-TB Gold Plus	54
5.1.2.5	Analiza wartości IFN- γ w próbkach antygenowych TB1 i TB2 testu QuantiFeron-TB Gold Plus u dzieci i dorosłych.....	56
5.1.2.6	Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus	57
5.1.2.6.1	Analiza oparta o krzywą ROC w celu określenia optymalnej wartości granicznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus	57
5.1.2.6.2	Zastosowanie testu QuantiFeron-TB Gold Plus jako badania przesiewowego w kierunku latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy	59
5.1.2.6.3	Analiza oparta o krzywą ROC w celu ustalenia optymalnej wartości granicznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus u dzieci i dorosłych	60
5.2	Porównanie testów QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus.....	63
5.2.1	Częstość występowania wyników dodatnich uzyskanych dwoma testami QuantiFeron w grupie 269 pacjentów.....	63
5.2.2	Zgodność pomiędzy wynikami dwóch testów QuantiFeron	64

5.2.3	Analiza poziomów IFN- γ jako wartości TB _{max} w testach QuantiFeron.....	64
5.2.4	Wyznaczenie nowej wartości granicznej dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus	65
5.3	Poszukiwanie biomarkerów różnicujących latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby	67
5.3.1	Charakterystyka kliniczna 145 pacjentów objętych analizą profili cytokinowych	67
5.3.2	Analiza stężeń 20 cytokin w probówkach TB1 i TB2 po wykonaniu testu QuantiFeron-TB Gold Plus.....	68
5.3.3	Zależność pomiędzy stężeniami cytokin, a chorymi na gruźlicę i latentnie zakażonymi prątkiem gruźlicy z dodatnimi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus	70
5.3.3.1	<i>Potencjał dyskryminacyjny wybranych cytokin, w różnicowaniu gruźlicy od latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy.....</i>	<i>71</i>
5.3.3.2	<i>Stworzenie modelu diagnostycznego do odróżniania gruźlicy od latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy.....</i>	<i>72</i>
5.3.3.2.1	<i>Porównanie trafności diagnostycznej stworzonego modelu z pojedynczymi cytokinami IL-7 lub IFN-γ.....</i>	<i>72</i>
5.3.4	Zależność pomiędzy stężeniami cytokin, a statusem pacjenta – porównanie chorych na gruźlicę i zdrowych osób z ujemnym testem QuantiFeron-TB Gold Plus	74
6	DYSKUSJA.....	76
6.1	Ocena testu QuantiFeron-TB Gold Plus w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy	76
6.2	Porównanie dwóch testów IGRA QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus	85
6.3	Nowe biomarkery różnicujące latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby.....	88
7	WNIOSKI	95
8	PUBLIKACJE AUTORKI, PREZENTACJE WYNIKÓW ZWIĄZANYCH Z PRACĄ.....	96
9	STRESZCZENIE	104
10	ABSTRACT	106
11	SPIS TABEL.....	108
12	SPIS RYCIN	111

13	PIŚMIENNICTWO	113
14	ANEKSY	145
14.1	Dane dotyczące 712 pacjentów u których wykonano test QuantiFeron-TB Gold Plus.....	145
14.2	Dane dotyczące 269 pacjentów u których wykonano QuantiFeron-TB Gold Plus i Liason QuantiFeron-TB Gold Plus.....	163
14.3	Dane dotyczące 145 pacjentów u których poszukiwano nowych biomarkerów, które odróżnią latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby	170

SKRÓTY

- AIDS (ang. *Acquired Immune Deficiency Syndrome*) zespół nabytego niedoboru odporności
- ALF (ang. *Alveolar Lining Fluid*) surfaktant wyścielający pęcherzyki płucne
- AM (ang. *Alveolar Macrophages*) makrofagi pęcherzykowe
- APC (ang. *Antigen-Presenting Cells*) komórki prezentujące antygen
- AT (ang. *Alveolar Epithelial Type Cell*) komórki nabłonka pęcherzyków płucnych
- AUROC (ang. *Area Under the ROC Curve*) pole pod krzywą ROC
- BALf (ang. *Bronchoalveolar Lavage Fluid*) popłuczyny pęcherzykowo–oskrzelikowe
- BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*)
- BK (ang. *Bacillus Koch*)
- CFP-10 (ang. *Culture Filtrate Protein*) antygen *Mycobacterium tuberculosis*
- CLIA (ang. *Chemiluminescent Immunoassay*) metoda chemiluminescencyjna
- COVID-19 (ang. *Coronavirus Disease 2019*)
- DC (ang. *Dendritic Cells*) komórki dendrytyczne
- DOR (ang. *Diagnostic Odds Ratio*) diagnostyczny iloraz szans
- DTH (ang. *Delayed Type Hypersensitivity*) reakcja zapalna typu późnego
- ECDC (ang. *European Centre for Disease Prevention and Control*) Europejskie Centrum do Spraw Zapobiegania i Kontroli Chorób
- ELFA (ang. *Enzyme-Linked Fluorescent Assay*)
- ELISA (ang. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) metoda immunoenzymatyczna
- ELISpot (ang. *Enzyme-Linked Immunospot Assay*)
- ESAT-6 (ang. *Early Secreted Antigenic Target 6*) antygen *Mycobacterium tuberculosis*
- FDA (ang. *Food and Drug Administration*) Agencja Żywności i Leków
- FIA (ang. *Fluorescence Immunoassay*)
- GD (ang. *Green Diluent*) zielony rozcieńczalnik stosowany w teście QFT-Plus
- G-MCSF (ang. *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) czynnik pobudzający kolonie makrofagów
- GZOMR gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
- HCW (ang. *Healthcare Workers*) pracownicy ochrony zdrowia

- HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*) ludzki wirus nabytego niedoboru odporności
- IFN- γ interferon-gamma
- IGRA (ang. *Interferon Gamma Release Assay*) test uwalniania interferonu gamma
- IL interleukina
- IP (ang. *Interaction Point*) punkt interakcji
- IP-10/CXCL10 (ang. *Interferon γ -Induced Protein 10 kDa*) białko indukowane przez interferon gamma
- IQR (ang. *Interquartile Range*) zakres międzykwartylowy
- ITB (ang. *Incipient TB Infection*) początkowa gruźlica
- Komórki M (ang. *Microfold Cells*)
- Kompleks MHC klasy I (ang. *Major Histocompatibility Complex*)
- KRG Krajowy Rejestr Zachorowań na Gruźlicę
- krzywa ROC (ang. *Receiver Operating Characteristic Curve*)
- LFA (ang. *Lateral Flow Assay*) technika przepływu bocznego
- Liaison QFT-Plus test Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus
- LLOQ (ang. *Lower Limit of Quantification*) wyniki poniżej granicy oznaczalności
- LR+ / LR - (ang. *Positive/Negative Likelihood Ratio*) iloraz wiarygodności wyniku dodatniego/ujemnego
- LTBI (ang. *Latent Tuberculosis Infection*) latentne zakażenie prątkiem gruźlicy
- MAIT (ang. *Mucosal-Associated Invariant T Cells*) limfocyty T związane z błoną śluzową
- ManLAM mannozylowany lipoarabinomannan
- MCP-1/CCL2 (ang. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*) białko chemotaktyczne dla monocytów
- MDR-TB (ang. *Multi Drug Resistant Tuberculosis*)
- MFI (ang. *Median Fluorescence Intensity*) wartości fluorescencji
- MIG/CXCL9 (ang. *Monokine Induced by Interferon-Gamma*) monokina indukowana przez interferon-gamma
- MIP-1 α /CCL3 (ang. *Macrophage Inflammatory Protein-1 Alpha*) białko zapalne makrofagów- 1 alfa
- MIP-1 β /CCL4 (ang. *Macrophage Inflammatory Protein-1 Beta*) białko zapalne makrofagów- 1 beta

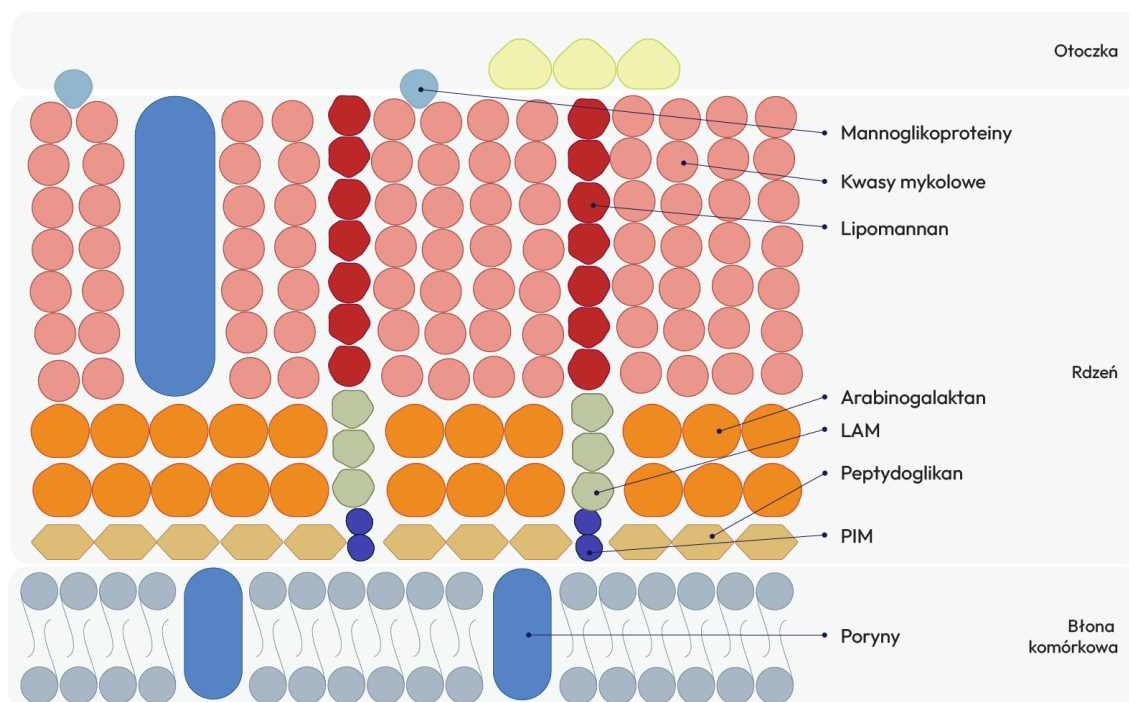
- NALT/BALT (ang. *Nasal-Associated Lymphoid Tissue and Bronchus-Associated Lymphoid Tissue*) tkanka limfatyczna nosa i oskrzeli
- NK (ang. *Natural Killers*)
- NN nieznany
- NPV (ang. *Negative Predictive Value*) wartość predykcyjna wyniku ujemnego
- NTM (ang. *Nontuberculous Mycobacteria*) prątki niegruźlicze
- OD (ang. *Optical Density*) gęstość optyczna
- ONZ Zgromadzenie Ogólne Organizacji Narodów Zjednoczonych
- PAMP (ang. *Pathogen Associated Molecular Patterns*) wzorce molekularne związane z drobnoustrojami
- POCHP przewlekła obturacyjna choroba płuc
- PPD (ang. *Purified Protein Derivative*) oczyszczona pochodna białkowa, tuberkulina
- PPV (ang. *Positive Predictive Value*) wartość predykcyjna wyniku dodatniego
- PRR. (ang. *Pathogen-Recognition Receptors*) receptory rozpoznające patogen
- PU przedział ufności
- QFT test QuantiFeron-TB
- QFT-G test QuantiFeron-TB Gold
- QFT-GIT test QuantiFeron-TB Gold In-Tube
- QFT-Plus test QuantiFeron-TB Gold Plus
- RANTES/CCL5 (ang. *Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*) białko regulowane przez aktywację, ekspresja i wydzielanie przez prawidłowe limfocyty T
- Raport SDG (ang. *The Sustainable Development Goals Report*)
- RD1 (ang. *Region of Diference 1*) region genomu *Mycobacterium tuberculosis*
- RLU (ang. *Relative Light Units*)
- RR (ang. *Relative Risk*) ryzyko względne
- r_s współczynnik korelacji rang Spearmana
- RT23 (ang. *Renset Tuberculin*) referencyjna tuberkulina
- RT-qPCR (ang. *Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction*) reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją
- Se (ang. *Sensitivity*) czułość diagnostyczna
- Sp (ang. *Specificity*) swoistość diagnostyczna
- SP-A i SP-D (ang. *Surfactant Protein*) białka surfaktantu płucnego

- System ESX-1 (ang. *ESAT-6 secretion system-1*)
- TB (ang. *Tuberculosis*) gruźlica
- TB1 i TB2 próbówki z antygenami *Mycobacterium tuberculosis* stosowane w teście QFT-Plus
- TB7.7 antygen *Mycobacterium tuberculosis*
- TB_{max} najwyższy pomiar poziomu IFN- γ lub innej cytokiny z 2 próbek antygenowych TB1 lub TB2 testu QFT-Plus
- TBST (ang. *Tuberculosis Antigen-Based Skin Tests*) nowe testy skórne
- TCR (ang. *T-Cell Receptor*) receptor na błonie limfocytów T CD4+ i CD8+
- TDM dwumykolan trehalozy
- TGF- β (ang. *Transforming Growth Factor β*) transformujący czynnik wzrostu beta
- TNF- α (ang. *Tumor Necrosis Factor*) czynnik martwicy nowotworów
- TPT (ang. *TB Preventive Therapy*) profilaktyczne leczenie
- TST (ang. *Tuberculin Skin Test*) skórna próba tuberkulinowa
- UE Unia Europejska
- ULOQ (ang. *Upper Limit of Quantification*) wyniki powyżej granicy oznaczalności
- WHO (ang. *World Health Organization*) Światowa Organizacja Zdrowia
- xMAP (ang. *Multi-Analyte Profiling*)

1 WSTĘP

1.1 Gruźlica: podstawowe fakty i wyzwania zdrowotne

Gruźlica (ang. *Tuberculosis*, TB) jest chorobą zakaźną wywołaną przez bakterie należące do kompleksu *Mycobacterium tuberculosis*. Ze względu na charakterystyczną, unikalną budowę ściany komórkowej prątków, bogatą w kwasy mykolowe (Ryc.1), stanowi ona istotną barierę dla wielu leków utrudniając ich przenikanie do wnętrza komórki bakteryjnej. Z tego powodu chemioterapia przeciwprątkowa jest procesem długotrwałym i złożonym [1, 2, 3].



Rycina 1. Schemat budowy ściany komórkowej prątków (wg Kleinnijenhuis i wsp. [3], zmodyfikowano)

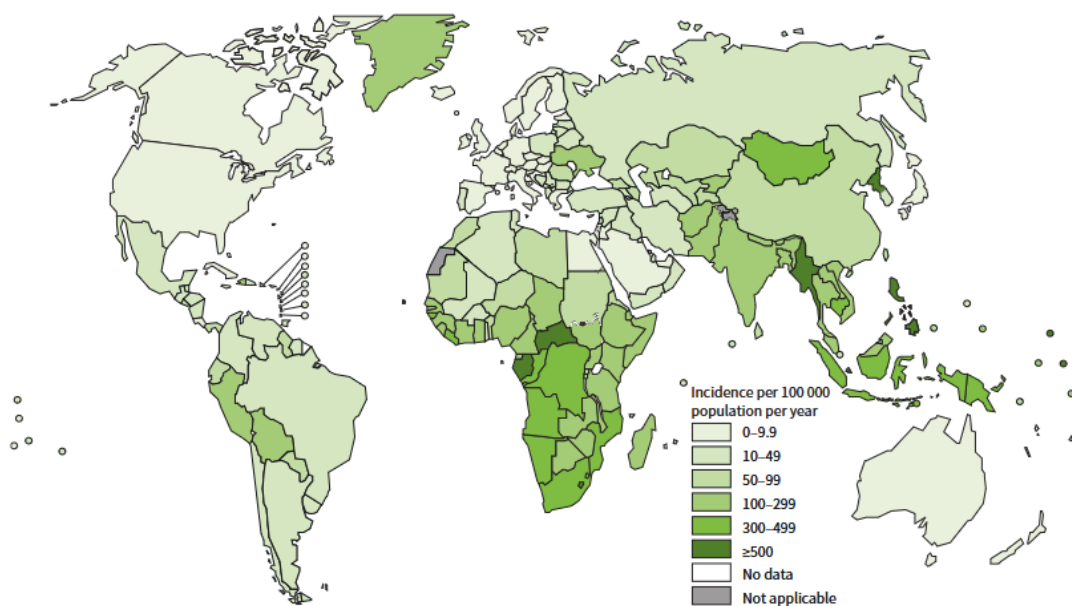
Bardzo wolna replikacja prątka, jego interakcje z układem odpornościowym gospodarza oraz zdolność do przetrwania w stanie latencji stanowią poważne wyzwania w globalnych działaniach na rzecz eliminacji gruźlicy [1, 4, 5, 6]. Transmisja prątków drogą aerogenną skutkuje pierwotnym zakażeniem układu oddechowego, niemniej jednak drobnoustroje mogą rozprzestrzeniać się do węzłów chłonnych, opon mózgowych oraz układu moczowo-płciowego, prowadząc do postaci pozapłucnych gruźlicy. Pomimo nieustannych działań w zakresie kontroli i zapobiegania gruźlicy, pozostaje ona istotnym problemem zdrowia publicznego na całym świecie [5, 6]. Dotyka głównie ubogie i niedożywione populacje w gęsto zaludnionych obszarach, co zwiększa ryzyko

transmisji. Choroba może pogłębić ubóstwo poprzez zwiększenie kosztów życia, ograniczyć możliwości uzyskania dochodów oraz spowodować stygmatyzację oraz dyskryminację społeczną [7, 8, 9]. Ogłoszona w 2015 roku strategia „End TB” Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) wyznaczyła cele, jakimi były zmniejszenie współczynnika zachorowalności na gruźlicę i liczby zgonów oraz kosztów ponoszonych przez chorych i ich gospodarstwa domowe [10]. W 2020 roku realizację tych celów przerwała pandemia COVID-19 (ang. *Coronavirus Disease 2019*), która ograniczyła dostęp do opieki zdrowotnej. Kryzys gospodarczy, niestabilność polityczna oraz masowe migracje ludności negatywnie wpływają na funkcjonowanie systemów ochrony zdrowia, co pośrednio oddziałuje również na strategię walki z gruźlicą [11]. W 2023 roku podczas Zgromadzenia Ogólnego Organizacji Narodów Zjednoczonych (ONZ), którego współgospodarzem była Polska, ustalono globalne cele w zakresie finansowania profilaktyki gruźlicy, opieki nad chorymi i badaniami nad nowymi szczepionkami. Kluczowe zobowiązania mają na celu poprawę powszechnego dostępu do diagnostyki, leczenia i prewencji gruźlicy, z celem dotarcia do 90% osób dotkniętych lub zagrożonych gruźlicą do 2027 roku [12, 13]. Obecnie ambitne założenia WHO zakładają zmniejszenie zachorowalności o 90%, a umieralności o 95% do 2035 roku [11]. Osiągnięcie celu zakończenia globalnej epidemii gruźlicy wymaga pilnych działań, a realizacja zobowiązań podjętych przez wszystkie państwa członkowskie ONZ i WHO będzie monitorowana i oceniona w 2028 roku [12, 13 14, 15].

1.1.1 Aktualna sytuacja epidemiologiczna gruźlicy

1.1.1.1 Gruźlica na świecie

W 2023 roku gruźlica, po trzech latach pandemii COVID-19, ponownie stała się główną przyczyną zgonów na świecie spowodowanych pojedynczym czynnikiem zakaźnym [12]. Każdego roku na gruźlicę choruje ponad 10 milionów osób, a liczba zachorowań rośnie od 2021 roku, przekraczając poziomy notowane przed pandemią. Zgodnie z szacunkami WHO w 2023 roku na świecie zgłoszono 8,2 mln nowo zdiagnozowanych przypadków gruźlicy, znacznie więcej niż w 2022 roku (7,5 miliona) i w 2021 roku (6,4 miliona). Rzeczywista liczba nowych zachorowań na gruźlicę wynosiła 10,8 mln, a globalna zapadalności osiągnęła poziom 134 na 100 000 osób [12, 14].



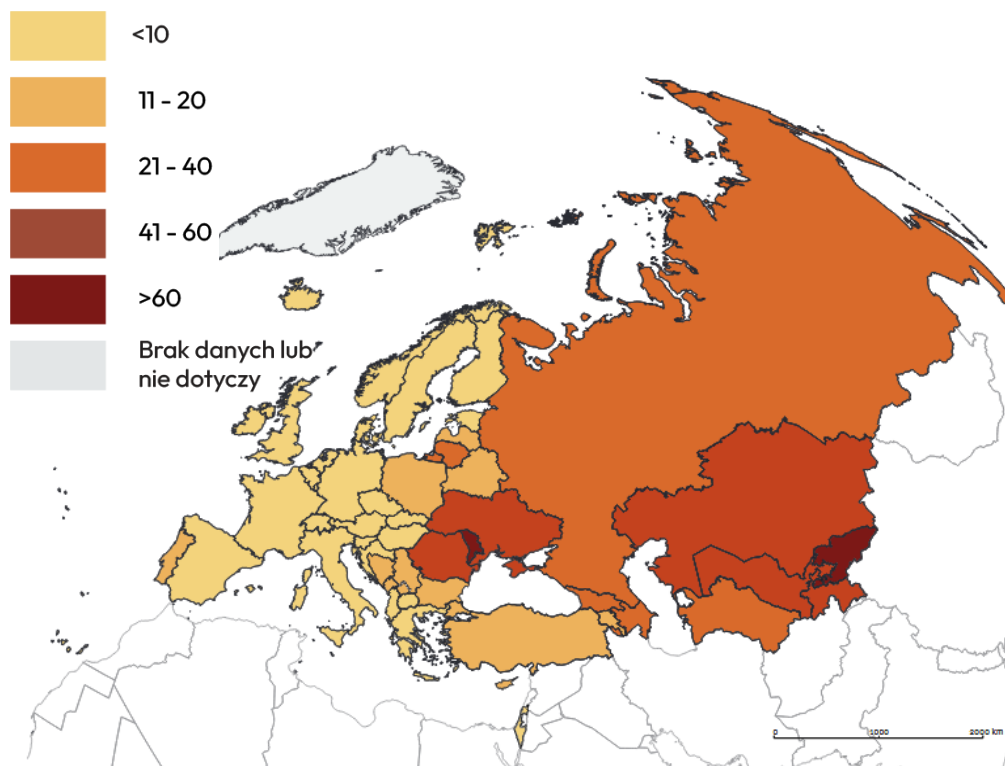
Rycina 2. Szacunkowe wskaźniki zapadalności na gruźlicę na świecie w 2023 roku (wg WHO, 2024 [12], zmodyfikowano)

Trzydzieści krajów o dużym obciążeniu gruźlicą odpowiadało za 87% światowych przypadków tej choroby, z czego 56% pochodziło z pięciu krajów: Indii (26%), Indonezji (10%), Chin (6,8%), Filipin (6,8%), Pakistanu (6,3%) (Ryc. 2) [12]. W 2023 roku 55% osób chorych na gruźlicę stanowili mężczyźni, 33% kobiety i 12% dzieci w wieku 0 – 14 lat. Szacuje się, że na całym świecie u około 3,2% chorych rozwinęła się gruźlica wielolekooporna (ang. *Multi Drug-Resistant Tuberculosis*, MDR- TB), wywołana przez prątki odporne na dwa leki przeciwprątkowe: ryfampicynę i izoniazyd. Najwyższe odsetki MDR-TB wśród ogółu chorych na gruźlicę stwierdzono w Indiach (27%), Federacji Rosyjskiej (7,4%) i Indonezji (7,4%). Szczególnie narażeni na gwałtowny przebieg gruźlicy oraz wysoką śmiertelność są chorzy zakażeni wirusem HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*), którzy w 2023 roku stanowili 5,3% wszystkich przypadków gruźlicy. W niektórych częściach Regionu Afrykańskiego WHO odsetek osób z nowym epizodem gruźlicy i zakażonych wirusem HIV przekraczał nawet 50%. Z powodu gruźlicy zmarło 1,25 miliona osób, w tym 161 000 zakażonych HIV [12].

1.1.1.2 Gruźlica w Regionie Europejskim

Według Europejskiego Centrum do Spraw Zapobiegania i Kontroli Chorób (ang. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) w 2022 roku w Regionie Europejskim WHO na gruźlicę zachorowało 229 000 osób, co odpowiada

25 przypadkom na 100 000 mieszkańców i stanowiło około 2,2% globalnej zapadalności na gruźlicę (Ryc. 3) [16].



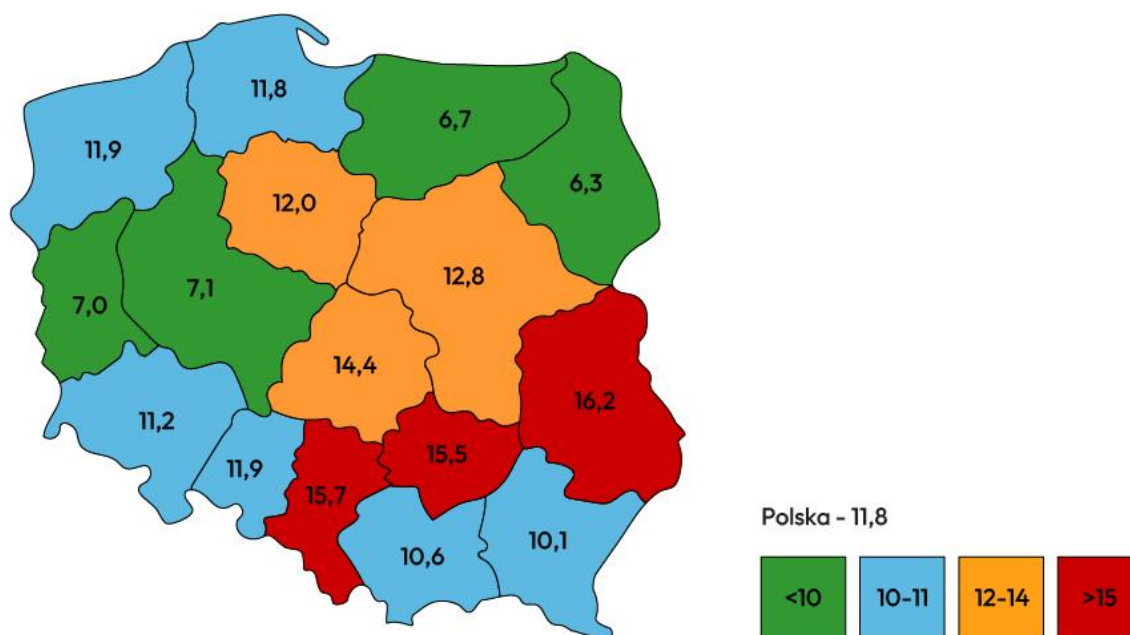
Rycina 3. Wskaźniki zgłaszalności nowych przypadków gruźlicy i wznów gruźlicy w Regionie Europejskim w 2022 roku (wg ECDC, 2024 [16], zmodyfikowano)

Spośród pięćdziesięciu trzech krajów Regionu Europejskiego WHO największy odsetek przypadków gruźlicy odnotowano w Federacji Rosyjskiej (24,5%), Ukrainie (15,7%), Uzbekistanie (12,7%), Kazachstanie (6,6%), Turcji (5,2%) oraz Rumunii (4,4%). W 2022 roku liczba zgonów z powodu gruźlicy wynosiła 18 000, co przekładało się na współczynnik śmiertelności na poziomie 1,9 na 100 000 osób. Częstość występowania gruźlicy odpornej na ryfampicynę lub wielolekoopornej RR/MDR-TB w Regionie Europejskim WHO zmniejszyła się o 6%, a liczba nowych przypadków została oszacowana na 67 000. Wśród nowo zgłoszonych przypadków bakteriologicznie potwierdzonej gruźlicy płuc odnotowano 35 000 przypadków RR/MDR-TB. Odsetek RR/MDR-TB wśród nowych oraz wcześniej leczonych przypadków gruźlicy istotnie przekraczał średnią globalną, wynosząc odpowiednio 24% i 54% w porównaniu do 3,3% i 17% na świecie. Częstość występowania zakażenia wirusem HIV wśród chorych na gruźlicę oszacowano na 12% w 2022 roku, co stanowiło kolejny rok charakteryzujący się stabilnością. Odnotowano około 28 000 przypadków gruźlicy u osób zakażonych

wirusem HIV, z czego około 78% całkowitej liczby stanowili chorzy z Federacji Rosyjskiej (50%) i Ukrainy (28%). Według danych ECDC, w 2022 roku najwięcej zgłoszonych przypadków gruźlicy (66,2%) dotyczyło grupy wiekowej 25 – 64 lat, wyjątek stanowiły Cypr (36,2% przypadków gruźlicy zgłoszono u chorych w wieku 15 – 24 lata) oraz Estonia, Węgry i Słowenia gdzie ponad 30% przypadków było w grupie powyżej 64 roku życia [16]. Dzieci poniżej 15 roku życia stanowiły około 4% zgłoszonych przypadków gruźlicy w regionie. Najwyższy współczynnik zapadalności na gruźlicę w tej grupie wiekowej odnotowano w Rumunii i wyniósł on 10,7 przypadków na 100 000 dzieci w wieku 0 – 4 lat oraz 10,8 przypadków na 100 000 dzieci w wieku 5 – 14 lat. W 2022 roku we wszystkich państwach europejskich, z wyjątkiem Norwegii, odnotowano większą liczbę przypadków gruźlicy wśród mężczyzn niż kobiet. W krajach Unii Europejskiej (UE) zgłoszono 36 179 przypadków gruźlicy co stanowiło 15,8% ogółu zachorowań w Regionie Europejskim WHO. Ogólny wskaźnik zgłaszalności w krajach UE wyniósł 8 przypadków na 100 000 osób. Między państwami członkowskimi występowały istotne różnice w zapadalności – od 2,5 na 100 000 mieszkańców w Liechtensteinie do 48,7 na 100 000 w Rumunii. Rumunia zgłosiła 25,6% wszystkich przypadków gruźlicy w UE, a jej współczynnik zapadalności był sześciokrotnie wyższy niż średnia dla pozostałych państw członkowskich (Ryc.3) [16].

1.1.1.3 Gruźlica w Polsce

W Polsce dane dotyczące gruźlicy gromadzone są w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę (KRG). Zgodnie z danymi w 2023 roku zarejestrowano 4436 przypadków gruźlicy, co oznaczało w porównaniu z rokiem poprzednim wzrost o 122 przypadki. Zapadalność na gruźlicę wszystkich postaci wynosiła 11,8 na 100 000 osób i była większa o 3,5% niż w 2022 roku [17].



Rycina 4. Zapadalność na gruźlicę w Polsce w 2023 roku wg województw. Współczynniki na 100 000 osób (wg Korzeniewska i wsp. 2024 [17], zmodyfikowano)

W 2023 roku zgłoszono w Polsce 3920 nowych przypadków gruźlicy, co stanowiło 88,4% ogółu zachorowań. Przypadki ponownych zachorowań odnotowano u 516 osób. Najczęstszą rozpoznawaną postacią gruźlicy była gruźlica płuc, która stanowiła 96,1% wszystkich zachorowań. Najwyższą zapadalność odnotowano w grupie wiekowej 45 – 64 lata (19,1 / 100 000), a osoby w tym przedziale wiekowym stanowiły 42,5% wszystkich chorych. Wśród osób powyżej 65 roku życia wskaźnik zapadalności wyniósł 15,3 na 100 000, natomiast najniższą wartość odnotowano wśród dzieci do 14 roku życia (0,9 / 100 000). W tej grupie wiekowej zgłoszono łącznie 51 przypadków gruźlicy, co stanowiło 1,1% wszystkich zachorowań. Podobnie jak w latach poprzednich, zapadalność na gruźlicę wśród mężczyzn była wyższa niż wśród kobiet. Zarejestrowano 3282 przypadki gruźlicy u mężczyzn (18 / 100 000) w porównaniu do 1154 przypadków u kobiet (5,9 / 100 000) co oznacza, że mężczyźni stanowili 74% ogółu chorych. Występowały istotne różnice terytorialne w zapadalności na gruźlicę. Najwyższe wskaźniki odnotowano w województwach: lubelskim (16,2 / 100 000), śląskim (15,7 / 100 000) i świętokrzyskim (15,5 / 100 000). Najniższą zapadalność stwierdzono w województwach: podlaskim (6,3 / 100 000), warmińsko-mazurskim (6,7 / 100 000), lubuskim (7,0 / 100 000) oraz wielkopolskim (7,1 / 100 000) (Ryc.4) [17].

W 2023 roku wśród osób chorych na gruźlicę zarejestrowano 352 cudzoziemców, z czego większość (235 przypadków) stanowiły osoby w wieku 20 – 44 lata. Przypadki gruźlicy u cudzoziemców stanowiły 7,9% wszystkich zachorowań. Najwięcej cudzoziemców leczonych z powodu gruźlicy przebywało na terenie województwa mazowieckiego (98 przypadków). Najliczniejszą grupę stanowili obywatele Ukrainy (250 osób), a następnie Gruzji (13 osób) i Indii (10 osób). Podobnie jak w latach wcześniejszych, współwystępowanie gruźlicy i zakażenia wirusem HIV było w Polsce zjawiskiem rzadkim. Według danych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny, gruźlica była chorobą wskaźnikową AIDS (ang. *Acquired Immune Deficiency Syndrome*) u 32 osób zakażonych wirusem HIV [17]. W 2021 roku gruźlicę wielolekooporną (MDR-TB) rozpoznano u 53 osób, w tym u 25 cudzoziemców [18]. Według danych z rejestrów laboratoryjnych, w 2023 roku liczba ta wzrosła niemal dwukrotnie. MDR-TB rozpoznano u 99 chorych, spośród których aż 71 stanowili cudzoziemcy. Przypadki MDR-TB stanowiły w 2023 roku 2,8% wszystkich zachorowań na gruźlicę potwierdzoną bakteriologicznie oraz 3,1% spośród zachorowań, dla których określono lekooporność prątków. Dane te wskazują na niepokojący trend wzrostowy, szczególnie w populacji cudzoziemców, co stanowi istotne wyzwanie zarówno epidemiologiczne, jak i kliniczne. W 2023 roku gruźlica była przyczyną zgonów u 472 osób, a współczynnik umieralności wynosił 1,2 na 100 000 osób [17].

1.2 Przebieg zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*

Do zakażenia prątkiem gruźlicy najczęściej dochodzi drogą powietrzną poprzez inhalację jąder kropelkowych zawierających żywe prątki [19]. Prątki są wydalane do środowiska przede wszystkim podczas kaszlu chorego z aktywną gruźlicą płuc [20]. Przeciętnie w trakcie kaszlu chory wyrzuca 1,5 l powietrza zawierającego około 3000 kropelek śliny przy prędkości dochodzącej do 80 km/h. Krople większe niż 5 – 10 µm opadają na ziemię lub osadzają się w górnych drogach oddechowych. Mniejsze cząstki mogą unosić się w powietrzu przez 2 do 40 godzin, co zwiększa ryzyko ich aspiracji do drzewa tchawiczego - oskrzelowego oraz pęcherzyków płucnych potencjalnego gospodarza [19]. Znacznie rzadziej dochodzi do zakażenia drogą pokarmową [21] lub przez uszkodzoną skórę [22].

Prątki gruźlicy, aby dostać się do płuc muszą pokonać pięć kluczowych punktów interakcji (ang. *Interaction Point*, IP), które stanowią barierę ochronną przed zakażeniem. Te ewolucyjnie wykształcone IP pozwalają na skuteczną obronę gospodarza poprzez

oczyszczanie śluzowo-rzęskowe mające na celu fizyczne usunięcie wdychanych drobnoustrojów, wydzielanie enzymów oraz mediatorów pro- i przeciwzapalnych, a także rozpoznawanie wzorców molekularnych związanych z patogenami przez receptory wyrażone na komórkach mieloidalnych i nabłonka płuc. *Mycobacterium tuberculosis* wykształcił liczne strategie umożliwiające omijanie tych barier i manipulowanie odpowiedzią immunologiczną gospodarza. Dzięki temu prątki mogą skutecznie przedostać się do płuc, przetrwać w organizmie gospodarza w stanie latencji i spowodować aktywną gruźlicę, pomimo obecności zaawansowanych mechanizmów obronnych [19].

1.2.1 Pierwszy punkt interakcji - tchawica i oskrzela

Prątki gruźlicy przez jamę nosową i zatoki dostają się do gardła, krtani, tchawicy i oskrzeli głównych, które rozwidlają się do każdego płuca. W oskrzelach komórki nabłonkowe odgrywają kluczową rolę w obronie immunologicznej płuc zapewniając śluzowo- rzęskowe oczyszczanie dróg oddechowych [23]. Komórki surowicze i kubkowe produkują śluz bogaty w mucynę, który zatrzymuje prątki, umożliwiając ich usuwanie z dróg oddechowych. Natomiast komórki maczugowate wydzielają substancje powierzchniowo czynne, które ułatwiają odbudowę uszkodzonego nabłonka. Stan zapalny dróg oddechowych zaburza mechanizmy ochronne i regeneracyjne płuc, powodując obrzęk błony śluzowej i nadprodukcję gęstego śluzu. Dym papierosowy jest jednym z głównych czynników upośledzających funkcjonowanie nabłonka i zwiększa ryzyko zakażenia prątkiem gruźlicy [23]. Choroby prowadzące do stanów zapalnych w obrębie dróg oddechowych takie jak przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) [24], nikotynizm [23], astma i stosowanie kortykosteroidów [25], pylica krzemowa [26] są niezależnymi czynnikami zwiększającymi ryzyko zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*. Powodują niedrożność dróg oddechowych i zwiększają prędkość powietrza wciągającego prątki do zdrowych obszarów płuc [27]. Pierwszy punkt interakcji IP1 umożliwia więc oczyszczenie powietrza dostającego się do płuc ale może również stanowić wrota wejścia prątków gruźlicy do tkanki limfoidalnej [28]. Komórki M (ang. *Microfold Cells*) zlokalizowane w tkance nosa i oskrzeli (ang. *Nasal- Associated Lymphoid Tissue and Bronchus-Associated Lymphoid Tissue*, NALT/BALT) mogą transportować bakterie z błony śluzowej do układu limfatycznego rozpoczynając wczesną odpowiedź immunologiczną przeciwko zakażeniu *Mycobacterium tuberculosis* [29]. Prątki indukują produkcję β -defensyn w nabłonku

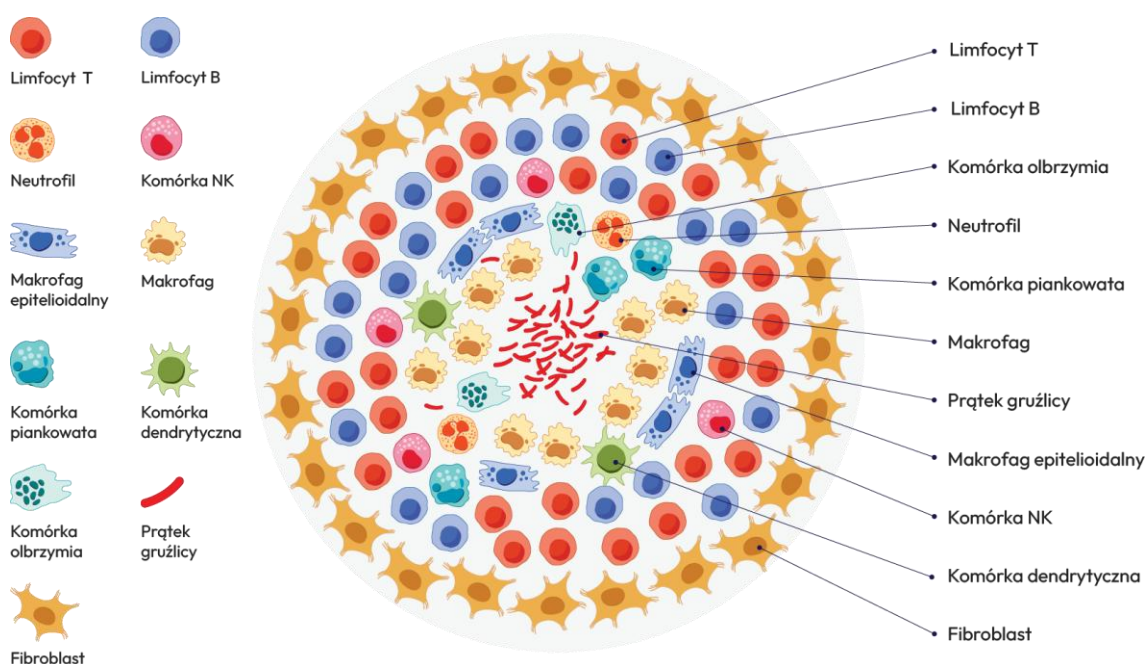
oskrzeli co ogranicza ich przeżywalność, jednocześnie umożliwiając przetrwanie w niezakwaszonym środowisku wakuoli endosomalnej [19, 30]. Dodatkowo limfocyty T związane z błoną śluzową MAIT (ang. *Mucosal-Associated Invariant T Cells*) odgrywają fundamentalną rolę w odpowiedzi cytokinowej wykrywając zakażenie wewnątrzkomórkowe *Mycobacterium tuberculosis* [19, 31].

1.2.2 Drugi i trzeci punkt interakcji – oskrzeliki i pęcherzyki płucne

Po przedostaniu się do oskrzeli prątki gruźlicy napotykać drugi punkt interakcji IP2 czyli oskrzeliki. Oskrzeliki oddechowe dzielą się na przewody pęcherzykowe, a te rozgałęziają się w pęcherzyki płucne, stanowiące trzeci punkt interakcji IP3. Płuco dorosłego człowieka zawiera około 480 milionów pęcherzyków płucnych, wyścielonych surfaktantem (ang. *Alveolar Lining Fluid*, ALF), który zmniejsza napięcie powierzchniowe podczas wdechu, stabilizuje pęcherzyki i reguluje reakcje zapalne [32, 33]. Składniki ALF są krytycznymi elementami wrodzonego układu odpornościowego podczas zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* i odgrywają ważną rolę w fagocytozie [32, 33, 22]. Białko surfaktantu płucnego A (ang. *Surfactant Protein*, SP-A) nasila fagocytozę prątków przez makrofagi i reguluje stan zapalny. Białko SP-D aglutynuje prątki, ograniczając ich fagocytozę, a hydrolazy modyfikują powierzchnię prątków, wpływając na najważniejsze czynniki wirulencji czyli mannozylowany lipoarabinomannan (ManLAM) i dwumykolan trehalozy (TDM) [19, 34, 35, 36]. Białka dopełniacza promują opsonizację prątków, jednocześnie ograniczając potencjalnie szkodliwy stan zapalny [19]. *Mycobacterium tuberculosis* wchodzi w interakcje z makrofagami pęcherzykowymi (ang. *Alveolar Macrophages*, AM) i komórkami nabłonka pęcherzyków płucnych (ang. *Alveolar Epithelial Type Cell*, AT). Pomimo silnych właściwości fagocytarnych makrofagi AM wykazują ograniczoną zdolność prątkoobójczą, co pozwala patogenom przetrwać i namnażać się w fagosomach [37]. Komórki AT pełnią rolę przejściowej niszy wewnątrzkomórkowej, która umożliwia prątkom gruźlicy zmianę metabolizmu i przetrwanie, szczególnie w sytuacji gdy większa liczba bakterii zostanie uwolniona z obumierających fagocytów lub uszkodzonych ziarniniaków [38]. Oddziaływania między *Mycobacterium tuberculosis* i komórkami AT są dynamiczne, odgrywają kluczową rolę w przebiegu zakażenia oraz progresji choroby [39]. W miarę rozwoju stanu zapalnego prątki napotykać w przestrzeni pęcherzyków płucnych monocyty i neutrofile, które odgrywają istotną rolę w kontrolowaniu przebiegu zakażenia zarówno poprzez mechanizmy oksydacyjne, jak i nieoksydacyjne [19, 40, 41].

1.2.3 Czwarty punkt interakcji - ziarniniak gruźliczy

Ziarniniak gruźliczy (granuloma) stanowi niszę umożliwiającą przetrwanie prątków w przebiegu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy (ang. *Latent Tuberculosis Infection*, LTBI). Jest to dynamiczna, heterogenna struktura, której rozmiar i skład ulega zmianom podczas trwania zakażenia. Granuloma składa się z różnych typów komórek gospodarza, w tym makrofagów piankowatych, komórek nabłonkowych, wielojądrowych komórek olbrzymich, komórek NK (ang. *Natural Killers*), dendrytycznych (ang. *Dendritic Cells*, DC), neutrofilów oraz limfocytów T i B (Ryc.5) [41, 42].



Rycina 5. Schemat budowy ziarniniaka gruźliczego (wg. Ndlovu i wsp. 2016 [41], zmodyfikowano)

Dostające się do płuc wraz z wdychanym powietrzem prątki rozpoczynają rekrutację makrofagów za pomocą systemu ESX-1 (ang. *ESAT-6 Secretion System-1*), a w szczególności białka ESAT-6 (ang. *Early Secreted Antigenic Target 6*), które stymuluje wydzielanie metaloproteiny 9 przez komórki nabłonkowe [41]. Receptory rozpoznające patogeny (ang. *Pathogen-Recognition Receptors*, PRR) i wzorce molekularne związane z patogenami (ang. *Pathogen-Associated Molecular Pattern*, PAMP) biorą udział w wytwarzaniu cytokin i chemokin. Szczególnie ważne w procesie powstawania granulomy i jej wczesnego funkcjonowania są czynnik martwicy nowotworów (ang. *Tumor Necrosis Factor*, TNF- α) i interferon-gamma (IFN- γ) [42].

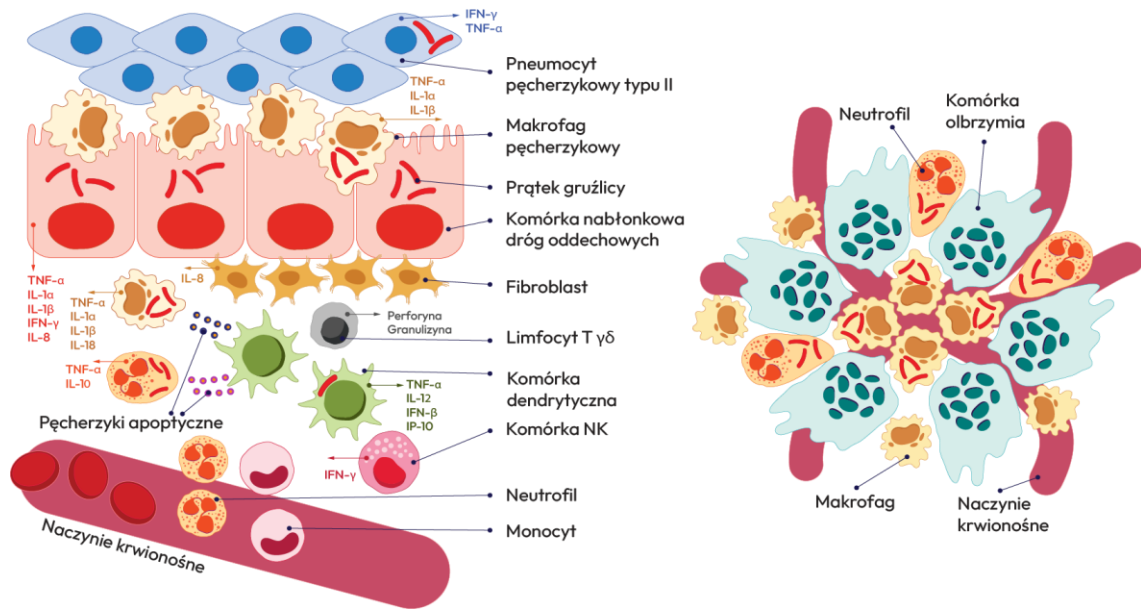
Cytokiny te rekrutują do miejsca infekcji kolejne komórki odpornościowe tworząc sferyczną strukturę, w centrum której znajdują się zakażone komórki fagocytarne. Ostatecznym etapem formowania się granulomy jest wytworzenie zewnętrznej warstwy składającej się z limfocytów T i B, która nadaje ziarniniakowi zwartą strukturę [19, 41, 42]. Charakterystyczne dla granuloma są wyspecjalizowane typy komórek, które powstają w wyniku fuzji błon. Wielojądrowe komórki olbrzymie typu Langhansa powstają z makrofagów w wyniku interakcji białka CD40/CD40L na makrofagu z aktywowanym limfocytom T wytwarzającym IFN- γ . Komórki te tracą właściwości fagocytarne, mogą tylko prezentować antygen, co wpisuje się w strategię prątków do unikania mechanizmów obronnych gospodarza. Makrofagi piankowate w wyniku gromadzenia kropli lipidów stają się źródłem substancji odżywczych dla *Mycobacterium tuberculosis*. Dodatkowo wykazują ograniczoną zdolność do fagocytozy i nie posiadają właściwości prątkobójczych [43]. Dzięki takiej strategii prątki gruźlicy mogą przetrwać wiele lat wewnątrz granuloma w stanie latencji. Czynniki zewnętrzne, takie jak koinfekcja wirusem HIV, leczenie immunosupresyjne czy niedożywienie mogą prowadzić do reaktywacji LTBI, co skutkuje nekrozą makrofagów i uwolnieniem patogenu. Prowadzi to do dezintegracji struktury ziarniniaka i rozprzestrzeniania prątków do innych części płuc oraz transmisji drogą aerogenną [42]. Ziarniniak gruźliczy można więc postrzegać jako impas między mechanizmami obronnymi gospodarza, a prątkami dążącymi do przetrwania w stanie latencji. Ostateczny przebieg zakażenia i rozwój granulomy zależy od dynamicznych interakcji między prątkami, a komórkami gospodarza. Jednym z kluczowych przejawów tych oddziaływań jest wytwarzanie cytokin na różnych etapach zakażenia [4, 19, 41, 42].

1.3 Rola cytokin w immunologicznej odpowiedzi na zakażenie prątkiem gruźlicy
Mycobacterium tuberculosis wchodzi w złożoną interakcję z układem odpornościowym gospodarza, prowadząc do uwalniania cytokin przez komórki nabłonka pęcherzyków płucnych AT typu II, makrofagi pęcherzykowe i komórki nabłonka dróg oddechowych [4, 44]. Receptory PRR w tych komórkach identyfikują składniki ściany komórkowej prątka gruźlicy. Zakażone komórki DC migrują do węzłów chłonnych, gdzie inicjują odpowiedź adaptacyjną, kluczową dla kontroli wzrostu prątków i utrzymania stanu latencji [45]. W odpowiedzi immunologicznej gospodarza uczestniczą limfocyty T oraz B, a także wydzielane są cytokiny, które prątek gruźlicy może wykorzystać jako sygnał do namnażania się [45, 46, 47, 48]. Ustalenie związku między objawami klinicznymi

pacjenta, a odpowiedzią immunologiczną może ułatwić zrozumienie patofizjologii zarówno LTBI, jak i aktywnej gruźlicy [48]. Wydzielanie cytokin w przebiegu latencji zachodzi w trzech etapach: 1) wkrótce po zakażeniu, w płucach, podczas wczesnej kontroli wzrostu *Mycobacterium tuberculosis*, 2) później w węzłach chłonnych, gdzie zakażone komórki prezentujące antygen (ang. *Antigen-Presenting Cell*, APC) migrują aby wywołać reakcję immunologiczną, 3) w końcowym etapie, w płucach, podczas ustalania się LTBI w obrębie ziarniniaka gruźliczego [4].

1.3.1 Wczesne mediatory reakcji zapalnej w płucach

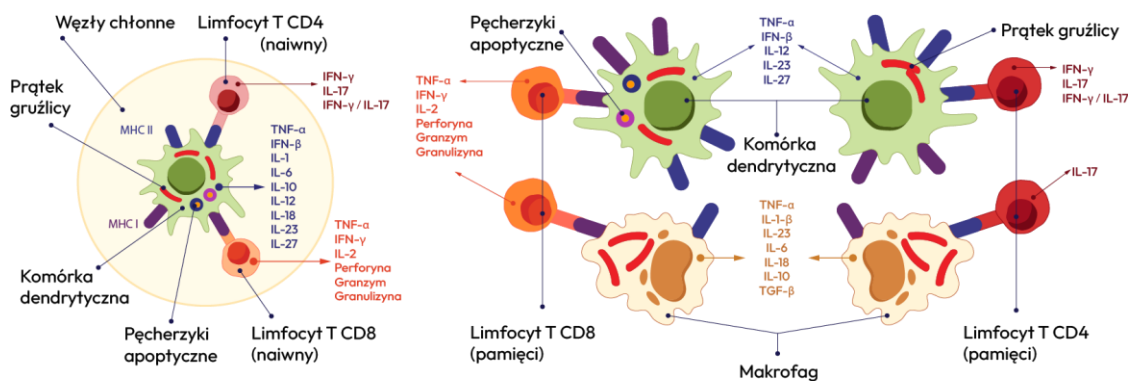
W płucach prątki gruźlicy inicjują wydzielanie wczesnych mediatorów reakcji zapalnej, takich jak TNF- α , interleukina 1 (IL-1 α i IL-1 β), IFN- γ oraz chemoatraktantów [30]. Interleukina 8 (IL-8/CXCL8) wraz z innymi chemokinami uwalnianymi przez komórki nabłonkowe i fibroblasty rekrutuje neutrofile, monocyty, makrofagi oraz komórki DC z naczyń krwionośnych [49]. Pęcherzyki apoptotyczne uwalniane z martwych neutrofili i makrofagów zawierające zarówno żywe, jak i strawione prątki gruźlicy, są fagocytowane przez komórki DC. Umożliwia to krzyżową prezentację antygenów prątków przez kompleks MHC klasy I (ang. *Major Histocompatibility Complex*) limfocytom T CD8+ [50]. We wczesnym etapie zakażenia, IFN- γ , reguluje wydzielanie białka indukowanego przez interferon (ang. *Interferon γ -Induced Protein 10 kDa*, IP-10/CXCL10), które przyciąga komórki NK. Ponadto limfocyty T mogą rozpoznawać fosfoligandy, wytwarzać perforynę i granulolizynę, tworząc zapalne mikrośrodowisko. Zakażone neutrofile uwalniają interleukinę 10 (IL-10) modulując odpowiedź immunologiczną [51, 52]. Tworzenie się wczesnego ziarniniaka gruźliczego jest więc regulowane przez wydzielanie TNF- α i IFN- γ przez zakażone komórki gospodarza w celu powstrzymania rozprzestrzeniania się bakterii (Ryc.6) [4].



Rycina 6. Schemat wydzielenia wczesnych mediatorów reakcji zapalnej w płucach (wg. Etna i wsp. [4], zmodyfikowano)

1.3.2 Pośrednie mediatory reakcji zapalnej w węzłach chłonnych i płucach

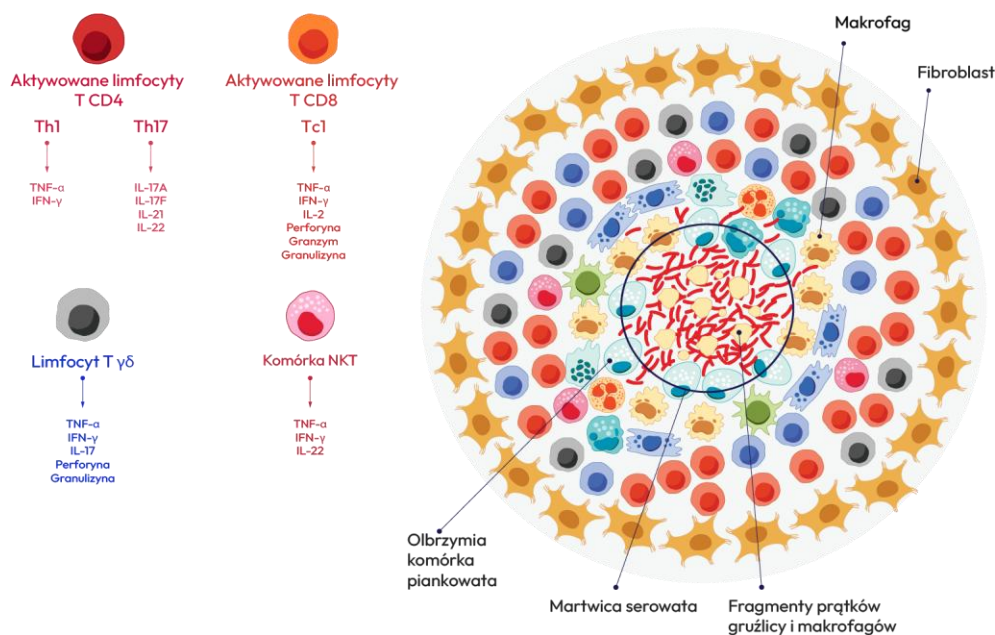
Po rozpoznaniu *Mycobacterium tuberculosis*, komórki APC migrują w kierunku węzłów chłonnych, gdzie wchodzi w interakcję z populacjami limfocytów T [53]. Dojrzałe komórki DC eksponują na swojej powierzchni wysoki poziom cząsteczek MHC klasy I i II, które prezentują antygeny limfocytom T CD4⁺ i CD8⁺ poprzez receptory TCR (ang. *T-Cell Receptor*). W węzłach chłonnych prezentowane są antygeny prątka gruźlicy w postaci rozpuszczalnych białek, uwalnianych z migrujących DC oraz monocytów zapalnych, co sprzyja aktywacji limfocytów T CD4⁺. W zakażonej tkance aktywowane makrofagi stymulują głównie limfocyty T pamięci CD4⁺ i CD8⁺. Różnicowanie się podzbiorów limfocytów T zależy od cytokin produkowanych przez komórki prezentujące antygen [4, 54]. Komórki DC produkują przede wszystkim interleukiny: IFN-β, IL-12, IL-23, IL-27 podczas gdy makrofagi są producentami TNF-α i transformującego czynnika wzrostu beta (ang. *Transforming Growth Factor β*, TGF-β), IL-1, IL-6, IL-10, IL-18 (Ryc.7) [4, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63].



Rycina 7. Schemat wydzielania pośrednich mediatorów reakcji zapalnej w węzłach chłonnych i płucach (wg. Etna i wsp. [4], zmodyfikowano)

1.3.3 Późne mediatory reakcji zapalnej w płucach

W zaawansowanych etapach zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* powstaje bardziej złożony ziarniniak gruźliczy, wspierany przez wyspecjalizowane populacje limfocytów [41, 64, 65]. W szczególności IFN- γ i TNF- α uwalniane przez limfocyty Th1, komórki NK, limfocyty Tc1 i subpopulacje limfocytów T $\gamma\delta$ wraz z enzymami cytolitycznymi zwiększają prątkobójcze zdolności makrofagów. W wewnętrznej części ziarniniaka powstaje martwica serowata otoczona piankowatymi komórkami olbrzymimi (ang. *Foamy Giant Cell*) oraz niezakażonymi makrofagami [64, 65, 66]. Limfocyty T uwalniają IL-17A, IL-17F, IL-21 i IL-22 w celu rekrutacji neutrofili i aktywacji makrofagów. Całą strukturę granulomy otaczają fibroblasty (Ryc.8) [4, 66, 67, 68, 69].

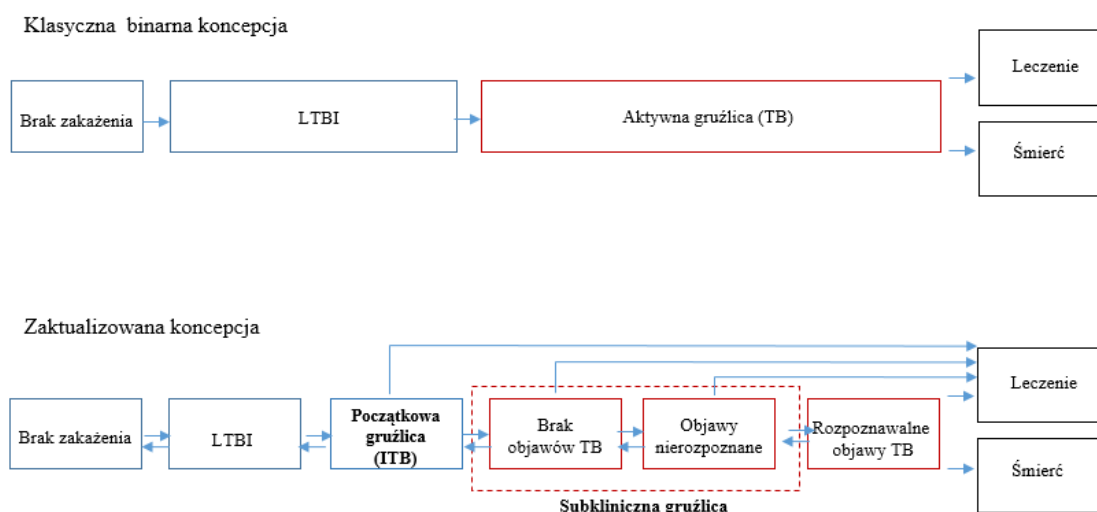


Rycina 8. Schemat wydzielania późnych mediatorów reakcji zapalnej w płucach (wg. Etna i wsp. [4], zmodyfikowano)

1.4 Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy oraz dwie koncepcje zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*

Austriacki pediatra Clemens von Pirquet w 1908 roku wraz z wprowadzeniem skórno testu tuberkulinowego do diagnostyki gruźlicy rozpowszechnił koncepcję „latentnej postaci gruźlicy” (ang. *Latent Tuberculosis*), której terminologię z biegiem czasu doprecyzowano jako latentne, utajone, uśpione zakażenie prątkiem gruźlicy [5, 75, 76, 77]. W ostatnich latach poczyniono postępy w badaniach nad LTBI, jednakże wiele biologicznych i medycznych aspektów jest nadal przedmiotem dyskusji.

Termin „latencja” ma dwa znaczenia: w biologii oznacza stan uśpienia organizmu, gdy warunki środowiskowe nie sprzyjają wzrostowi i namnażaniu się. W medycynie jest to etap choroby, w którym objawy nie są jeszcze kliniczne zmanifestowane [73, 78]. LTBI jest pierwszym etapem przed aktywną gruźlicą w binarnym, uproszczonym modelu zakażenia prątkiem gruźlicy (Ryc.9). W obszarze procedur klinicznych i epidemiologicznych pacjenci są klasyfikowani jako osoby z LTBI oraz z aktywną gruźlicą [79, 78]. Według przyjętej przez WHO definicji: LTBI jest to stan utrzymującej się odpowiedzi immunologicznej na stymulację antygenami *Mycobacterium tuberculosis* bez cech klinicznych aktywnej gruźlicy [77, 82, 83]. Podczas LTBI prątki gruźlicy pozostają w stanie nieaktywnym przez długi czas, będąc fenotypowo niewrażliwymi na działanie większości przeciwpłatkowych leków ale zachowując zdolność do reaktywacji i proliferacji [73, 84, 85]. W 1999 roku WHO oszacowało, że około jedna trzecia światowej populacji była latentnie zakażona prątkiem gruźlicy. W 2016 roku dane zaktualizowano i obecnie uważa się, że 25% populacji, czyli około dwóch miliardów ludzi ma LTBI. Osoby z LTBI stanowią rezerwuar nowych przypadków gruźlicy [86, 87, 88, 89, 90]. U 5 - 10% z nich może dojść do reaktywacji zakażenia i rozwoju aktywnej postaci choroby, zwłaszcza w obecności czynników ryzyka [86, 88, 90, 91, 92]. Przewiduje się, że populacja z LTBI wygeneruje odpowiednio 16,3 oraz 8,3 nowych przypadków aktywnej gruźlicy na 100 000 osób w latach 2030 i 2050 [90]. Pomimo że, poziom LTBI nieznacznie spadł na całym świecie w ciągu ostatnich lat, jest to powolny i niewystarczający proces [87]. Aby osiągnąć cele eliminacji gruźlicy postawione przez WHO należy włożyć dużo więcej wysiłku w zmniejszenie częstość występowania LTBI [89].



Rycina 9. Dwie koncepcje zakażenia prątkiem gruźlicy (wg. Kendall i wsp. 2021 [72], zmodyfikowano)

Obecnie proponuje się rozważenie LTBI jako spektrum różnych stanów, takich jak reaktywność immunologiczna, przebyta lub wyleczona gruźlica, trwająca nieaktywna infekcja i wczesne etapy gruźlicy. Takie podejście pozwoli na bardziej spersonalizowane leczenie profilaktyczne (ang. *TB Preventive Therapy*, TPT) [70, 71, 72, 73, 80, 81]. Drain i wsp. zaproponowali dwa dodatkowe stany kliniczne w przebiegu zakażenia prątkiem gruźlicy, aktualizując klasyczną binarną koncepcję o początkową gruźlicę (ang. *Incipient TB Infection*, ITB) oraz subkliniczną gruźlicę (ang. *Subclinical TB Disease*) (Ryc.9).

Etapy zakażenia prątkiem gruźlicy w zaktualizowanej koncepcji:

- 1) Wyeliminowanie zakażenia – oznacza całkowite usunięcie prątków gruźlicy z organizmu gospodarza, dzięki odpowiedzi immunologicznej lub leczeniu przeciwpątkowemu. Mogą natomiast utrzymywać się objawy immunologiczne związane z kontaktem z prątkami lub wcześniejszym zakażeniem [71, 72, 73].
- 2) Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy – wywołane jest przez żywe bakterie znajdujące się w organizmie gospodarza. Stan ten prowadzi do reakcji układu odpornościowego, co potwierdzają testy oceniające odpowiedź komórkową na antygeny *Mycobacterium tuberculosis*. LTBI nie powoduje objawów klinicznych, nieprawidłowości w badaniach radiologicznych oraz mikrobiologicznych [71, 73]. U osób z prawidłowo funkcjonującym układem

odpornościowym utajone zakażenie nie powinno rozwinąć się w aktywną gruźlicę w najbliższym czasie [72].

- 3) Początkowa gruźlica – stan przedkliniczny, w którym nie stwierdza się nieprawidłowości w badaniach radiologicznych ani mikrobiologicznych świadczących o aktywnej gruźlicy. Istnieje natomiast wysokie prawdopodobieństwo progresji do choroby. Definicja ta obejmuje obecność metabolicznie aktywnych i replikujących się prątków gruźlicy, które mogą pokonać ochronną odpowiedź immunologiczną gospodarza i wywołać postępujące zakażenie. Jest to bardzo dynamiczne stadium, pośrednie między LTBI, a aktywną gruźlicą [72, 73, 74].
- 4) Subkliniczna gruźlica – stan chorobowy wywołany przez żywe prątki *Mycobacterium tuberculosis*, które nie powodują klinicznych objawów gruźlicy, lecz prowadzą do wykrywalnych nieprawidłowości w badaniach radiologicznych lub mikrobiologicznych. Pacjenci w tym stadium nie prezentują objawów takich jak kaszel, gorączka, nocne poty lub utrata masy ciała. Ponadto, subkliniczna gruźlica nie musi nieuchronnie prowadzić do progresji w pełnoobjawową chorobę. U części pacjentów ten stan może utrzymywać się przez wiele lat [71, 72, 73, 74].
- 5) Aktywna gruźlica – pełnoobjawowa choroba, w której obserwowane są zmiany kliniczne, radiologiczne oraz uzyskuje się dodatnie wyniki badań mikrobiologicznych [72, 73].

Wzrost ciężkości choroby zwykle koreluje z nasileniem objawów klinicznych, mniejszym prawdopodobieństwem samoistnego wyleczenia, osłabieniem odpowiedzi immunologicznej i bardziej obfitym prątkowaniem przez chorego [71, 73]. Uwzględnienie nowych etapów dynamicznego kontinuum zakażenia prątkiem gruźlicy, może przyczynić się do lepszego zrozumienia przebiegu choroby [70, 71, 72, 73].

1.5 Porównanie dostępnych metod diagnostycznych latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

W diagnostyce LTBI nadal brakuje złotego standardu. Trzy obecnie dostępne klasy testów: skórna próba tuberkulinowa (ang. *Tuberculin Skin Test*, TST), testy uwalniania interferonu gamma (ang. *Interferon Gamma Release Assay*, IGRA) i nowe testy skórne (ang. *Tuberculosis Antigen-Based Skin Tests*, TBST) mają charakter pośredni i wymagają kompetentnej odpowiedzi immunologicznej w celu identyfikacji osób zakażonych

prątkiem gruźlicy. Dodatni wynik testu dowolną metodą nie jest sam w sobie wiarygodnym wskaźnikiem ryzyka progresji do aktywnej choroby i nie różnicuje latencji od aktywnej gruźlicy [6, 88, 89].

1.5.1 Próba tuberkulinowa

Próba tuberkulinowa Mantoux TST jest stosowana do diagnostyki nieprzerwanie od ponad 100 lat [89, 93]. Polega na śródskórnym podaniu tuberkuliny co wywołuje reakcję zapalną typu późnego (ang. *Delayed Type Hypersensitivity*, DTH) z udziałem limfocytów T i makrofagów [89, 94, 95, 96]. W Polsce od 1966 roku stosowana jest tuberkulina PPD (ang. *Purified Protein Derivative*), która jest mieszaniną około 200 antygenów wspólnych dla różnych gatunków prątków. Zgodnie z zaleceniami WHO, stosuje się referencyjną tuberkulinę RT23 (ang. *Renset Tuberculin*) [89, 95]. Wynik TST interpretowany jest na podstawie średnicy stwardnienia, mierzonej po 48 – 72 godzinach [89, 94, 95, 97]. Na wynik TST mogą mieć wpływ reakcje krzyżowe ze szczepionką BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) i prątkami niegruźliczymi (ang. *Nontuberculous Mycobacteria*, NTM), ponieważ PPD zawiera białka występujące u większości gatunków prątków [89]. Choć fałszywie dodatnie wyniki TST spowodowane zakażeniem prątkami NTM są stosunkowo rzadkie [98, 99], test wykazuje ograniczoną czułość u pacjentów z obniżoną odpornością, np. przyjmujących leki immunosupresyjne [100] lub zakażonych wirusem HIV [89, 99, 101]. Ze względu na czynniki wpływające na TST, WHO rekomenduje stosowanie różnych punktów odcięcia średnicy stwardnienia w zależności od ryzyka zachorowania na gruźlicę. W grupach wysokiego ryzyka, czyli u osób zakażonych wirusem HIV, u dzieci ciężko niedożywionych oraz u osób w immunosupresji, za wynik dodatni TST uznaje się średnicę stwardnienia wynoszącą 5 mm. Szacuje się, że ryzyko wystąpienia aktywnej gruźlicy jest znacznie wyższe u pacjentów zakażonych HIV i wynosi 10% rocznie [101, 102]. U osób z umiarkowanym ryzykiem, w tym u niedawnych imigrantów z krajów o wysokiej zapadalności na gruźlicę, osób z chorobami przewlekłymi oraz personelu medycznego, za wynik dodatni uznaje się średnicę 10 mm. Natomiast u zdrowych osób, które nie mają czynników ryzyka rozwoju gruźlicy, za wynik dodatni uznaje się średnicę wynoszącą 15 mm [89]. Aktualnie WHO nie zaleca wykonywania TST u osób z niskim ryzykiem zachorowania na gruźlicę [89]. Do zalet TST zalicza się brak konieczności posiadania infrastruktury laboratoryjnej i niskie koszty testu [103]. Jednak wymaga standaryzacji podania i interpretacji oraz

ponownej wizyty pacjentów co stanowi wyzwanie szczególnie w krajach rozwijających się. Powszechnie stosowane tuberkuliny to PPD-S2 Aplisol, Tubersol i PPD RT23 [99].

1.5.2 Testy IGRA – szczególna rola testu QuantiFeron

Testy interferonowe IGRA są alternatywą dla TST w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy [104]. Opierają się na wykrywaniu odpowiedzi immunologicznej na specyficzne antygeny ESAT-6 (ang. *Early Secretory Antigenic Target*) i CFP 10 (ang. *Culture Filtrate Protein*), które są obecne w regionie RD1 (ang. *Region of Difference 1*) genomu *Mycobacterium tuberculosis*, a nie występują w szczepie szczepionkowym BCG ani u większości prątków NTM z wyjątkiem *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai*, *Mycobacterium marinum* [104, 105, 106]. Z tego względu testy IGRA charakteryzują się wyższą swoistością w porównaniu do TST. W testach IGRA mierzony jest poziom IFN- γ wydzielanego przez limfocyty T najczęściej za pomocą metody immunoenzymatycznej (ang. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) [107], chemiluminescencyjnej (ang. *Chemiluminescent Immunoassay*, CLIA) [108] lub ELISpot (ang. *Enzyme-Linked Immunospot Assay*) [109, 110]. Najczęściej stosowanym testem IGRA jest QuantiFeron, dostępny w czwartej generacji (QFT-Plus), z możliwością pełnej automatyzacji analizy dzięki zastosowaniu analizatora Liaison. W tabeli 1 przedstawiono ewolucję testu QuantiFeron na przestrzeni lat [111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119].

Tabela 1. Ewolucja testu QuantiFeron

Generacja	Nazwa testu	Rok	Główne cechy testu
I	QuantiFeron-TB (QFT)	2001	Pierwszy test IGRA Materiałem do badań krew heparynizowana Antygeny tuberkulinowe <i>Mycobacterium tuberculosis</i> i <i>Mycobacterium avium</i> Kontrole: fitohemaglutynina (dodatnia) i sól fizjologiczna (ujemna) Ograniczona swoistość Pomiar IFN- γ metodą ELISA
II	QuantiFeron-TB Gold (QFT-G)	2005	Antygeny syntetyczne: ESAT-6 i CFP 10 Materiałem do badań krew heparynizowana Wysoka swoistość (brak reakcji krzyżowej z BCG oraz większością prątków środowiskowych) Pomiar IFN- γ metodą ELISA
III	QuantiFeron-TB Gold In-Tube (QFT-GIT)	2007	Trzy probówki do pobierania krwi w tym: probówka z antygenami ESAT-6, CFP 10 i TB7.7 Probówki z kontrolą dodatnią i ujemną Standaryzacja pobrania i inkubacji Pomiar IFN- γ metodą ELISA w osoczu po 16 – 24h inkubacji
IV	QuantiFeron-TB Gold Plus (QFT-Plus)	2017	Cztery probówki do pobierania krwi w tym: Dwie probówki antygenowe TB1 (CD4+) oraz TB2 (CD4+ i CD8+) Rezygnacja z antygeny TB7.7 Pomiar IFN- γ metodą ELISA w osoczu po 16 – 24h inkubacji
	Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus (Liaison QFT-Plus)	2019	Zautomatyzowana wersja QFT-Plus Pomiar IFN- γ metodą CLIA w analizatorze Liaison po 16 – 24h inkubacji Usprawnienie procesu diagnostycznego

1.5.3 Inne testy IGRA i innowacje w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

W diagnostyce LTBI dostępnych jest kilkanaście testów *in vitro*, które należą do grupy testów opartych na ocenie produkcji IFN- γ . Oprócz powszechnie stosowanych metod, takich jak QuantiFeron-TB Gold Plus i T-SPOT.TB, opracowano również kilka innowacyjnych testów wykorzystujących kombinację różnych technik laboratoryjnych oraz inne biomarkery niż IFN- γ . Poniżej przedstawiono przegląd testów stosowanych w diagnostyce LTBI (Tab.2) obejmujący zarówno testy już dostępne, jak i te znajdujące się w fazie badań lub oczekujące na zatwierdzenie przez WHO [82, 88, 89, 99, 104, 105, 121, 122, 123, 124, 125, 126].

Tabela 2. Charakterystyka wybranych testów stosowanych w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Nazwa testu	Producent	Pomiar	Antygeny	Główne cechy
T-SPOT.TB	UK	ELISpot	ESAT-6, CFP 10	Wizualizacja pojedynczych limfocytów T wydzielających IFN- γ (ang. <i>Spot</i>), wersja manualna lub półautomatyczna
Wantai TB-IGRA	Chińska Republika Ludowa	ELISA, CLIA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IFN- γ , wersja manualna, półautomatyczna, automatyczna
STANDARD E TB-Feron ELISA	Republika Korei	ELISA	ESAT-6, CFP 10, TB7.7	Pomiar IFN- γ , test półautomatyczny
STANDARD F TB-Feron FIA	Republika Korei	FIA	ESAT-6, CFP 10, TB 7.7	Pomiar IFN- γ , uproszczona wersja testu STANDARD E TB-Feron ELISA, metoda automatyczna
LIOFeron TB/LTBI IGRA	Niemcy	ELISA	ESAT-6, CFP 10, TB7.7, Ala-DH	Pomiar IFN- γ , ocena komórkowej odpowiedzi immunologicznej CD4+ i CD8+, test manualny
AdvanSure 13 TB-IGRA	Republika Korei	CLIA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IFN- γ , test automatyczny
QIArearch QuantiFeron-TB	Niemcy	LFA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IFN- γ , uproszczona wersja QFT-Plus, test półautomatyczny
Ichroma IGRA-TB	Republika Korei	LFA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IFN- γ , test przyłóżkowy, wynik w ciągu 20 minut.
VIDAS TB-IGRA	Francja	ELFA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IFN- γ , ocena komórkowej odpowiedzi immunologicznej CD4+ i CD8+, metoda automatyczna
RIDA SCREEN TB i RIDA QUICK TB	Niemcy	ELISA, LFA	ESAT-6, CFP 10	Pomiar IP-10/CXCL10, metoda automatyczna, manualna i test paskowy
T-Track TB	Niemcy	RT-qPCR	ESAT-6, CFP 10	Pomiar względnych poziomów mRNA dla IFN- γ oraz IP-10/CXCL10
GBTsol Latent TB Test Kit	Republika Korei	Mikrofiltracyjna separacja i fotometria	ESAT-6, CFP 10	Wykrywanie antygenowo swoistych limfocytów T za pośrednictwem kompleksów MHC I-CFP 10 oraz MHC II- ESAT-6
Erythra TB	USA	LFA	PPD	Oznaczanie antygenów <i>Mycobacterium tuberculosis</i> w cytoplazmie erytrocytów

1.5.4 Nowe testy skórne

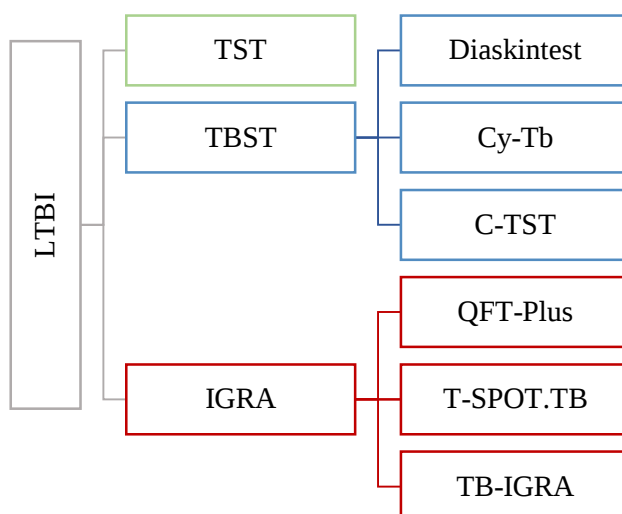
TBST są alternatywą dla TST i testów IGRA. Oparte są na śródskórnym podaniu antygenów specyficznych dla *Mycobacterium tuberculosis* (ESAT-6 i CFP 10) tych samych, które wykorzystano w testach IGRA. Zastąpiły one klasyczną tuberkulinę dzięki czemu wcześniejsze szczepienie BCG i zakażenie większością prątków NTM nie ma wpływu na wynik. TBST interpretuje się po 48 - 72 godzinach, mierząc średnicę stwardnienia. Testy skórne różnią się między sobą jedynie procesem syntezy i stężeniem składowych rekombinowanych białek [76, 89, 99, 127, 128]. Od 2022 roku WHO

rekomenduje trzy pierwsze z poniższej listy, jako nowe narzędzia do diagnostyki LTBI [89, 99, 127].

- 1) Diaskintest (Federacja Rosyjska) - wykorzystuje rekombinowane białko fuzyjne ESAT- 6–CFP 10 produkowane przez zmodyfikowaną *Escherichia coli*. Dostępny w Federacji Rosyjskiej od 2008 roku [89, 99, 110, 127, 128].
- 2) C-TST (Chińska Republika Ludowa) - zawiera rekombinowane białko fuzyjne ESAT-6–CFP 10 produkowane przez zmodyfikowaną *Escherichia coli* [89, 99, 110, 127, 128].
- 3) C-Tb (Indie) - zawiera rekombinowane białka ESAT-6 i CFP 10 produkowane przez zmodyfikowane *Lactobacillus lactis* [89, 99, 110, 127, 128].
- 4) Identification Allergen (Chińska Republika Ludowa) - wykorzystuje białko fuzyjne ESAT-6-CFP 10 [99].
- 5) DPPD (USA) - zawiera rekombinowane białko rv0061, specyficzne dla kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* [99].

1.5.5 Rekomendacje Światowej Organizacji Zdrowia dotyczące diagnostyki latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

W 2022 roku WHO wydało nowe zalecenia dotyczące diagnostyki LTBI, tym samym aktualizując panel rekomendowanych testów z 2015 roku [129]. Obecnie zalecane są próba tuberkulinowa, QuantiFeron-TB Gold Plus metodą ELISA, T-SPOT.TB metodą manualną oraz Wantai TB-IGRA, a także trzy nowe testy skórne: Diaskintest, Cy-Tb oraz C-TST (Ryc.10) [88, 89, 127].



Rycina 10. Testy do diagnostyki latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy rekomendowane przez WHO [88, 89, 127]

Decyzja o zastosowaniu nowych testów skórnych powinna być dostosowana do konkretnej sytuacji klinicznej. Wyniki testów TBST należy interpretować ostrożnie i w kontekście innych danych diagnostycznych. Testy IGRA i TST są rekomendowane do wykrywania LTBI, nie są zalecane do diagnostyki aktywnej gruźlicy. Jest to szczególnie istotne w krajach o niskich i średnich dochodach oraz dla dorosłych zakażonych wirusem HIV [89].

1.6 Poszukiwanie biomarkerów rozróżniających latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej gruźlicy

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie poszukiwaniem nowych biomarkerów, które umożliwiłyby skuteczne odróżnienie LTBI od aktywnej choroby [130]. Mimo znacznych postępów w diagnostyce gruźlicy, dostępne metody mają wciąż swoje ograniczenia. Istnieje zatem wyraźna potrzeba identyfikacji markerów, które mogłyby precyzyjnie różnicować latentę od aktywnej gruźlicy. TST, testy IGRA i nowe testy skórne TBST, mimo że są skuteczne w wykrywaniu odpowiedzi immunologicznej na zakażenie prątkiem gruźlicy, mają istotne ograniczenia w zakresie różnicowania tych dwóch stanów [130, 131, 132, 133]. Testy IGRA mierzą poziom IFN- γ , który jest cytokiną wydzielaną na różnych etapach zakażenia prątkiem gruźlicy. Dodatkowo, dodatni wynik może być efektem reaktywności immunologicznej, przebytej infekcji, trwale uśpionego zakażenia jak również gruźlicy, co jeszcze bardziej komplikuje interpretację wyniku. Obecnie używane testy nie przewidują, kiedy nastąpi reaktywacja utajonego zakażenia, co jest kluczowe dla skutecznego monitorowania i leczenia pacjentów [130, 131, 132, 133]. Zastosowanie innowacyjnych technik analitycznych, takich jak mikromacierze transkrypcyjne, pozwala na jednoczesne monitorowanie ekspresji wielu genów, otwierając nowe możliwości diagnostyczne. Ta technologia umożliwia identyfikację specyficznych wzorców ekspresji genów, które mogą różnić się w LTBI i aktywnej gruźlicy [134]. Dodatkowo metody takie jak cytometria przepływowa pozwalają na szczegółową analizę populacji komórek i ich odpowiedzi immunologicznej [135]. Z kolei multipleksowe testy immunologiczne oparte na technologii Luminex xMAP (ang. *Multi-Analyte Profiling*) przy zastosowaniu kulek (mikrosfer) umożliwiają wieloparametrowe oznaczanie cytokin i chemokin, co zwiększa dokładność diagnostyczną poprzez analizę kompleksowych profili kilku biomarkerów jednocześnie [132, 136, 137]. Dotychczasowe badania koncentrowały się głównie na analizie poziomów cytokin w osoczu po wykonaniu testu QuantiFeron [126, 130, 133, 138, 139, 140]. Wśród najlepiej przebadanych biomarkerów mogących wspomagać różnicowanie

LTBI i aktywnej gruźlicy, znajdują się interleukina 2 (IL-2), IP-10/CXCL10 oraz monokina indukowana przez interferon-gamma (ang. *Monokine Induced by Interferon - Gamma*, MIG/CXCL9) [126, 130, 137, 138, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149]. Badania nad biomarkerami obejmowały szerokie spektrum grup diagnostycznych, w tym osoby zdrowe, pacjentów z LTBI oraz chorych na gruźlicę z różnymi wynikami testów IGRA [130, 136, 138, 150]. Jednak znaczna heterogeniczność metodologii, doboru uczestników i procedur analitycznych utrudnia porównywanie wyników, co wskazuje na pilną potrzebę standaryzacji tego obszaru badań [132]. Zastosowanie zaawansowanych technik analitycznych oraz jednoczesna ocena wielu biomarkerów mogą istotnie zwiększyć precyzję diagnostyczną i skuteczność klinicznego zarządzania gruźlicą. Lepsze zrozumienie wzajemnych interakcji cytokin w świetle ich roli w patogenezie zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* jest kluczowe dla identyfikacji nowych, bardziej specyficznych biomarkerów. Ostatecznie może przyczynić się do opracowania efektywnych narzędzi diagnostycznych i strategii terapeutycznych, a także do eliminacji gruźlicy zgodnie z globalnymi celami wyznaczonymi przez WHO [12, 151, 152].

2 CEL PRACY

Celem pracy było znalezienie biomarkerów, które pozwalają odróżnić latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej postaci choroby i mogą być wykorzystane w praktyce klinicznej.

Cel realizowano poprzez:

- 1) analizę wyników testu QFT-Plus w populacji pacjentów diagnozowanych w kierunku latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy
- 2) ocenę związku między wynikiem testu QFT-Plus, a zgłoszeniem przypadku aktywnej gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę
- 3) ocenę wartości diagnostycznej odpowiedzi komórkowej limfocytów T CD4+ i CD8+ w teście QFT-Plus
- 4) porównanie wyników QFT-Plus z wynikami jego zautomatyzowanej wersji Liaison QFT-Plus
- 5) określenie optymalnych wartości granicznych dla testów QFT-Plus i Liaison QFT-Plus
- 6) identyfikację biomarkerów, umożliwiających różnicowanie latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy od aktywnej gruźlicy.

3 MATERIAŁY

3.1 Charakterystyka trzech grup pacjentów biorących udział w badaniu

Przeanalizowano 5443 wyniki testów QFT-Plus i Liason QFT-Plus, które pochodziły: od dorosłych i dzieci z podejrzeniem latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy, od osób będących w kontakcie z chorymi na gruźlicę, od osób zdrowych bez kontaktu z gruźlicą, pacjentów kwalifikowanych do leczenia biologicznego lub przeszczepienia narządów oraz chorych na gruźlicę. Testy wykonano w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc pomiędzy 2017 – 2024 rokiem. Do ostatecznej analizy wybrano trzy grupy pacjentów:

- 1) 712 pacjentów z pojedynczym ujemnym/dodatnim wynikiem testu QFT-Plus przebadanych od stycznia 2017 do maja 2022, których dane zostały sprawdzone w październiku 2023 roku w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę. Z analizy wyłączono chorych, u których potwierdzono aktywną gruźlicę przed wykonaniem testu IGRA.
- 2) 269 pacjentów, u których wykonano testy QFT-Plus i Liaison QFT-Plus z tych samych próbek krwi w okresie od stycznia 2022 do maja 2023 roku i otrzymano ujemne/dodatnie wyniki.
- 3) 145 pacjentów, u których wykonano test QFT-Plus od maja 2022 do maja 2024 roku i dodatkowo z tych samych próbek osocza, oznaczano stężenia 20 cytokin: czynnik pobudzający kolonie makrofagów (ang. *Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*, G-MCSF), IFN- γ , interleukiny: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IP-10/CXCL10, białko chemotaktyczne dla monocytów (ang. *Monocyte Chemoattractant Protein-1*, MCP-1/CCL2), MIG/CXCL9, białko zapalne makrofagów-1 alfa (ang. *Macrophage Inflammatory Protein-1 Alpha*, MIP-1 α /CCL3), białko zapalne makrofagów-1 beta (ang. *Macrophage Inflammatory Protein-1 Beta*, MIP-1 β /CCL4), białko regulowane przez aktywację, ekspresja i wydzielanie przez prawidłowe limfocyty T (ang. *Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*, RANTES/CCL5) oraz TNF- α . Próbkę osocza (TB1 i TB2) pochodziły od pacjentów z ujemnymi/dodatnimi wynikami testu QFT-Plus.

3.2 Pobieranie krwi i przygotowanie próbek osocza do testów IGRA

Krew obwodową pobierano do 4 probówek QFT-Plus oznaczonych kolorami:

- 1) szary korek – ślepa - kontrola ujemna (Nil)
- 2) zielony korek – antygeny gruźlicze - próba badana TB1 (Antygen)
- 3) żółty korek – antygeny gruźlicze - próba badana TB2 (Antygen)
- 4) fioletowy korek – mitogen - kontrola dodatnia (Mitogen)

Od każdej badanej osoby pobierano krew przez wkłucie żyłne bezpośrednio po 1 ml do każdej z 4 probówek do pobierania krwi QFT-Plus (4x1 ml). Krew wymieszano poprzez kilkukrotne obrócenie probówek, tak aby dokładnie pokryła ich wnętrze, na których osadzone są antygeny specyficzne dla prątka gruźlicy. Probówki z krwią inkubowano przez 16 – 24h w cieplarni w 37°C. Po zakończeniu inkubacji probówki odwirowano przez 15 minut przy prędkości 2000 – 3000 RCF. Osocze przenoszono do nowych probówek oznaczonych zgodnie z kodami z probówek wyjściowych. Tak przygotowane osocze przechowywano maksymalnie 4 tygodnie w lodówce w temperaturze 2 – 8°C lub przez dłuższy czas w temperaturze - 20°C.

3.3 Przygotowanie próbek osocza do oznaczenia stężeń 20 białek za pomocą systemu Bio-Plex 200

Do oznaczenia poziomu białek (cytokin) wykorzystano osocze z probówek TB1 i TB2 po wykonaniu testu QFT-Plus. Próbkę przechowywano w - 20°C. Przed rozpoczęciem oznaczeń próbki osocza rozmrożono i odwirowano przy prędkości 1000 x g przez 15 minut w temperaturze 4°C, aby usunąć cząstki stałe. Następnie próbki czterokrotnie rozcieńczono.

4 METODY

4.1 Test QuantiFeron-TB Gold Plus

Zasada testu

Test QFT-Plus (QIAGEN, Hilden, Niemcy) jest testem diagnostycznym *in vitro*, którego zasada działania wykorzystuje ocenę poziomu wydzielonego IFN- γ przez limfocyty T po stymulacji specyficznymi antygenami prątka gruźlicy ESAT-6 i CFP 10. Zastosowana technika immunoenzymatyczna ELISA pozwala na pomiar komórkowej odpowiedzi immunologicznej na zakażenie *Mycobacterium tuberculosis*. W próbówce antygenowej TB1 mierzona jest odpowiedź limfocytów T CD4+, a w próbówce TB2 zarówno limfocytów T CD4+ jak i CD8+.

Opis wykonania testu

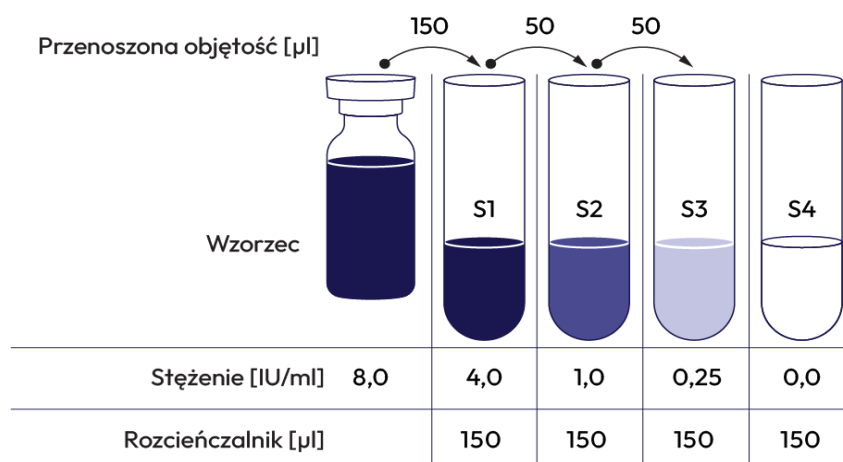
Przed przystąpieniem do badania próbki osocza (uzyskane po odwirowaniu krwi inkubowanej przez 16 – 24 h w 37°C) i zestaw odczynników do testu QFT-Plus przenoszono do temperatury pokojowej na co najmniej 60 minut dla uzyskania stabilizacji temperaturowej. Wyjątkiem był koniugat stukrotnie stężony przechowywany w lodówce w 4°C. Próbkę osocza mieszano, aby IFN- γ został rozprowadzony równomiernie w całej objętości, a następnie przenoszono po 100 μ l do studzienek mikropłytki roboczej pionowo w kolejności: osocze z próbki z szarym korkiem (Nil), zielonym (Antygen) TB1, żółtym (Antygen) TB2, fioletowym (Mitogen) (Tab.3).

Tabela 3. Zalecany układ płytki roboczej ELISA do testu QuantiFeron-TB Gold Plus [115]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	3N										
B	1TB1	3TB1										
C	1TB2	3TB2										
D	1M	3M										
E	2N	itd...										
F	2TB1											
G	2TB2											
H	2M											

1N (Próbka 1. Osocze Nil), 1 TB1 (Próbka 1. Osocze TB1), 1 TB2 (Próbka 1. Osocze TB2), 1M (Próbka 1. Osocze Mitogen)

Wzorzec IFN- γ przygotowano przez rozpuszczenie liofilizatu w wodzie destylowanej uzyskując wyjściowe stężenie 8 IU/ml. Następnie wykonano kolejne rozcieńczenia IFN- γ (S1-S4) wykorzystując każdorazowo po 150 μ l zielonego rozcieńczalnika (ang. *Green Diluent*, GD) (Ryc.11).



Rycina 11. Schemat przygotowania serii rozcieńczeń krzywej standardowej do testu QuantiFeron-TB Gold Plus [115]

Zliofilizowany koniugat rozpuszczono w wodzie destylowanej uzyskując roztwór stukrotnie stężony. Przygotowanie roztworu roboczego koniugatu wykonano zgodnie z tabelą 4.

Tabela 4. Procedura przygotowania koniugatu do testu QuantiFeron-TB Gold Plus [115]

Liczba pasków	Objętość koniugatu 100x stężonego [μ l]	Objętość GD [ml]
2	10	1
3	15	1,5
4	20	2
5	25	2,5
6	30	3
7	35	3,5
8	40	4
9	45	4,5
10	50	5
11	55	5,5
12	60	6

Do każdej ze studzienek płytki testowej ELISA dodano po 50 µl sporządzonego koniugatu, a następnie po 50 µl badanego osocza z mikropłytki roboczej oraz po 50 µl wcześniej przygotowanych rozcieńczeń wzorców (w dwóch powtórzeniach) do odpowiednich studzienek (Tab.5).

Tabela 5. Zalecany układ płytki testowej ELISA do testu QuantiFeron-TB Gold Plus [115]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GD+1N	GD+3N										GD+S1
B	GD+1TB1	GD+3TB1										GD+S1
C	GD+1TB2	GD+3TB2										GD+S2
D	GD+1M	GD+3M										GD+S2
E	GD+2N	itd...										GD+S3
F	GD+2TB1											GD+S3
G	GD+2TB2											GD+S4
H	GD+2M											GD+S4

GD(Rozcieńczalnik)+1N (Próbka 1. Osocze Nil), 1 TB1 (Próbka 1. Osocze TB1), 1 TB2 (Próbka 1. Osocze TB2), 1M (Próbka 1. Osocze Mitogen). GD+ S1 (Wzorzec 1), S2 (Wzorzec 2), S3 (Wzorzec 3), S4 (Wzorzec 4)

Zawartość studzienek wymieszano za pomocą wytrząsarki przez 1 minutę. Mikropłytkę przykryto wieczkiem i folią aluminiową, w celu zabezpieczenia prób przed bezpośrednią ekspozycją na działanie światła słonecznego i inkubowano przez 120 minut w temperaturze pokojowej. Po zakończonej inkubacji każdą studzienkę przepłukano przynajmniej sześć razy buforem do płukania w ilości 400 µl za pomocą automatycznej płuczki. Usunięto resztki buforu do przepłukiwania i dodano do każdej studzienki po 100 µl roztworu substratu dla enzymu. Zawartość studzienek wymieszano za pomocą wytrząsarki. Ponownie przykryto mikropłytkę wieczkiem i folią aluminiową i inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Po zakończonej inkubacji do każdej studzienki dodano po 50 µl roztworu do zatrzymania aktywności enzymu i wymieszano zawartość studzienek za pomocą wytrząsarki. W ciągu 5 minut od momentu zatrzymania reakcji enzymatycznej zmierzono gęstość optyczną (ang. *Optical Density*, OD) każdej studzienki za pomocą czytnika mikropłytek ELISA (ChroMate) wyposażonego w filtr 450 nm oraz filtr referencyjny 620 – 650 nm. Do analizy danych pierwotnych i obliczenia końcowych wyników wykorzystano oprogramowanie QFT-Plus. W ramach kontroli jakości wykonanej analizy wygenerowano krzywą wzorcową i podano indywidualne wyniki dla każdego pacjenta (Tab.6).

Tabela 6. Interpretacja wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus [115]

Próbka zerowa [IU/ml]	TB1 minus wynik próbki zerowej lub TB2 minus wynik próbki zerowej [IU/ml]	Próbka z mitogenem minus próbka zerowa [IU/ml]	Wynik testu QFT-Plus	Raport/interpretacja
≤ 8,0	≥ 0,35 i ≥ 25% wartości próbki zerowej	Dowolne	Dodatni	Zakażenie <i>Mycobacterium tuberculosis</i> jest prawdopodobne
	< 0,35	≥ 0,5	Ujemny	NIE jest prawdopodobne
	≥ 0,35 i < 25% wartości próbki zerowej	≥ 0,5	Ujemny	NIE jest prawdopodobne
	< 0,35	< 0,5	Nieokreślony	Wyniki w zakresie reakcji na antygeny gruźlicze są nieokreślone
	≥ 0,35 i < 25% wartości próbki zerowej	< 0,5	Nieokreślony	Wyniki w zakresie reakcji na antygeny gruźlicze są nieokreślone
> 8,0§	Dowolne	Dowolne	Nieokreślony	Wyniki w zakresie reakcji na antygeny gruźlicze są nieokreślone

Wyniki odpowiedzi na kontrolę dodatnią zawierającą mitogen (i czasem na próbkę z antygenami) mogą wykraczać poza zakres odczytu czytnika mikropłytek. Nie ma to wpływu na wyniki testu. § W badaniach klinicznych mniej niż 0,25% pacjentów ma poziomy IFN- γ większe niż 8,0 IU/ml dla wartości próbki zerowej.

Kontrola jakości

Dokładność wyników testu była zależna od wygenerowania krzywej wzorcowej. W związku z tym przed dokonaniem interpretacji wyników sprawdzono wyniki uzyskane dla wzorcowych stężeń IFN- γ . Poprawny test ELISA odznaczał się następującymi cechami:

- 1) średnia wartość OD wzorca 1 była większa lub równa 0,6
- 2) wyrażony procentowo współczynnik zmienności wzorca 1 i 2, odzwierciedlający wartości OD był mniejszy lub równy 15%
- 3) wartość OD odzwierciedlonej dla wzorca 3 i 4 nie mogły różnić się od ich średniej wartości o więcej niż 0,04 jednostki OD
- 4) współczynnik korelacji obliczony na podstawie średnich wartości absorbancji wzorców musiał być większy lub równy 0,98.

Oprogramowanie do analizy wyników obliczało i raportowało parametry kontroli jakości. Jeśli nie były spełnione powyższe kryteria, test uznawano za nieprawidłowo wykonany. Jeśli średnia wartość OD wzorca zerowego (GD) była większa od 0,15 sprawdzano procedurę mycia płytki [115].

4.2 Test Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Zasada testu

Test Liaison QFT-Plus (DiaSorin, Saluggia, Włochy) jest testem diagnostycznym *in vitro* oceniającym poziom wydzielonego przez limfocyty T IFN- γ po stymulacji specyficznymi antygenami prątka gruźlicy ESAT-6 i CFP 10 przy zastosowaniu analizatora Liaison XS. Do oznaczania IFN- γ zastosowano bezpośredni test chemiluminescencyjno-immunologiczny (CLIA). Metoda ta wykorzystuje mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko IFN- γ immobilizowane na cząstkach ferromagnetycznych (faza stała) znakowane pochodną izoluminolu za pośrednictwem kompleksu immunologicznego biotyna-streptawidyna. W pierwszym etapie inkubacji IFN- γ obecny w kalibratorach, próbkach osocza i kontrolach testu wiąże się zarówno z przeciwciałem unieruchomionym w fazie stałej, jak i z przeciwciałem znakowanym izoluminolem tworząc kompleks typu „kanapka”. Następnie dodawano bufor testowy W, którego zadaniem jest redukcja nieswoistych interakcji pomiędzy składnikami osocza, a elementami testu. Niezwiązane składniki usuwano podczas automatycznego cyklu płukania. W końcowym etapie dodawano odczynniki wyzwalające reakcję chemiluminescencyjną. Emitowany sygnał świetlny, proporcjonalny do poziomu powstałego kompleksu IFN- γ – przeciwciało, mierzono detektorem światła we względnych jednostkach świetlnych (ang. *Relative Light Units*, RLU). System analizatora Liaison dopasowuje sygnał na podstawie krzywej kalibracyjnej do wartości wyrażonej w IU/ml (ang. *International Units per milliliter*) wskazując poziom IFN- γ w próbkach [153].

Opis wykonania testu

Przed rozpoczęciem procedury, próbki osocza oraz odczynniki testowe przenoszono do temperatury pokojowej w celu zapewnienia stabilizacji temperaturowej. Próbki osocza dokładnie wymieszano, aby równomiernie rozprowadzić IFN- γ w całej objętości. Przed umieszczeniem zestawu odczynnikowego Liaison QFT-Plus w analizatorze cząstki ferromagnetyczne, będące jednym ze składników testu, zawieszono przez delikatne, ręczne mieszanie fiolki przez kilkanaście sekund. Następnie w analizatorze umieszczono koniugat zrekonstruowany w 4 ml buforu R oraz kalibratory zawierające znane stężenia IFN- γ . Po zakończonej kalibracji przygotowano kontrole testu przez rekonstrukcję liofilizatu w 2 ml wody dejonizowanej i również umieszczono je w analizatorze. Przed rozpoczęciem właściwego badania zweryfikowano zakres wartości kalibracyjnych

i kontrolnych. Próbkę osocza zarejestrowano w systemie laboratoryjnym LQS (ang. *Liaison Query System*), a następnie umieszczono je w analizatorze Liaison XS i wykonano test IGRA [153].

Interpretacja wyników

Interpretacja wyników jest identyczna jak testu QuantiFeron-TB Gold Plus (Tab.6).

Kontrola jakości

W celu monitorowania poprawności wykonania testu Liaison QFT-Plus przeprowadzano kontrolę za pomocą Liaison Control QuantiFeron-TB Gold Plus:

- 1) raz dziennie przed wykonaniem testu,
- 2) zawsze po zastosowaniu nowego zestawu odczynników,
- 3) zawsze po kalibracji zestawu,
- 4) zawsze po użyciu odczynnika z nowej serii.

Wartości oznaczenia kontroli musiały zawierać się w oczekiwanych zakresach, w innym wypadku kalibracja była powtarzana i ponownie oznaczano kontrole [153].

4.3 System Bio-Plex 200 w oznaczeniu stężeń cytokin

Zasada testu

Oznaczenie stężeń cytokin w próbkach osocza wykonano za pomocą system Bio-Plex 200 (Bio-Rad, Hercules, USA), wykorzystując zestaw Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel. Metoda wykorzystuje technologię Luminex xMAP (Luminex, Austin, USA) łączącą właściwości klasycznego testu ELISA z przepływową cytometrią fluorescencyjną. Podstawą oznaczenia są fluorescencyjne kulki z polistyrenu (mikrosfery), z których każda zawiera unikalną kombinację barwników fluorescencyjnych. Na powierzchni każdej z 20 rodzajów mikrosfer unieruchomiono przeciwciała skierowane przeciwko jednej z oznaczanych cytokin, które podczas inkubacji z próbkami osocza są odpowiednio wiązane dzięki powinowactwu przeciwciała do specyficznego antygeny. Po wyznakowaniu fluorochromem (fikoerytryną) cytokiny związane na mikrosferach są wykrywane ilościowo w analizatorze wykorzystującym zaawansowany system laserów. Wyniki przedstawiane są w postaci wartości fluorescencji (ang. *Median Fluorescence Intensity*, MFI), która przeliczana jest na stężenia cytokin [pg/ml] na podstawie standardowych krzywych kalibracyjnych [154].

Opis wykonania

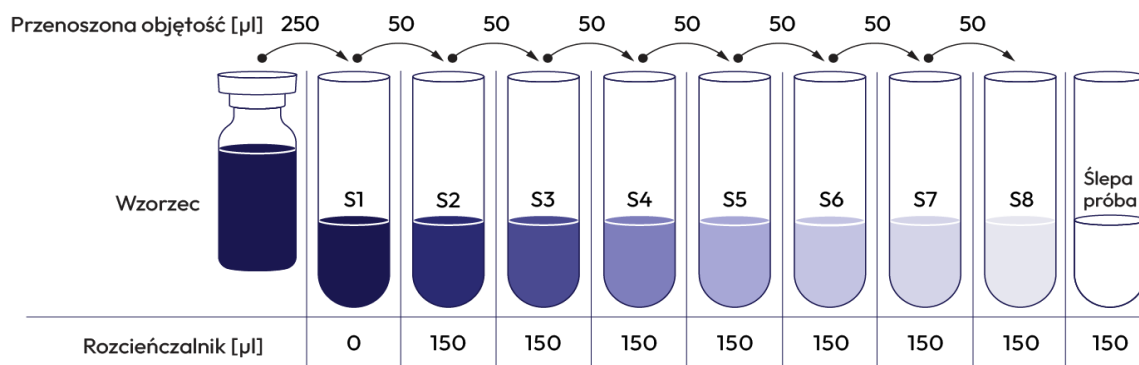
Przed przystąpieniem do wykonania oznaczeń zaprojektowano układ 96 dołkowej płytki testowej (Tab.7). Próbkę osocza z próbek antygenowych TB1 i TB2 po wykonaniu testu QFT-Plus oraz zestaw odczynników przeniesiono do temperatury pokojowej w celu uzyskania stabilizacji temperaturowej. Próbkę osocza odwirowano przy 1000 x g przez 15 minut w temperaturze 4°C, aby usunąć cząstki stałe, a następnie czterokrotnie rozcieńczono. Skalibrowano system Bio-Plex w oprogramowaniu Bio-Plex Manager.

Tabela 7. Układ płytki do testu Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1	S5	K	3TB1								
B	S1	S5	K	3TB2								
C	S2	S6	1TB1	4TB1								
D	S2	S6	1TB2	4TB2								
E	S3	S7	2TB1	itd...								
F	S3	S7	2TB2									
G	S4	S8	S9									Blank
H	S4	S8	S9									Blank

Wszystkie próbki w dwóch powtórzeniach: S1 - S9 wzorce; K - kontrola dodatnia; 1 TB1, 1 TB2 - badane osocze z próbek antygenowych testu QFT-Plus; Blank – próba zerowa.

Wzorce i kontrole rozpuszczono dodając 250 µl rozcieńczalnika do każdej próbki. Tak przygotowane odczynniki wymieszano i inkubowano w lodzie przez 30 minut w celu zapewnienia stabilności próbek oraz spowolnienia reakcji enzymatycznych. Następnie przygotowano czterokrotną serię rozcieńczeń wzorców i próbę zerową, jak pokazano na rycinie 12.



Rycina 12. Schemat przygotowania serii rozcieńczeń do testu Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel [154]

Kulki wymieszano na wytrząsarce typu vortex przez 30 sekund i 1x rozcieńczono w buforze Bio-Plex, chroniąc przed światłem. Do każdej studzienki płytki testowej dodano po 50 μ l kulek. Zgodnie z zaprojektowanym układem płytki do odpowiednich studzienek dodano po 50 μ l wzorców, próbek osocza TB1 i TB2 oraz kontroli. Płytkę inkubowano na wytrząsarce przy prędkości 850 obr/min przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Następnie płukano buforem płuczającym: 3 x 100 μ l. Do każdej studzienki dodano 25 μ l przeciwciał i inkubowano płytkę na wytrząsarce przy prędkości 850 obr/min przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Ponownie płukano buforem płuczającym: 3 x 100 μ l. Dodano 50 μ l streptawidyny do każdej studzienki i inkubowano na wytrząsarce przy 850 obr/min przez 10 minut w temperaturze pokojowej. Powtórzono trzykrotnie płukanie. Do każdej studzienki dodano po 125 μ l buforu testowego, który zapewniał warunki do przeprowadzenia reakcji immunoenzymatycznych, a następnie wytrząsano płytkę przy prędkości 850 obr/min przez 30 sekund. Po tym etapie płytkę umieszczono w analizatorze w celu oznaczenia stężenia 20 cytokin: G-MCSF, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, TNF- α [154].

4.4 Metodyka statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono w programie TIBCO Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, Kalifornia, USA). Ze względu na brak rozkładu normalnego co zbadano przy użyciu wykresów kwantylowych Q-Q prawdopodobieństwa normalnego i testu W Shapiro - Wilka dane ilościowe przedstawiono za pomocą mediany, zakresu międzykwartylowego (ang. *Interquartile Range*, IQR) i zakresu (ang. *Range*). Dane jakościowe prezentowano jako liczebność (n) i odsetek (%) z całej populacji albo grupy. Porównania odsetków między grupami wykonywano z zastosowaniem testu G najwyższej wiarygodności lub dokładnego testu Fishera (w przypadku grup niezależnych) i testu McNemary (w przypadku grup zależnych). Przedziały ufności (PU) określano dla 95% poziomu ufności z zastosowaniem metody Wilsona, a 95% PU dla różnicy odsetków obliczano metodą Newcomba [155]. Wszystkie testy interpretowano w odniesieniu do dwustronnej hipotezy alternatywnej, a poziom istotności statystycznej (α) wynosił 5%. Zmienne porównano między grupami zależnymi przy użyciu testu Wilcoxa i między grupami niezależnymi przy użyciu testu U Manna - Whitneya (oba testy stanowią nieparametryczną alternatywę dla testu t-Studenta

stosowaną w przypadku zmiennych o rozkładzie innym niż normalny). Wieloczynnikową regresję logistyczną zastosowano do zbadania niezależnej roli probówek antygenowych TB1 i TB2 w teście QFT-Plus jak i przy oznaczaniu stężeń 20 cytokin Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel, a siłę efektu wyrażono jako diagnostyczny iloraz szans (ang. *Diagnostic Odds Ratio*, DOR) [156]. Trafność diagnostyczną testu QFT-Plus jak również trafność stężeń cytokin i modeli logistycznych w klasyfikacji pacjentów do poszczególnych grup określono przez oszacowanie pola pod krzywą ROC (ang. *Receiver Operating Characteristic Curve*) (ang. *Area Under the ROC Curve*, AUROC) [157] i interpretowano zgodnie z tabelą 8. Do wskazania optymalnej wartości granicznej (ang. *cut-off*) wykorzystano najwyższą wartość indeksu Youdena [158]. Na jej podstawie oszacowano czułość (ang. *Sensitivity*, Se) oraz swoistość diagnostyczną (ang. *Specificity*, Sp), a także obliczono ilorazy wiarygodności wyniku dodatniego (ang. *Positive Likelihood Ratio*, LR+) oraz ujemnego (ang. *Negative Likelihood Ratio*, LR-). Wartości LR+ mieszczą się w przedziale od 1 do nieskończoności i im wyższe, tym większa wiarygodność wyniku dodatniego. Z kolei LR- zawierają się w przedziale od 0 do 1, im bliższe zeru, tym większa wiarygodność wyniku ujemnego [159].

Tabela 8. Klasyfikacja dokładności diagnostycznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus oraz wybranych cytokin w różnicowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i aktywnej gruźlicy [160, 161]

Dokładność diagnostyczna AUROC (95% PU)	Stopień dokładności
91-100%	wysoka (doskonała)
81-90%	umiarkowana (dobra)
71-80%	zadowalająca (dostateczna)
≤70%	słaba

Korelację pomiędzy wynikami testów QFT-Plus Plus i Liaison QFT-Plus, wartościami w probówkach TB1 i TB2 określono za pomocą współczynnika korelacji rang Spearmana (r_s). Siłę korelacji klasyfikowano zgodnie z tabelą 9.

Tabela 9. Klasyfikacja korelacji rang Spearmana testu QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus oraz wybranych cytokin w różnicowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i aktywnej gruźlicy [162]

Wartość współczynnika korelacji rang Spearmana R_s	Stopień korelacji
0,90-1,00	bardzo silna
0,70-0,89	silna
0,50-0,69	umiarkowana
0,20-0,49	słaba
0-0,19	bardzo słaba

Zgodność między wynikami obu testów QuantiFeron została obliczona jako zgodność obserwowana i zgodność nieprzypadkowa, dzięki zastosowaniu tabeli kontyngencji (Tab.10).

Tabela 10. Wartości wykorzystane do określenia zgodności między wynikami testów diagnostycznych

		Liaison QFT-Plus		Razem
		dodatni	ujemny	
QFT-Plus	dodatni	a	b	a+b
	ujemny	c	d	c+d
Razem		a+c	b+d	a+b+c+d

Zgodność nieprzypadkową określono przy użyciu współczynnika zgodności AC1 Gweta, wolnego od „paradoksu kappa”, czyli wpływu asymetrii rozkładu danych [163, 164, 165, 166]. Współczynnik κ Cohena podano wyłącznie w celu porównania z wynikami starszych badań, ale nie wykorzystano go w analizie statystycznej ze względu na ryzyko niedoszacowania zgodności wyników testów [167, 168]. Współczynniki AC1 Gweta porównywano analogicznie do metody opracowanej dla κ Cohena [169]. Zgodność wyników oceniono stosując klasyfikację współczynnika zgodności AC1 Gweta z tabeli 11.

Tabela 11. Klasyfikacja stopnia zgodności wyników testów QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus [170]

Wartość współczynnika zgodności AC1 i κ	Stopień zgodności
81-100%	bardzo wysoka
61-80%	wysoka
41-60%	umiarkowana
21-40%	niska
0-20%	bardzo niska

W analizie statystycznej stężeń cytokin dane porównano pomiędzy niesparowanymi grupami za pomocą testu U Manna-Whitneya (2 grupy) lub testem H Kruskala-Wallisa (3 grupy) oraz pomiędzy sparowanymi grupami za pomocą testu Wilcozona. Korelacje pomiędzy zmiennymi liczbowymi określono jak wyżej, za pomocą współczynnika korelacji rang Spearmana (r_s). Zmienne przedstawiono w postaci liczebności i odsetka. Porównano je między grupami przy użyciu testu G największej wiarygodności. 95% przedziały ufności obliczono metodą punktacji Wilsona [170, 171]. Dokładność stężeń cytokin i modeli logistycznych w klasyfikacji pacjentów do poszczególnych grup oceniano poprzez obliczenie pola pod krzywą ROC (AUROC) [161] i porównano metodą nieparametryczną [172]. Ze względu na wielokrotne porównania przeprowadzone w analizach jednoczynnikowych zastosowano poprawkę Holma - Bonferroniego

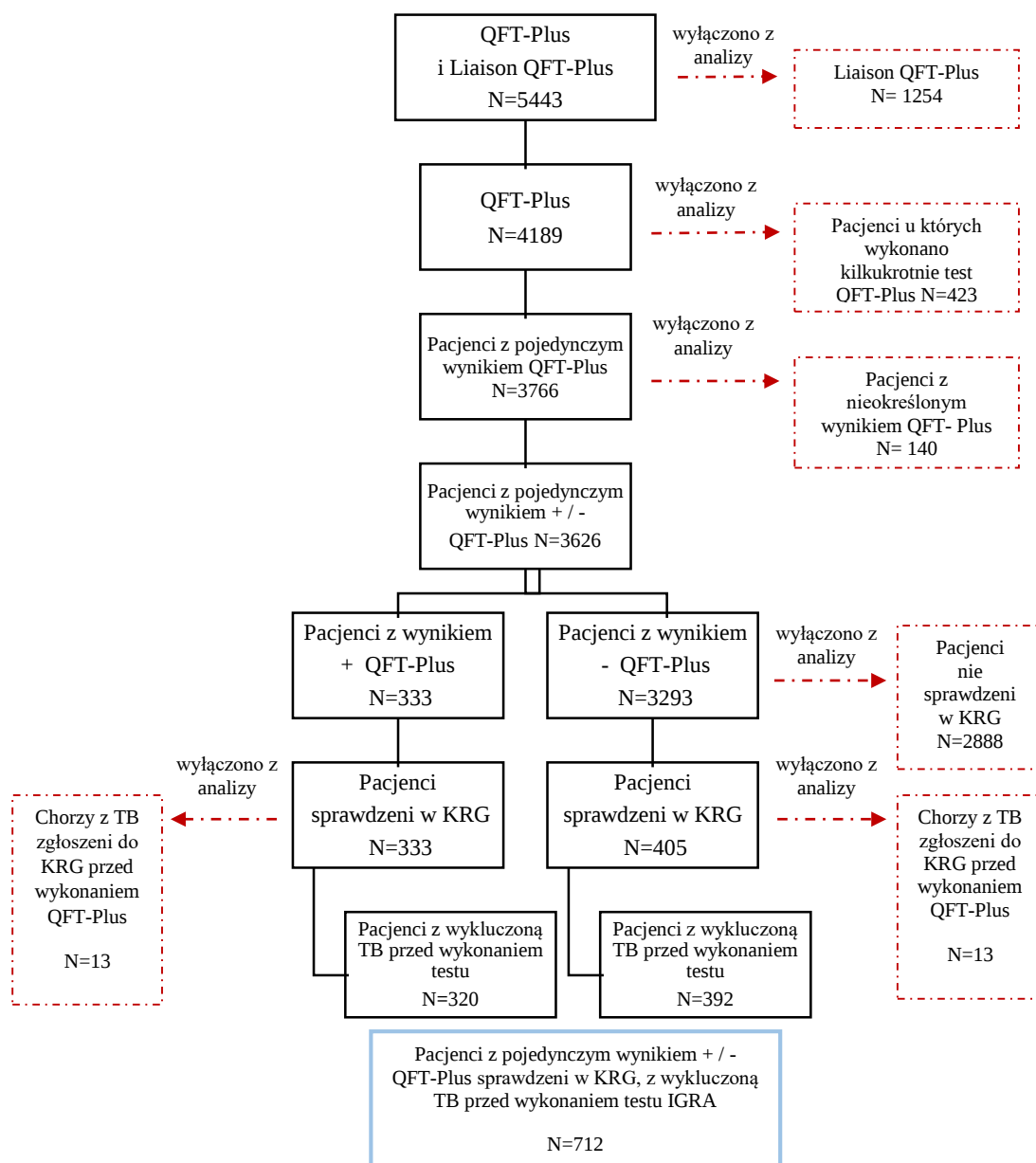
do poziomu istotności (α) wynoszącego 0,05. Do analizy wieloczynnikowej wprowadzono te cytokiny, które okazały się istotne w analizie jednoczynnikowej i charakteryzowały się najwyższą trafnością. Analizę wieloczynnikową przeprowadzono stosując regresję logistyczną zgodnie z procedurą krokową wsteczną. Dopasowanie modeli do danych zweryfikowano z zastosowaniem współczynnika pseudo - R^2 Nagelkerkego oraz testu dopasowania chi-kwadrat Hosmera-Lemeshowa (H- L χ^2) [156].

5 WYNIKI

5.1 Ewaluacja testu QuantiFeron-TB Gold Plus stosowanego w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

5.1.1 Kryteria kwalifikacji pacjentów do analizy testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Analizie poddano 5443 wyniki testów IGRA: QFT-Plus i Liaison QFT-Plus. Badania wykonano w ciągu 7 lat w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie w celu identyfikacji pacjentów z LTBI. Z analizy wyłączono wyniki otrzymane za pomocą krótko stosowanej, automatycznej wersji Liaison QFT-Plus. Wyłączono również pacjentów, u których wykonano kilkakrotnie test IGRA, a także pacjentów z wynikiem nieokreślonym. Następnie pacjentów podzielono na dwie grupy ze względu na uzyskane wyniki testu QFT-Plus: na 333 z dodatnimi i 3293 z ujemnymi wynikami. W październiku 2023 roku wszystkich pacjentów z dodatnimi wynikami testu QFT-Plus i około 10% losowo wybranych pacjentów z wynikami ujemnym sprawdzono czy zostali zgłoszeni do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę (KRG). Z analizy wyłączono następnie chorych, u których zarejestrowano aktywną gruźlicę przed wykonaniem testu IGRA. Ostatecznie do dalszej analizy zakwalifikowano 712 pacjentów, którzy byli diagnozowani w kierunku LTBI testem QFT-Plus w okresie od stycznia 2017 roku do maja 2022 roku (Ryc.13).



Rycina 13. Metodyka wyboru grupy badanej liczącej 712 pacjentów

5.1.1.1 Charakterystyka epidemiologiczna 712 pacjentów, z podziałami na wiek i płeć

Badana grupa obejmowała 712 pacjentów w wieku od 1 miesiąca do 87 lat z medianą równą 39 lat (IQR: 13 - 59 lat). Dzieci stanowiły 34,3% (244) badanych, a dorośli 65,7% (468). Rozkład płci w badanej grupie wynosił 52,9% mężczyzn (377) i 47,1% kobiet (335) oraz nie wykazywał istotnych statystycznie różnic między grupą dzieci (chłopcy: 257 / 468; 58%), a dorosłych (mężczyźni: 119 / 24; 48,8%), ($p = 0,112$).

5.1.2 Analiza wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus

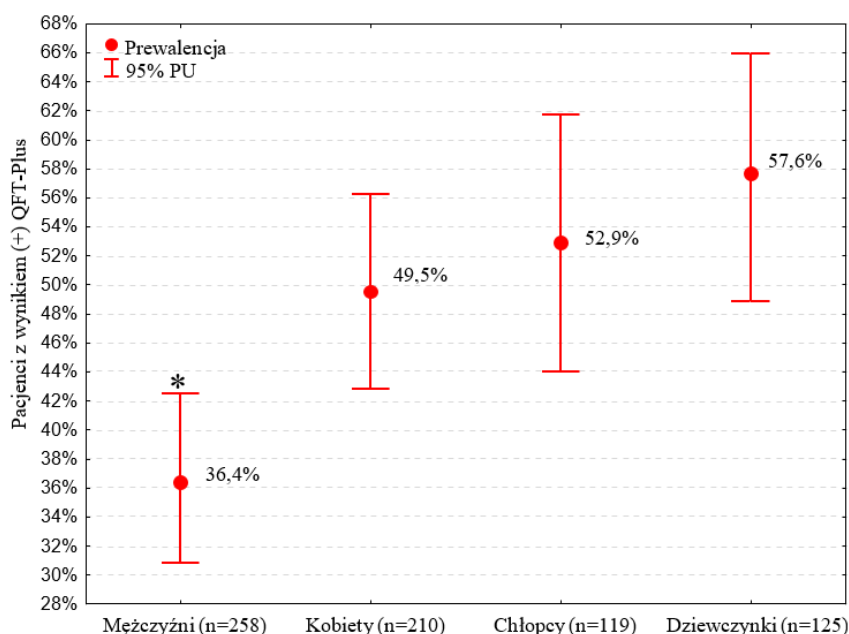
5.1.2.1 Wyniki testu QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od płci i wieku pacjentów

Dodatknie wyniki testu QFT-Plus uzyskano istotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn ($p = 0,004$), a także istotnie częściej u dzieci niż u dorosłych ($p = 0,001$) (Tab.12).

Tabela 12. Rozkład płci i wieku pacjentów w zależności od wyniku testu QuantiFeron- TB Gold Plus

Charakterystyka populacji	Wynik dodatni QFT-Plus (n=333)		
	n / N	% (95% PU)	Wartość p
Płeć			0,004
męska (N=377)	157 / 377	41,6% (36,8% - 46,7%)	
żeńską (N=335)	176 / 335	52,5% (47,2% - 57,8%)	
Wiek			0,001
dorośli (N=468)	198 / 468	42,3% (37,9% - 46,8%)	
dzieci (N=244)	135 / 244	55,3% (49,1% - 61,4%)	

Dalsza analiza rozkładu wyników dodatnich testu IGRA w czterech podgrupach wiekowo-płciowych wykazała, że istotnie rzadziej występowały one u dorosłych mężczyzn w porównaniu do pozostałych trzech grup ($p < 0,001$). Między trzema pozostałymi grupami (dorosłe kobiety, chłopcy, dziewczynki) nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic (Ryc.14).



Rycina 14. Częstość wyniku dodatniego testu QuantiFeron-TB Gold Plus w podziale na cztery grupy wiekowo-płciowe

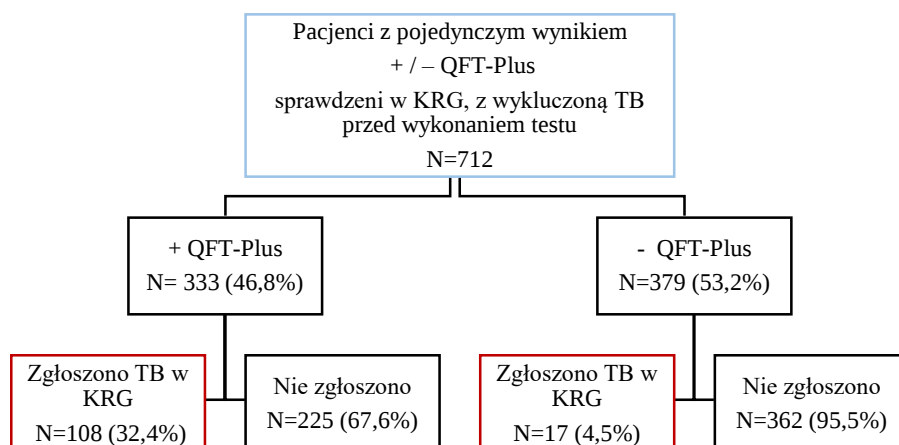
Podsumowanie: Wyniki dodatnie testu QFT-Plus uzyskano istotnie częściej u kobiet (52,5%) niż u mężczyzn (41,6%) oraz u dzieci (55,3%) niż u dorosłych (42,3%). Większość dzieci z analizowanej populacji pochodziła z domowego kontaktu z chorymi na gruźlicę.

5.1.2.2 Zależność między wynikiem testu QuantiFeron-TB Gold Plus, a zgłoszeniem gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę

W diagnostyce LTBI nie dysponujemy złotym standardem diagnostycznym co utrudnia ocenę skuteczności dostępnych metod. W analizach porównawczych jako surogat przyjmuje się aktywną postać gruźlicy potwierdzoną metodami mikrobiologicznymi, przede wszystkim hodowlą *Mycobacterium tuberculosis* [114]. W ramach oceny testu QFT-Plus monitorowano losy pacjentów diagnozowanych w kierunku LTBI, którzy uzyskali zarówno wynik dodatni jak i ujemny testu IGRA. Sprawdzono czy pacjenci, którym wykonano test w ciągu ostatnich 7 lat, zostali zarejestrowani w KRG. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 10 grudnia 2019 roku (Dz.U. 2019 poz. 2430) każdy rozpoznany przypadek aktywnej gruźlicy musi zostać zgłoszony do właściwego Państwowego Powiatowego Inspektora Sanitarnego [173]. W Polsce dane o przypadkach gruźlicy gromadzone są w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę. Rejestr powstał w 1957 roku i od tego czasu jest w sposób ciągły prowadzony przez Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Placówka, na mocy decyzji Głównego Inspektora Sanitarnego, jest krajową specjalistyczną jednostką właściwą w zakresie gruźlicy [17].

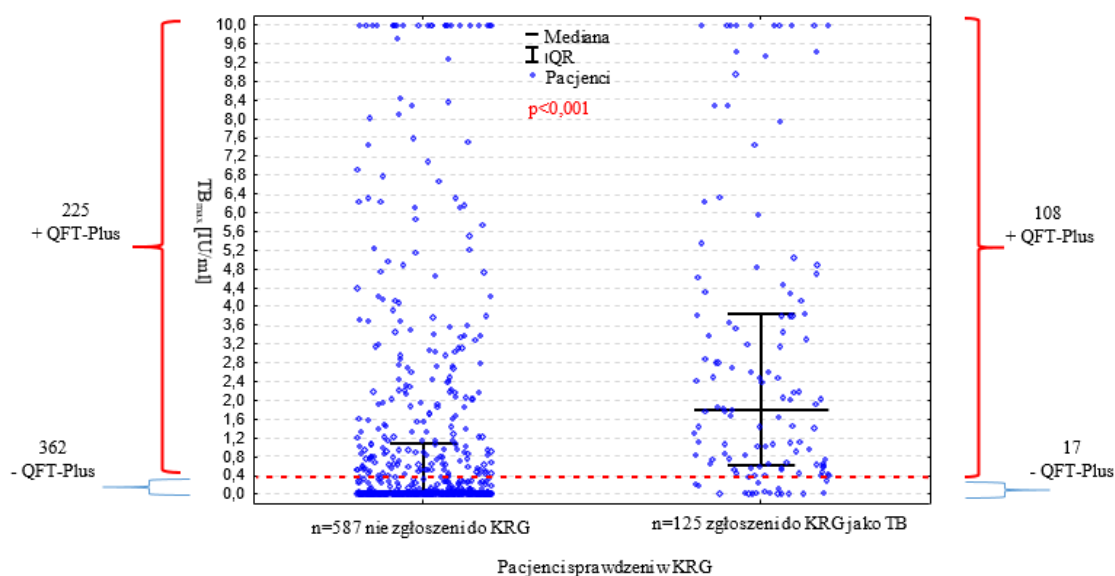
Trafność diagnostyczna testu QFT-Plus została oceniona pod kątem skuteczności w wykrywaniu LTBI oraz w przewidywaniu progresji tego zakażenia do aktywnej gruźlicy zarówno u dzieci jak i dorosłych pacjentów. Z analizy wykluczono przypadki, w których pacjenci zostali zgłoszeni do KRG.

Analizowaną populację 712 pacjentów podzielono na dwie grupy w zależności od wyniku testu QFT-Plus. W grupie pacjentów z dodatnim wynikiem testu IGRA znalazły się 333 (46,8%) osoby spośród których 108 zgłoszono do KRG, co stanowi 32,4% tej grupy. Pozostałych 225 pacjentów (67,8%) nie odnaleziono w rejestrze. W grupie 379 (53,2%) pacjentów z ujemnym wynikiem testu QFT-Plus, do KRG zgłoszono jedynie 17 przypadków gruźlicy, czyli 4,5%. Zdecydowana większość pacjentów z tej grupy czyli 362 (95,5%) nie została zarejestrowana w KRG (Ryc.15).



Rycina 15. Analiza wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od zgłoszenia gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę

Dodatkowo rozkład wyników testu QFT-Plus zobrazowano na rycinie 16 uwzględniając wartości poziomów IFN- γ [IU/ml]. Wartość graniczna testu QFT-Plus została zaznaczona jako czerwona, przerywana linia i wynosiła 0,35 IU/ml (Ryc.16).



Wartości przedstawiono jako medianę, IQR i pomiary u poszczególnych pacjentów. Czerwona, przerywana linia wskazuje wartość graniczną testu QFT-Plus (0,35 IU/ml). Powyżej linii wartości dodatnie (+), poniżej ujemne (-).

Rycina 16. Rozkład wartości liczbowych [IU/ml] testu QuantiFeron-TB Gold Plus w analizowanej grupie 712 pacjentów

5.1.2.3 Ryzyko zachorowania na gruźlicę w zależności od wyniku testu QuantiFeron- TB Gold Plus

Analiza statystyczna wykazała, że w populacji 712 pacjentów diagnozowanych testem QFT-Plus szansa na rozwój gruźlicy u pacjentów z wynikiem dodatnim była

dziesięciokrotnie większa niż u osób z wynikiem ujemnym (iloraz szans OR = 10,2). Z kolei ryzyko względne (ang. *Relative Risk*, RR) zachorowania na gruźlicę wynosiło 7,2. Wartość $p < 0,001$ potwierdziła wysoki poziom istotności statystycznej naszych wyników. Zaobserwowana różnica pomiędzy wartościami OR, a RR wynikała z dość wysokiej częstości występowania gruźlicy (17,6%, 95% PU: 14,9% - 20,5%) w analizowanej populacji. Z tego powodu nastąpiło przeszacowanie ryzyka przez szansę i dlatego z klinicznego punktu widzenia ryzyko względne wynoszące 7,2 lepiej oddaje rzeczywistą zależność między wynikiem dodatnim testu IGRA, a zachorowaniem na gruźlicę zgłoszoną do KRG (Tab.13).

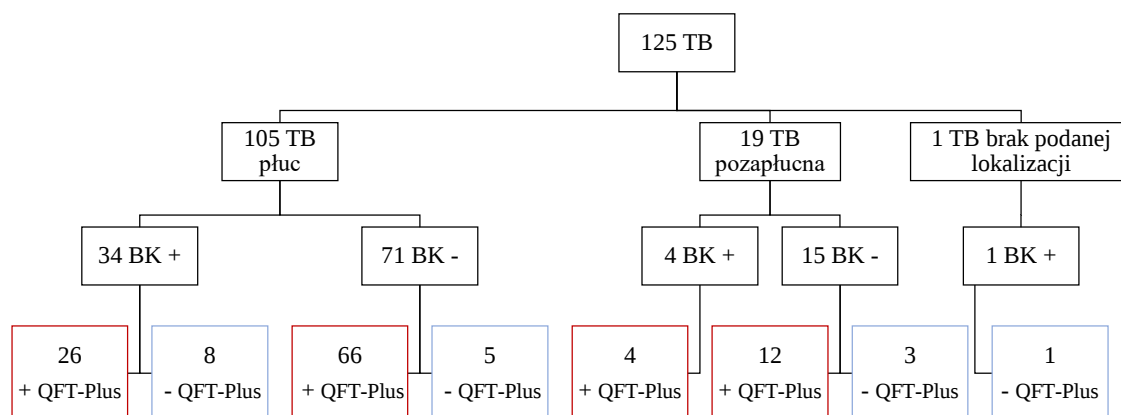
Tabela 13. Iloraz szans i ryzyko względne zachorowania na gruźlicę w zależności od wyniku testu QuantiFeron-TB Gold Plus

	Gruźlica zgłoszona do KRG (N=125)	% (95% PU)	Iloraz szans OR (95% PU)	Ryzyko względne RR (95% PU)	Wartość p
+ QFT-Plus	108 / 333	32,4% (27,6% - 37,6%)	10,2 (6,0 – 17,5)	7,2 (4,4 – 11,8)	< 0,001
- QFT-Plus	17 / 379	4,5% (2,8% - 7,1%)			

Podsumowanie: Dodatni wynik testu QFT-Plus odnotowano w 86,4% przypadków zgłoszonych do KRG, co oznaczało ponad 7 krotnie wyższe ryzyko rozwoju gruźlicy (RR = 7,2) w tej grupie pacjentów.

5.1.2.4 Charakterystyka 125 chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę, u których wykonano test QuantiFeron-TB Gold Plus

W analizowanej grupie 712 pacjentów, aktywną gruźlicę zgłoszono do KRG u 125 (17,6%) osób. Gruźlica płuc stanowiła zdecydowaną większość wszystkich zgłoszonych przypadków (105 / 125 pacjentów; 84,0%), natomiast gruźlica pozapłucna stanowiła 19 / 125 przypadków (15,2%), w jednym przypadku nie podano lokalizacji gruźlicy. Potwierdzenie mikrobiologiczne gruźlicy (ang. *Bacillus Koch*, BK+) płuc uzyskano w 32,4% (34 / 105), a postaci pozapłucnej w 21,1% (4 / 19) (Ryc.17).



Rycina 17. Występowanie różnych typów gruźlicy w grupie 125 chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę, u których wcześniej wykonano test QuantiFeron TB-Gold Plus

Pacjenci zarejestrowani w KRG z rozpoznaniem gruźlicy płuc 92 / 105 (87,6%) uzyskali wyniki dodatnie testu QFT-Plus (przed zgłoszeniem gruźlicy) równie często jak chorzy z rozpoznaniem postaci pozapłucnej 16 / 19 (84,2%) ($p = 0,711$). Chorzy bez potwierdzenia mikrobiologicznego gruźlicy (możliwy przypadek TB) 78 / 86 (90,7%) byli pacjentami, u których statystycznie częściej wyniki testu QFT-Plus były dodatnie (przed zgłoszeniem gruźlicy do KRG) niż u pacjentów z pewnym rozpoznaniem gruźlicy 30 / 39 (76,9%) ($p = 0,037$) (Ryc.17 i Tab.14). W analizowanej grupie chorych było 74 (59,2%) dzieci i 51 (40,8%) dorosłych ($p = 0,049$). Potwierdzenie mikrobiologiczne gruźlicy uzyskano istotnie statystycznie częściej u dorosłych 52,9% (27 / 51) niż u dzieci 16, 2% (12 / 74) (różnica odsetków = 36,7%; 95% PU: 20% - 51,4%; $p < 0,001$) (Tab.14).

Tabela 14. Analiza dodatnich wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus u chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę w zależności od zgłoszonej postaci gruźlicy, potwierdzenia mikrobiologicznego oraz wieku chorego.

Chorzy na TB zarejestrowani w KRG (125)	n / N	+ QFT-Plus (108)	
		% (95% PU)	Wartość p
Postać (124)*			
Płucna (N=105)	92 / 105	87,6% (80% – 92,6%)	0,711
Pozapłucna (N=19)	16 / 19	84,2% (62,4% – 94,5%)	
Potwierdzenie mikrobiologiczne (125)			
BK+ (N=39)	30 / 39	76,9% (61,7% – 87,4%)	0,037
BK- (N=86)	78 / 86	90,7% (82,7% – 95,2%)	
Wiek (125)			
Dzieci (N=74)	12 / 74	16,2% (9,5% - 26,2%)	<0,001
Dorośli (N=51)	27 / 51	52,9% (39,5% - 65,9%)	

*W przypadku postaci gruźlicy sumujemy pacjentów do 124 ponieważ u 1 nie podano postaci gruźlicy

Podsumowanie: W analizowanej grupie 125 pacjentów dominowała gruźlica płuc (84%), a mikrobiologiczne potwierdzenie choroby uzyskano u 31,2% osób, częściej u dorosłych (52,9%) niż u dzieci (16,2%). Dodatni wynik testu QFT-Plus przed zgłoszeniem gruźlicy do KRG częściej obserwowano u pacjentów bez potwierdzenia mikrobiologicznego choroby (90,7%) niż u pacjentów z pewnym rozpoznaniem gruźlicy (76,9%).

5.1.2.5 Analiza wartości IFN- γ w próbkach antygenowych TB1 i TB2 testu QuantiFeron-TB Gold Plus u dzieci i dorosłych

W badanej grupie 712 pacjentów wartości IFN- γ zmierzone w próbkach antygenowych TB1 oraz TB2 testu QFT-Plus nie wykazały różnic statystycznie istotnych. W związku z tym do dalszych analiz przyjęto wartość TB_{max} definiowaną jako wyższy z dwóch pomiarów poziom IFN- γ (TB1 lub TB2). Wśród 74 dzieci, które zgłoszono do KRG wartości TB_{max} były istotnie wyższe (mediana 2,7 IU/ml) w porównaniu z 51 dorosłymi chorymi na gruźlicę (mediana 0,85 IU/ml). Natomiast wśród pacjentów bez rozpoznania gruźlicy nie obserwowano istotnych różnic wartości TB_{max} (Tab.15).

Tabela 15. Ilościowe wyniki testu QuantiFeron-TB Gold Plus w próbkach antygenowych TB1 i TB2 u dzieci oraz dorosłych w zależności od zgłoszenia przypadku gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę

Populacja	Chorzy na gruźlicę zgłoszeni do KRG					Pacjenci nie zgłoszeni do KRG				
	n	TB1	TB2	TB1vs TB2 wartość p	TB _{max}	n	TB1	TB2	TB1vs TB2 wartość p	TB _{max}
Ogółem (n=712)	12 5	1,45 0,5-3,67 (0-10)	1,42 0,5-3,37 (0-10)	0,764	1,79 0,59-3,84 (0-10)	587	0,03 0-0,88 (0-10)	0,03 0-0,91 (0-10)	0,078	0,05 0-1,08 (0-10)
Dzieci (n=244)	74	2,42 0,85-4,62 (0-10)	2,28 0,7-4,47 (0-10)	0,95	2,7 1,01-5,04 (0,01-10)	170	0,03 0-1,6 (0-10)	0,02 0-1,49 (0-10)	0,255	0,05 0-1,85 (0-10)
Dorośli (n=468)	51	0,66 0,19-1,74 (0-10)	0,73 0,2-1,94 (0-10)	0,697	0,85 0,38-2,18 (0-10)	417	0,02 0-0,74 (0-10)	0,04 0-0,83 (0-10)	0,169	0,07 0-0,94 (0-10)
Dzieci vs Dorośli wartość p		<0,001	<0,001		<0,001		0,753	0,796		0,892

Podsumowanie: Odpowiedź komórkowa limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ na zakażenie prątkiem gruźlicy mierzona jako poziomy IFN- γ w próbkach antygenowych TB1 i TB2 testu QFT-Plus nie różniła się istotnie w analizowanych grupach pacjentów. Dzieci zgłoszone do KRG miały istotnie wyższe wartości IFN- γ w próbkach antygenowych testu QFT-Plus niż dorośli ($p < 0,001$).

5.1.2.6 Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus

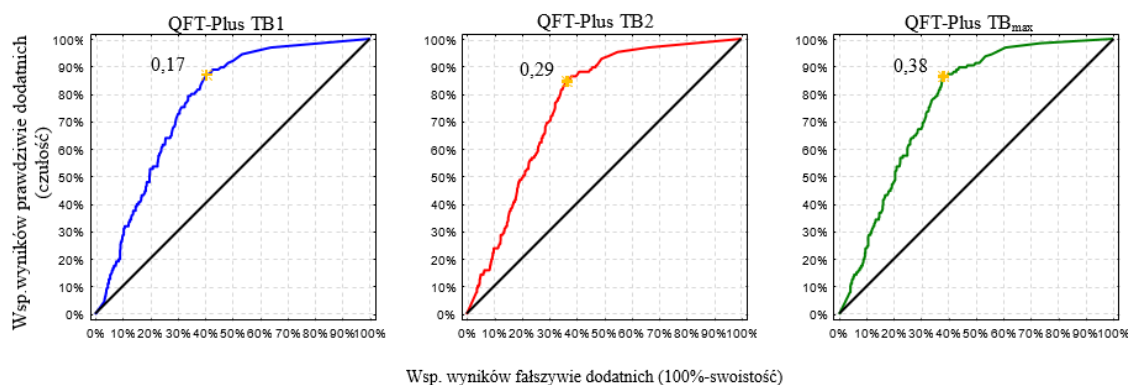
5.1.2.6.1 Analiza oparta o krzywą ROC w celu określenia optymalnej wartości granicznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Trafność diagnostyczną testu QFT-Plus oceniono na podstawie wartości TB_{max}, ale w celu pełnej analizy danych uwzględniono również interpretacje wyników oparte osobno na próbkach TB1 i TB2 (Tab. 16). Wszystkie trzy podejścia interpretacyjne: TB_{max}, TB1, TB2 wykazały porównywalną, akceptowalną skuteczność w rozpoznawaniu LTBI, z wartością pola pod krzywą ROC (ang. *Receiver Operating Characteristic*) (AUROC ang. *Area Under the ROC*) wynoszącą około 76% ($p < 0,001$) oraz współczynnikiem Youdena ma poziomie 47 – 48,5% (Tab.16).

Tabela 16. Analiza AUROC dla pomiarów IFN- γ w próbkach TB1 i TB2 testu QuantiFeron- TB Gold Plus w badanej populacji 712 pacjentów

Warianty interpretacji testu QFT-Plus	AUROC (95% PU)	Wartość p	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Współczynnik Youdena (95% PU)
TB _{max}	76,5% (72,7% - 80,4%)	<0,001	0,38	48,4% (44,7% - 52,1%)
Probówka TB1	76,8% (72,9% - 80,7%)	<0,001	0,17	47% (43,4% - 50,6%)
Probówka TB2	76,3% (72,4% - 80,2%)	<0,001	0,29	48,5% (44,7% - 52,3%)

Optymalna wartość graniczna testu QFT-Plus zależała od przyjętego wariantu interpretacji i została wyznaczona na podstawie maksymalizacji współczynnika Youdena. Najniższą wartość graniczną ustalono dla próbki TB1 (0,17 IU/ml), wyższą dla TB2 (0,29 IU/ml), a najwyższą dla TB_{max} (0,38 IU/ml) (Tab.16 i Ryc.18).



*Pomarańczowy krzyżyk wskazuje optymalną wartość graniczną w oparciu o maksymalny wskaźnik Youdena dla każdego wariantu interpretacji testu QFT-TB Gold Plus.

Rycina 18. Trzy krzywe ROC testu QuantiFeron-TB Gold Plus w oparciu o wartości IFN- γ zmierzone tylko w próbówce TB1, tylko w TB2 lub policzone jako TB_{max}

Najistotniejszą cechą testów IGRA jest czułość diagnostyczna (ang. *Sensitivity*, Se) ze względu na ich przesiewowe zastosowanie (ang. *Screening*). W naszej analizie najwyższą czułość uzyskano przy interpretacji wyników testu QFT-Plus wyłącznie na podstawie wartości IFN- γ z próbki TB1 - wynosiła ona 87,2% przy jednocześnie najniższej swoistości diagnostycznej (ang. *Specificity*, Sp) na poziomie 59,8%. Czułość nieznacznie obniżała się do 86,4% przy zastosowaniu modelu opartego na TB_{max} zarówno przy optymalnej wartości granicznej 0,38 IU/ml jak i przy wartości zalecanej przez producenta testu 0,35 IU/ml. Najniższą czułość testu odnotowano przy interpretacji opartej wyłącznie na wynikach z próbki antygenowej TB2 (Tab.17). Diagnostyczne ilorazy szans (DOR) dla wszystkich analizowanych modeli wynosiły około 10, co potwierdza dobrą skuteczność diagnostyczną ocenianego testu IGRA. Wskaźniki wiarygodności wyniku ujemnego (LR-) były zbliżone do 0, a wyniku dodatniego (LR+) przekraczały wartość 1 osiągając w naszej analizie wartość około 2, co wskazuje na umiarkowaną zdolność testu do potwierdzania obecności zakażenia.

Tabela 17. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 16

Probówki QFT-Plus	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Se (95% PU)	Sp (95% PU)	LR+ (95% PU)	LR- (95% PU)	DOR (95% PU)
TB1	0,17	87,2% (80,2% - 92%)	59,8% (55,8%-63,7%)	2,2 (1,9 -2,4)	0,21 (0,14 -0,34)	10,1 (5,9 -17,6)
TB2	0,29	84,8% (77,5% - 90%)	63,7% (59,7% - 67,5%)	2,3 (2,1 -2,7)	0,24 (0,16 -0,36)	9,8 (5,9 -16,4)
TB _{max}	0,38	86,4% (79,3% - 91,3%)	62% (58% - 65,8%)	2,3 (2 - 2,6)	0,22 (0,14 -0,34)	10,4 (6,1 -17,8)
^a TB _{max}	0,35 ^a	86,4% (79,3% - 91,3%)	61,7% (57,7% - 65,5%)	2,3 (2 - 2,6)	0,22 (0,14 -0,35)	10,2 (6 - 17,5)

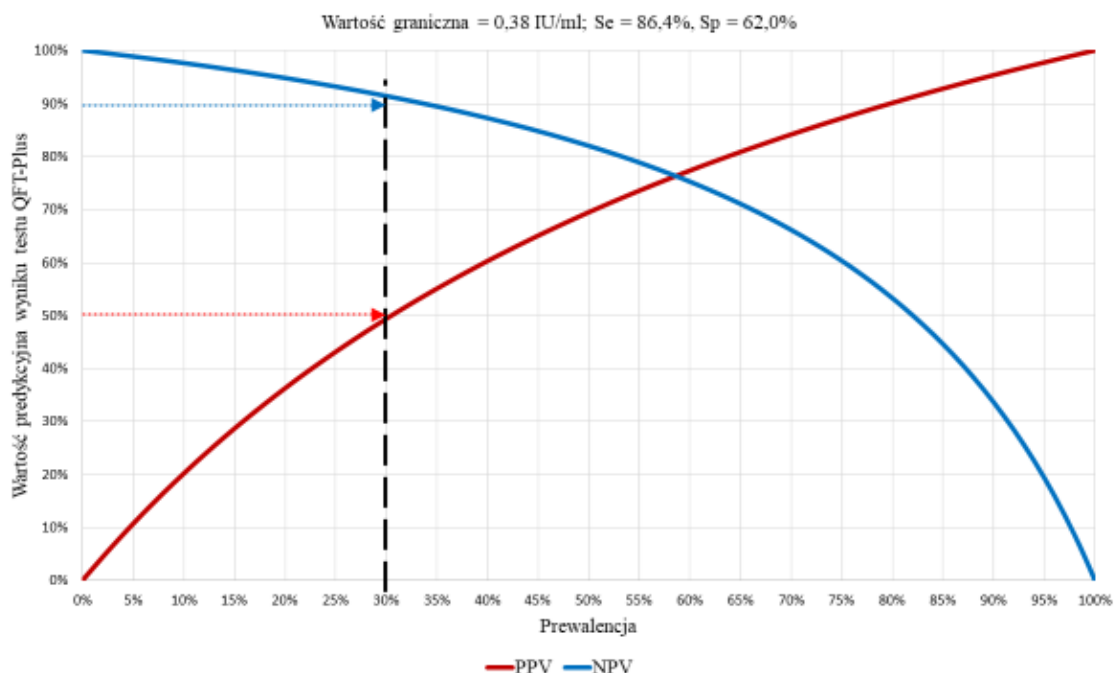
^a wartość graniczna producenta

W naszej analizie za optymalną wartość graniczną testu QFT-Plus przyjęto 0,38 IU/ml co zostało zobrazowane za pomocą krzywej ROC, narzędzia statystycznego wykorzystywanego do oceny trafności diagnostycznej testu (Ryc.18). Przy tej wartości uzyskano najwyższą czułość 86,4% przy możliwie wysokiej swoistości wynoszącej 62% (Tab.17). Oznacza to, że test przy tej wartości granicznej skutecznie identyfikuje większość osób zakażonych prątkiem gruźlicy, a jednocześnie ogranicza liczbę wyników fałszywie dodatnich u osób niezakażonych.

5.1.2.6.2 Zastosowanie testu QuantiFeron-TB Gold Plus jako badania przesiewowego w kierunku latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Aby test QFT-Plus mógł być uznany za skuteczne narzędzie przesiewowe w kierunku LTBI powinien charakteryzować się wartością predykcyjną wyniku ujemnego (ang. *Negative Predictive Value*, NPV) na poziomie co najmniej 90%. Wartość ta oznacza, że ujemny wynik testu z dużym prawdopodobieństwem wyklucza zakażenie. NPV zależy nie tylko od parametrów testu, takich jak czułości i swoistości, ale także od częstości występowania LTBI w populacji (prewalencji). Jak przedstawiono na rycinie 19, jeśli prewalencja LTBI nie przekracza 30% wartość NPV testu QFT-Plus utrzymuje się na poziomie $\geq 90\%$ (zaznaczone niebieską strzałką). Oznacza to, że przy takiej częstości występowania ponad 90% osób z wynikiem ujemnym rzeczywiście nie jest zakażonych. Natomiast gdy prewalencja przekracza 30%, NPV ulega pogorszeniu co oznacza, że wynik ujemny staje się mniej wiarygodny – rośnie ryzyko wyników fałszywie ujemnych (ilustruje to niebieska krzywa na rycinie 19). Z kolei wartość predykcyjna wyniku dodatniego (ang. *Positive Predictive Value*, PPV) pozostaje stosunkowo niska wynosząc 50% lub mniej (zaznaczone czerwoną strzałką). Oznacza to, że nawet u połowy

osób z dodatnim wynikiem testu nie dochodzi w rzeczywistości do zakażenia prątkiem gruźlicy – wynik jest fałszywie dodatni (czerwona krzywa na rycinie 19) (Ryc.19).



Rycina 19. Zależność wartości predykcyjnych wyniku testu QuantiFeron-TB Gold Plus od częstości występowania latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy w populacji, z której pochodzi badany pacjent

Podsumowanie: Trafność diagnostyczna testu QFT-Plus wynosiła 76,5%, przy optymalnej wartości granicznej testu równej 0,38 IU/ml. Test charakteryzował się czułością i swoistością diagnostyczną na poziomie 86,4% i 62% oraz dobrymi wskaźnikami wiarygodności uzyskanego wyniku. Wysoka wartość predykcyjna wyniku ujemnego testu QFT-Plus potwierdziła jego użyteczność jako narzędzia przesiewowego do wykrywania LTBI.

5.1.2.6.3 Analiza oparta o krzywą ROC w celu ustalenia optymalnej wartości granicznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus u dzieci i dorosłych

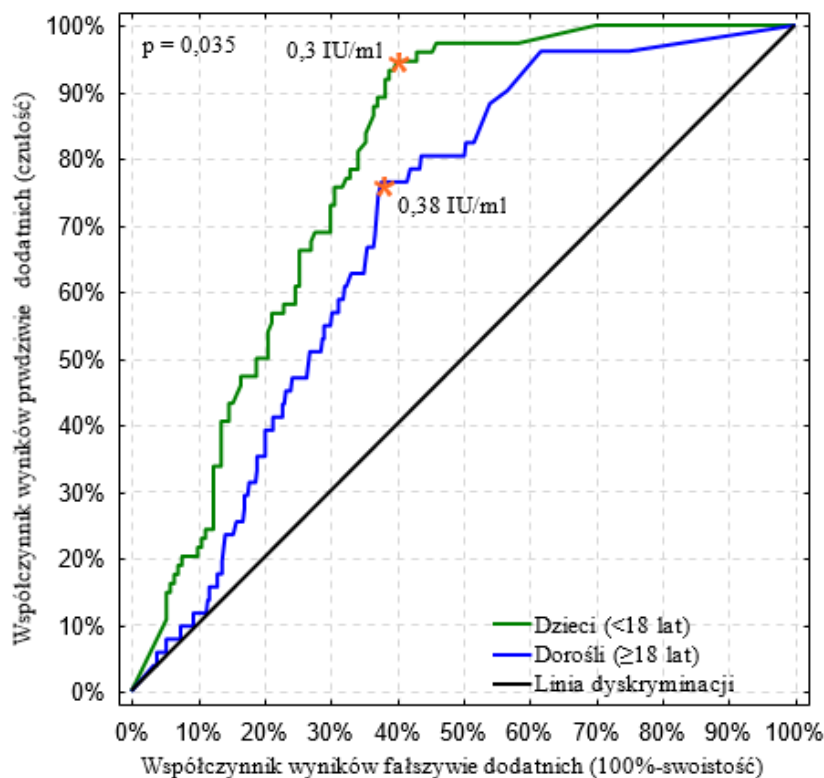
Ze względu na wysoki odsetek dzieci (34,3%) w analizowanej przez nas populacji pacjentów diagnozowanych testem QFT-Plus i istotności uzyskanego wyniku, od którego często zależy dalsza diagnostyka i rozpoczęcie chemioprophylaktyki, zajęliśmy się porównaniem trafności diagnostycznej w/w testu u dzieci i dorosłych.

Trafność diagnostyczną testu QFT-Plus obliczono tak samo jak w przypadku populacji ogólnej i podobnie nie różniła się istotnie w 3 wariantach interpretacji testu. Wyniki były

dostatecznie dokładne w diagnozowaniu LTBI i pola powierzchni pod krzywymi ROC wynosiły około 78% u dzieci i około 70% u dorosłych ($p < 0,001$), a współczynnik Youdena odpowiednio około 54% i 38%. Optymalna wartość graniczna testu QFT-Plus u dzieci w oparciu o TB_{max} wynosiła 0,3 IU/ml, a u dorosłych 0,38 IU/ml, tak samo jak w populacji ogólnej (Tab.18 i Ryc.20).

Tabela 18. Analiza AUROC dla poziomów $IFN-\gamma$ w próbkach TB1 i TB2 testu QuantiFeron- TB Gold Plus u dzieci i dorosłych

QFT-Plus	Dzieci (N=244; w tym 74 TB)				Dorośli (N=468; w tym 51 TB)			
	AUROC (95% PU)	Wartość p	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Wsp. Youdena (95% PU)	AUROC (95% PU)	Wartość p	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Wsp. Youdena (95% PU)
TB_{max}	78,8% (73,3%-84,3%)	<0,001	0,30	54,6% (50%-59,2%)	69,9% (63,7%-76,1%)	<0,001	0,38	38,8% (32,4%-45,2%)
TB1	78,9% (73,3%-84,5%)	<0,001	0,22	53,8% (49,1%-58,6%)	70,4% (64,2%-76,6%)	<0,001	0,02	38,4% (34%-42,9%)
TB2	78% (72,3%-83,6%)	<0,001	0,26	55,8% (51,2%-60,3%)	70,1% (63,8%-76,4%)	<0,001	0,34	38,7% (32,1%-45,4%)



*Gwiazdki wskazują optymalne wartości graniczne

Rycina 20. Krzywe ROC testu QuantiFeron-TB Gold Plus w oparciu o TB_{max} u dzieci i dorosłych

W naszej analizie test QFT-Plus wykazał wysoką czułość diagnostyczną u dzieci wynoszącą około 94% i dobrą swoistość na poziomie 61%. Trafność diagnostyczna testu przy wartości granicznej producenta 0,35 IU/ml była nieznacznie niższa niż przy optymalnej wartości granicznej 0,3 IU/ml (Tab.19). DOR dla modelu interpretacji opartym na TB_{max} oraz optymalnej wartości granicznej wynosił 26,3 co potwierdza wysoką skuteczność diagnostyczną ocenianego przez nas testu IGRA w populacji pediatrycznej. Również wskaźniki wiarygodności były korzystne - LR- wyniósł 0,09, a LR+ 2,4 (Tab.19).

Tabela 19. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 18 u dzieci

	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Se (95% PU)	Sp (95% PU)	LR+ (95% PU)	LR- (95% PU)	DOR (95% PU)
TB1	0,22	93,2% (85,1%-97,1%)	60,6% (53,1%-67,6%)	2,4 (1,9-2,9)	0,11 (0,05-0,26)	21,2 (8,1-55,3)
TB2	0,26	94,6% (86,9%-97,9%)	61,2% (53,7%-68,2%)	2,4 (2,0-3,0)	0,09 (0,03-0,23)	27,6 (9,6-79,1)
TB_{max}	0,3	94,6% (86,9%-97,9%)	60,0% (52,5%-67,1%)	2,4 (2,0-2,9)	0,09 (0,03-0,24)	26,3 (9,2-75,3)
TB_{maxa}	0,35 ^a	93,2% (85,1%-97,1%)	61,2% (53,7%-68,2%)	2,4 (2,0-2,9)	0,11 (0,05-0,26)	21,8 (8,3-56,7)

^a wartość graniczna producenta

W grupie dorosłych test QFT-Plus charakteryzował się niższą czułością (76,5%) w porównaniu z wynikami uzyskanymi u dzieci przy zachowaniu podobnej swoistości diagnostycznej (około 62%). Trafność diagnostyczna testu przy wartości granicznej producenta testu 0,35 IU/ml lub optymalnej wartości granicznej 0,38 IU/ml była bardzo podobna. Diagnostyczny iloraz szans DOR dla w/w modeli interpretacji wynosił około 5, co świadczy o umiarkowanej skuteczności diagnostycznej testu IGRA w tej populacji. Wskaźniki wiarygodności również były porównywalne LR - 0,38 i LR + 2 (Tab.20).

Tabela 20. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 18 u dorosłych

	Optymalna wartość graniczna [IU/ml]	Se (95% PU)	Sp (95% PU)	LR+ (95% PU)	LR- (95% PU)	DOR (95% PU)
TB1	0,02	92,2% (81,2%-96,9%)	46,3% (41,6%-51,1%)	1,7 (1,5-1,9)	0,17 (0,07-0,44)	10,1 (3,6-28,6)
TB2	0,34	72,5% (59,1%-82,9%)	66,2% (61,5%-70,6%)	2,1 (1,7-2,7)	0,42 (0,26-0,65)	5,2 (2,7-9,9)
TB_{max}	0,38	76,5% (63,2%-86%)	62,4% (57,6%-66,9%)	2,0 (1,7-2,5)	0,38 (0,23-0,62)	5,4 (2,7-10,6)
TB_{maxa}	0,35^a	76,5% (63,2%-86%)	61,9% (57,1%-66,4%)	2,0 (1,6-2,4)	0,38 (0,23-0,63)	5,3 (2,7-10,4)

^awartość graniczna producenta

Podsumowanie: Test QFT-Plus charakteryzował się wyższą czułością diagnostyczną (94,6%) u dzieci niż u dorosłych (76,5%) przy zbliżonej swoistości (ok. 60%). Optymalne wartości graniczne testu u dzieci i dorosłych były zbliżone do wartości rekomendowanej przez producenta testu 0,35 IU/ml, co potwierdziło zasadność jej stosowania w populacji ogólnej. Trafność diagnostyczna testu była wyższa u dzieci niż u dorosłych (DOR 26,3 vs. 5,4).

5.2 Porównanie testów QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

5.2.1 Częstość występowania wyników dodatnich uzyskanych dwoma testami QuantiFeron w grupie 269 pacjentów

W badanej grupie 269 pacjentów uzyskano 58 wyników dodatnich i 211 ujemnych przy zastosowaniu testu QFT-Plus oraz 70 wyników dodatnich i 199 ujemnych testem Liaison QFT- Plus. Żaden test nie dał wyniku nieokreślonego. Do interpretacji zastosowano wyznaczoną przez producentów wartość graniczną równą 0,35 IU/ml. Wyniki dodatnie testu Liaison QFT-Plus (26%) uzyskano istotnie częściej niż testu QFT- Plus (21,6%), ($p = 0,01$) (Tab.21).

Tabela 21. Częstość występowania wyników dodatnich dwóch testów QuantiFeron

	QFT-Plus		Liaison QFT-Plus		Różnica w proporcjach (95% PU)	Wartość p
	Liczba (+) wyników	% (95% PU) (+) wyników	Liczba (+) wyników	% (95% PU) (+) wyników		
Populacja badana (N=269)	58	21,6% (17,1% - 26,9%)	70	26% (21,1% - 31,6%)	-4,5% (-7,7% - 1,3%)	0,01

5.2.2 Zgodność pomiędzy wynikami dwóch testów QuantiFeron

Analizując wyniki testów QFT-Plus i Liaison QFT-Plus uzyskano 55 zgodnych dodatnich wyników i 196 zgodnych ujemnych (Tab.22). Zgodność obserwowana pomiędzy wynikami testów wynosiła 93,3%. W celu wyeliminowania zgodności przypadkowej zastosowano dwa współczynniki zgodności nieprzypadkowej kappa (κ) Cohena i AC1 Gweta, które modyfikują zgodność obserwowaną o przewidywaną zgodność przypadkową. Rzeczywistą zgodność wyników dwóch testów oparto na współczynniku AC1, który wyniósł 89,5% (Tab.22 i Tab.23).

Tabela 22. Wartości zastosowane w obliczeniach zgodności wyników pomiędzy dwoma testami QuantiFeron interpretowanymi na podstawie wartości granicznej producentów 0,35 IU/ml

		Liaison QFT-Plus		Razem
		$\geq 0,35$	$< 0,35$	
QFT-Plus	$\geq 0,35$	55	3	58
	$< 0,35$	15	196	211
Razem		70	199	269

Tabela 23. Zgodność obserwowana i zgodność nieprzypadkowa wyników dwóch testów QuantiFeron interpretowanych według wartości granicznej producentów 0,35 IU/ml

Współczynnik zgodności	Wartość (95% PU)
Zgodność obserwowana	251 / 269 93,3% (89,7% - 95,7%)
Współczynniki zgodności nieprzypadkowej:	
κ Cohena	81,6% (73,4% - 89,8%)
AC1 Gweta	89,5% (84,8% - 94,2%)

Podsumowanie: Rzeczywista zgodność wyników między dwoma testami QuantiFeron była bardzo wysoka i wynosiła 89,5%. Oznacza to, że w większości przypadków można oczekiwać takiego samego wyniku u pacjenta niezależnie od zastosowanej metody.

5.2.3 Analiza poziomów $IFN-\gamma$ jako wartości TB_{max} w testach QuantiFeron

Wartości TB_{max} uzyskane w teście QFT-Plus były umiarkowanie dodatnio skorelowane z wartościami TB_{max} uzyskanymi w Liaison QFT-Plus ($r_s = 0,68$). Wartości TB_{max} uzyskane w Liaison QFT-Plus były istotnie wyższe niż w QFT-Plus ($p < 0,001$). Tendencję tę zaobserwowano zarówno u pacjentów z dodatnimi jak i ujemnymi wynikami. TB_{max} uzyskane w obu testach były bardzo silnie dodatnio skorelowane u pacjentów z dodatnimi wynikami ($r_s = 0,93$) i słabo korelowały u pacjentów z ujemnymi wynikami IGRA ($r_s = 0,26$) (Tab.24).

Tabela 24. Porównanie testów QuantFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantFeron-TB Gold Plus na podstawie wartości TB_{max}

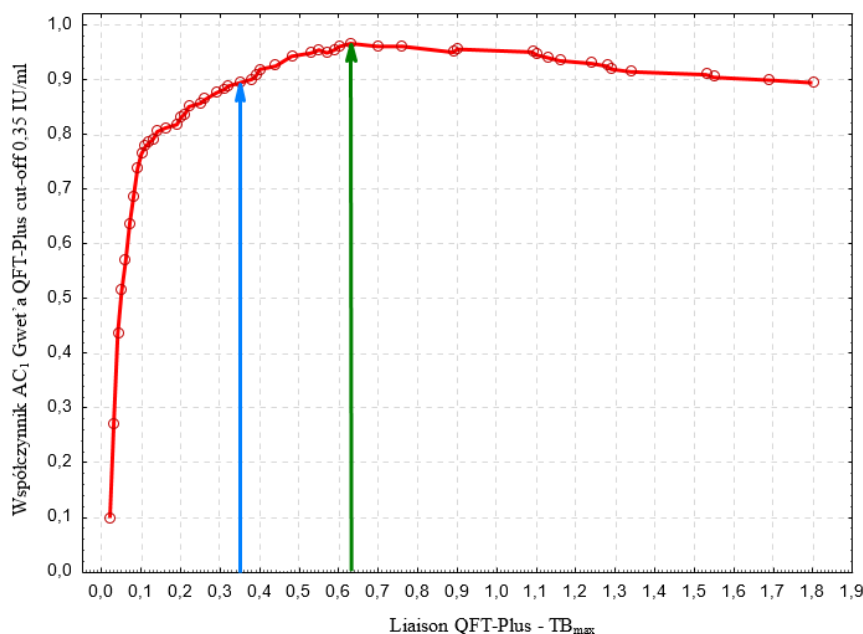
	QFT-Plus TB_{max} Mediana, IQR (zakres)	Liaison QFT-Plus TB_{max} Mediana, IQR (zakres)	Test Wilcoxona	r_s (95% PU)	Wartość p dla r_s
Całość (n=269)	0,01 0,00 – 0,25 (0,00 – 10,0)	0,03 0,01 – 0,39 (0,00 – 9,47)	<0,001	0,681 (0,611 - 0,740)	<0,001
+ QFT-Plus (n=73)	1,19 0,39 – 3,75 (0,00 – 10,0)	2,27 0,70 – 5,00 (0,00 – 9,47)	<0,001	0,928 (0,888 - 0,954)	<0,001
- QFT-Plus (n=196)	0,00 0,00 – 0,02 (0,00 – 0,34)	0,02 0,00 – 0,05 (0,00 – 0,32)	<0,001	0,258 (0,123 - 0,385)	<0,001

Test Wilcoxona nieparametryczny odpowiednik testu t Studenta dla prób zależnych, r_s to współczynnik korelacji rang Spermana.

Podsumowanie: Poziomy IFN- γ (TB_{max}) w Liaison QFT-Plus były istotnie wyższe niż w QFT-Plus ($p < 0,001$), niezależnie czy wynik był dodatni czy ujemny. Oba testy wykazały umiarkowaną korelację ($r_s = 0,681$).

5.2.4 Wyznaczenie nowej wartości granicznej dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

W celu poprawy zgodności wyników testów QuantiFeron przeprowadzono analizę wpływu zmiany wartości granicznej w teście Liaison QFT-Plus. W porównaniu z testem QFT-Plus, test Liaison QFT-Plus generuje istotnie wyższe wartości IFN- γ , co skutkuje ryzykiem nadrozpoznowalności LTBI przy zastosowaniu tej samej wartości granicznej (0,35 IU/ml) w obu testach. W takiej sytuacji część pacjentów może uzyskać wynik dodatni w teście Liaison QFT-Plus, przy jednocześnie ujemnym wyniku testu QFT-Plus. Najwyższy poziom zgodności z testem QFT-Plus uzyskano przy podniesieniu wartości granicznej do 0,63 IU/ml. Na rycinie 21 wskazano dwie wartości graniczne testu: niebieska strzałka odnosi się do zgodność uzyskanej przy aktualnie stosowanej wartości granicznej 0,35 IU/ml (AC1 89,5%; 95% PU: 84,8% - 94,2%). Zielona strzałka wskazuje na najwyższą możliwą do osiągnięcia zgodność przy zastosowaniu wartości 0,63 IU/ml (AC1 96,7%; 95% PU: 94,0% - 99,3%) (Ryc.21). Szczegółowe dane liczbowe przedstawiono w tabelach 25 - 26.



Rycina 21. Wpływ wartości granicznych testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus na zgodność nieprzypadkową z testem QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 25. Wartości zastosowane w obliczeniach zgodności wyników pomiędzy dwoma testami QuantiFeron interpretowanymi na podstawie wartości granicznej 0,35 IU/ml dla testu QuantiFeron-TB Gold Plus i 0,63 IU/ml dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

		Liaison QFT-Plus		Razem
		≥0,63	<0,63	
QFT-Plus	≥0,35	54	2	56
	<0,35	4	209	213
Razem		56	211	269

Tabela 26. Zgodność obserwowana i zgodność nieprzypadkowa wyników dwóch testów QuantiFeron interpretowanych według wartości granicznej 0,35 IU/ml dla testu QuantiFeron-TB Gold Plus i 0,63 IU/ml dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Współczynnik zgodności	Wartość (95% PU)
Zgodność obserwowana	263 / 269 97,8% (95,2% - 99,0%)
Współczynniki zgodności nieprzypadkowej:	
κ Cohena	93,3% (88,0% - 98,6%)
AC1 Gweta	96,7% (94,0% - 99,3%)

Zgodność testu Liaison QFT-Plus z testem referencyjnym QFT-Plus istotnie wzrasta po zastosowaniu wyższej wartości granicznej (0,63 IU/ml). Różnica między współczynnikami AC1 obu testów QuantiFeron była statystycznie istotna (7,2%; 95% PU: 1,8% - 12,5%; $p = 0,012$), co przedstawiono w tabeli 27.

Tabela 27. Zgodność nieprzypadkowa wyników testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od przyjętej wartości granicznej

	Wartość graniczna dla testu Liaison QFT-Plus		Różnica między współczynnikami AC1	Wartość p
	Nowa (0,63 IU/ml)	Stara (0,35 IU/ml)		
Współczynnik AC1 (95% PU)	96,7% (94,0% - 99,3%)	89,5% (84,8% - 94,2%)	7,2% (1,8% - 12,5%)	0,012

Podsumowanie: Najwyższą zgodność (96,7%) pomiędzy wynikami dwóch testów QuantiFeron uzyskano, przy wartości granicznej testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus na 0,63 IU/ml. Należy jednak podkreślić, że wyższa zgodność niekoniecznie oznacza wyższą trafność diagnostyczną. W praktyce klinicznej decyzja o zmianie wartości granicznej powinna zostać poprzedzona analizą wpływu tej zmiany na czułość oraz swoistość testu w odniesieniu do rzeczywistego statusu LTBI.

5.3 Poszukiwanie biomarkerów różnicujących latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby

5.3.1 Charakterystyka kliniczna 145 pacjentów objętych analizą profili cytokinowych

Grupę badaną stanowiło 145 pacjentów, u których w okresie od maja 2022 do maja 2024 roku w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, oznaczono stężenia 20 cytokin: G-MCSF, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, TNF- α w dwóch próbkach antygenowych TB1 i TB2 po uprzednim wykonaniu testu QFT-Plus. Pacjentów podzielono na trzy subpopulacje na podstawie diagnozy opartej na wynikach badań mikrobiologicznych w kierunku gruźlicy, objawach klinicznych i wyniku testu IGRA.

Było to 37 pacjentów z aktywną gruźlicą (TB), którzy mieli kliniczne objawy choroby, dodatnie wyniki badań mikrobiologicznych i uzyskali dodatni (27 / 37) lub ujemny (10 / 37) wynik testu QFT-Plus. Druga grupa to 57 pacjentów z LTBI, którzy uzyskali dodatni wynik testu QFT-Plus, przy jednoczesnym wykluczeniu gruźlicy (brak objawów klinicznych choroby i brak dodatnich wyników badań mikrobiologicznych w kierunku gruźlicy). Trzecią grupę stanowiło 51 zdrowych pacjentów, u których wykluczono aktywną gruźlicę i LTBI (brak objawów klinicznych choroby, brak dodatnich wyników badań mikrobiologicznych w kierunku gruźlicy, ujemny wynik testu QFT-Plus) (Tab.28).

Tabela 28. Charakterystyka 145 pacjentów u których oznaczono stężenia 20 cytokin

Charakterystyka	TB +/- QFT-Plus (n=37)	LTBI + QFT-Plus (n=57)	Zdrowi - QFT-Plus (n=51)	Wartość p
Płeć – mężczyźni	32 / 37 (86,5%)	33 / 57 (57,9%)	23 / 51 (45,1%)	<0,001
Wiek	50; 31 – 64 (8 – 73)	42; 12 – 66 (1 – 89)	40; 29 – 56 (3 – 83)	0,280
Dzieci	3 / 37 (8,1%)	24 / 57 (42,1%)	9 / 51 (17,7%)	0,003
TB1 [IU/ml]	1,10; 0,17 – 3,54 (0,00 – 9,7)	0,79; 0,43 – 2,9 (0,00 – 9,91)	0,03; 0 – 0,23 (0,00 – 0,34)	
TB2 [IU/ml]	1,53; 0,24 – 3,62 (0,00 – 9,86)	0,8; 0,43 – 3,43 (0,02 – 9,91)	0,03; 0 – 0,21 (0 – 0,34)	
TB _{max} [IU/ml]	1,53; 0,31 – 3,82 (0,00 – 9,86)	0,87; 0,5 – 3,43 (0,35 – 9,91)	0,06; 0,01 – 0,27 (0,00 – 0,34)	
+ QFT-Plus	27 / 37 (73%)	100%	0%	

5.3.2 Analiza stężeń 20 cytokin w próbkach TB1 i TB2 po wykonaniu testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Przeanalizowano stężenia 20 cytokin w próbkach TB1 i TB2 testu QFT-Plus. Wyniki przedstawiono w tabeli 29 jako mediany, IQR, pełne zakresy oraz liczby wyników poniżej i powyżej granic oznaczalności (ang. *Lower Limit of Quantification*, LLOQ i *Upper Limit of Quantification*, ULOQ). W celu oceny różnic między stężeniami cytokin w próbkach TB1 i TB2 zastosowano test Wilcozona oraz współczynnik korelacji rang Spearmana (r_s). Dla większości cytokin (16 / 20) stężenia były zbliżone w obu próbkach od tego samego pacjenta. Statystycznie istotne różnice stwierdzono jedynie dla IL-10, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9 i RANTES/CCL5, jednak po korekcie Holma-Bonferroniego różnice te utraciły istotność. Wysokie wartości r_s wskazywały na dużą zgodność pomiarów, dlatego do dalszych analizach zastosowano wartość maksymalną (TB_{max}) z dwóch próbek. W przypadku cytokin IL-8 i IL-13 obserwowano wartości poza zakresem: IL-8 > ULOQ u 29% (TB1) i 25% (TB2) pacjentów, IL-13 < LLOQ odpowiednio u 27% (TB1) i 28% (TB2). Wartości < LLOQ i > ULOQ oszacowano na podstawie 5-parametrowej krzywej logistycznej (Tab.29).

Tabela 29. Stężenia 20 cytokin przedstawionych jako mediana, IQR i zakres, w próbkach TB1 i TB2 z analizą wyników poniżej i powyżej granic oznaczalności

Cytokiny [pg/ml]	LLOQ [pg/ml]	ULOQ [pg/ml] ^a	< LLOQ	> ULOQ	TB1 [IU/ml] Mediana, IQR (Zakres)	TB2 [IU/ml] Mediana, IQR (Zakres)	Test Wilcoxon wartość p ^b	r _s ^c
GM-CSF	0,48	7846	-	-	19,2; 11,2 – 36,2 (2,42 – 58)	18,2; 11,9 – 36,9 (3,74 – 73,1)	0,792	0,934
IFN-γ	1,57	25665	-	-	297; 158 – 416 (28,3 – 1141)	273; 169 – 391 (35 – 1359)	0,647	0,929
IL-2	1,29	21178	-	-	123; 73,8 – 206 (20,7 – 1387)	125; 71,7 – 201 (20,3 – 1328)	0,786	0,936
IL-4	0,19	3064	-	-	26,3; 9,7 – 55,6 (2,19 – 177)	25,1; 19,6 – 58,5 (7,01 – 177)	0,344	0,947
IL-5	3,63	59499	-	-	370; 186 – 637 (19,1 – 1367)	343; 186 – 601 (28,6 – 1228)	0,878	0,915
IL-6	0,38	6244	-	TB1:1 TB2:0	1223; 367 – 2171 (7,37 – 25000)	1043; 370 – 2009 (7,37 – 12155)	0,065	0,861
IL-7	1,92	31475	-	-	36,4; 13,8 – 63,5 (5,86 – 208)	36,4; 16,8 – 63,5 (1,45 – 203)	0,955	0,789
IL-8/ CXCL8	0,85	13992	-	TB1:42 TB2:36	26335; 12491 – 56000 (2271 – 56000)	27805; 13434 – 56000 (2460 – 56000)	0,777	0,711
IL-10	1,06	17427	-	-	17,9; 11,3 – 29,9 (2,75 – 89,4)	17,7; 9,83 – 24,9 (2,51 – 101)	0,003 ^d	0,871
IL-13	0,31 (LOD 0,22)	5157	TB1:39 TB2:40	-	1,92; 1,1 – 3,51 (0,089 – 97,6)	1,92; 1,1 – 3,51 (0 – 71,7)	0,368	0,872
IL-15	12,42	203426	-	-	639; 507 – 1329 (224 – 2887)	653; 497 – 1292 (213 – 2899)	0,551	0,929
IL-17	2,44	39972	TB1:1 TB2:0	-	113; 80,2 – 319 (8,65 – 707)	115; 82,5 – 310 (37,9 – 760)	0,632	0,934
IL-18	0,66	10892	-	-	83,7; 52,4 – 113 (11,1 – 450)	79,4; 54,2 – 110 (16,3 – 353)	0,865	0,923
IP-10/ CXCL10	3,41	34953	-	TB1:2 TB2:2	5691; 2581 – 12079 (201 – 140000)	6436; 2674 – 12388 (394 – 140000)	0,169	0,962
MCP-1/ CCL2	0,53	8755	-	-	2893; 1527 – 4489 (74 – 22106)	2618; 1438 – 4283 (67,2 – 20179)	0,008 ^d	0,876
MIG/ CXCL9	3,16	32365	-	TB1:2 TB2:2	5664; 2314 – 13046 (336 – 130000)	5397; 2398 – 14923 (412 – 130000)	0,029 ^d	0,963
MIP-1α/ CCL3	0,12	1218	-	TB1:2 TB2:1	666; 301 – 1244 (9,53 – 4900)	614; 290 – 1089 (7,79 – 4900)	0,118	0,863
MIP-1β/ CCL4	1,41	1439	-	TB1:5 TB2:5	1921; 1103 – 2750 (462 – 5800)	1786; 1195 – 2595 (411 – 5800)	0,056	0,874
RANTES /CCL5	16,72	26467	-	TB1:2 TB2:9	9792; 5969 – 16673 (391 – 106000)	8723; 5043 – 15642 (322 – 106000)	0,008 ^d	0,919
TNF-α	3,33	54566	-	-	1318; 739 – 2401 (76,8 – 11748)	1364; 714 – 2220 (129 – 15263)	0,238	0,910

^arozcieńczenie 4-krotne

^bwartość p interpretowana zgodnie z poziomem istotności skorygowanym metodą Holma-Bonferroniego

^cwszystkie korelacje były istotne

^distotne, gdy α=0,05, ale nieistotne, gdy zastosowano poprawkę Holma-Bonferroniego

5.3.3 Zależność pomiędzy stężeniami cytokin, a chorymi na gruźlicę i latentnie zakażonymi prątkiem gruźlicy z dodatnimi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Przeanalizowano stężenia 20 cytokin u 27 chorych na gruźlicę i 57 pacjentów z LTBI z dodatnimi wynikami testu QFT-Plus. Dla każdej z cytokin obliczono medianę, IQR, zakres. Przy zastosowaniu testu Manna-Whitney'a oceniono istotność różnic w stężeniach pomiędzy badanymi grupami pacjentów. Wartości p skorygowano za pomocą poprawki Holma-Bonferroniego (tak jak w tabeli 29). Zaobserwowano, że stężenia 13 cytokin (65%) statystycznie istotnie różniły się w grupie chorych na gruźlicę od pacjentów z LTBI. Stwierdzono, że IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5 miały wyższe stężenia w grupie LTBI, a jedynie stężenie MIG/CXCL9 było istotnie wyższe u chorych z TB. Cytokiny GM-CSF, IL-5, IL-6, IL-8, IL-18, IP-10/CXCL10, TNF- α nie różniły się istotnie stężeniami między badanymi grupami (Tab.30).

Tabela 30. Porównanie stężeń 20 cytokin między pacjentami z aktywną gruźlicą, a latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy z dodatnimi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Cytokiny [pg/ml]	TB + QFT-Plus (n=27)	LTBI + QFT-Plus (n=57)	Test Mann-Whitney Wartość p ^a
GM-CSF	18,3; 16 – 21,3 (7,79 – 40,4)	34,8; 11,2 – 45,2 (5,74 – 73,1)	0,037 ^b
IFN- γ	171; 120 – 217 (36,5 – 558)	414; 301 – 587 (120 – 1359)	<0,001
IL-2	124; 92,4 – 148 (33,7 – 541)	202; 126 – 359 (34,1 – 1387)	0,002
IL-4	20,2; 17,5 – 22,5 (9,73 – 30,0)	49,7; 21,7 – 61,3 (13,4 – 177)	<0,001
IL-5	499; 291 – 565 (151 – 929)	557; 208 – 820 (108 – 1228)	0,604
IL-6	1870; 495 – 2383 (66,3 – 12155)	1717; 893 – 2807 (42,0 – 25000)	0,268
IL-7	13,8; 10,8 – 16,8 (7,74 – 48,6)	45,6; 36,4 – 72,8 (9,58 – 208)	<0,001
IL-8/CXCL8	56000; 17239 – 56000 (3952 – 56000)	44175; 26327 – 56000 (4738 – 56000)	0,423
IL-10	12,3; 7,94 – 19,4 (2,75 – 101)	24,2; 16,5 – 32 (9,23 – 89,4)	<0,001
IL-13	2,15; 1,43 – 3,21 (0,683 – 67,1)	3,51; 1,92 – 9,35 (1,10 – 97,6)	0,002
IL-15	507; 476 – 538 (314 – 678)	1229; 597 – 1434 (355 – 2899)	<0,001
IL-17	105; 91,4 – 110 (43,5 – 156)	291; 82,7 – 372 (49,8 – 760)	0,002
IL-18	96,2; 65,1 – 144 (43,9 – 450)	96,8; 60 – 120 (20,4 – 340)	0,286
IP-10/CXCL10	11299; 5382 – 17528 (1300 – 140000)	9568; 4434 – 23526 (998 – 140000)	0,716
MCP-1/CCL2	2510; 1614 – 3534 (296 – 8104)	4402; 2901 – 6083 (657 – 22106)	<0,001
MIG/CXCL9	15496; 7882 – 23236 (3511 – 130000)	6749; 2913 – 17200 (1244 – 111833)	0,002
MIP-1 α /CCL3	674; 422 – 1009 (114 – 1244)	1224; 580 – 2391 (116 – 4900)	<0,001
MIP-1 β /CCL4	1947; 1436 – 2588 (550 – 5800)	2648; 2054 – 3308 (850 – 5800)	0,002
RANTES/CCL5	6301; 3344 – 16685 (391 – 106000)	11796; 8274 – 23443 (1846 – 106000)	0,003
TNF- α	1287; 509 – 2030 (173 – 6402)	1743; 975 – 2480 (205 – 15263)	0,043 ^b

^a wartość p interpretowana zgodnie z poziomem istotności skorygowanym metodą Holma-Bonferroniego

^b istotne, gdy $\alpha = 0,05$, ale nieistotne, gdy zastosowano poprawkę Holma-Bonferroniego

Podsumowanie: Do dalszej analizy wybrano 13 cytokin IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, których stężenia różniły się istotnie pomiędzy chorymi na gruźlicę i pacjentami z LTBI.

5.3.3.1 Potencjał dyskryminacyjny wybranych cytokin, w różnicowaniu gruźlicy od latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

W tabeli 31 przedstawiono ocenę trafności diagnostycznej trzynastu cytokin w różnicowaniu chorych na gruźlicę i pacjentów z LTBI. Wykazano, że IL-7 charakteryzowała się najwyższą zdolnością dyskryminacyjną dla której AUROC wynosiło 95,9% przy czułości 94,6% i swoistości 91,2%. IFN- γ , osiągnął AUROC na poziomie 91%, czułość 86,5% oraz swoistość 87,7%. Dobrą dokładność diagnostyczną (AUROC 80 - 90%) wykazały IL-15 i IL-4. Umiarkowaną trafność (AUROC 70% - 80%) stwierdzono w przypadku IL-10, MCP-1/CCL2 oraz MIP-1 α /CCL3. Pozostałe cytokiny wykazywały niski potencjał dyskryminacyjny (AUROC < 70%) (Tab.31).

Tabela 31. Trafność diagnostyczna wybranych cytokin, w różnicowaniu gruźlicy i latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Cytokiny [pg/ml]	AUROC (95% PU) [%]	Wartość p	Wartość graniczna [pg/ml]	Se (95% PU) [%]	Sp (95% PU) [%]	LR+ (95% PU)	LR- (95% PU)
IL-7	95,9 (91,5 – 100)	<0,001	≤25,7	94,6 (82,3 – 98,5)	91,2 (81,1 – 96,2)	10,8 (4,65 – 25)	0,06 (0,02 – 0,23)
IFN-γ	91 (84,6 – 97,4)	<0,001	≤250	86,5 (72 – 94,1)	87,7 (76,8 – 93,9)	7,04 (3,48 – 14,3)	0,15 (0,07 – 0,35)
IL-15	87,6 (80,7 – 94,5)	<0,001	≤616	91,9 (78,7 – 97,2)	71,9 (59,2 – 81,9)	3,27 (2,14 – 5,01)	0,11 (0,04 – 0,34)
IL-4	82,6 (74,5 – 90,8)	<0,001	≤30,0	100 (90,6 – 100)	59,6 (46,7 – 71,4)	2,48 (1,81 – 3,4)	– ∞^a
IL-10	76,3 (65,8 – 86,9)	<0,001	≤19,4	78,4 (62,8 – 88,6)	64,9 (51,9 – 76,0)	2,23 (1,51 – 3,3)	0,33 (0,18 – 0,63)
MCP-1/ CCL2	74,8 (64,8 – 84,7)	<0,001	≤2579	56,8 (40,9 – 71,3)	82,5 (70,6 – 90,2)	3,24 (1,72 – 6,07)	0,52 (0,36 – 0,77)
MIP-1α/ CCL3	71,7 (61,6 – 81,9)	<0,001	≤1244	100 (90,6 – 100)	49,1 (36,6 – 61,7)	1,97 (1,52 – 2,54)	– ∞^a
IL-13	69 (58,2 – 79,9)	0,001	≤2,2	64,9 (48,8 – 78,2)	71,9 (59,2 – 81,9)	2,31 (1,43 – 3,73)	0,49 (0,31 – 0,78)
IL-17	68,9 (57,9 – 80)	0,001	≤156	100 (90,6 – 100)	57,9 (45 – 69,8)	2,38 (1,75 – 3,22)	– ∞^a
MIG/ CXCL9	68,9 (58,3 – 79,5)	0,001	≥14160	67,6 (51,5 – 80,4)	70,2 (57,3 – 80,5)	2,27 (1,44 – 3,58)	0,46 (0,28 – 0,76)
MIP-1β/ CCL4	68,9 (57,8 – 80,1)	0,001	≤2121	62,2 (46,1 – 75,9)	73,7 (61,0 – 83,4)	2,36 (1,43 – 3,9)	0,51 (0,33 – 0,8)
IL-2	68,7 (57,7 – 79,6)	0,001	≤148	75,7 (59,9 – 86,6)	70,2 (57,3 – 80,5)	2,54 (1,64 – 3,93)	0,35 (0,19 – 0,63)
RANTES /CCL5	68 (55,9 – 80,1)	0,004	≤6504	59,5 (43,5 – 73,7)	84,2 (72,6 – 91,5)	3,77 (1,95 – 7,26)	0,48 (0,32 – 0,72)

^a– ∞ oznacza, że iloraz prawdopodobieństw wyniku ujemnego jest bardzo niski ale nie da się go policzyć, ponieważ Se, która jest w mianowniku wzoru na ten iloraz jest równa 0.

5.3.3.2 Stworzenie modelu diagnostycznego do odróżniania gruźlicy od latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

W kolejnym etapie analizy zbudowano model diagnostyczny, który pozwala odróżnić aktywną gruźlicę od LTBI. Wykorzystano w tym celu analizę wielokrotnej regresji logistycznej przeprowadzonej według procedury krokowej wstecznej. Spośród 13 analizowanych cytokin wybrano dwie: IL-7 i IFN- γ , które najlepiej różnicowały te dwie grupy pacjentów (AUROC > 90%). Obie cytokiny były istotnie i niezależnie związane z mniejszym ryzykiem aktywnej gruźlicy, co oznaczało że ich wyższe stężenia częściej występowały u pacjentów z LTBI. W przypadku IL-7 wzrost stężenia o 1 pg/ml zmniejszał szansę na rozpoznanie gruźlicy o 18% (OR = 0,82), natomiast w przypadku IFN- γ o 1% (OR = 0,99). Wyniki te były statystycznie istotne, szczególnie dla IL-7 ($p < 0,001$). Skuteczność modelu potwierdził test dopasowania Hosmera-Lemeshowa (H- L: $\chi^2 = 14,25$; $p = 0,075$), a wysokie dopasowanie do danych pokazał współczynnik pseudo- R^2 Nagelkerkego, który wyniósł 0,853 (Tab.32).

Tabela 32. Model diagnostyczny klasyfikujący chorych na gruźlicę i pacjentów z latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy

Zmienne [pg/ml]	Współczynnik regresji (błąd standardowy)	Statystyka Walda	Wartość p	Iloraz szans (OR) (95% PU)
Stała (poziom bazowy modelu)	7 (1,56)	-	-	-
IL-7	-0,21 (0,05)	15,08	<0,001	0,82 (0,74 – 0,9)
IFN- γ	-0,01 (0)	4,27	0,039	0,99 (0,99 – 1)
Test H-L: $\chi^2 = 14,25$; $p = 0,075$; pseudo- R^2 Nagelkerkego = 0,853				

Podsumowanie: Wyższe stężenia IL-7 i IFN- γ były charakterystyczne dla pacjentów z LTBI, co sugeruje możliwość zastosowania tych cytokin jako biomarkerów różnicujących chorych na gruźlicę i latentnie zakażonych prątkiem gruźlicy. Wysokie wartości współczynnika pseudo- R^2 Nagelkerkego i dobre dopasowanie danych potwierdziły potencjalną przydatność diagnostyczną stworzonego modelu.

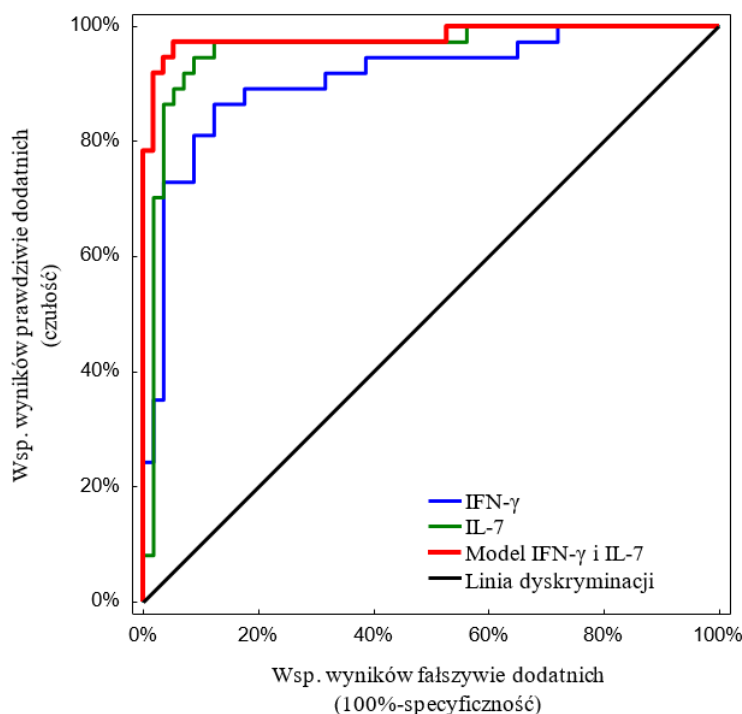
5.3.3.2.1 Porównanie trafności diagnostycznej stworzonego modelu z pojedynczymi cytokinami IL-7 lub IFN- γ

W kolejnym kroku porównano trafność diagnostyczną modelu opartego jednocześnie na IL-7 i IFN- γ z wynikami uzyskanymi przy użyciu każdej z tych cytokin osobno. Do oceny przydatności klinicznej wykorzystano wskaźniki LR+ i LR-. Dobry test diagnostyczny powinien charakteryzować się LR+ większym niż 10 i LR- mniejszym niż 0,1. Kryteria

te spełnił zarówno model oparty na dwóch cytokinach ($LR+ = 27$ i $LR- = 0,06$), jak i sama IL-7 ($LR+ = 10,8$ i $LR- = 0,06$). Najwyższą trafność diagnostyczną uzyskano dla modelu IL-7 i IFN- γ , w którym pole pod krzywą ROC wynosiło 98,1% ($p < 0,001$), co oznacza bardzo wysoką skuteczność w odróżnianiu gruźlicy od LTBI. Model ten osiągnął również najwyższe wskaźniki czułości (94,6%) i swoistości diagnostycznej (96,5%) w porównaniu do pojedynczych biomarkerów (Tab.33 i Ryc.22).

Tabela 33. Trafność diagnostyczna modelu opartego na IL-7 i IFN- γ oraz na pojedynczych cytokinach

Cytokiny [pg/ml]	AUROC (95% PU) [%]	Wartość p	Wartość graniczna [pg/ml]	Se (95% PU) [%]	Sp (95% PU) [%]	LR+ (95% PU)	LR- (95% PU)
IL-7 i IFN-γ	98,1 (95,2 – 100)	<0,001	$\geq 0,525$	94,6 (82,3 - 98,5)	96,5 (88,1 - 99)	27 (6,89 - 105)	0,06 (0,01 - 0,22)
IL-7	95,9 (91,5 – 100)	<0,001	$\leq 25,7$	94,6 (82,3 - 98,5)	91,2 (81,1 - 96,2)	10,8 (4,65 - 25)	0,06 (0,02 - 0,23)
IFN-γ	91 (84,6 – 97,4)	<0,001	≤ 250	86,5 (72 - 94,1)	87,7 (76,8 - 93,9)	7,04 (3,48 - 14,3)	0,15 (0,07 - 0,35)



Rycina 22. Analiza AUROC dla modelu diagnostycznego opartego na IL-7 i IFN- γ oraz na pojedynczych cytokinach

Podsumowanie: Wykazano, że model diagnostyczny oparty na IL-7 i IFN- γ charakteryzował się wysoką trafnością w różnicowaniu pacjentów z latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy i chorych na gruźlicę. Analiza statystyczna potwierdziła doskonały potencjał dyskryminacyjny modelu IL-7 i IFN- γ (AUROC 98,1%; Se 94,6%; Sp 96,5%; LR+ 27 i LR- 0,06; $p < 0,001$).

5.3.4 *Zależność pomiędzy stężeniami cytokin, a statusem pacjenta – porównanie chorych na gruźlicę i zdrowych osób z ujemnym testem QuantiFeron-TB Gold Plus*

W celu uzupełnienia wcześniejszych analiz porównujących pacjentów z aktywną gruźlicą i LTBI, przeprowadzono dodatkową ocenę różnic w stężeniach cytokin między chorymi na gruźlicę ($n = 10$), a zdrowymi osobami z wykluczonym LTBI i TB ($n = 51$), które miały ujemne wyniki QFT-Plus. Dla wszystkich 20 cytokin obliczono medianę, IQR, a istotność różnic między grupami oceniono testem Manna - Whitney'a. W celu kontroli błędu wielokrotnego porównywania zastosowano poprawkę Holma - Bonferroniego (analogicznie jak w tabeli 30). Wyniki wykazały, że jedynie cytokina MIG/CXCL10 miała istotnie wyższe stężenia u pacjentów z gruźlicą z ujemnymi wynikami QFT-Plus w porównaniu do zdrowych osób z wykluczonym LTBI (Tab.34).

Tabela 34. Porównanie stężeń 20 cytokin u chorych na gruźlicę i zdrowych pacjentów z ujemnymi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Cytokiny [pg/ml]	Chorzy z TB QFT-Plus (-) (n=10)	Zdrowi bez LTBI i TB QFT-Plus (-) (n=51)	Test Mann-Whitney Wartość p ^a
TB1	0,04; 0 – 0,12 (0 – 0,31)	0,03; 0 – 0,23 (0 – 0,30)	0,453
TB2	0,09; 0 – 0,11 (0 – 0,24)	0,03; 0 – 0,21 (0 – 0,30)	0,805
TB _{max}	0,09; 0 – 0,19 (0 – 0,31)	0,06; 0,01 – 0,27 (0 – 0,30)	0,799
GM-CSF	14,2; 9,74 – 18,1 (7,79 – 27,6)	22,0; 12,4 – 36,7 (5,31 – 53,6)	0,055
IFN- γ	111; 72,3 – 147 (36,5 – 187)	303; 171 – 411 (50,9 – 784)	<0,001
IL-2	64,0; 48,2 – 77,5 (33,7 – 123)	110; 71,7 – 147 (27,4 – 262)	0,014 ^b
IL-4	15,6; 12,0 – 20,9 (9,73 – 22,6)	53,1; 22,8 – 89,7 (8,90 – 177)	<0,001
IL-5	262; 218 – 438 (151 – 568)	317; 176 – 575 (28,6 – 1367)	0,661
IL-6	297; 207 – 1829 (69,2 – 2444)	901; 331 – 2491 (7,37 – 9003)	0,112
IL-7	11,6; 10,8 – 13,8 (7,74 – 25,7)	72,8; 41,5 – 118 (10,9 – 172)	<0,001
IL-8/CXCL8	15702; 7048 – 56000 (5524 – 56000)	24446; 9960 – 52606 (2460 – 56000)	0,806
IL-10	8,27; 7,94 – 13,9 (4,67 – 43,6)	18,5; 12,7 – 34,3 (5,46 – 78,8)	0,003
IL-13	1,24; 0,683 – 1,79 (0,683 – 2,15)	1,52; 1,10 – 2,32 (0,089 – 7,50)	0,279
IL-15	415; 360 – 498 (314 – 515)	1115; 597 – 1721 (452 – 2774)	<0,001
IL-17	82,2; 55,1 – 107 (43,5 – 110)	253; 103 – 338 (38,0 – 660)	0,001
IL-18	78,9; 61,1 – 100 (45,4 – 203)	74,1; 47,3 – 105 (16,3 – 217)	0,442
IP-10/CXCL10	4317; 2293 – 6589 (1300 – 12821)	2477; 1216 – 6760 (394 – 46334)	0,263
MCP-1/CCL2	1565; 734 – 1799 (370 – 3534)	2758; 888 – 4374 (74 – 10780)	0,189
MIG/CXCL9	9586 ; 6452 – 14160 (4545 – 17898)	2453 ; 1218 – 4870 (412 – 17180)	<0,001
MIP-1 α /CCL3	339; 219 – 667 (114 – 1177)	440; 241 – 1165 (9,53 – 4900)	0,365
MIP-1 β /CCL4	731; 686 – 1444 (550 – 2588)	1417; 989 – 2532 (521 – 5800)	0,017 ^b
RANTES/CCL5	5444; 1423 – 6362 (1011 – 22264)	10430; 6354 – 16673 (2099 – 106000)	0,002
TNF- α	496; 466 – 1297 (173 – 3511)	1684; 864 – 2999 (300 – 7455)	0,003

^awartość p interpretowana zgodnie z poziomem istotności skorygowanym metodą Holma-Bonferroniego

^bistotne, gdy $\alpha = 0,05$, ale nieistotne, gdy zastosowano poprawkę Holma-Bonferroniego

Podsumowanie: Jedynie cytokina MIG/CXCL9 wykazała istotnie wyższe stężenia w grupie chorych na gruźlicę z ujemnym wynikiem QFT-Plus, co sugeruje jej potencjalną przydatność w trudnych diagnostycznie przypadkach.

6 DYSKUSJA

6.1 Ocena testu QuantiFeron-TB Gold Plus w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Wiarygodność badań przesiewowych w kierunku LTBI jest kluczowa w postępowaniu z pacjentami z grup ryzyka rozwoju aktywnej postaci gruźlicy. Oszacowano, że około 25% populacji świata jest zakażona *Mycobacterium tuberculosis* [86], z czego 5 – 10% zachoruje na gruźlicę w ciągu swojego życia [92, 174]. Ryzyko zachorowania jest znacznie wyższe u osób z bliskiego kontaktu z chorym z gruźlicą płuc potwierdzoną mikrobiologicznie, u osób o niskim statusie społeczno-ekonomicznym często niedożywionych, przebywających w przeludnionych i słabo wentylowanych pomieszczeniach. Kolejną grupą ryzyka są małe dzieci poniżej 5 roku życia i osoby z obniżoną odpornością do których należy zaliczyć zakażonych wirusem HIV i chorych leczonych immunosupresyjnie [88, 89, 92, 175, 176, 177, 178]. Diagnostyka LTBI za pomocą testów uwalniania interferonu gamma (IGRA) ma szczególne znaczenie w populacjach szczepionych BCG i zakażonych prątkami NTM [114, 179]. Dzięki zastosowaniu w testach IGRA antygenów ESAT-6 i CFP 10 kodowanych w regionie RD1 genomu *Mycobacterium tuberculosis*, nie występuje reaktywność krzyżowa. Zastosowanie testów IGRA umożliwia zatem odróżnienie zakażenia prątkiem gruźlicy od odpowiedzi wywołanej przez szczepienie BCG lub ekspozycję na prątki NTM [104, 105, 106, 180, 181, 182, 183, 184].

Międzynarodowa Unia Walki z Gruźlicą i Chorobami Płuc (ang. *The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*) opracowała wytyczne dotyczące zaprzestania powszechnych szczepień BCG [185, 186]. Kraj może rozważyć rezygnację ze szczepień jeśli spełni co najmniej jedno z trzech kryteriów. Zapadalność na gruźlicę płuc z dodatnimi wynikami bakterioskopii płwociny musi spaść poniżej 5 na 100 000 osób przez kolejne trzy lata. Liczba przypadków gruźliczego zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych (GZOMR) u dzieci do lat 5 musi wynosić mniej niż jeden przypadek na 10 milionów osób z populacji ogólnej w pięciu poprzedzających latach. I przeciętne roczne ryzyko zakażenia prątkiem gruźlicy powinno wynosić $\leq 0,1\%$ [185, 186, 187]. Niestety w Polsce w 2023 roku współczynnik zapadalności na gruźlicę płuc z dodatnimi wynikami bakterioskopii płwociny wynosił 5,9 na 100 000 osób i wykazywał zróżnicowanie terytorialne. Największy współczynnik odnotowano w województwie świętokrzyskim (8,6) i śląskim (7,9), a najniższy w lubuskim (2,9). Nie zanotowano

natomiast GZOMR w grupie wiekowej 0 – 14 lat [17]. Roczne ryzyko zakażenia obliczone metodą Karola Styblo wynosiło 0,12% [17, 188]. Obecnie w Regionie Europejskim od powszechnych szczepień odstąpiły takie kraje jak: Dania, Austria, Niemcy, Słowenia i Irlandia, a w pozostałych szczepienia są powszechne dla całej populacji lub stosuje się je selektywnie w grupach ryzyka [189, 190]. Taką grupę stanowią imigranci z krajów o dużej zapadalności na gruźlicę i dzieci z rodzin, w których wystąpiły przypadki choroby [187, 190]. Wyniki wielu badań dowiodły, że szczepienie BCG zmniejsza ryzyko zakażenia prątkiem gruźlicy oraz chroni nie tylko przed aktywną postacią choroby, ale także przed LTBI. Wykazano, że dzieci zaszczepione BCG rzadziej chorowały na gruźlicę, co więcej rzadziej uzyskiwały dodatni wynik testu IGRA [191, 192, 193, 194]. Niedawna metaanaliza wykazała, że szczepienie noworodków jest skuteczne w zapobieganiu LTBI u małych dzieci, ale również u nastolatków [194]. W przeglądzie systematycznym obejmującym 3855 uczestników oszacowano ryzyko LTBI u zaszczepionych dzieci na 0,81 co wskazuje na 19% skuteczność ochrony przed LTBI w porównaniu z dziećmi niezaszczepionymi [191, 195].

Zastosowanie testów IGRA w diagnostyce LTBI powinno wesprzeć strategię eliminacji gruźlicy poprzez skuteczną identyfikację pacjenta z zakażeniem prątkiem gruźlicy oraz zastosowaną chemioprophylaktykę [196]. W najnowszych wytycznych WHO wskazało na QuantiFeron-TB Gold Plus jako jeden z kilku testów rekomendowanych do diagnozowania LTBI [89].

W prezentowanej pracy podjęto próbę ewaluacji testu QFT-Plus na podstawie wyników uzyskanych od 712 pacjentów diagnozowanych w kierunku LTBI, u których nie potwierdzono aktywnej postaci gruźlicy w momencie wykonania testu IGRA.

W pracy, analizie poddano korelację pomiędzy wynikiem testu IGRA, a wiekiem i płcią pacjentów. Ponieważ jak wynika z danych epidemiologicznych na świecie, w tym również w Polsce, mężczyźni częściej chorują na gruźlicę niż kobiety, postanowiono prześledzić czy te same proporcje dotyczą LTBI w badanej populacji [12]. W badaniach Barry i Teklu dotyczących populacji afrykańskiej nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w częstości występowania LTBI w podziale na płeć ($p = 0,41$) [197, 198]. Podobnie wśród studentów college'ów w Chinach zwiększone ryzyko LTBI nie było związane z płcią [178]. Natomiast w USA i Kanadzie wśród osób z bliskiego kontaktu z osobami chorymi na gruźlicę LTBI wykrywano częściej u mężczyzn (ok. 60%) [199,

200]. Podobnie Sabri i wsp. zaobserwowali zwiększoną częstość występowania LTBI wśród mężczyzn pracujących w ochronie zdrowia (ang. *Healthcare Workers*, HCW) [201]. W pracy dotyczącej transmisji szczepów Bejiging stwierdzono zwiększone ryzyko LTBI związane z płcią męską, ale do czynników ryzyka zaliczono również starszy wiekiem i długotrwałą ekspozycję na prątki [202]. W wieloośrodkowym badaniu przeprowadzonym w Brazylii oceniano czy istnieją różnice płciowe w nabywaniu LTBI wśród osób z bliskiego kontaktu z chorymi na gruźlicę płuc. Stwierdzono, że kobiety (46%) częściej uzyskiwały wynik dodatni testu IGRA niż mężczyźni (40%) [203]. Nasza analiza również wykazała, że dodatni wynik testu QFT-Plus stwierdzono istotnie statystycznie częściej u kobiet 52,5% w porównaniu z mężczyznami 41,6% ($p = 0,004$). Wyniki przedstawione w rozprawie pozostają w zgodzie z wynikami badań Wada i wsp. [203]. Jak wynika z najnowszych danych Raportu SDG poświęconemu monitorowaniu postępów w realizacji zagadnień ujętych w Agendzie na rzecz zrównoważonego rozwoju 2030 (ang. *The Sustainable Development Goals Report*, SDG) opracowanego przez Główny Urząd Statystyczny kobiety w Polsce częściej wykonują badania profilaktyczne stosując zasadę, że lepiej zapobiegać chorobom, niż je leczyć. Ponadto różnice częstości występowania LTBI mogą być spowodowane strukturą demograficzną, higieną życia i czynnikami społeczno - ekonomicznymi [204]. Dane wskazujące na wyższy odsetek LTBI u kobiet, mogą wynikać z charakterystyki badanej populacji, odmiennej od ogólnej populacji Polski, ponieważ byli to zarówno pacjenci z kontaktu, chorzy na choroby płuc, często przed leczeniem biologicznym.

Przedstawione w rozprawie dane wskazują na występowanie istotnych statystycznie różnic w częstości występowania LTBI w analizowanej grupie w zależności od wieku pacjentów. Istotnie częściej u dzieci 55,3% niż u dorosłych 42,3% ($p = 0,001$) uzyskano dodatni wynik testu QFT-Plus. Dzieci stanowiły 34,3% (244 / 712) wszystkich badanych, a większość u których zdiagnozowano LTBI pochodziła z domowego kontaktu z osobą chorą na gruźlicę. Dodatkowo większe ryzyko reaktywacji i rozwoju gruźlicy w tej grupie wiekowej wymagało szybkiej diagnostyki, która często rozpoczynała się od wykonania testu IGRA. Dorośli natomiast diagnozowani są później, zwykle dopiero po wystąpieniu objawów klinicznych gruźlicy, co może skutkować mniejszym odsetkiem wykrytych przypadków latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy. Poza tym LTBI może częściej dotyczyć kobiet i dzieci z powodu bliskiego kontaktu w rodzinie, który wynika z opieki kobiet nad osobami starszymi z gruźlicą i jednocześnie nad dziećmi. Różnice

behawioralne zostały uznane za czynniki mogące wpływać zarówno na LTBI jak i na rozwój aktywnej gruźlicy [205, 206, 207, 208]. Tymczasem, gruźlica w najmłodszych grupach wiekowych świadczy o transmisji, gdzie głównym źródłem zakażenia są dorośli [209]. Te ustalenia podkreślają znaczenie badań przesiewowych w kierunku LTBI, które umożliwiają przerwanie łańcucha transmisji i szybkie włączenie leczenia TPT [199].

W pracy przeprowadzono analizę porównawczą wyników testu QFT-Plus, z przypadkami gruźlicy zgłoszonymi do KRG. Badania te miały na celu oszacowanie prawdopodobieństwa rozwoju gruźlicy u pacjentów z dodatnimi wynikami testu IGRA, a tym samym określenie progresji LTBI do aktywnej choroby. Wyniki wykazały, że w grupie pacjentów z dodatnimi wynikami testu QFT-Plus do KRG zgłoszono 32,4% pacjentów (108 / 333), u których prawdopodobnie rozwinęła się gruźlica w wyniku reaktywacji LTBI. Pozostali pacjenci 67,6% (225 / 333) z dodatnimi wynikami testu do momentu zakończenia badań nie zostali zarejestrowani w KRG czyli prawdopodobnie nie doszło do reaktywacji. U pacjentów z dodatnimi wynikami testu QFT-Plus szansa na rozwój gruźlicy była dziesięciokrotnie wyższa niż u osób z wynikami ujemnymi ($OR = 10,2$), co przekładało się na około siedmiokrotnie wyższe ryzyko choroby ($RR = 7,2$). Pomimo, że iloraz szans jest często preferowany w analizach retrospektywnych ze względu na swoje właściwości matematyczne oraz lepiej sprawdza się w modelowaniu statystycznym, to jednak w naszej analizie przeszacował on rzeczywiste ryzyko, co mogłoby prowadzić do zawyżonej interpretacji wyników. Z perspektywy klinicznej ryzyko względne jest bardziej intuicyjne oraz praktyczne ponieważ bezpośrednio odnosi się do prawdopodobieństwa wystąpienia gruźlicy w przyszłości po dodatnim wyniku testu IGRA, co ułatwia podejmowanie decyzji medycznych oraz komunikację z pacjentem [210]. W Stanach Zjednoczonych zapadalność na gruźlicę utrzymuje się od lat na niskim poziomie i w 2023 roku wynosiła 2,9 na 100 000 osób [211]. Szacuje się, że ponad 80% zachorowań na gruźlicę była wynikiem reaktywacji LTBI. Na podstawie danych z Krajowego Systemu Nadzoru nad Gruźlicą (ang. *National TB Surveillance System*), częstość rozwoju gruźlicy u osób z dodatnim wynikiem testu IGRA, oszacowano na 0,072 na 1000 osobo/lat. Ryzyko to malało z wiekiem, a istotnie wzrastało w obecności chorób współistniejących takich jak: zakażenie wirusem HIV ($RR = 12$), choroby nerek ($RR = 9,8$) oraz cukrzyca ($RR = 1,6$) [212]. Campbell i wsp. wykazali natomiast, że wśród osób z kontaktu z dodatnim wynikiem testu IGRA częstość rozwoju gruźlicy wynosiła 17 na 1000 osobo/lat, a ryzyko zachorowania sięgało 10,8 w porównaniu do osób

z wynikami ujemnymi. Najwyższe ryzyko reaktywacji odnotowano u pacjentów leczonych biologicznie (RR = 48), zakażonych HIV (RR = 1), dializowanych (RR = 7) oraz biorców przeszczepów (RR = 2,5) [213]. Zarówno dane własne jak i wyniki innych autorów wskazują na konieczność testowania w kierunku LTBI oraz leczenia TPT u osób z czynnikami ryzyka istotnie zwiększającymi prawdopodobieństwo rozwoju gruźlicy.

W analizowanej grupie pacjentów aktywną gruźlicę zgłoszono do KRG w 125 / 712 (17,6%) przypadkach. Dzieci stanowiły większy odsetek chorych na gruźlicę niż dorośli 59,2% vs 40,8% ($p = 0,049$). Jest to nietypowe zjawisko, niezgodne z wieloletnimi trendami epidemiologicznymi w Polsce, gdzie na gruźlicę częściej chorują dorośli, a udział dzieci w ogólnej liczbie zachorowań jest niewielki. W 2023 roku mężczyźni stanowili 74% wszystkich przypadków gruźlicy, natomiast dzieci jedynie 1,1%. Co więcej współczynnik zapadalności na gruźlicę wzrastał wraz z wiekiem wynosząc od 0,9 na 100 000 wśród dzieci do 14 roku życia oraz 19,1 na 100 000 w grupie 45 – 64 lat [17]. Należy podkreślić, że nasze dane dotyczą wyłącznie pacjentów diagnozowanych w kierunku LTBI co może tłumaczyć większy udział dzieci w badanej grupie. Diagnostyka LTBI jest częściej prowadzona u dzieci ze względu na ich większe ryzyko progresji do aktywnej gruźlicy po kontakcie z osobą z dodatnimi wynikami bakterioskopii. W populacji ogólnej LTBI ma charakter bezobjawowy i rozpoznawane jest głównie w grupach ryzyka, co ogranicza możliwość bezpośredniego porównania z danymi dotyczącymi aktywnej gruźlicy w całym kraju [183].

Gruźlica u dzieci jest wskaźnikiem niepowodzenia nadzoru nad chorobą i nadal stanowi istotny problemem zdrowotny w wielu krajach. Wiek osób chorujących obniża się wraz ze wzrostem ogólnej zapadalności na gruźlicę w danym regionie [105, 209, 214]. Domowy kontakt z gruźlicą jest jednym z najistotniejszych czynników ryzyka zachorowania u dzieci. W jednym z badań wykazano, że do zakażenia dzieci dochodziło głównie w rodzinach, w których chorowali najbliżsi: najczęściej matki 25% przypadków, ojcowie 15 - 25%, ciotki i wujkowie 24 - 30% oraz dziadkowie 7 - 22%. Szacowane ryzyko zakażenia dzieci w kontaktach domowych wynosiło od 15% do nawet 90%. Wysoka transmisja w tych środowiskach często wynika z opóźnionego rozpoznania choroby u dorosłych oraz braku skutecznego nadzoru nad kontaktami [209]. Autorzy zgodnie podkreślają, że duża część dzieci zakażonych lub chorujących na gruźlicę nie zostaje wykryta z powodu licznych zaniedbań, w tym również braku badań środowiska rodzinnego i kontaktów domowych [209]. Dodatkowym wyzwaniem diagnostycznym

jest trudność w mikrobiologicznym potwierdzeniu gruźlicy u dzieci. Ze względu na skąpoprątkowy charakter materiału klinicznego standardowe metody diagnostyczne mają ograniczoną czułość [105, 209, 214]. Dzieci poniżej piątego roku życia rzadko są w stanie samodzielnie wykrztusić plwocinę, a nawet jeśli ją uzyskać, wyniki badań mikroskopowego i posiewu często są ujemne. Popłuczyny żołądkowe, materiał zalecany do diagnostyki mikrobiologicznej gruźlicy w tej grupie wiekowej, dają dodatni wynik w badaniu bezpośrednim jedynie u około 20% dzieci, a hodowlę prątków uzyskuje się w około 50% przypadków. Z tego powodu gruźlica u dzieci często pozostaje nierozpoznana i niezgłoszona do krajowych rejestrów, co prowadzi do dalszego szerzenia się choroby oraz niedoszacowania rzeczywistej skali problemu [209]. Nasza analiza wykazała, że gruźlicę dziecięcą potwierdzono mikrobiologicznie u 16,2% vs 52,9% u dorosłych $p < 0,001$. Te dane również, były zgodne z danymi ogólnopolskimi, gdzie w 2023 roku potwierdzono mikrobiologicznie 21,6% zachorowań pediatrycznych [17]. Najczęstszą postacią gruźlicy w analizowanej przez nas grupie była gruźlica płuc, która stanowiła 84% wszystkich zachorowań i była zbliżona do odsetka w ogólnopolskim raporcie (96,1%) [17].

Kolejnym etapem analizy była ocena poziomów IFN- γ w próbkach antygenowych testu QFT-Plus. Zarówno próbka TB1, jak i TB2 zawierają antygeny ESAT-6 i CFP 10, które mają na celu wywołanie odpowiedzi komórkowej pomocniczych limfocytów T CD4+. Dodatkowo próbka TB2 zawiera zestaw sześciu peptydów [215], które są ukierunkowane na wywoływanie odpowiedzi komórkowej cytotoksycznych limfocytów T CD8+. Przedstawione w rozprawie dane wykazały brak różnic istotnych statystycznie pomiędzy wartościami IFN- γ w próbkach TB1 i TB2 co sugeruje, że w badanej populacji zarówno limfocyty T CD4+, jak i CD8+ odgrywały porównywalną rolę w odpowiedzi immunologicznej. Z tego względu do uproszczenia dalszych analiz wykorzystano wartość TB_{max} określającą najwyższą wartość IFN- γ w jednej z dwóch próbek antygenowych.

Warto podkreślić, że wśród osób zarejestrowanych w KRG poziomy IFN- γ były istotnie wyższe u dzieci niż u dorosłych i ich mediany wynosiły odpowiednio 2,7 IU/ml vs 0,85 IU/ml. Młody wiek pacjentów był związany z wyższymi poziomami IFN- γ co może wynikać z faktu, że zakażenie prątkiem gruźlicy zostało nabyte u dzieci stosunkowo niedawno [216]. Zatem względna niedojrzałość immunologiczna dzieci, a zarazem ich większa skłonność do progresji LTBI w kierunku aktywnej gruźlicy, może wywołać

intensywną odpowiedź limfocytów T i wysoką produkcję IFN- γ [217, 218]. Potwierdzają to wyniki badania z Ugandy, w którym u dzieci z kontaktu domowego z dorosłymi chorującymi na gruźlicę wykazano silną odpowiedź komórkową i produkcję IFN- γ [216, 219].

W badaniach własnych nie stwierdzono natomiast istotnej różnicy w wartościach cytokiny pomiędzy dziećmi i dorosłymi, którzy nie zachorowali na gruźlicę i tym samym nie zostali zgłoszeni do KRG. Różnicy w poziomach IFN- γ nie zaobserwowano również w pracy Tsuyuzaki i wsp., gdzie produkcja cytokiny w obu próbkach była dobrze skorelowana ($r = 0,934$, $p < 0,001$). Choć zakładano, że dodatkowa stymulacja limfocytów T CD8⁺ potencjalnie zwiększy produkcję IFN- γ w teście QFT-Plus, wpływ tego mechanizmu na poprawę wykrywalności LTBI wśród osób mających kontakt z chorymi na gruźlicę okazał się ograniczony [220]. Podobne wnioski sformułowali Gupta i wsp. podkreślając, że zastosowanie próbki TB2 nie zwiększa znacząco czułości testu w diagnostyce LTBI [221]. W kilku badaniach natomiast, zaobserwowano wyższe poziomy IFN- γ w próbce TB2 niż TB1 co wzbudziło dyskusję na temat potencjalnego znaczenia tego zjawiska. Rozważano czy wyższy poziom IFN- γ w próbce TB2 predysponuje do rozwoju gruźlicy w przyszłości lub czy różnice w poziomach IFN- γ mogą pomóc w odróżnieniu latentnego zakażenia od aktywnej choroby. Jednak wyniki badań były niejednoznaczne i zależały od badanej populacji pacjentów [215, 220, 222]. Darmawan i wsp. zaobserwowali wyższy poziom produkcji IFN- γ w próbce TB2 niż w TB1, głównie u osób z koinfekcją *Mycobacterium tuberculosis*/HIV oraz u pacjentów z niedoborem odporności CD4⁺ [215, 223]. Rola limfocytów T CD8⁺ w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie prątkiem gruźlicy pozostaje jednak nie do końca wyjaśniona, ponieważ u ludzi rzadko obserwuje się niedobory tych komórek. Niemniej jednak, wykazano że limfocyty T CD8⁺ mogą pełnić istotną funkcję cytotoksyczną produkując różne cytokiny, w tym IFN- γ [224, 225, 226, 227].

Należy pamiętać, że testy IGRA nie pozwalają na odróżnienie LTBI od aktywnej gruźlicy. Niskie poziomy IFN- γ w próbkach krwi pacjentów chorych na gruźlicę mogą wynikać z faktu dynamicznych procesów immunologicznych. W przebiegu zakażenia komórki układu odpornościowego migrują do ognisk zapalnych, gdzie uczestniczą w eliminacji patogenu, niszczeniu zakażonych komórek lub podlegają apoptozie. Limfocyty, które rozpoznają antygeny *Mycobacterium tuberculosis* proliferują

i różnicują się w komórki pamięci, które najczęściej migrują do płuc [228]. W zależności od stadium zaawansowania zakażenia większe ilości limfocytów T oraz wydzielanego przez nie IFN- γ mogą być wykrywane w płynach ustrojowych bezpośrednio związanych z miejscem toczącego się procesu chorobowego, a nie w krwi obwodowej z której wykonuje się standardowe testy IGRA. Zjawisko to zostało potwierdzone w badaniach nad zastosowaniem testu T-SPOT.TB w diagnostyce gruźliczego zapalenia płuc i opłucnej, gdzie wykazano wyższą czułość testu w próbkach popłuczyn pęcherzykowo – oskrzelikowych (ang. *Bronchoalveolar Lavage Fluid*, BALf) i w płynie opłucnowym niż w krwi [229, 230, 231]. Podobne wnioski płyną z badania Sahiratmadja i wsp. w którym stwierdzono, że obniżona produkcja IFN- γ u osób z aktywną gruźlicą koreluje z ciężkością choroby [232].

W prezentowanej pracy dokonano oceny trafności diagnostycznej testu QFT-Plus. Analiza wartości pola pod krzywą ROC (AUROC) wykazała, że zdolność diagnostyczna próbówki TB1 (AUCROC 76,8%) w wykrywaniu LTBI była porównywalna z próbówką TB2 (AUCROC 76,3%), co również potwierdziło, że dodatkowa odpowiedź limfocytów T CD8+ w próbówce TB2 nie miała istotnego wpływu na poprawę skuteczności wykrywania LTBI w badanej populacji. Dokładność diagnostyczna testu QFT-Plus oceniana na podstawie wartości TB_{max} wynosiła 76,5% ($p < 0,001$), a współczynnik Youdena osiągnął wartość 48,4%. Wskazuje to na zadowalającą zdolność testu do rozróżniania osób zakażonych od niezakażonych prątkiem gruźlicy.

Dodatkowo określono optymalną wartość graniczną testu QFT-Plus na poziomie 0,38 IU/ml, co było nieznacznie wyższe od wartości rekomendowanej przez producenta (0,35 IU/ml). Podobne wnioski zaprezentowali Gupta i wsp. stwierdzając, że dokładność diagnostyczna testu QFT-Plus oparta na odpowiedzi w próbkach TB1, TB2 oraz wartości TB_{max} była bardzo zbliżona (AUCROC 80 – 82%). Co istotne, różnica w odpowiedzi między TB1 i TB2, która teoretycznie mogłaby stanowić surogat progresji LTBI do aktywnej gruźlicy, nie pozwalała na skuteczne odróżnienie osób z najwyższym ryzykiem zachorowania od pozostałych osób. Analiza wykazała, że wartość AUCROC dla tej różnicy wynosiła jedynie 44% i prezentowała losowy charakter tej zmiennej.

Najistotniejszą cechą testów IGRA jest ich czułość ponieważ są stosowane rutynowo jako badania przesiewowe osób z kontaktu z gruźlicą, szczególnie w środowiskach o niskiej zapadalności na tę chorobę [233]. Wysoka czułość testu jest kluczowa dla skutecznej

identyfikacji LTBI i zmniejszenia liczby wyników fałszywie ujemnych, które mogłyby prowadzić do przeoczenia osób wymagających chemioprophylaktyki. Czułość QFT-Plus oceniano u chorych na gruźlicę potwierdzoną mikrobiologicznie, ponieważ takie potwierdzenie stanowi jednoznaczny dowód zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* [234]. W większości publikacji swoistość wyznaczono na podstawie wyników testów IGRA u osób z niskim ryzykiem zakażenia prątkiem gruźlicy, bez znanego kontaktu z chorym na gruźlicę. Należy podkreślić, że obecnie nie dysponujemy bezpośrednią metodą umożliwiającą potwierdzenie obecności prątków gruźlicy w stanie latencji w organizmie gospodarza. W związku z tym swoistości testów IGRA może być jedynie szacowana na podstawie danych epidemiologicznych [234]. Konsekwencją tego ograniczenia jest brak możliwości określenia czy u osób z dodatnimi wynikami testu występuje zakażenie prątkami wrażliwymi czy lekoopornymi, co może znacząco wpływać na skuteczność stosowanego leczenia TPT [235]. W badaniu przeprowadzonym w Wielkiej Brytanii wśród osób z kontaktu z chorymi na gruźlicę wykazano, że czułość testu wynosiła 80%, a swoistość 73% [233]. Z kolei w metaanalizie opublikowanej w 2024 roku dotyczącej HCW, czułość testu QFT-Plus oszacowano na 85% (79 - 91%), a swoistość na 73% (36 - 94%). Tak szerokie zakresy wynikają z uwzględnienia badań przeprowadzonych w zróżnicowanych warunkach epidemiologicznych, zarówno w krajach o wysokiej zapadalności na gruźlicę na przykład w Tajlandii (143 / 100 000 osób) [236, 237] jak i w krajach o niskiej częstości zachorowań, jak Japonia (9 / 100 000 osób) [14, 238]. W polskim badaniu z 2021 roku, przeprowadzonym wśród dzieci diagnozowanych w kierunku LTBI, swoistość testu QFT-Plus wynosiła 100%. Czułość testu wykazywała istotne zróżnicowanie w zależności od wieku badanych. U najmłodszych dzieci (1 – 4 lata) wynosiła 75%, natomiast u starszych dzieci spadła do 64% [214]. W krajach o wysokiej zapadalności na gruźlicę obserwowano niższą czułość testów IGRA oraz zwiększony odsetek wyników nieokreślonych [239, 240, 241]. Zjawisko to może być związane z wieloma czynnikami, w tym intensywnością ekspozycji na prątki gruźlicy, odmienną dynamiką transmisji patogenu, a także współwystępowaniem niedożywienia, przewlekłych infekcji pasożytniczych oraz zakażenia wirusem HIV [241].

W prezentowanej pracy test QFT-Plus charakteryzował się dobrymi wskaźnikami wiarygodności diagnostycznej wyniku, z czułością oraz swoistością ocenioną na poziomie 86% i 62% zarówno przy optymalnej wartości granicznej 0,38 IU/ml jak

i wartości zalecanej przez producenta testu 0,35 IU/ml. Diagnostyczne ilorazy szans (DOR) dla poszczególnych modeli interpretacji były zbliżone do 10, co potwierdza skuteczność diagnostyczną ocenianego przez nas testu IGRA. W badaniu Aishwarya i wsp. czułość QFT-Plus wynosiła 85%, a swoistość 74%. Wartość predykcyjna wyniku dodatniego (PPV) wynosiła 59,2%, natomiast wartość predykcyjna wyniku ujemnego (NPV) 95%, przy RR 125,39 i AUCROC 89% [242]. Skuteczność diagnostyczna testów IGRA jest szczególnie ważna dla pacjentów planujących rozpoczęcie terapii immunosupresyjnej, ponieważ fałszywie ujemne wyniki mogą prowadzić do reaktywacji LTBI, a niepotrzebna chemioprophylaktyka u osób niezakażonych może powodować działania niepożądane i opóźnienie leczenia immunosupresyjnego [126].

Ze względu na wysoki odsetek dzieci w analizowanej przez nas populacji oraz istotności uzyskanych wyników, które często determinują dalszą diagnostykę i decyzję o rozpoczęciu chemioprophylaktyki, porównano skuteczność testu QFT-Plus u dzieci oraz dorosłych. Podobnie jak w populacji ogólnej, trafność diagnostyczna testu QFT-Plus nie różniła się istotnie między trzema wariantami interpretacji. Wykazano jednak wyższą skuteczność testu w diagnozowaniu LTBI u dzieci, co potwierdziły wartości pola powierzchni pod krzywymi ROC (AUROC), wynoszące 78% dla dzieci i 70% dla dorosłych ($p < 0,001$). Optymalna wartość graniczna testu u dzieci oparta o wartość TB_{max} wynosił 0,3 IU/ml, a u dorosłych 0,38 IU/ml, co było zgodne z wynikami uzyskanymi dla populacji ogólnej. Znacznie wyższą dokładność diagnostyczną testu uzyskano w grupie dzieci co potwierdziły wartości DOR wynoszące 26,3 dla dzieci i 5,4 dla dorosłych. Oznacza to, że test QFT-Plus wykazywał większą skuteczność w identyfikacji LTBI u dzieci, co również potwierdziły wskaźniki wiarygodności wyniku ujemnego ($LR- = 0,09$ vs $0,38$) oraz wyniku dodatniego ($LR+ = 2,4$ vs 2).

6.2 Porównanie dwóch testów IGRA QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Test QFT-Plus jest obecnie najczęściej stosowanym testem uwalniania $IFN-\gamma$ w diagnostyce LTBI [117]. Należy do IV generacji testów QuantiFeron i w porównaniu do swojego poprzednika QFT-GIT, umożliwia wykrycie $IFN-\gamma$ produkowanego zarówno przez limfocyty T CD4+ jak i CD8+ [114, 119, 121, 243, 244]. W 2021 roku, sześć lat po wprowadzeniu na rynek diagnostyczny testu, udostępniono jego zautomatyzowaną wersję, czyli test Liaison QFT-Plus oparty na metodzie chemiluminescencyjnej CLIA. Dzięki zastosowaniu analizatorów Liaison XL lub XS nowy test jest w pełni

zautomatyzowanym oznaczaniem IFN- γ w próbkach krwi, co zwiększa powtarzalność wyników i eliminuje ryzyko błędów laboratoryjnych [119, 121, 245].

Druga część analizy miała na celu oszacowanie zgodności wyników dwóch komercyjnych testów IGRA: QFT-Plus oraz Liaison QFT-Plus. W grupie 269 pacjentów test Liaison QFT-Plus wykazał wyższy odsetek wyników dodatnich w porównaniu do testu QFT-Plus (26% vs 21,6%; $p = 0,01$). Różnica ta może prowadzić do nadrozpoznowalności LTBI i wpływać na decyzje kliniczne dotyczące kwalifikacji do leczenia biologicznego. Odnotowano 18 wyników niezgodnych, z czego 15 miało profil: ujemny QFT-Plus / dodatni Liaison QFT-Plus. Choć liczba takich rozbieżności była niewielka to mogą one mieć potencjalne konsekwencje kliniczne.

Zgodność obserwowana między wynikami obu testów wyniosła 93,3% i obejmowała 55 zgodnych wyników dodatnich, 196 zgodnych wyników ujemnych. Nie zarejestrowano przypadków wyników nieokreślonych. Szczegółowa analiza z wykorzystaniem współczynników zgodności nieprzypadkowej wykazała, że rzeczywista zgodność była nieco niższa i wynosiła 89,5%. W pracy ze względu na przewagę wyników ujemnych zastosowano współczynnik AC1 Gweta, ponieważ lepiej uwzględnia asymetryczny rozkład danych niż tradycyjny współczynnik κ Cohena. Wybór AC1 był w naszej ocenie uzasadniony i umożliwił bardziej wiarygodną ocenę stopnia zgodności pomiędzy wynikami testów QFT-Plus oraz Liaison QFT-Plus. Nasze wyniki potwierdzają, że pomimo występujących niezgodności testy QFT-Plus oraz Liaison QFT-Plus mogą być stosowane zamiennie w diagnostyce LTBI. Podobne wyniki przedstawiono w amerykańskim badaniu przeprowadzonym na 329 próbkach krwi, gdzie zgodności metod przekroczyła 92%, a rzeczywista zgodność obliczona współczynnikiem κ Cohena wynosiła 88% [108]. Również w badaniu Fernández-Huerta i wsp. uzyskano wysoką zgodność pomiędzy testami, wynoszącą 87% [118]. Dotychczasowe badania porównawcze często obejmowały małe populacje. Przykładowo De Maertelaere i wsp. przeanalizowali 92 próbki krwi pochodzące z populacji o niskiej prevalencji LTBI wykazując zgodność na poziomie 95%. Wykazali wyższe wartości IFN- γ w próbkach w teście Liaison QFT-Plus, co tłumaczono różnicami w warunkach przedanalizycznych. Wykonywanie testów w różnych laboratoriach oraz w różnym czasie mogło doprowadzić do degradacji IFN- γ w próbkach, przez co część wyników była niezgodna [245]. W badaniu Villalta i wsp, w którym testy QFT-Plus i Liaison QFT-Plus wykonano równolegle w tym samym laboratorium, uzyskano wysoką zgodność (κ Cohena 95%).

Spośród 153 zgodnych wyników: 83 były dodatnie, 58 ujemne, a 12 było nieokreślonych. Nie potwierdzono wyższych poziomów w IFN- γ w teście Liaison QFT-Plus co skonfrontowano, z wnioskami De Maertelaere i wsp. [119, 245]. Villalta i wsp. sugerowali, że testy QFT-Plus i Liaison QFT-Plus mogą być stosowane wymiennie przy zachowaniu dotychczasowej wartości granicznej [119]. Kadkhoda i wsp. odnotowali 98,4% zgodność [246], a Brantestig i wsp. 96,8% przy 8% wyników nieokreślonych w metodzie QFT-Plus [247]. W badaniu Bisognin i wsp. przeprowadzonym na największej, dotychczas grupie 419 osób, zgodność między wynikami testów IGRA wynosiła 75,4% co było niższym wynikiem niż w innych doniesieniach. Większość niezgodności wynikała z wyników nieokreślonych w teście QFT-Plus, które w teście automatycznym uzyskały określoną wartość [117].

Dodatkową obserwacją było stwierdzenie istotnie wyższych poziomów IFN- γ w teście Liaison QFT-Plus w porównaniu do testu QFT-Plus zarówno u pacjentów z dodatnimi jak i ujemnymi wynikami ($p < 0,001$). Wysoka korelacja wartości TB_{max} w obu testach QuantiFeron w grupie dodatnich wyników wskazuje na ich porównywalność ($r_s = 0,93$). Natomiast niska korelacja w grupie ujemnych wyników ($r_s = 0,26$) może świadczyć o większej zmienności pomiaru przy wartościach bliskich zeru i różnej charakterystyce tła (ang. *Background Noise*) obu metod analitycznych (ELISA vs CLIA).

Zaproponowana przez nas wyższa wartości graniczna testu Liaison QFT-Plus (0,63 IU/ml zamiast 0,35 IU/ml) przyniosła zauważalne zmiany w zakresie zgodności wyników z testem QFT-Plus. Współczynnik AC1 wzrósł z 89,5% do 96,7%, co stanowiło istotną różnicę statystyczną 7,2%; $p = 0,012$. Warto, zauważyć, że dzięki temu zmniejszono liczbę wyników niezgodnych do 6 przypadków. Bisogini i wsp. również zaproponowali nową wartość graniczną dla testu Liaison QFT-Plus wynoszącą 0,46 IU/ml [117]. Niemniej jednak należy podkreślić, że wyższa zgodność nie jest jednoznaczna z wyższą trafnością diagnostyczną. Ostateczna wartość diagnostyczna testu powinna być oceniana w odniesieniu do „złotego standardu” w rozpoznaniu LTBI, którego brak ogranicza możliwość bezpośredniego oszacowania czułości i swoistości diagnostycznej testu [242, 248], a co próbowaliśmy zrobić dla testu QFT-Plus porównując go ze zgłoszeniami gruźlicy do KRG. Dlatego dalsze badania powinny uwzględnić analizę wpływu zmiany wartości granicznej na parametry testu diagnostycznego w grupach ryzyka przy zastosowaniu modeli predykcyjnych uwzględniających dane kliniczne oraz epidemiologiczne.

Być może zasadna byłaby nie tyle bezpośrednia zmiana wartości granicznej testu Liaison QFT-Plus, ile wprowadzenie tak zwanego zakresu granicznego (0,2 - 0,7 IU/ml), który mógłby poprawić interpretację wyników testów QuantiFeron, co postulowano w wielu publikacjach [116, 117, 118, 249, 250, 251, 252, 253]. W Szwecji zastosowanie zakresu granicznego 0,2 - 0,99 IU/ml obniżyło zgodność wyników do 88%, zwiększając prawdopodobnie wiarygodność testu poprzez ograniczenie liczby fałszywie dodatnich i nieokreślonych wyników. Wprowadzenie zakresu granicznego może poprawić interpretację wyników u pacjentów z niskim ryzykiem LTBI zmniejszając ryzyko nadrozpoznowalności [247, 251, 254].

Automatyzacja testów IGRA wymaga więc nie tylko walidacji technicznej, ale również krytycznego podejścia do interpretacji wyników. Zastosowanie analizatorów może także zwiększyć powtarzalność wyników oraz usprawnić diagnostykę szczególnie w laboratoriach wykonujących dużą liczbę oznaczeń [118, 119, 245].

6.3 Nowe biomarkery różnicujące latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby

Aby zmniejszyć zachorowalność na gruźlicę na świecie, konieczne są dwa elementy: zapobieganie nowym zakażeniom i zapobieganie progresji LTBI do aktywnej choroby [255]. Globalna częstość występowania LTBI wynosi odpowiednio 24,8% lub 21,2% na podstawie wyników testów IGRA lub próby tuberkulinowej [87]. Główne ograniczenia obecnych testów immunodiagnostycznych (TST, IGRA, TBST) wynikają z ich niezdolność do rozróżnienia LTBI od aktywnej gruźlicy oraz przewidywania ryzyka progresji zakażenia [151, 256, 257, 258, 259]. Pomimo licznych publikacji opisujących markery immunologiczne związane z LTBI i gruźlicą, występuje znaczna heterogeniczność w badaniach, doborze uczestników, przygotowaniu próbek (w tym protokołach stymulacji), pomiarze markerów oraz ich analizie, co utrudnia porównywanie otrzymanych wyników [132, 151]. Chociaż testy IGRA mogą odróżnić zdrową populację od osób zakażonych prątkiem gruźlicy, pilnie potrzebne są nowe biomarkery umożliwiające rozróżnienie LTBI i aktywnej gruźlicy. Wiadomo, że LTBI nie jest stanem stabilnym i powtarzające się epizody replikacji *Mycobacterium tuberculosis* mogą doprowadzić do początkowej gruźlicy, gruźlicy subklinicznej, a następnie do jej ostatecznie aktywnej postaci [72, 73, 74, 137].

W przedstawionej pracy badano profile cytokinowe poprzez pomiar stężeń 20 cytokin: G-MCSF, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8/CXCL8, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17A,

IL-18, IP-10/ CXCL10, MCP-1/CCL2, MIG/CXCL9, MIP-1 α /CCL3), MIP-1 β /CCL4 RANTES/CCL5, TNF- α w osoczu resztkowym, po wykonaniu testu QFT-Plus. W odpowiedzi na zakażenie prątkiem gruźlicy, szereg prozapalnych cytokin jest regulowany poprzez szlaki sygnalizacji immunologicznej [259]. Ponieważ cytokiny są syntetyzowane i transportowane w krwi obwodowej, a ich stężenia można stosunkowo łatwo oznaczyć [136] postawiono hipotezę, że analiza ich poziomów może umożliwić rozróżnienie LTBI od aktywnej postaci choroby. W celu weryfikacji tego założenia przeprowadzono badanie w grupie 145 osób, poszukując zależności pomiędzy odpowiedzią immunologiczną gospodarza na antygeny specyficzne dla prątków gruźlicy za pomocą testu QFT-Plus oraz wydzielaniem cytokin. Uczestników badania podzielono na pacjentów z aktywną gruźlicą, z latentnym zakażeniem i osoby zdrowe, u których zarówno LTBI jak i TB zostały wykluczone.

W analizie zaobserwowano wysoką zgodność stężeń cytokin w próbkach TB1 i TB2, dlatego w dalszych badaniach, zgodnie z danymi literaturowymi [126] oraz naszymi wcześniejszymi obserwacjami, zastosowano wartość TB_{max}. Jednocześnie stwierdzono istotne różnice w stężeniach cytokin między poszczególnymi grupami osób.

W pierwszej kolejności przeanalizowano korelację między stężeniami cytokin, a gruźlicą oraz LTBI w grupie osób z dodatnimi wynikami testu QFT-Plus. Zaobserwowano, że stężenia cytokin różniły się istotnie statystycznie między obiema grupami. Stwierdzono, że cytokiny: IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-13, IL-15, IL-17, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5 osiągnęły wyższe stężenia u pacjentów z LTBI niż w grupie chorych na gruźlicę. Jedynie MIG/CXCL9 charakteryzował się istotnie wyższymi stężeniami u chorych na gruźlicę. Wśród trzynastu wybranych cytokin znalazł się IFN- γ , kluczowa cytokina prozapalna, stanowiąca podstawę komercyjnych testów IGRA i odgrywająca niezbędną rolę w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie prątkiem gruźlicy [151]. IFN- γ wpływa zarówno na zdolność migracyjną, jak i funkcjonalną makrofagów, komórek NK oraz limfocytów T. Jego produkcja jest regulowana przez inne cytokiny, między innymi IL-12 i IL-18 [152].

W naszej pracy zaobserwowano również wzrost stężeń kilku interleukin, co można wytłumaczyć ich rolą immunologiczną.

IL-2 jest odpowiedzialna za zwiększenie pozakomórkowego zabijania prątków oraz tworzenie ziarninaków gruźliczych [151]. W przebiegu zakażenia prątkiem gruźlicy

poziomy IL-4 są dość wysokie, a limfocyty T CD4⁺ produkujące tę cytokinę można wyizolować zarówno od pacjentów z LTBI, jak i z aktywną gruźlicą. Jednakże w przypadku aktywnej choroby potwierdzonej dodatnimi wynikami hodowli *Mycobacterium tuberculosis* komórki jednojądrzaste krwi obwodowej wykazują zmniejszoną ekspresję IL-4 [152].

IL-7 natomiast produkowana jest przez komórki podścieliska szpiku oraz grasicy ale także przez keratynocyty, komórki dendrytyczne, neurony i komórki śródbłonna. Cytokina ta nie jest wytwarzana przez limfocyty T, lecz stymuluje ich proliferację i bierze udział w różnicowaniu limfocytów cytotoksycznych [260, 261]. IL-7 jest więc niezbędna dla rozwoju, przeżycia i homeostazy dojrzałych limfocytów T [144, 262]. Udowodniono, że IL-7 w połączeniu z IL-15 wzmacnia pamięć immunologiczną indukowaną przez szczepionkę BCG przeciwko *Mycobacterium tuberculosis* [262].

IL-10 to cytokina przeciwzapalna, która może mieć negatywny wpływ na odpowiedź gospodarza na zakażenie prątkiem gruźlicy. Sprzyja reaktywacji LTBI i przejściu do aktywnej postaci gruźlicy, co może tłumaczyć jej wyższe stężenie w grupie pacjentów z LTBI [151].

IL-13 stanowi część alternatywnego szlaku aktywacji makrofagów, który odgrywa kluczową rolę w powstawaniu ziarniniaka gruźliczego, niszy życiowej dla prątków podczas fazy latencji [151].

IL-15 jest natomiast uznawana za podstawowy czynnik w procesach dojrzewania i aktywacji komórek NK. Wzmaga ich cytotoksyczność i wydzielanie IFN- γ . Dodatkowo wydłuża czas przeżycia limfocytów T CD8⁺ i zwiększa ich funkcje efektorowe [261, 263].

IL-17 jest cytokiną prozapalną, której głównym źródłem po zakażeniu prątkami gruźlicy są limfocyty T obecne w płucach. Odpowiada prawdopodobnie za wczesną rekrutację neutrofili do miejsca infekcji [152].

W naszej analizie stwierdzono wyższe stężenia chemokin: MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5 w grupie pacjentów z LTBI w porównaniu z osobami chorymi na gruźlicę. Prawdopodobnie wynika to z ich funkcji, jako cytokin chemotaktycznych, które stymulują migrację komórek układu odpornościowego oraz kontrolują ich przemieszczanie się z krwi do tkanek. Ta właściwość szczególnie

w odniesieniu do komórek uczestniczących w procesach zapalnych podkreśla ich kluczową rolę w formowaniu wczesnego ogniska zapalnego [263]. MCP-1/CCL2 jest chemoatraktantem monocytów, bazofili, ale nie neutrofili i eozynofili. MIP-1 α /CCL3 różnicuje limfocyty CD4+, a MIP-1 β /CCL4 jest chemoatraktantem dla komórek NK i monocytów, które odgrywają znaczącą rolę w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie *Mycobacterium tuberculosis* [151, 263]. RANTES/CCL5 jest chemoatraktantem dla monocytów, komórek pamięci, limfocytów T pomocniczych i eozynofili [263].

Oprócz wyżej wymienionych chemokin liczne badania wykazały podwyższone poziomy innych cytokin u pacjentów z LTBI w porównaniu z chorymi na gruźlicę. Warto wspomnieć o IL-8/CXCL8 pomimo, że w naszej analizie ta interleukina nie była istotna statystycznie. Pełni rolę chemoatraktanta neutrofili i bierze udział w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie prątkiem gruźlicy. Wykazano, że jest absolutnie niezbędna do tworzenia ziarniniaka gruźliczego. Głównymi producentami IL-8/CXCL8 podczas rozwoju gruźlicy mogą być monocyty i makrofagi zakażone prątkami, jednak zdolność do jej wydzielania mają również neutrofile oraz komórki nabłonka oddechowego. Co więcej, IL-8/CXCL8 prawdopodobnie odpowiada za rekrutację neutrofili do miejsc zakażenia u pacjentów z gruźlicą. W płynie oskrzelowo - pęcherzykowym tych chorych obserwuje się znaczny wzrost liczby neutrofili, który koreluje z podwyższonymi stężeniami IL-8/CXCL8 [264].

Warto również wspomnieć o chemokinie indukowanej przez interferon gamma (IP-10/CXCL10), która odgrywa istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej poprzez rekrutację limfocytów T, komórek NK do miejsc zapalenia, zwiększając ich działanie cytotoksyczne. Ekspresja tej chemokiny związana jest nie tylko z chorobami zakaźnymi, ale także z dysfunkcją układu odpornościowego oraz rozwojem nowotworów [151, 265]. Wykazano, że IP-10/CXCL10 odgrywa istotną rolę w inicjacji i progresji zakażeń, a na podstawie stężenia tego białka można przewidywać ciężkość przebiegu choroby zakaźnej [266]. Chociaż w naszej analizie IP-10/CXCL10 nie osiągnęła istotności statystycznej, w literaturze wykazano jej przydatność diagnostyczną, szczególnie w różnicowaniu LTBI od gruźlicy [141, 145, 266, 267, 268, 269, 270]. Obecność IP-10/CXCL10 w moczu sugeruje możliwość wykorzystania jej jako alternatywnego biomarkera dla IFN- γ również w testach IGRA [123, 145, 271, 272, 273]. Co więcej jest ona mniej zależna od

immunosupresji i wieku, co czyni ją użytecznym biomarkerem zarówno u dorosłych, jak i u dzieci [124, 263, 151, 274].

W naszej analizie jedyną cytokiną, która miała niższe stężenia w grupie pacjentów z LTBI, a wyższe u chorych na gruźlicę był MIG/CXCL9. Jest to monokina indukowana przez IFN- γ wykazująca działanie chemotaktycznie wobec limfocytów T, monocytów, neutrofilów oraz komórek NK. Wraz z IP-10/CXCL10 bardzo silnie hamuje angiogenezę i wykazuje zdolność odróżniania osób zdrowych, latentnie zakażonych i chorych na gruźlicę [137, 275].

Na koniec warto wspomnieć o TNF- α , który w naszej analizie nie osiągnął istotności statystycznej, ale odgrywa kluczową rolę w przebiegu zakażenia prątkiem gruźlicy. Wytwarzany jest głównie przez makrofagi, ale także przez limfocyty T CD4⁺ i CD8⁺, komórki tuczne, komórki śródbłonna oraz fibroblasty [152]. Początkowo zidentyfikowany jako czynnik indukujący martwicę nowotworów [276], a następnie jako główny mediator prozapalny [139]. Późniejsze badania wykazały, że TNF- α odgrywa istotną rolę w proliferacji i różnicowaniu komórek odpornościowych, w tym migrację i apoptozę komórek zakażonych prątkami gruźlicy [152]. W miarę rozwoju zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* TNF- α koordynuje odpowiedź chemokin w płucach i wspomaga rozwój ziarniniaka gruźliczego [139]. Zastosowanie terapii przeciwciałami monoklonalnymi anty-TNF- α w leczeniu chorób reumatologicznych i autoimmunologicznych wiąże się z reaktywacją LTBI [151]. TNF- α jest niezbędny do kontroli zakażenia przez aktywację fagocytów i organizowanie ziarniniaka, jednak jego nadmiar może prowadzić do uszkodzenia tkanek sprzyjając transmisji prątków gruźlicy [152].

W przeprowadzonej analizie oceniono trafność diagnostyczną wybranych cytokin w różnicowaniu LTBI i gruźlicy. Spośród nich wybrano dwie cytokiny o najwyższym potencjale dyskryminacyjnym IL-7 i IFN- γ . Stwierdzono, że IL-7 wykazuje najwyższą zdolność do różnicowania badanych grup pacjentów, gdzie pole powierzchni pod krzywą ROC wynosiło 95,9%, czułość 94,6%, a swoistość 91,2%. Podobnie wysoką wartość diagnostyczną osiągnął IFN- γ , dla którego AUROC wynosiło 91%, czułość 86,5%, a swoistość 87,7%. Na podstawie tych dwóch markerów opracowano prosty model diagnostyczny, który wykazał bardzo dobre dopasowanie do danych co potwierdzono testem Hosmera-Lemeshowa ($\chi^2 = 14,25$; $p = 0,075$) oraz wysoką zdolność wyjaśniającą

zależności danych (współczynnik pseudo- R^2 Nagelkerkego = 0,853). Analiza statystyczna potwierdziła doskonały potencjał dyskryminacyjny modelu IL-7 i IFN- γ (AUROC 98,1%; Se 94,6%; Sp 96,5%; LR+ = 27 i LR- = 0,06; $p < 0,001$) w wykrywaniu pacjentów z LTBI.

Badania potwierdziły, że niska skuteczność testów IGRA opartych wyłącznie na produkcji IFN- γ w różnicowaniu przypadków LTBI od przypadków aktywnej gruźlicy zmniejsza ich wartość kliniczną [110]. Dodatkowy biomarker mógłby poprawić różnicowanie tych dwóch etapów zakażenia prątkiem gruźlicy. Chegou i wsp. wykazali, że poziomy MIP-1 β /CCL4 i IP-10/CXCL10 mogą pozwolić na odróżnienie LTBI od gruźlicy z dokładnością 86% [271, 272]. Niemniej jednak w naszej populacji MIP- 1 β /CCL4 miał słaby potencjał dyskryminacyjny (AUROC 68,9%; czułość 62,6%; specyficzność 73,7%), a różnice w stężeniach IP-10/CXCL10 nie były istotne statystycznie ($p = 0,716$). Może to wynikać z indukcji IP-10/CXCL10 przez IFN- γ oraz nadmiernej produkcji IFN- γ zarówno przez limfocyty T pacjentów chorych na gruźlicę, jak i przez monocyty osób z LTBI [137]. Inny model łączący IFN- γ i IP-10/CXCL10 osiągnął czułość 89,6% i swoistość 71,1%, co podkreśla potencjał IP-10/CXCL10 jako biomarkera [277].

W literaturze badano różne zastosowania IL-7 zarówno w diagnostyce, leczeniu oraz w patogenezie zakażenia prątkiem gruźlicy. Hiza i wsp. wykazali, że IL-7 istotnie zwiększa uwalnianie IFN- γ w odpowiedzi na specyficzne antygeny *Mycobacterium tuberculosis*, zwłaszcza u osób z dodatnimi wynikami IGRA. Efekt ten wynika prawdopodobnie z roli IL-7 w rozwoju, homeostazie oraz przeżywalności limfocytów T [144, 260]. Zaburzenie osi IL-7 prowadzi do ciężkiej limfopenii, a podanie IL-7 osobom zakażonym wirusem HIV powoduje szybkie uzupełnienie puli limfocytów T, promując ich ekspansję oraz normalizując funkcje immunologiczne [93, 144]. Prowadzone są badania nad potencjałem IL-7 jako czynnika wzmacniającego testy immunologiczne oparte na limfocytach T. Opracowanie gotowej do użycia próbki IGRA z IL-7 mogłoby ułatwić diagnostykę LTBI poprzez wzmocnienie wydzielania IFN- γ [144]. W badaniach na myszach wykazano, że zakażenie makrofagów prątkami gruźlicy indukuje wydzielanie IL-7 i IL-15. Interleukina-7 działa na określone podzbiory limfocytów T i stanowi unikalną cytokinę, która w przeciwieństwie do IL-2, IL-4 i IL-10, pośredniczy w procesie tworzenia limfocytów u myszy. Stwierdzono, że IL-7 i IL-15 w mysim modelu zakażenia prątkiem gruźlicy są w stanie zwiększyć przeżywalność

zakażonych zwierząt co może być wynikiem aktywacji limfocytów T, monocytów, makrofagów, modulacji środowiska cytokinowego lub wzmocnienie odpowiedzi immunologicznej swoistej dla antygenów *Mycobacterium tuberculosis* [278]. Ponadto udowodniono, że IL-7 wzmacnia pamięć immunologiczną indukowaną przez szczepionki, w tym również BCG [236, 279]. Acheampong i wsp. wykazali, że u chorych na gruźlicę częstość występowania antygenowo swoistych limfocytów T pamięci jest niższa w porównaniu do zdrowych osób i z LTBI. Sugeruje to, że immunopatologia aktywnej gruźlicy jest związana z zaburzeniami w liczbie limfocytów T pamięci, których przeżycie jest powiązane z sygnalizacją IL-7 i receptorem IL-7R. Z racji kluczowej roli w homeostazie limfocytów T stężenia tej cytokiny ulegają zmianie w przebiegu zakażenia prątkiem gruźlicy [280]. Wcześniejsze badania wykazały, że obniżona ekspresja IL-7 oraz receptora IL-7R są związane z upośledzoną wrażliwością limfocytów T specyficznych dla *Mycobacterium tuberculosis* na tę cytokinę [280, 281].

Spośród 20 analizowanych cytokin, jedynie stężenia monokiny indukowanej przez interferon-gamma (MIG/CXCL9) były istotnie statystycznie wyższe u chorych na gruźlicę niż u zdrowych osób, co podkreśla jego potencjalną rolę jako biomarkera aktywnej gruźlicy.

Obserwowane różnice w ekspresji IL-7 oraz MIG/CXCL9 sugerują, że mogą mieć one potencjał jako nowoczesne biomarkery zarówno dla LTBI jak i dla gruźlicy. Te wyniki stanowią istotny krok w stronę rozwoju nowych narzędzi diagnostycznych. Możliwość opracowania testu IGRA opartego nie tylko na IFN- γ , ale także IL-7 oraz MIG/CXCL9 może znacząco zwiększyć czułość i specyficzność diagnozy, a także poprawić skuteczność diagnostyki w przypadkach, które dotychczas były trudne do rozróżnienia. Takie podejście mogłoby stanowić przyszłościowe rozwiązanie w diagnostyce gruźlicy i LTBI, umożliwiając bardziej precyzyjne monitorowanie stanu pacjentów oraz skuteczność terapii.

7 WNIOSKI

- 1) Dodatnie wyniki testu QFT-Plus występowały istotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn, a także u dzieci w porównaniu z dorosłymi, co wskazuje na możliwe różnice w odpowiedzi immunologicznej zależne od płci i wieku badanych.
- 2) Pacjenci z dodatnim wynikiem testu QFT-Plus wykazywali ponad siedmiokrotnie wyższe ryzyko rozwoju gruźlicy co podkreśla znaczenie tego testu w identyfikacji osób z latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy o wysokim ryzyku progresji.
- 3) Brak różnic istotnych statystycznie pomiędzy poziomami $\text{INF-}\gamma$ w próbkach TB1 i TB2 testu QFT-Plus sugeruje, że zarówno limfocyty T CD4^+ jak i CD8^+ odgrywają porównywalną rolę w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie *Mycobacterium tuberculosis*.
- 4) Test QFT-Plus wykazywał wyższą trafność diagnostyczną u dzieci niż u dorosłych, przy czym optymalne wartości graniczne dla obu grup były zbliżone do rekomendowanej wartości 0,35 IU/ml, co potwierdza zasadność jej stosowania w populacji ogólnej.
- 5) Pomimo wyższych poziomów $\text{INF-}\gamma$ w teście Liaison QFT-Plus w porównaniu z QFT-Plus zgodność wyników między obiema metodami była wysoka. W zdecydowanej większości przypadków można oczekiwać takiego samego wyniku u pacjenta niezależnie od zastosowanej metody diagnostycznej.
- 6) Model diagnostyczny oparty na analizie stężeń IL-7 i $\text{INF-}\gamma$ okazał się skuteczny w różnicowaniu osób z latentnym zakażeniem od chorych z aktywną gruźlicą, wykazując wysoką trafność diagnostyczną.
- 7) Stężenie cytokiny MIG/CXCL9 było istotnie wyższe u chorych na gruźlicę niż u osób zdrowych i zakażonych latentnie, co może wskazywać na jej potencjalne zastosowanie jako biomarkera aktywnego procesu chorobowego.

8 PUBLIKACJE AUTORKI, PREZENTACJE WYNIKÓW ZWIĄZANYCH Z PRACĄ

Publikacje:

1. Brzezińska S, Zabost A, Borkowska-Tatar D, Klatt M, Goździk J, Dłużniewska A, Błasińska K, Augustynowicz-Kopeć E. Molecular Identification of Extrapulmonary Vaccine Adverse Events after BCG in Paraffin-Embedded Specimens. *Pathogens*. 2023; 21: 12(12):1374. doi: 10.3390/pathogens12121374. IF 3,7 MNiSzW 100
2. Borkowska-Tatar D, Zabost A, Kozińska M, Augustynowicz-Kopeć E. Tuberculosis in Poland: Epidemiological and Molecular Analysis during the COVID-19 Pandemic. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 3:12(8):1883. doi: 10.3390/diagnostics12081883. IF 3,992 MNiSzW 70
3. Borkowska-Tatar D, Krasińska M, Augustynowicz-Kopeć E. QuantiFERON-TB Gold Plus Test in Diagnostics of Latent Tuberculosis Infection in Children Aged 1-14 in a Country with a Low Tuberculosis Incidence. *Pol J Microbiol*. 2021; 70(4):461-468. doi: 10.33073/pjm-2021-042. IF 1,28 MNiSzW 40
4. Borkowska-Tatar D, Brzezińska S, Krasińska M, Błasińska K, Augustynowicz-Kopeć E. The application of molecular genetic tests using paraffin-embedded biopsy specimens in the diagnosis of bone and joint tuberculosis. *Pol Arch Intern Med*. 2021; 30:131(11):16104. doi: 10.20452/pamw.16104. IF 3,277 MNiSzW 100
5. Sokołowska A, Świerzek AS, Szala-Poździej A, Augustynowicz-Kopeć E, Kozińska M, Niemiec T, Błachnio M, Borkowska-Tatar D, Jensenius JC, Thiel S, Dziadek J, Cedzyński M. Selected factors of the innate immunity in Polish patients suffering from pulmonary tuberculosis. *Immunobiology*. 2020; 225(3):151905. doi: 10.1016/j.imbio.2020.151905. IF 2,798 MNiSzW 100
6. Borkowska DI, Napiórkowska AM, Brzezińska SA, Kozińska M, Zabost AT, Augustynowicz-Kopeć EM. From Latent Tuberculosis Infection to Tuberculosis. *News in Diagnostics (QuantiFERON-Plus)*. *Pol J Microbiol*. 2017; 30:66(1):5-8. doi: 10.5604/17331331.1234987. IF 0,993 MNiSzW 15
7. Kozińska M, Napiórkowska A, Brzezińska S, Zabost A, Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Transmission of Drug-Resistant Tuberculosis

- between Household Contacts. JSM Bioequiv Bioavailab. 2017; 1:1:1004. MNiSzW 0
8. Napiórkowska A, Kozińska M, Brzezińska S, Borkowska D, Zabost A, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Detection of Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains by GenoType MTBDRplus Assay. JSM Bioequiv Bioavailab. 2017; 1:1:1003. MNiSzW 0
 9. Zabost A, Brzezińska S, Napiórkowska A, Kozińska M, Borkowska D, Klatt M, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Multidrug-Resistant Tuberculosis In Poland: Results of a Nationwide Survey, 1997 to 2012. JSM Bioequiv Bioavailab. 2017; 1:1:1002. MNiSzW 0
 10. Zabost A, Borkowska D, Brzezińska S, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Korelacja pomiędzy typem acetylacji INH a hepatoksycnością leku u chorych na gruźlicę. Zakażenia. 2015; 4:60-66. MNiSzW 3
 11. Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E. Can Interferon-Gamma Release Assays be helpful for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis? Post. Nauk Med. 2015; 4:289-293. MNiSzW 6
 12. Kempisty A, Białas-Chromiec B, Borkowska D, Kuś J. Interferon gamma release assays based on *M. tuberculosis*-specific antigens in sarcoidosis patients. Pneumonol Alergol Pol. 2015; 83(2):126-34. doi: 10.5603/PiAP.2015.0020. MNiSzW 7
 13. Borkowska D, Ziołkowski J, Augustynowicz-Kopeć E. Gruźlica i latentne zakażenie prątkami gruźlicy u dzieci. Zastosowanie testów uwalniania interferonu-gamma w identyfikacji latentnego zakażenia prątkami gruźlicy u dzieci. Pediatria Polska 2014; 89:1-7. MNiSzW 6
 14. Borkowska D, Radzikowska E, Załęska J, Ziołkowski J, Klatt M, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E, Roszkowski-Śliż K. Interferon-Gamma Release Assays in the diagnosis of latent tuberculosis infection in clinical situations. Pneumonol Alergol Pol. 2014; 82(1):39-45. Polish. doi: 10.5603/PiAP.2014.0007. MNiSzW 7
 15. Borkowska D, Zwolska Z, Broniarek-Samson B, Michałowska-Mitczuk D, Kempisty A, Radwan-Röhrenscheff P, Augustynowicz-Kopeć E. Porównanie testów IGRA i próby tuberkulinowej w rozpoznaniu utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Post. Nauk Med. 2011; 10:836-841. MNiSzW 6

16. Borkowska D, Zwolska Z, Michałowska-Mitczuk D, Korzeniewska-Koseła M, Zabost A, Napiórkowska A, Kozińska M, Brzezińska S, Augustynowicz-Kopeć E. Interferon-gamma assays T-SPOT.TB for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *Pneumonol Alergol Pol.* 2011; 79(4):264-71. Polish. MNiSzW 6
17. Zabost A, Klatt M, Napiórkowska A, Brzezińska S, Kozińska M, Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Drug resistant tuberculosis in Poland in 2008. Comparison with results from studies in WHO programs from 1997- 2004. *Post. Nauk Med.* 2011; 10:804-810. MNiSzW 6

Doniesienia związane z pracą:

1. Borkowska-Tatar D. Diagnostyka utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. Światowy Dzień Gruźlicy. Warszawa 25 III 2025, Warszawa
2. Borkowska-Tatar D, Czopowicz M, Augustynowicz-Kopeć E. Porównanie testu QuantiFeron-TB Gold metodą ELISA i CLIA w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy. XXXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc. 9- 12 V 2024, Bydgoszcz.
3. Borkowska-Tatar D, Czopowicz M, Augustynowicz-Kopeć E. Ocena testu QuantiFeron-TB Gold Plus metodą ELISA w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy. XXXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc. 9- 12 V 2024, Bydgoszcz.
4. Borkowska-Tatar D. Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy. Gruźlica - aktualne wyzwania i nowoczesne metody w diagnostyce i leczeniu gruźlicy i mykobakterioz u dzieci i dorosłych. Centrum Kompetencji. 28 XI 2024, Warszawa.
5. Borkowska-Tatar D. Rola testów IGRA w diagnostyce laboratoryjnej. Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy. Posiedzenie naukowo-szkoleniowe Oddziału Rzeszowskiego Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej. 17 X 2024, Rzeszów.
6. Borkowska-Tatar D. Czy potrzebujemy nowych markerów w testach IGRA identyfikujących ATB i LTBI? Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów. 3-4 X 2024, Warszawa.
7. Borkowska-Tatar D. Zakażenie, a zachorowanie. XVI Konferencja on line. Ogólnopolskie Spotkania Mikrobiologów i Epidemiologów, 09 IX 2024, Warszawa.

8. Borkowska-Tatar D. Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy jako globalne wyzwanie zdrowotne. XX Elckiego Forum Medycyny Zakażeń – od teorii do praktyki. 19-21 VI 2024, Elk.
9. Borkowska-Tatar D. Diagnostyka utajonego zakażenia *M. tuberculosis* nowe zalecenia i testy. Światowy Dzień Gruźlicy. Konferencja hybrydowa. 24 III 2023, Warszawa.
10. Borkowska-Tatar D. Ocena testu QuantiFeron-TB Gold Plus w analizatorze Liaison XS. XXIX Ogólnopolski Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. 15-17 X 2022, Warszawa.
11. Borkowska-Tatar D. Gruźlica latentna. Przegląd metod diagnostycznych. 26 X 2022, Warszawa.
12. Borkowska-Tatar D. Diagnostyka LTBI u dzieci do 14 roku życia. Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów 14 X 2021, Warszawa.
13. Borkowska-Tatar D. Testy IGRA - diagnostyka latentnego zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*. XVII Regionalne Forum Zakażeń Szpitalnych, Pro-Medica Sp. z o.o., Życie ze spadkiem po koronawirusie wojna za wojną. 06- 08 X 2021, Elk.
14. Borkowska-Tatar D. Metody diagnostyki zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* dawniej i dziś. V Konferencja ONLINE Ogólnopolskie Spotkania Mikrobiologów i Epidemiologów Sans-Souci 4 X 2021, Warszawa.
15. Borkowska-Tatar D, M. Krasińska, E. Augustynowicz-Kopeć Test QuantiFeron-TB Gold Plus w diagnostyce zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* u dzieci w wieku 1-14 lat. PTCHP 29 V 2021, Warszawa.
16. D.Borkowska-Tatar, Augustynowicz-Kopeć E. Testy IGRA w diagnostyce LTBI u pacjentów zakażonych wirusem HIV i chorych na AIDS. PTCHP 29 V 2021, Warszawa.
17. Borkowska-Tatar D. Gruźlica-zakażenie a zachorowanie II Konferencja ONLINE Ogólnopolskie Spotkania Mikrobiologów i Epidemiologów Sans-Souci 30 XI 2020, Warszawa.
18. Borkowska-Tatar D. Możliwości diagnostyczne testów IGRA. TB-Day. 24 III 2017, Warszawa.
19. Borkowska D, Klatt M, Filipczak D, Kempisty A, Skorupa W, Szturmowicz M, Korzybski D, Puścińska E, Augustynowicz-Kopeć E. Nontuberculous

- mycobacterial (NTM) infections and the performance of interferon gamma release assay (IGRA). Mikrobiot 19-21 IX 2017, Łódź.
20. Borkowska D, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Testy wydzielania interferonu gamma w diagnostyce aktywnej postaci gruźlicy. PTM 22-23 IX 2017, Kraków.
21. Borkowska D, Klatt M, Zabost A, Kempisty A, Skorupa W, Korzybski D, Puścińska E, Szturmowicz M, Augustynowicz-Kopeć E. Diagnostyka mykobakterioz, a testy wydzielania interferonu gamma. PTM 22- 23 IX 2017, Kraków.
22. Borkowska D, Klatt M, Zabost A, Lewandowska K, Kempisty A, Skorupa W, Szturmowicz M, Korzybski D, Puścińska E, Wiatr E, Augustynowicz-Kopeć E. Zakażenie prątkami atypowymi, a wyniki testów IGRA. XX Sympozjum Naukowe "Postępy w Medycynie Zakażeń" 2-3 XII 2016, Warszawa.
23. D.Borkowska, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Znaczenie testów IGRA wykonywanych z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych i płynu z opłucnej w diagnostyce aktywnej postaci gruźlicy, XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów: „Mikrobiologia –nowe wyzwania, nowe możliwości”, 25-27 IX 2016, Bydgoszcz.
24. Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E. Latentne zakażenia prątkami gruźlicy; testy IGRA versus TST, XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów : „Mikrobiologia – nowe wyzwania, nowe możliwości”, 25-27 IX 2016, Bydgoszcz.
25. Borkowska D, Klatt M, Zabost A, Kempisty A, Skorupa W, Korzybski D, Puścińska E, Szturmowicz M, Augustynowicz-Kopeć E. Warunki wpływające na wiarygodność testów IGRA. Testy IGRA u osób chorych na mykobakteriozy, Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów, 15-17 VI 2016, Zakopane.
26. Borkowska D, Klatt M, Zabost A, Kempisty A, Skorupa W, Korzybski D, Puścińska E, Szturmowicz M, Augustynowicz-Kopeć E. Zastosowanie testów IGRA w populacji chorych na mykobakteriozy, XXXIV Zjazd PTCHP 7- 10 V 2016, Wisła.
27. Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E. Latentne zakażenie prątkami gruźlicy. Warunki wpływające na wiarygodność testów IGRA, interpretacja wyniku. XXXIV Zjazd PTCHP 7-10 V 2016, Wisła.

28. D.Borkowska, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Augustynowicz-Kopeć E. Interferon- γ release assay in BALf for a diagnosis of tuberculosis XV Konferencja Naukowa „Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii”. DIAGMOL, 29 XI 2014, Warszawa.
29. Borkowska D, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Zastosowanie testów IGRA w diagnostyce gruźlicy pozapłucnej Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów, 11–13 VI 2014, Zakopane.
30. D.Borkowska, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Wartość diagnostyczna testu T-SPOT.TB XXXIII Zjazd PTCHP 10-13 V 2014, Jachranka.
31. D.Borkowska, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Zastosowanie aplikacyjne testów IGRA (Interferon- Gamma Release Assay). XXIV konferencja Polskiej Grupy ERS 9- 11 I 2014, Ryn.
32. Kempisty A, Bialas-Chromiec B, Borkowska D, Kuś J. What is the best test to detect latent tuberculosis infection in sarcoidosis patients? –comparison between two commercially available interferon gamma release assays. ERS Annual Congress. 7-11 IX 2013, Barcelona.
33. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. The use of T-SPOT.TB for detecting latent tuberculosis infection and active tuberculosis. Blood, bronchial alveolar lavage, pleural fluid. 18-19 XI 2013 Oxford Immunotec, Abingdon, Oxfordshire.
34. D.Borkowska, Radwan-Röhrenscheff P, Kempisty A, Lewandowska K, Augustynowicz-Kopeć E. Szansa na nowy test diagnostyczny w gruźlicy. Wykorzystanie testu T-SPOT.TB z płynów ustrojowych do szybkiej diagnostyki gruźlicy. XVII Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”. 6- 7 XII 2013, Warszawa.
35. Borkowska D, Zabost A, Augustynowicz-Kopeć E. Wartość diagnostyczna testów IGRA w identyfikacji utajonego zakażenia prątkami gruźlicy-opis przypadku. XVI Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”. 30 XI- 1 XII 2012, Warszawa.
36. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Interferon-gamma assays and tuberculin skin test for the diagnosis of latent tuberculosis infection. XIII

- Konferencja Naukowa „Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii”. DIAGMOL 2012, 24 XI 2012, Warszawa.
37. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Testy IGRA i próba tuberkulinowa narzędziami do wykrywania latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów „Drobnoustroje bez granic” 5-8 IX 2012, Lublin.
38. Kempisty A, Radwan-Rohrenscheff P, Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E, Kuś J. Is T-SPOT.TB performance in bronchoalveolar lavage useful in differential diagnosis between sarcoidosis and tuberculosis? – Pilot study. ERS 1-5 IX 2012, Wiedeń.
39. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Zastosowanie testów IGRA w diagnostyce zakażenia prątkiem gruźlicy. Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów, 13–15 VI 2012, Zakopane.
40. D Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Diagnostyka utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy. XV Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”. 9-10 XII 2011, Warszawa.
41. Kempisty A, Białas-Chromiec B, Borkowska D, Kuś J. Interferon γ release assay are useful to exclude *M. tuberculosis* infection in sarcoidosis patients with positive tuberculin skin test. WASOG and BAL 15-18 VI 2011, Maastricht.
42. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Antygeny ESAT-6 i CFP 10 w rozpoznaniu zakażenia *Mycobacterium tuberculosis*. Mikrobiologia w medycynie, przemyśle i ochronie środowiska. 22-23 X 2011, Łódź.
43. Borkowska D, Zwolska Z, Zabost A, Napiórkowska A, Kozińska M, Brzezińska S, Augustynowicz-Kopeć E. Nowy test IGRA T-SPOT.TB w diagnostyce zakażenia prątkiem gruźlicy. XXI Spotkanie Polskiej Grupy ERS 3-6 III 2011, Szczyrk.
44. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Zasady wykonywania testu T-SPOT.TB. Diagnostyka gruźlicy utajonej-sesja naukowa, Warszawski Uniwersytet Medyczny; 30 XI 2010, Warszawa.
45. Borkowska D, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E. Interferon-gamma Assays T-SPOT. TB for the diagnosis of latent tuberculosis infection. Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology. Diagmo - XI Konferencja Naukowa „Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii”. DIAGMOL 2010, 27 XI 2010, Warszawa.

46. Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E, Zabost A, Napiórkowska A, Kozińska M, Brzezińska S, Zwolska Z. Interferonowy test T-SPOT.TB w diagnostyce latentnego zakażenia prątkami gruźlicy. *Pneumonologia i Alergologia Polska XXXI Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc*, 1-4 IX 2010, Mikołajki.
47. Borkowska D, Augustynowicz-Kopeć E., Kozińska M, Brzezińska S, Zabost A, Napiórkowska A, Zwolska Z. T-SPOT.TB nowy test do wykrywania latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy. *Krajowa Konferencja Pulmonologów i Mikrobiologów*, 9-11 VI 2010, Zakopane.

9 STRESZCZENIE

Latentne zakażenie prątkiem gruźlicy (LTBI) pozostaje jednym z kluczowych wyzwań w globalnej walce z gruźlicą. Mimo znaczącego postępu w diagnostyce i leczeniu gruźlicy, LTBI nadal dotyczy około jednej czwartej światowej populacji. Choć obserwuje się powolny spadek liczby zakażonych, tempo to jest zdecydowanie niewystarczające do realizacji strategii eliminacji gruźlicy wyznaczonej przez Światową Organizację Zdrowia (WHO). Szacuje się, że 5-10% osób z LTBI jest narażonych na progresję do aktywnej choroby, szczególnie w obecności czynników ryzyka, takich jak immunosupresja, choroby przewlekłe czy niedożywienie. Dlatego skuteczna identyfikacja osób z LTBI stanowi jeden z filarów współczesnych programów zwalczania gruźlicy.

W diagnostyce LTBI wykorzystuje się testy o charakterze pośrednim, wymagające sprawnego układu immunologicznego. Są to próba tuberkulinowa (TST), testy interferonowe (IGRA) oraz nowe testy skórne (TBST). Mimo szerokiego zastosowania, obecnie dostępne testy nie pozwalają na różnicowanie stanu latencji od aktywnej gruźlicy, ani na określenie ryzyka reaktywacji zakażenia. Niemniej jednak osoby latentnie zakażone *Mycobacterium tuberculosis* stanowią rezerwuár nowych przypadków gruźlicy co uzasadnia poszukiwanie biomarkerów i narzędzi diagnostycznych pozwalających na bardziej precyzyjną ocenę stanu klinicznego pacjenta.

W pracy skoncentrowano się na ocenie przydatności testów IGRA, klasycznego QuantiFeron-TB Gold Plus (QFT-Plus) oraz jego zautomatyzowanej wersji Liaison QFT- Plus oraz na poszukiwaniu biomarkerów zdolnych do rozróżnienia LTBI od aktywnej postaci gruźlicy.

Analizie poddano 5443 wyników testów IGRA wykonanych w latach 2017-2024 w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Uwzględniono trzy główne grupy pacjentów: osoby z pojedynczymi wynikami QFT-Plus (n=712), pacjentów u których porównano wyniki QFT-Plus i Liaison QFT- Plus (n=269) oraz osoby, u których wykonano oznaczenia 20 cytokin w osoczu po wykonaniu testu QFT-Plus (n=145).

Wykazano, że dodatni wynik testu QFT-Plus istotnie częściej występował u kobiet i dzieci co może wskazywać na różnice w odpowiedzi immunologicznej związane z płcią

i wiekiem. Co istotne osoby z dodatnim wynikiem testu miały ponad siedmiokrotnie wyższe ryzyko rozwoju aktywnej gruźlicy ($RR = 7,2$) co potwierdza użyteczność QFT- Plus jako narzędzia identyfikującego osoby z LTBI o wysokim ryzyku progresji. Poziomy $INF-\gamma$ w próbkach TB1 i TB2 testu QFT-Plus były porównywalne, co świadczy o równoważnym zaangażowaniu limfocytów T $CD4+$ i $CD8+$ w odpowiedź immunologiczną podczas zakażenia prątkiem gruźlicy. Trafność diagnostyczna testu QFT-Plus była wyższa u dzieci, a optymalne wartości graniczne poziomu $INF-\gamma$ były zbliżone do rekomendowanej wartości 0,35 IU/ml.

Porównanie wyników QFT-Plus i Liaison QFT-Plus wykazało ponad 89,5% zgodność obu metod. Najlepszą zgodność wyników uzyskano przy wartości granicznej 0,63 IU/ml dla testu Liaison QFT-Plus. Test ten może zatem stanowić wartościową alternatywę diagnostyczną dla klasycznego QFT-Plus, zwłaszcza w laboratoriach o dużym obciążeniu badaniami.

Najbardziej innowacyjnym elementem pracy była analiza profili cytokinowych. Wykazano, że połączenie oznaczeń stężeń IL-7 i IFN- γ umożliwia bardzo skuteczne różnicowanie LTBI od aktywnej gruźlicy. Opracowany model diagnostyczny osiągnął AUROC 98,1%, czułość 94,6% i swoistość 96,5%. Ponadto stwierdzono, że stężenia MIG/CXCL9 były istotnie wyższe u chorych na gruźlicę niż u osób z LTBI i zdrowych, co czyni tę cytokinę obiecującym biomarkerem aktywnej fazy zakażenia.

Z perspektywy zdrowia publicznego uzyskane wyniki mogą przyczynić się do skutecznej identyfikacji pacjentów wymagających profilaktycznego leczenia, zoptymalizowania decyzji terapeutycznych oraz ograniczenia rozprzestrzeniania się gruźlicy. Zastosowanie nowych biomarkerów w rutynowej diagnostyce może znacząco wesprzeć działania w zakresie eliminacji gruźlicy i umożliwić szybsze osiągnięcie celów globalnej strategii WHO na rok 2035.

10 ABSTRACT

Latent tuberculosis infection (LTBI) remains one of the major challenges in the global fight against tuberculosis (TB). Despite significant advancements in the diagnosis and treatment of active TB, LTBI continues to affect approximately one-quarter of the world's population. Although a gradual decline in prevalence has been observed in recent years, the rate of decline remains insufficient to meet the World Health Organization's (WHO) End TB Strategy targets. An estimated 5–10% of individuals with LTBI is at risk of progression to active disease, especially in the presence of risk factors such as immunosuppression, chronic illnesses, or malnutrition. Therefore, effective identification of individuals with LTBI is one of the foundations of contemporary programmes of fight against TB.

Current diagnostic tools for LTBI including the tuberculin skin test (TST), interferon- gamma release assays (IGRAs), and emerging skin tests are indirect and rely on an intact immune response. None of these methods can differentiate latent from active TB infection or predict disease reactivation. Nonetheless, individuals with LTBI represent a substantial reservoir of future TB cases, justifying the urgent need for novel biomarkers and diagnostic tools allowing for more accurate evaluation of a patient's clinical condition.

This study aimed to evaluate the diagnostic performance of the IGRA, QuantiFERON- TB Gold Plus (QFT-Plus) and its automated version, Liaison QFT-Plus, and to identify biomarkers capable of distinguishing LTBI from active TB.

A total of 5,443 IGRA results collected between 2017 and 2024 at the Department of Microbiology, National Institute of Tuberculosis and Lung Diseases in Warsaw, was analyzed. The study population was divided into three cohorts: individuals with single QFT-Plus test result ($n = 712$), individuals tested with both QFT-Plus and Liaison QFT-Plus ($n = 269$) and individuals whose plasma samples were analyzed for 20 cytokines after QFT-Plus testing ($n = 145$).

Positive QFT-Plus results were significantly more frequent in females and children, which suggests age- and sex-related differences in immune response. Moreover, individuals with a positive QFT-Plus result had seven-fold increased risk of developing active TB ($RR = 7.2$), reinforcing QFT-Plus value in identifying LTBI cases with

high- risk of progression. IFN- γ levels in TB1 and TB2 tubes of QFT-Plus were comparable, which indicates similar contributions of CD4⁺ and CD8⁺ T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-specific immune responses. The diagnostic accuracy of QFT-Plus was higher in children, and optimal IFN- γ cut-off values closely approximated the recommended threshold of 0.35 IU/ml.

Comparison between QFT-Plus and Liaison QFT-Plus showed over 89.5% agreement, with the best concordance achieved at a 0.63 IU/ml threshold Liaison QFT-Plus. These findings support the use of Liaison QFT-Plus as a reliable alternative, particularly in highthroughput diagnostic laboratories.

The most innovative aspect of this study was the in-depth analysis of cytokine profiles. It was demonstrated that the combination of IL-7 and IFN- γ plasma concentrations makes it possible to effectively differentiate LTBI from active TB. The developed diagnostic model reached AUROC 98.1%, sensitivity 94.6%, specificity 96.5%. Furthermore, levels of MIG/CXCL9 were significantly higher in active TB compared to LTBI and healthy controls, supporting its role as a promising biomarker of active stage of infection.

From a public health perspective, the obtained results may contribute to effective identification of patients requiring preventive therapy, optimisation of therapeutic decisions, as well as limiting TB transmission. The incorporation of novel biomarkers into routine diagnostics may significantly support TB elimination and make it possible to meet the targets of global WHO strategy for 2035.

11 SPIS TABEL

Tabela 1. Ewolucja testu QuantiFeron

Tabela 2. Charakterystyka wybranych testów stosowanych w diagnostyce latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Tabela 3. Zalecany układ płytki roboczej ELISA do testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 4. Procedura przygotowania koniugatu do testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 5. Zalecany układ płytki testowej ELISA do testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 6. Interpretacja wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 7. Układ płytki do testu Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel

Tabela 8. Klasyfikacja dokładności diagnostycznej testu QuantiFeron-TB Gold Plus oraz wybranych cytokin w różnicowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i aktywnej gruźlicy

Tabela 9. Klasyfikacja korelacji rang Spearmana testu QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus oraz wybranych cytokin w różnicowaniu latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy i aktywnej gruźlicy

Tabela 10. Wartości wykorzystane do określenia zgodności między wynikami testów diagnostycznych

Tabela 11. Klasyfikacja stopnia zgodności wyników testów QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 12. Rozkład płci i wieku pacjentów w zależności od wyniku testu QuantiFeron- TB Gold Plus

Tabela 13. Iloraz szans i ryzyko względne zachorowania na gruźlicę w zależności od wyniku testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 14. Analiza dodatnich wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus u chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę w zależności od zgłoszonej postaci gruźlicy, potwierdzenia mikrobiologicznego oraz wieku chorego

Tabela 15. Ilościowe wyniki testu QuantiFeron-TB Gold Plus w próbkach antygenowych TB1 i TB2 u dzieci oraz dorosłych w zależności od zgłoszenia przypadku gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę

Tabela 16. Analiza AUROC dla pomiarów IFN- γ w próbkach TB1 i TB2 testu QuantiFeron-TB Gold Plus w badanej populacji 712 pacjentów

Tabela 17. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 16

Tabela 18. Analiza AUROC dla poziomów IFN- γ w próbkach TB1 i TB2 testu QuantiFeron-TB Gold Plus u dzieci i dorosłych

Tabela 19. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 18 u dzieci

Tabela 20. Trafność diagnostyczna testu QuantiFeron-TB Gold Plus w różnych modelach interpretacji testu przy wartościach granicznych z tabeli 18 u dorosłych

Tabela 21. Częstość występowania wyników dodatnich dwóch testów QuantiFeron

Tabela 22. Wartości zastosowane w obliczeniach zgodności wyników pomiędzy dwoma testami QuantiFeron interpretowanymi na podstawie wartości granicznej producentów 0,35 IU/ml

Tabela 23. Zgodność obserwowana i zgodność nieprzypadkowa wyników dwóch testów QuantiFeron interpretowanych według wartości granicznej producentów 0,35 IU/ml

Tabela 24. Porównanie testów QuantiFeron-TB Gold Plus i Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus na podstawie wartości TB_{max}

Tabela 25. Wartości zastosowane w obliczeniach zgodności wyników pomiędzy dwoma testami QuantiFeron interpretowanymi na podstawie wartości granicznej 0,35 IU/ml dla testu QuantiFeron-TB Gold Plus i 0,63 IU/ml dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 26. Zgodność obserwowana i zgodność nieprzypadkowa wyników dwóch testów QuantiFeron interpretowanych według wartości granicznej 0,35 IU/ml dla testu QuantiFeron-TB Gold Plus i 0,63 IU/ml dla testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 27. Zgodność nieprzypadkowa wyników testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od przyjętej wartości granicznej

Tabela 28. Charakterystyka 145 pacjentów u których oznaczono stężenia 20 cytokin

Tabela 29. Stężenia 20 cytokin przedstawionych jako mediana, IQR i zakres, w próbkach TB1 i TB2 z analizą wyników poniżej i powyżej granic oznaczalności

Tabela 30. Porównanie stężeń 20 cytokin między pacjentami z aktywną gruźlicą, a latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy z dodatnimi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Tabela 31. Trafność diagnostyczna wybranych cytokin, w różnicowaniu gruźlicy i latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy

Tabela 32. Model diagnostyczny klasyfikujący chorych na gruźlicę i pacjentów z latentnym zakażeniem prątkiem gruźlicy

Tabela 33. Trafność diagnostyczna stworzonego modelu diagnostycznego opartego na IL-7 i IFN- γ oraz na pojedynczych cytokinach

Tabela 34. Porównanie stężeń 20 cytokin u chorych na gruźlicę i zdrowych pacjentów z ujemnymi wynikami testu QuantiFeron-TB Gold Plus

12 SPIS RYCIN

Rycina 1. Schemat budowy ściany komórkowej prątków

Rycina 2. Szacunkowe wskaźniki zapadalności na gruźlicę na świecie w 2023 roku

Rycina 3. Wskaźniki zgłaszalności nowych przypadków gruźlicy i wznów gruźlicy w Regionie Europejskim w 2022 roku

Rycina 4. Zapadalność na gruźlicę w Polsce w 2023 roku wg województw. Współczynniki na 100 000 osób

Rycina 5. Schemat budowy ziarniniaka gruźliczego

Rycina 6. Schemat wydzielania wczesnych mediatorów reakcji zapalnej w płucach

Rycina 7. Schemat wydzielania pośrednich mediatorów reakcji zapalnej w węzłach chłonnych i płucach

Rycina 8. Schemat wydzielania późnych mediatorów reakcji zapalnej w płucach

Rycina 9. Dwie koncepcje zakażenia prątkiem gruźlicy

Rycina 10. Testy do diagnostyki latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy rekomendowane przez WHO

Rycina 11. Schemat przygotowania serii rozcieńczeń krzywej standardowej do testu QuantiFeron-TB Gold Plus

Rycina 12. Schemat przygotowania serii rozcieńczeń do testu Bio-Plex Pro Hu Immunotherapy 20-Plex Panel

Rycina 13. Metodyka wyboru grupy badanej liczącej 712 pacjentów

Rycina 14. Częstość wyniku dodatniego testu QuantiFeron-TB Gold Plus w podziale na cztery grupy wiekowo-płciowe

Rycina 15. Analiza wyników testu QuantiFeron-TB Gold Plus w zależności od zgłoszenia gruźlicy do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę

Rycina 16. Rozkład wartości liczbowych [IU/ml] testu QuantiFeron-TB Gold Plus w analizowanej grupie 712 pacjentów

Rycina 17. Występowanie różnych typów gruźlicy w grupie 125 chorych zarejestrowanych w Krajowym Rejestrze Zachorowań na Gruźlicę, u których wcześniej wykonano test QuantiFeron TB-Gold Plus

Rycina 18. Trzy krzywe ROC testu QuantiFeron-TB Gold Plus w oparciu o wartości IFN- γ zmierzone tylko w próbówce TB1, tylko w TB2 lub policzone jako TB_{max}

Rycina 19. Zależność wartości predykcyjnych wyniku testu QuantiFeron-TB Gold Plus od częstości występowania latentnego zakażenia prątkiem gruźlicy w populacji, z której pochodzi badany pacjent

Rycina 20. Krzywe ROC testu QuantiFeron-TB Gold Plus w oparciu o TB_{max} u dzieci i dorosłych

Rycina 21. Wpływ wartości granicznych testu Liaison QuantiFeron-TB Gold Plus na zgodność nieprzypadkową z testem QuantiFeron-TB Gold Plus

Rycina 22. Analiza AUROC dla modelu diagnostycznego opartego na IL-7 i IFN- γ oraz na pojedynczych cytokinach

13 PIŚMIENNICTWO

1. Jacobo-Delgado YM, Rodríguez-Carlos A, Serrano CJ and Rivas-Santiago B. *Mycobacterium tuberculosis* cell-wall and antimicrobial peptides: a mission impossible? Front. Immunol. 2023; 14:1194923. doi: 10.3389/fimmu.2023.1194923
2. Kowalski K, Trzepiński P, Druszczyńska M, Boratyński J. Kwasy mikołowe – rola biologiczna i potencjalne zastosowanie w wykrywaniu oraz różnicowaniu rodzaju *Mycobacterium*. Postepy Hig Med. Dos. 2014; 68:350-358. doi.org/10.5604/17322693.1097425
3. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Dev Immunol. 2011; 2011:405310. doi: 10.1155/2011/405310
4. Etna MP, Giacomini E, Severa M, Coccia EM. Pro- and anti-inflammatory cytokines in tuberculosis: A two-edged sword in TB pathogenesis. Semin Immunol. 2014; 26:543-551. doi.org/10.1016/j.smim.2014.09.011
5. Migliori GB, Ong CWM, Petrone L, D'Ambrosio L, Centis R, Goletti D. The definition of tuberculosis infection based on the spectrum of tuberculosis disease. Breathe. 2021; 17:210079. doi: 10.1183/20734735.0079-2021
6. Goletti D, Al-Abri S, Migliori GB, Arlehamn CL, Haldar P, Sundling C, da Costa C, To KW, Martineau AR, Petersen E, Zumla A, Shan Lee S. World Tuberculosis Day 2024 theme "Yes! We can end TB" can be made a reality through concerted global efforts that advance detection, diagnosis, and treatment of tuberculosis infection and disease. Int J Infect Dis. 2024; 141:106993. doi: 10.1016/j.ijid.2024.106993
7. Wingfield T, Boccia D, Tovar M, Gavino A, Zevallos K, Montoya R, Lönnroth K, Evans CA. Defining catastrophic costs and comparing their importance for adverse tuberculosis outcome with multi-drug resistance: a prospective cohort study, Peru. PLoS Med. 2014; 15:11:e1001675. doi: 10.1371/journal.pmed.1001675
8. Wingfield T, Tovar MA, Datta S, Saunders MJ, Evans CA. Addressing social determinants to end tuberculosis. Lancet. 2018; 24:391:1129-1132. doi: 10.1016/S0140-6736(18)30484-7

9. Saunders MJ, Evans CA. COVID-19, tuberculosis and poverty: preventing a perfect storm. *Eur Respir J* 2020; 56: 2001348. doi.org/10.1183/13993003.01348-2020
10. The end TB strategy. WHO/HTM/TB/2015.19. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/331326/WHO-HTM-TB-2015.19-eng.pdf?sequence=1> (dostęp 01.08.2024)
11. Ayenew B, Belay DM, Gashaw Y, Gimja W, Gardie Y. WHO's end of TB targets: unachievable by 2035 without addressing under nutrition, forced displacement, and homelessness: trend analysis from 2015 to 2022. *BMC Public Health*. 2024; 4:24:961. doi: 10.1186/s12889-024-18400-5
12. Global tuberculosis raport 2023. Geneva: World Health Organization; 2024. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
13. Sustainable Development Goals. New York: United Nations 2024. <https://unstats.un.org/sdgs/report/2024/The-Sustainable-Development-Goals-Report-2024.pdf> (dostęp 01.08.2024)
14. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
15. <https://lekarze-bez-granic.pl/gruzlica/> (dostęp 01.08.2024)
16. European Centre for Disease Prevention and Control, WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2024 – 2022 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe and Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2024. Licence: CC BY 3.0 IGO
17. Korzeniewska-Koseła, Gruźlica i Choroby Układu Oddechowego w Polsce w 2023 roku. Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa 2024
18. Korzeniewska-Koseła, Gruźlica i Choroby Układu Oddechowego w Polsce w 2021 roku. Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa 2022
19. Torrelles JB, Schlesinger LS. Integrating Lung Physiology, Immunology, and Tuberculosis. *Trends Microbiol.* 2017; 25:688-697. doi: 10.1016/j.tim.2017.03.007
20. Dheda K, Barry 3rd CE, Maartens G. Tuberculosis. *Lancet* 2016; 387:1211-26. doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00151-8
21. Collins AB, Floyd S, Gordon SV, More SJ. Prevalence of *Mycobacterium bovis* in milk on dairy cattle farms: An international systematic literature review and

- meta-analysis. Tuberculosis. 2022; 132:102166
doi.org/10.1016/j.tube.2022.102166
22. Brito AC, Oliveira CMM, Unger DA, Bittencourt MJS. Cutaneous tuberculosis: epidemiological, clinical, diagnostic and therapeutic update. An Bras Dermatol. 2022; 97:129-144. doi: 10.1016/j.abd.2021.07.004
 23. Quan DH, Kwong AJ, Hansbro PM, Britton WJ. No smoke without fire: the impact of cigarette smoking on the immune control of tuberculosis. Eur Respir Rev. 2022; 7:31:210252. doi: 10.1183/16000617.0252-2021
 24. Zavala MJ, Becker GL, Blount RJ. Interrelationships between tuberculosis and chronic obstructive pulmonary disease. Curr Opin PulmMed 2023; 29:2:104-111. doi: 10.1097/MCP.0000000000000938
 25. Venkitakrishnan R, Ramachandran D, Augustine J, Cleetus M. Inhaled corticosteroids and risk of tuberculosis-How bad is the risk? Indian J Tuberc. 2022; 69:128-130. doi: 10.1016/j.ijtb.2021.06.010
 26. Albadrani M. Exploring the Impact of Silicosis Incidence on Tuberculosis Mortality and Morbidity: A Multi-Country Study. Med Sci (Basel). 2023; 1:11:63. doi: 10.3390/medsci11040063
 27. Fernández Tena A, Casan Clarà P. Deposition of inhaled particles in the lungs. Arch Bronconeumol. 2012; 48:240-6. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2012.02.003
 28. Behr MA, Waters WR. Is tuberculosis a lymphatic disease with a pulmonary portal? Lancet Infect Dis. 2014; 14:250-5. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70253-6
 29. Nair VR, Franco LH, Zacharia VM, Khan HS, Stamm CE, You W, Marciano DK, Yagita H, Levine B, Shiloh MU. Microfold Cells Actively Translocate *Mycobacterium tuberculosis* to Initiate Infection. Cell Rep. 2016; 16:1253-1258. doi: 10.1016/j.celrep.2016.06.080
 30. Harriff MJ, Cansler ME, Toren KG, Canfield ET, Kwak S, Gold MC, Lewinsohn DM. Human lung epithelial cells contain *Mycobacterium tuberculosis* in a late endosomal vacuole and are efficiently recognized by CD8⁺ T cells. PLoS One. 2014; 14:9:e97515. doi: 10.1371/journal.pone.0097515
 31. Gold MC, Napier RJ, Lewinsohn DM. MR1-restricted mucosal associated invariant T (MAIT) cells in the immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. Immunol Rev. 2015; 264:154-66. doi: 10.1111/imr.12271

32. Ochs M, Nyengaard JR, Jung A, Knudsen L, Voigt M, Wahlers T, Richter J, Gundersen HJ. The number of alveoli in the human lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 1:169:120-4. doi: 10.1164/rccm.200308-1107OC
33. Krischer JM, Albert K, Pfaffenroth A, Lopez-Rodriguez E, Ruppert C, Smith BJ, Knudsen L. Mechanical ventilation-induced alterations of intracellular surfactant pool and blood-gas barrier in healthy and pre-injured lungs. *Histochem Cell Biol*. 2021; 155:183-202. doi: 10.1007/s00418-020-01938-x
34. Kang PB, Azad AK, Torrelles JB, Kaufman TM, Beharka A, Tibesar E, DesJardin LE, Schlesinger LS. The human macrophage mannose receptor directs *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan-mediated phagosome biogenesis. *J Exp Med*. 2005; 3:202:987-99. doi: 10.1084/jem.20051239
35. Arcos J, Sasindran SJ, Fujiwara N, Turner J, Schlesinger LS, Torrelles JB. Human lung hydrolases delineate *Mycobacterium tuberculosis*-macrophage interactions and the capacity to control infection. *J Immunol*. 2011; 187:372-81. doi: 10.4049/jimmunol.1100823
36. Ferguson JS, Martin JL, Azad AK, McCarthy TR, Kang PB, Voelker DR, Crouch EC, Schlesinger LS. Surfactant protein D increases fusion of *Mycobacterium tuberculosis*-containing phagosomes with lysosomes in human macrophages. *Infect Immun*. 2006; 74:7005-9. doi: 10.1128/IAI.01402-06
37. Hussell T, Bell TJ. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:81-93. doi: 10.1038/nri3600
38. Dobos KM, Spotts EA, Quinn FD, King CH. Necrosis of lung epithelial cells during infection with *Mycobacterium tuberculosis* is preceded by cell permeation. *Infect Immun*. 2000; 68:6300-10. doi: 10.1128/IAI.68.11.6300-6310.2000
39. Scordo JM, Knoell DL, Torrelles JB. Alveolar Epithelial Cells in *Mycobacterium tuberculosis* Infection: Active Players or Innocent Bystanders? *J Innate Immun*. 2016; 8:3-14. doi: 10.1159/000439275
40. Arcos J, Diangelo LE, Scordo JM, Sasindran SJ, Moliva JJ, Turner J, Torrelles JB. Lung Mucosa Lining Fluid Modification of *Mycobacterium tuberculosis* to Reprogram Human Neutrophil Killing Mechanisms. *J Infect Dis*. 2015; 15:212:948-58. doi: 10.1093/infdis/jiv146
41. Ndlovu H, Marakalala MJ. Granulomas and Inflammation: Host-Directed Therapies for Tuberculosis. *Front Immunol*. 2016; 24:7:434. doi: 10.3389/fimmu.2016.00434

42. Miranda MS, Breiman A, Allain S, Deknuydt F, Altare F. The tuberculous granuloma: an unsuccessful host defence mechanism providing a safety shelter for the bacteria? Clin Dev Immunol. 2012; 2012:139127. doi: 10.1155/2012/139127
43. Ordway D, Henao-Tamayo M, OrmeIM, Gonzalez-Juarrero M. Foamy Macrophages within Lung Granulomas of Mice Infected with *Mycobacterium tuberculosis* Express Molecules Characteristic of Dendritic Cells and Antiapoptotic Markers of the TNF Receptor-Associated Factor Family. J Immunol. 2005; 175: 3873–3881. doi.org/10.4049/jimmunol.175.6.3873
44. O’Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MP. The immune response in tuberculosis. Annu Rev Immunol, 2013; 31:475-527. doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095939
45. Ernst JD. The immunological life cycle of tuberculosis Nat Rev Immunol. 2012; 12:581-591. doi: 10.1038/nri3259
46. da Silva MV, Tiburcio MG, Machado JR, Silva DA, Rodrigues DB, Rodrigues V, Oliveira CJ. Complexity and Controversies over the Cytokine Profiles of T Helper Cell Subpopulations in Tuberculosis. J Immunol Res. 2015; 2015:639107. doi: 10.1155/2015/639107
47. Cheng H, Ji Z, Wang Y, Li S, Tang T, Wang F, Peng C, Wu X, Cheng Y, Liu Z, Ma M, Wang J, Huang X, Wang L, Qin L, Liu H, Chen J, Zheng R, Feng CG, Cai X, Qu D, Ye L, Yang H, Ge B. *Mycobacterium tuberculosis* produces d-serine under hypoxia to limit CD8⁺ T cell-dependent immunity in mice. Nat Microbiol. 2024; 9:1856–1872. doi.org/10.1038/s41564-024-01701-1
48. Carabalí-Isajar ML, Rodríguez-Bejarano OH, Amado T, Patarroyo MA, Izquierdo MA, Lutz JR, Ocampo M. Clinical manifestations and immune response to tuberculosis. World J Microbiol Biotechnol. 2023; 39:206. doi.org/10.1007/s11274-023-03636-x
49. Bernhard S, Hug S, Stratmann AEP, Erber M, Vidoni L, Knapp CL, Thomaß BD, Fauler M, Nilsson B, Nilsson Ekdahl K, Föhr K, Braun CK, Wohlgemuth L, Huber-Lang M, Messerer DAC. Interleukin 8 Elicits Rapid Physiological Changes in Neutrophils That Are Altered by Inflammatory Conditions. J Innate Immun. 2021;13:225-241. doi: 10.1159/000514885

50. Lowe DM, Redford PS, WilkinsonRJ, O'Garra A, Martineau AR. Neutrophils in tuberculosis: friend or foe Trends Immunol. 2012; 33:14-25. doi:10.1016/j.it.2011.10.003
51. Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol. 2011; 11:519-531. doi.org/10.1038/nri3024
52. Blomgran R, Desvignes L, Briken V, Ernst JD. *Mycobacterium tuberculosis* Inhibits Neutrophil Apoptosis, Leading to Delayed Activation of Naive CD4 T cells. Cell Host & Microbe. 2012; 11:81-90. doi.org/10.1016/j.chom.2011.11.012
53. Slight SR, Khader SA. Chemokines shape the immune responses to tuberculosis. Cytokine Growth Factor Rev. 2013; 24:105-113. doi: 10.1016/j.cytogfr.2012.10.002
54. Cooper AM. T cells in mycobacterial infection and disease. Curr Opin Immunol. 2009; 21:378-384. doi: 10.1016/j.coi.2009.06.004
55. Lande R, Giacomini E, Grassi T, Remoli ME, Iona E, Miettinen M, Julkunen I, Coccia EM. IFN-alpha beta released by *Mycobacterium tuberculosis*-infected human dendritic cells induces the expression of CXCL10: selective recruitment of NK and activated T cells. J Immunol. 2003; 170:1174-1182. doi.org/10.4049/jimmunol.170.3.1174
56. Cooper AM, Solache A, Khader SA. Interleukin-12 and tuberculosis: an old story revisited. Curr Opin Immunol. 2017; 19:441-447. doi.org/10.1016/j.coi.2007.07.004
57. Desvignes L, Wolf AJ, Ernst JD. Dynamic roles of type I and type II IFNs in early infection with *Mycobacterium tuberculosis*. J Immunol. 2012; 188:6205-6215. doi.org/10.4049/jimmunol.1200255
58. Khader SA, Pearl JE, Sakamoto K, Gilmartin L, Bell GK, Jelley-Gibbs DM, Ghilardi N, deSavauge F, Cooper AM. IL-23 compensates for the absence of IL-12p70 and is essential for the IL-17 response during tuberculosis but is dispensable for protection and antigen-specific IFN-gamma responses if IL-12p70 is available. J Immunol. 2005; 175:788-795. doi.org/10.4049/jimmunol.175.2.788
59. Pearl JE, Khader SA, Solache A, Gilmartin L, Ghilardi N, deSavauge F, Cooper AM. IL-27 signaling compromises control of bacterial growth in mycobacteria-

- infected mice. J Immunol. 2004; 173:7490-7496. doi.org/10.4049/jimmunol.173.12.7490
60. Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, Huang E, Tato CM, Johnson LM, Huang Q, Yoshimura A, Sehy D, Saris CJM, O'Shea JJ, Hennighausen L, Ernst M, Hunter CA. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. Nat Immunol. 2006; 7:937-945. doi.org/10.1038/ni1376
 61. Stumhofer JS, Silver JS, Laurence A, Porrett PM, Harris TH, Turka LA, Ernst M, Saris CJM, O'Shea JJ, Hunter CA. Interleukins 27 and 6 induce STAT3-mediated T cell production of interleukin 10. Nat Immunol 2007; 8:1363-1371. doi.org/10.1038/ni1537
 62. Demangel C, Bertolino P, Britton WJ. Autocrine IL-10 impairs dendritic cell (DC)-derived immune responses to mycobacterial infection by suppressing DC trafficking to draining lymph nodes and local IL-12 production. Eur J Immunol. 2002; 32:994-1002. doi.org/10.1002/1521-4141(200204)32:4<994::AID-IMMU994>3.0.CO;2-6
 63. O'Leary S, O'Sullivan MP, Keane J. IL-10 blocks phagosome maturation in *Mycobacterium tuberculosis*-infected human macrophages. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011; 45:172-180. doi.org/10.1165/rcmb.2010-0319OC
 64. Silva MM, Breiman A, Allain S, Deknuydt F, Altare F. The tuberculous granuloma: an unsuccessful host defence mechanism providing a safety shelter for the bacteria? Clin Dev Immunol. 2012; 2012:139127. doi.org/10.1155/2012/139127
 65. Caccamo N, Guggino G, Joosten SA, Gelsomino G, Di Carlo P, Titone L, Galati D, Bocchino M, Matarese A, Salerno A, Sanduzzi A, Franken WPJ, Ottenhoff THM, Dieli F. Multifunctional CD4(+) T cells correlate with active *Mycobacterium tuberculosis* infection. Eur J Immunol. 2010; 40:2211-2220. doi.org/10.1002/eji.201040455
 66. Torrado E, Robinson RT, Cooper AM. Cellular response to mycobacteria: balancing protection and pathology Trends Immunol. 2011; 32:66-72. doi.org/10.1016/j.it.2010.12.001
 67. McAleer JP, Kolls JK. Directing traffic: IL-17 and IL-22 coordinate pulmonary immune defense. Immunol Rev. 2014; 260:129-144. doi.org/10.1111/imr.12183

68. Behrends J, Renauld JC, Ehlers S, Holscher C. IL-22 is mainly produced by IFN gamma-secreting cells but is dispensable for host protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection. PLoS ONE. 2013; 8:e57379. doi.org/10.1371/journal.pone.0057379
69. Marin ND, Paris SC, Velez VM, Rojas CA, Rojas M, Garcia LF. Regulatory T cell frequency and modulation of IFN-gamma and IL-17 in active and latent tuberculosis. Tuberculosis. 2010; 90:252-261. doi.org/10.1016/j.tube.2010.05.003
70. Colangeli R, Gupta A, Vinhas SA, Chippada Venkata UD, Kim S, Grady C, Jones-López EC, Soteropoulos P, Palaci M, Marques-Rodrigues P, Salgame P, Ellner JJ, Dietze R, Alland D. *Mycobacterium tuberculosis* Progresses through Two Phases of Latent Infection in Humans. Nat. Commun. 2020; 11: 4870. doi.org/10.1038/s41467-020-18699-9
71. Drain PK, Bajema KL, Dowdy D, Dheda K, Naidoo K, Schumacher SG, Ma S, Meermeier E, Lewinsohn DM, Sherman DR. Incipient and Subclinical Tuberculosis: a Clinical Review of Early Stages and Progression of Infection. Clin Microbiol Rev. 2018; 18:31:e00021-18. doi: 10.1128/CMR.00021-18
72. Kendall EA, Shrestha S, Dowdy DW. The Epidemiological Importance of Subclinical Tuberculosis. A Critical Reappraisal. Am J Respir Crit Care Med. 2021; 203:168-174. doi: 10.1164/rccm.202006-2394PP
73. Khabibullina NF, Kutuzova DM, Burmistrova IA, Lyadova IV. The Biological and Clinical Aspects of a Latent Tuberculosis Infection. Trop Med Infect Dis. 2022; 8;7:48. doi: 10.3390/tropicalmed7030048
74. Kim JW, Bowman K, Nazareth J, Lee J, Woltmann G, Verma R, Sharifpour M, Shield C, Rees C, Kamil A, Swift B, Haldar P. PET-CT-guided characterisation of progressive, preclinical tuberculosis infection and its association with low-level circulating *Mycobacterium tuberculosis* DNA in household contacts in Leicester, UK: a prospective cohort study. Lancet Microbe. 2024; 5:e119-e130. doi: 10.1016/S2666-5247(23)00289-6
75. Shulman ST. Clemens von Pirquet: A Remarkable Life and Career. J Pediatric Infect Dis Soc. 2017; 24:6:376-379. doi: 10.1093/jpids/piw063
76. Palanivel J, Sounderrajan V, Thangam T, Rao SS, Harshavardhan S, Parthasarathy K. Latent Tuberculosis: Challenges in Diagnosis and Treatment,

- Perspectives, and the Crucial Role of Biomarkers. *Curr Microbiol.* 2023; 80:392. doi: 10.1007/s00284-023-03491-x
77. Behr MA, Kaufmann E, Duffin J, Edelstein PH, Ramakrishnan L. Latent Tuberculosis: Two Centuries of Confusion. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021; 204:142-148. doi: 10.1164/rccm.202011-4239PP
78. Behr MA, Edelstein PH, Ramakrishnan L. Revisiting the Timetable of Tuberculosis. *BMJ* 2018; 362: 2738. doi.org/10.1136/bmj.k2738
79. Pai M, Behr MA, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme CC, Ginsberg A, Swaminathan S, Spigelman M, Getahun H, Menzies D, Raviglione M. Tuberculosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2:16076. doi: 10.1038/nrdp.2016.76
80. Gupta A, Kaul A, Tsolaki AG, Kishore U, Bhakta S. *Mycobacterium tuberculosis*: Immune Evasion, Latency and Reactivation. *Immunobiology* 2012; 217: 363–374. doi: 10.1016/j.imbio.2011.07.008
81. Cadena AM, Fortune SM, Flynn JL. Heterogeneity in tuberculosis. *Nat. Rev. Immunol.* 2017; 17: 691–702. doi: 10.1038/nri.2017.69
82. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
83. Shah M, Dorman SE. Latent Tuberculosis Infection. *N Engl J Med.* 2021; 385:2271-2280. doi: 10.1056/NEJMc2108501
84. Alzahabi KH, Usmani O, Georgiou TK, Ryan MP, Robertson BD, Tetley TD, Porter AE. Approaches to Treating Tuberculosis by Encapsulating Metal Ions and Anti-Mycobacterial Drugs Utilizing Nano- and Microparticle Technologies. *Emerg. Top. Life Sci.* 2020; 4:581–600. doi: 10.1042/ETLS20190154
85. Hasnain SE, Ehtesham NZ, Grover S. *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Infection Biology, Pathogenesis, Diagnostics and New Interventions; Springer: Berlin, Germany, 2019; ISBN 9789813294134. doi.org/10.1007/978-981-32-9413-4
86. Houben R, Dodd PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modeling. *PLoS Med.* 2016; 13: e1002152. doi: 10.1371/journal.pmed.1002152
87. Cohen A, Mathiasen VD, Schön T, Wejse C. The global prevalence of latent tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J.* 2019; 12:54:1900655. doi: 10.1183/13993003.00655-2019

88. Use of alternative interferon-gamma release assays for the diagnosis of TB infection: WHO policy statement. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
89. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnosis. Tests for tuberculosis infection. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
90. Ding C, Hu M, Guo W, Hu W, Li X, Wang S, Shangguan Y, Zhang Y, Yang S, Xu K. Prevalence trends of latent tuberculosis infection at the global, regional, and country levels from 1990-2019. *Int J Infect Dis.* 2022; 122:46-62. doi: 10.1016/j.ijid.2022.05.029
91. Muttarak R, Wilde J. *The World at 8 Billion*. New York: Population Council, 2022
92. Long R, Divangahi M, Schwartzman K. Chapter 2: Transmission and pathogenesis of tuberculosis. *CJRCCSM*, 2022; 6:22–32. doi.org/10.1080/24745332.2022.2035540
93. Carranza C, Pedraza-Sanchez S, de Oyarzabal-Mendez E, Torres M. Diagnosis for Latent Tuberculosis Infection: New Alternatives. *Front Immunol.* 2020; 10:11:2006. doi: 10.3389/fimmu.2020.02006
94. Turetz ML, Ma KC. Diagnosis and management of latent tuberculosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2016; 29:205-11. doi: 10.1097/QCO.0000000000000253
95. Borkowska D, Zwolska Z, Michałowska-Mitczuk D, Korzeniewska-Koseła M, Zabost A, Napiórkowska A, Kozińska M, Brzezińska S, Augustynowicz-Kopeć E. Interferon-gamma assays T-SPOT.TB for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *Pneumonol Alergol Pol.* 2011; 79:264-71
96. Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. *Chest.* 2007; 131:1898-906. doi: 10.1378/chest.06-2471
97. Gualano G, Mencarini P, Lauria FN, Palmieri F, Mfinanga S, Mwaba P, Chakaya J, Zumla A, Ippolito G. Tuberculin skin test - Outdated or still useful for Latent TB infection screening? *Int J Infect Dis.* 2019; 80:20-22. doi: 10.1016/j.ijid.2019.01.048
98. Farhat M, Greenaway C, Pai M, Menzies D. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006; 10:1192-204

99. Hamada Y, Cirillo DM, Matteelli A, Penn-Nicholson A, Rangaka MX, Ruhwald M. Tests for tuberculosis infection: landscape analysis. *Eur Respir J*. 2021; 58:2100167. doi: 10.1183/13993003.00167-2021
100. Arias-Guillén M, Sánchez Menéndez MM, Alperi M, Riestra S, González Budiño MT, García-Clemente MM, Martínez-González S, Enríquez AI, Alonso-Arias R, Palacios Gutiérrez JJ, Santibáñez M, Coto-Segura P, Cambor PM, García-Alfonso L, Morante I, Escalante P. High rates of tuberculin skin test positivity due to methotrexate therapy: False positive results? *Semin Arthritis Rheum*. 2018; 48:538-546. doi: 10.1016/j.semarthrit.2018.03.018
101. Keramat F, Bagheri Delavar B, Zamani A, Poorolajal J, Lajevardi E, Saadatmand A. Comparison of Quantiferon-TB Gold and TST tests in the diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV infected patients in Hamadan, west of Iran. *J Infect Dev Ctries*. 2020; 30:14:360-365. doi: 10.3855/jidc.12139
102. Sun HY, Hsueh PR, Liu WC, Su YC, Chang SY, Hung CC, Chang S.C. Risk of active tuberculosis in HIV-infected patients in Taiwan with free access to HIV care and a positive T-spot.TB test. *PLoS One*. 2015; 10:e0125260. doi.org/10.1371/journal.pone.0125260
103. Yoopetch P, Chitpim N, Jittikoon J, Udomsinprasert W, Thavorncharoensap M, Youngkong S, Praditsitthikorn N, Mahasirimongkol S, Chaikledkaew U. Economic Evaluation of Screening Strategy for Latent Tuberculosis Infection (LTBI) in Contacts of Tuberculosis Patients: Systematic Review and Quality Assessment. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19:19:13529. doi: 10.3390/ijerph192013529
104. Goletti D, Delogu G, Matteelli A, Migliori GB. The role of IGRA in the diagnosis of tuberculosis infection, differentiating from active tuberculosis, and decision making for initiating treatment or preventive therapy of tuberculosis infection. *Int J Infect Dis* 2022; 124:12–19. doi: 10.1016/j.ijid.2022.02.047
105. Borkowska D, Radzikowska E, Załęska J, Ziołkowski J, Klatt M, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E, Roszkowski-Śliż K. Testy IGRA w Diagnostyce Zakażenia Prątkami Gruźlicy w Wybranych Sytuacjach Klinicznych. *Adv. Respir. Med*. 2014; 82:39-45. doi.org/10.5603/PiAP.2014.0007
106. Auguste P, Tsertsvadze A, Pink J, Court R, McCarthy N, Sutcliffe P, Clarke A. Comparing interferon-gamma release assays with tuberculin skin test

- for identifying latent tuberculosis infection that progresses to active tuberculosis: systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2017; 9:17:200. doi: 10.1186/s12879-017-2301-4
107. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, et al. Comparison of a Whole-Blood Interferon γ Assay With Tuberculin Skin Testing for Detecting Latent *Mycobacterium tuberculosis* Infection. JAMA. 2001;286(14):1740–1747. doi:10.1001/jama.286.14.1740
108. Altawallbeh G, Gabrielson D, Peters JM, Killeen AA. Performance of an Advanced Interferon-Gamma Release Assay for *Mycobacterium tuberculosis* Detection. J Appl Lab Med. 2021; 6:1287-1292. doi: 10.1093/jalm/jfab012
109. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, Pasvol G, Hill AV. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. Am J Respir Crit Care Med. 2001;163:824-8. doi: 10.1164/ajrccm.163.4.2009100
110. Gong W, Wu X. Differential Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection and Active Tuberculosis: A Key to a Successful Tuberculosis Control Strategy. Front Microbiol. 2021; 22:12:745592. doi: 10.3389/fmicb.2021.745592
111. Mazurek GH, Villarino ME. CDC. Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep. 2003; 31:52:15-8
112. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A; Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. MMWR Recomm Rep. 2005; 16:54:49-55
113. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection - United States, 2010. MMWR Recomm Rep. 2010; 25:59:1-25
114. Shafeque A, Bigio J, Hogan CA, Pai M, Banaei N. Fourth-Generation QuantiFERON-TB Gold Plus: What Is the Evidence? J Clin Microbiol. 2020; 24:58:e01950-19. doi: 10.1128/JCM.01950-19

115. <https://www.quantiferon.com/wp-content/uploads/2018/09/QFT-Plus-ELISA-IFU-L1095849-R04.pdf> (dostęp 01.08.2024)
116. Buron V, Banaei N. Inflated Gamma Interferon Response with QuantiFERON-TB Gold Plus Using the Automated Liaison XL Analyzer: a Testing Algorithm To Mitigate False-Positive Results in Low-Incidence Settings. *J Clin Microbiol.* 2023; 61:e00295-23. doi.org/10.1128/jcm.00295-23
117. Bisognin F, Lombardi G, Re MC, Dal Monte P. QuantiFERON-TB Gold Plus with Chemiluminescence Immunoassay: Do We Need a Higher Cut off? *J Clin Microbiol.* 2020; 22:58:e00780-20. doi: 10.1128/JCM.00780-20
118. Fernández-Huerta M, Moreto C, Vila-Olmo N, García de Cara EI, Basaez MC, Santín M, Alcaide F. Evaluation of the Fully Automated Chemiluminescence Analyzer Liaison XL for the Performance of the QuantiFERON-TB Gold Plus Assay in an Area with a Low Incidence of Tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 2021; 59:e0060321. doi: 10.1128/JCM.00603-21
119. Villalta D, Martelli P, Moratto A, Ligato E, Giacomello R, El Idrissi El Hachimi S. QuantiFERON-TB Gold Plus: High Qualitative and Quantitative Agreement between Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Chemiluminescence Immunoassay (CLIA). *J Clin Microbiol.* 2020; 58:e01436-20. doi: 10.1128/JCM.01436-20
120. <https://www.oxfordimmunotec.com/international/wpcontent/uploads/sites/3/PI-TB-IVD-PL-v5.pdf> (dostęp 01.08.2024)
121. Ortiz-Brizuela E, Apriani L, Mukherjee T, Lachapelle-Chisholm S, Miedy M, Lan Z, Korobitsyn A, Ismail N, Menzies D. Assessing the Diagnostic Performance of New Commercial Interferon- γ Release Assays for *Mycobacterium tuberculosis* Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Infect Dis.* 2023; 76:1989-1999. doi: 10.1093/cid/ciad030
122. Kobashi Y. Current status and future landscape of diagnosing tuberculosis infection. *Respir. Investig.* 2023; 61:563–578. doi.org/10.1016/j.resinv.2023.04.010
123. Ruhwald M, Aabye MG, Ravn P. IP-10 release assays in the diagnosis of tuberculosis infection: current status and future directions. *Expert Rev Mol Diagn.* 2012;12:175-87. doi: 10.1586/erm.11.97
124. Fisher KL, Moodley D, Rajkumar-Bhugeloo K, Baiyegunhi OO, Karim F, Ndlovu H, Ndung'u T, Marakalala MJ. Elevated IP-10 at the Protein and Gene

- Level Associates With Pulmonary TB. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:908144. doi: 10.3389/fcimb.2022.908144
125. Meier JP, Möbus S, Heigl F, Asbach-Nitzsche A, Niller HH, Plentz A, Avsar K, Heiß-Neumann M, Schaaf B, Cassens U, Seese B, Teschner D, Handzhiev S, Graf U, Lübbert C, Steinmaurer M, Kontogianni K, Berg C, Maieron A, Blaas SH, Wagner R, Deml L, Barabas S. Performance of T-Track TB, a Novel Dual Marker RT-qPCR-Based Whole-Blood Test for Improved Detection of Active Tuberculosis. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 16:13:758. doi: 10.3390/diagnostics13040758
126. Uzorka JW, Bakker JA, van Meijgaarden KE, Leyten EMS, Delfos NM, Hetem DJ, Kerremans J, Zwarts M, Cozijn S, Ottenhoff THM, Joosten SA, Arend SM. Biomarkers to identify *Mycobacterium tuberculosis* infection among borderline QuantiFERON results. *Eur Respir J*. 2022; 60:2102665. doi: 10.1183/13993003.02665-2021
127. Rapid communication: TB antigen-based skin tests for the diagnosis of TB infection. Geneva: World Health Organization; 2022 (WHO/UCN/TB/2022.1). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
128. To KW, Zhang R, Lee SS. Is the new tuberculous antigen-based skin test ready for use as an alternative to tuberculin skin test/interferon-gamma release assay for tuberculous diagnosis? A narrative review. *Int J Infect Dis*. 2024; 141:106992. doi: 10.1016/j.ijid.2024.106992
129. Guidelines on the management of latent tuberculosis infection. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/136471/9789241548908_eng.pdf?sequence=1 (dostęp 01.08.2024)
130. Won EJ, Choi JH, Cho YN, Jin HM, Kee HJ, Park YW, Kwon YS, Kee SJ. Biomarkers for discrimination between latent tuberculosis infection and active tuberculosis disease. *J Infect*. 2017; 74:281-293. doi: 10.1016/j.jinf.2016.11.010
131. Carrère-Kremer S, Kolia-Diafouka P, Pisoni A, Bolloré K, Peries M, Godreuil S, Bourdin A, Van de Perre P and Tuaillon E (2022) QuantiFERON-TB Gold Plus Assay in Patients With Latent vs. Active Tuberculosis in a Low Incidence Setting: Level of IFN- γ , CD4/CD8 Responses, and Release of IL-2, IP- 10, and MIG. *Front. Microbiol.* 2022; 13:825021. doi: 10.3389/fmicb.2022.825021

132. Herrera M, Keynan Y, Lopez L, Marín D, Vélez L, McLaren PJ, Rueda ZV. Cytokine/chemokine profiles in people with recent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Immunol.* 2023; 16:14:1129398. doi: 10.3389/fimmu.2023.1129398
133. Clifford V, Tebruegge M, Zufferey C, Germano S, Forbes B, Cosentino L, Matchett E, McBryde E, Eisen D, Robins-Browne R, Street A, Denholm J, Curtis N. Cytokine biomarkers for the diagnosis of tuberculosis infection and disease in adults in a low prevalence setting. *Tuberculosis.* 2019; 114:91-102. doi: 10.1016/j.tube.2018.08.011
134. Butcher PD. Microarrays for *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis* 2004; 84:131-137. doi.org/10.1016/j.tube.2004.01.002
135. Lee J, Lee SY, Won DI, Cha SI, Park JY, Kim CH. Comparison of whole-blood interferon- γ assay and flow cytometry for the detection of tuberculosis infection. *J Infect.* 2013; 66:338-45. doi: 10.1016/j.jinf.2012.08.020
136. Li Q, Ren W, Yuan J, Guo H, Shang Y, Wang W, Pan J, Gao M, Pang Y. Significant difference in Th1/Th2 paradigm induced by tuberculosis-specific antigens between IGRA-positive and IGRA-negative patients. *Front Immunol.* 2022; 13:904308. doi: 10.3389/fimmu.2022.904308
137. Li H, Ren W, Liang Q, Zhang X, Li Q, Shang Y, Ma L, Li S, Pang Y. A novel chemokine biomarker to distinguish active tuberculosis from latent tuberculosis: a cohort study. *QJM.* 2023; 27:116:1002-1009. doi: 10.1093/qjmed/hcad214
138. La Manna MP, Orlando V, Li Donni P, Sireci G, Di Carlo P, Cascio A, Dieli F, Caccamo N. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease. *PLoS One.* 2018;13:e0192664. doi: 10.1371/journal.pone.0192664
139. Namuganga AR, Nsereko M, Bagaya BS, Mayanja-Kizza H, Chegou NN. Differential expression of host protein biomarkers among symptomatic clinic attendees finally diagnosed with tuberculosis and other respiratory diseases with or without latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Immunol Lett.* 2023; 253:8-18. doi: 10.1016/j.imlet.2022.11.006
140. Tesfaye F, Sturegård E, Walles J, Winqvist N, Balcha TT, Karlson S, Mulleta D, Isberg PE, Jansson M, Björkman P. Alternative biomarkers for classification of latent tuberculosis infection status in pregnant women with

- p>borderline Quantiferon plus results. Tuberculosis 2020; 124:101984. doi.org/10.1016/j.tube.2020.101984
141. Jeong YH, Hur YG, Lee H, Kim S, Cho JE, Chang J, Shin SJ, Lee H, Kang YA, Cho SN, Ha SJ. Discrimination between active and latent tuberculosis based on ratio of antigen-specific to mitogen-induced IP-10 production. J Clin Microbiol. 2015; 53:504-10. doi: 10.1128/JCM.02758-14
142. Wergeland I, Assmus J, Dyrhol-Riise AM. Cytokine Patterns in Tuberculosis Infection; IL-1ra, IL-2 and IP-10 Differentiate Borderline QuantiFERON-TB Samples from Uninfected Controls. PLoS One. 2016; 11:e0163848. doi:10.1371/journal.pone.0163848
143. Villar-Hernández R, Latorre I, Mínguez S, Díaz J, García-García E, Muriel-Moreno B, Lacoma A, Prat C, Olivé A, Ruhwald M, Mateo L, Domínguez J. Use of IFN- γ and IP-10 detection in the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory rheumatic diseases. J Infect. 2017; 75:315-325. doi: 10.1016/j.jinf.2017.07.004
144. Hiza H, Fenner L, Hella J, Kuchaka D, Sasamalo M, Blauenfeldt T, Kibiki G, Kavishe RA, Mhimbira F, Ruhwald M. Boosting effect of IL-7 in interferon gamma release assays to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection. PLoS One. 2018; 13:e0202525. doi: 10.1371/journal.pone.0202525
145. Petrone L, Vanini V, Chiacchio T, Petruccioli E, Cuzzi G, Schininà V, Palmieri F, Ippolito G, Goletti D. Evaluation of IP-10 in Quantiferon-Plus as biomarker for the diagnosis of latent tuberculosis infection. Tuberculosis. 2018; 111:147-153. doi: 10.1016/j.tube.2018.06.005
146. Carrère-Kremer S, Rubbo PA, Pisoni A, Bendriss S, Marin G, Peries M, Bolloré K, Terru D, Godreuil S, Bourdin A, Van de Perre P, Tuaille E. High IFN- γ Release and Impaired Capacity of Multi-Cytokine Secretion in IGRA Supernatants Are Associated with Active Tuberculosis. PLoS One. 2016; 11:e0162137. doi: 10.1371/journal.pone.0162137
147. Frahm M, Goswami ND, Owzar K, Hecker E, Mosher A, Cadogan E, Nahid P, Ferrari G, Stout JE. Discriminating between latent and active tuberculosis with multiple biomarker responses. Tuberculosis (Edinb). 2011; 91:250-6. doi: 10.1016/j.tube.2011.02.006

148. Hur YG, Kang YA, Jang SH, Hong JY, Kim A, Lee SA, Kim Y, Cho SN. Adjunctive biomarkers for improving diagnosis of tuberculosis and monitoring therapeutic effects. *J Infect.* 2015; 70:346-55. doi: 10.1016/j.jinf.2014.10.019
149. Lesosky M, Rangaka MX, Pienaar C, Coussens AK, Goliath R, Mathee S, Mwansa-Kambafwile J, Maartens G, Wilkinson RJ, Wilkinson KA. Plasma Biomarkers to Detect Prevalent or Predict Progressive Tuberculosis Associated With Human Immunodeficiency Virus-1. *Clin Infect Dis.* 2019; 69:295-305. doi: 10.1093/cid/ciy823
150. He J, Fan Y, Shen D, Yu M, Shi L, Ding S, Li L. Characterization of cytokine profile to distinguish latent tuberculosis from active tuberculosis and healthy controls. *Cytokine.* 2020; 135:155218. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155218
151. Sudbury EL, Clifford V, Messina NL, Song R, Curtis N. *Mycobacterium tuberculosis*-specific cytokine biomarkers to differentiate active TB and LTBI: A systematic review. *J Infect.* 2020; 81:873-881. doi: 10.1016/j.jinf.2020.09.032
152. Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader SA. Cytokines and Chemokines in *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Microbiol Spectr.* 2016; 4:10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.TB2-0018-2016
153. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf18/P180047D.pdf (dostęp 11.03.2024)
154. <https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10000112540.pdf> (dostęp 11.03.2024)
155. Altman DG, Machin D, Bryant TN, Gardner MJ. *Statistics with Confidence: Confidence Intervals and Statistical Guidelines*, 2nd Edition. 2000
156. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. 2nd ed. Wiley, NY; 2000. doi:10.1002/0471722146
157. Eusebi P. Diagnostic accuracy measures. *Cerebrovasc Dis.* 2013; 36:267-72. doi: 10.1159/000353863
158. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer.* 1950; 3:32-5. doi: 10.1002/1097-0142(1950)3:1<32::aid-cnrc2820030106>3.0.co;2-3
159. Thrusfield M. *Veterinary epidemiology*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc., Chichester, UK. 2018; 430-443

160. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med.* 2000; 45:23-41. doi: 10.1016/s0167-5877(00)00115-x
161. Carter JV, Pan J, Rai SN, Galandiuk S. ROC-ing along: Evaluation and interpretation of receiver operating characteristic curves. *Surgery.* 2016; 159:1638-1645. doi: 10.1016/j.surg.2015.12.029
162. Akoglu H. User's guide to correlation coefficients. *Turk J Emerg Med.* 2018; 18:91-93. doi: 10.1016/j.tjem.2018.08.001
163. Gwet KL. Kappa Statistic is not Satisfactory for Assessing the Extent of Agreement Between Raters. *Statistical Methods for Inter-Rater Reliability Assessmen.* 2002; 1:1-6
164. Gwet KL. *Handbook of Interrater Reliability.* STATAXIS Publishing Company. 2002
165. Gwet KL. Computing inter-rater reliability and its variance in the presence of high agreement. *Br J Math Stat Psychol.* 2008; 61:29-48. doi: 10.1348/000711006X126600
166. Wongpakaran N, Wongpakaran T, Wedding D, Gwet KL. A comparison of Cohen's Kappa and Gwet's AC1 when calculating inter-rater reliability coefficients: a study conducted with personality disorder samples. *BMC Med Res Methodol.* 2013; 13:61. doi: 10.1186/1471-2288-13-61
167. Cicchetti DV, Feinstein AR. High agreement but low kappa: II. Resolving the paradoxes. *J Clin Epidemiol.* 1990;43:551-8. doi: 10.1016/0895-4356(90)90159-m
168. Feinstein AR, Cicchetti DV. High agreement but low kappa: I. The problems of two paradoxes. *J Clin Epidemiol.* 1990; 43:543-9. doi: 10.1016/0895-4356(90)90158-l
169. Donner A, Eliasziw M, Klar N. Testing the homogeneity of kappa statistics. *Biometrics.* 1996; 52:176-83
170. Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research.* 1st Edition. Chapman and Hall/CRC, London, UK; 1990. doi.org/10.1201/9780429258589
171. Zar JH. *Biostatistical analysis.* 5th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 2010; 186-188

172. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics*. 1988; 44:837-45
173. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 10 grudnia 2019 r. w sprawie zgłaszania podejrzeń i rozpoznań zakażeń, chorób zakaźnych oraz zgonów z ich powodu. *Dziennik Ustaw* 2019 poz. 2430, Warszawa 2019
174. Horton KC, Richards AS, Emery JC, Esmail H, Houben RMGJ. Reevaluating progression and pathways following *Mycobacterium tuberculosis* infection within the spectrum of tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023; 21:120:e2221186120. doi: 10.1073/pnas.2221186120
175. Martinez L, Cords O, Horsburgh CR, Andrews JR. Risk of tuberculosis in children after close exposure: an individual-participant meta-analysis including 137,647 children from 46 cohort studies. *Lancet*. 2020; 395:973–84. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30166-5
176. Gupta RK, Calderwood CJ, Yavlinsky A, Krutikov M, Quartagno M, Aichelburg MC, Altet N, Diel R, Dobler CC, Dominguez J, Doyle JS, Erkens C, Geis S, Haldar P, Hauri AM, Hermansen T, Johnston JC, Lange C, Lange B, van Leth F, Muñoz L, Roder C, Romanowski K, Roth D, Sester M, Sloot R, Sotgiu G, Woltmann G, Yoshiyama T, Zellweger JP, Zenner D, Aldridge RW, Copas A, Rangaka MX, Lipman M, Noursadeghi M, Abubakar I. Discovery and validation of a personalized risk predictor for incident tuberculosis in low transmission settings. *Nat Med*. 2020; 26:1941-1949. doi: 10.1038/s41591-020-1076-0
177. Campbell JR, Winters N, Menzies D. Absolute risk of tuberculosis among untreated populations with a positive tuberculin skin test or interferon-gamma release assay result: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020; 10:368:m549. doi: 10.1136/bmj.m549
178. Yuan Y, Wang X, Zhou Y, Zhou C, Li S. Prevalence and risk factors of latent tuberculosis infection among college students: a systematic review and meta-analysis. *Public Health*. 2022; 213:135-146. doi: 10.1016/j.puhe.2022.10.003WHO, 2024
179. Arumairaj AJ, Park H, Quesada F, Altonen B, Chaudhari S, Mattana J, Habtes I. Determining the Need for Additional Testing With Quantiferon TB Gold in Patients With Positive Tuberculin Skin Tests and a History of BCG Vaccination. *Cureus*. 2023; 20:15:e39272. doi: 10.7759/cureus.39272

180. Gcebe N, Hlokwe TM, Bouw A, Michel A, Rutten VPMG. The Presence of *esat-6* and *cfp10* and Other Gene Orthologs of the RD 1 Region in Non-Tuberculous Mycobacteria, Mycolicibacteria, Mycobacteroides and Mycolicibacter as Possible Impediments for the Diagnosis of (Animal) Tuberculosis. *Microorganisms*. 2024; 5:12:1151. doi: 10.3390/microorganisms12061151
181. Belogorodtsev SN, Nemkova EK, Stavitskaya NV, Schwartz YS. Pathogenic Effects of *M. tuberculosis*-Specific Proteins ESAT-6 and CFP-10 in Macrophage Culture and in 3D-Granuleogenesis Model In Vitro. *Bull Exp Biol Med*. 2021; 171:656-660. doi: 10.1007/s10517-021-05288-z
182. Kuś J, Demkow U, Lewandowska K, Korzeniewska-Koseła M, Rabczenko D, Siemion-Szcześniak I, Białas-Chromiec B, Bychawska M, Sapigórski P, Maciejewski J. Prevalence of latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in Mazovia Region using interferon gamma release assay after stimulation with specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Pneumonol Alergol Pol*. 2011; 79:407-18.
183. Augustynowicz-Kopeć E, Demkow U, Grzelewska-Rzymowska I, Korzeniewska-Koseła M, Langfort R, Michałowska-Mitczuk D, Rowińska-Zakrzewska E, Zielonka TM, Ziołkowski J, Zwolska Z. Guidelines of Polish Respiratory Society concerning diagnosis, treatment and prevention of tuberculosis in adults and in child. *Pneumonol Alergol Pol*. 2013;81:325-79.
184. Borkowska D, Ziołkowski J, Augustynowicz-Kopeć E. Gruźlica i latentne zakażenie prątkami gruźlicy u dzieci. Zastosowanie testów uwalniania interferonu- γ w identyfikacji latentnego zakażenia prątkami gruźlicy u dzieci, *Pediatrics Polska*. 2014; 89: 1-7. doi.org/10.1016/j.pepo.2013.09.008
185. Criteria for discontinuation of vaccination programmes using Bacille Calmette-Guerin (BCG) in countries with a low prevalence of tuberculosis. A statement of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. *Tuber Lung Dis*. 1994; 75:179-80. doi: 10.1016/0962-8479(94)90003-5
186. Brzezińska SA, Bielecka T, Zabost A, Głogowska A, Kozińska M, Augustynowicz-Kopeć E. Molecular methods in diagnostics of post-BCG vaccine adverse events. *Cent Eur J Immunol*. 2020; 45:130-135. doi: 10.5114/ceji.2020.97900

187. Czy w Polsce powszechne szczepienie BCG jest nadal uzasadnione?
<https://www.mp.pl/szczepienia/specjalne/199144,czy-w-polsce-powszechne-szczepienie-bcg-jest-nadal-uzasadnione> (dostęp 21.02.2025)
188. Styblo K. The relationship between the risk of tuberculosis infection and the risk of developing tuberculous disease. *Bull Int Un Tuberc* 1985; 60:117-9
189. The BCG World Atlas 3rd Edition, 2020. <http://www.bcgatlas.org> (dostęp 07.03.2025)
190. Lancione S, Alvarez JV, Alsdurf H, Pai M, Zwerling AA. Tracking changes in national BCG vaccination policies and practices using the BCG World Atlas. *BMJ Glob Health*. 2022; 7:e007462. doi: 10.1136/bmjgh-2021-007462
191. Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, Rodrigues LC, Sridhar S, Habermann S, Snell L, Mangtani P, Adetifa I, Lalvani A, Abubakar I. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014; 5:349:g4643. doi: 10.1136/bmj.g4643
192. Katelaris AL, Jackson C, Southern J, Gupta RK, Drobniewski F, Lalvani A, Lipman M, Mangtani P, Abubakar I. Effectiveness of BCG Vaccination Against *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Adults: A Cross-Sectional Analysis of a UK-Based Cohort. *J. Infect. Dis.* 2020; 221:146–155. doi: 10.1093/infdis/jiz430
193. Foster M, Hill PC, Setiabudiawan TP, Koeken VACM, Alisjahbana B, van Crevel R. BCG-induced Protection against *Mycobacterium tuberculosis* Infection: Evidence, Mechanisms, and Implications for Next-generation Vaccines. *Immunol. Rev.* 2021; 301:122–144. doi: 10.1111/imr.12965
194. Martinez L, Cords O, Liu Q, Acuna-Villaorduna C, Bonnet M, Fox GJ, Carvalho ACC, Chan PC, Croda J, Hill PC, Lopez-Varela E, Donkor S, Fielding K, Graham SM, Espinal MA, Kampmann B, Reingold A, Huerga H, Villalba JA, Grandjean L, Sotgiu G, Egere U, Singh S, Zhu L, Lienhardt C, Denholm JT, Seddon JA, Whalen CC, García-Basteiro AL, Triasih R, Chen C, Singh J, Huang LM, Sharma S, Hannoun D, Del Corral H, Mandalakas AM, Malone LL, Ling DL, Kritski A, Stein CM, Vashishtha R, Boulahbal F, Fang CT, Boom WH, Netto EM, Lemos AC, Hesselning AC, Kay A, Jones-López EC, Horsburgh CR, Lange C, Andrews JR. Infant BCG Vaccination and Risk of Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis throughout the Life Course: A Systematic Review

- and Individual Participant Data Meta-Analysis. *Lancet Glob. Health.* 2022; 10:e1307–e1316. doi: 10.1016/S2214-109X(22)00283-2
195. Tchakounte Youngui B, Tchounga BK, Graham SM, Bonnet M. Tuberculosis Infection in Children and Adolescents. *Pathogens.* 2022; 9:11:1512. doi: 10.3390/pathogens11121512
196. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 1: prevention – tuberculosis preventive treatment, second edition. Geneva: World Health Organization; 2024. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
197. Barry M. Prevalence of Latent Tuberculosis Infection in the Middle East and North Africa: A Systematic Review. *Pulm Med.* 2021; 28:2021:6680651. doi: 10.1155/2021/6680651
198. Teklu T, Legesse M, Medhin G, Zewude A, Chanyalew M, Zewdie M, Wondale B, Haile-Mariam M, Pieper R, Ameni G. Latent tuberculosis infection and associated risk indicators in pastoral communities in southern Ethiopia: a community based cross-sectional study. *BMC Public Health.* 2018; 17:18:266. doi: 10.1186/s12889-018-5149-7
199. Reichler MR, Khan A, Yuan Y, Chen B, McAuley J, Mangura B, Sterling TR; Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium Task Order 2 Team. Duration of Exposure Among Close Contacts of Patients With Infectious Tuberculosis and Risk of Latent Tuberculosis Infection. *Clin Infect Dis.* 2020; 23:71:1627-1634. doi: 10.1093/cid/ciz1044
200. Bruxvoort KJ, Skarbinski J, Fischer H, Li Z, Eaton A, Qian L, Spence B, Wei R, Rieg G, Shaw S, Tartof SY. Latent Tuberculosis Infection Treatment Practices in Two Large Integrated Health Systems in California, 2009-2018. *Open Forum Infect Dis.* 2023 Apr 21;10(5):ofad219. doi: 10.1093/ofid/ofad219
201. Sabri A, Quistrebert J, Naji Amrani H, Abid A, Zegmout A, Abderrhamani Ghorfi I, Souhi H, Boucaid A, Benali A, Abilkassem R, Kmari M, Hassani A, Lahcen B, Siah S, Schurr E, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Lahlou A, Laatiris A, Louzi L, Ouarssani A, Bourazza A, Aouragh A, Mustapha B, Messaoudi N, Agader A, Cobat A, Abel L, El Baghdadi J. Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among healthcare workers in Morocco. *PLoS One.* 2019; 15:14:e0221081. doi: 10.1371/journal.pone.0221081
202. Asare-Baah M, Séraphin MN, Salmon-Trejo LAT, Johnston L, Dominique L, Ashkin D, Vaddiparti K, Kwara A, Maurelli AT, Lauzardo M. Effects of the

- Beijing genotype on latent tuberculosis infection, TB disease risk, and clustering of TB cases. *Infect Genet Evol.* 2024; 123:105648. doi: 10.1016/j.meegid.2024.105648
203. Wada PY, Costa AG, Araújo-Pereira M, Barreto-Duarte B, Souza AB, Rocha MS, Figueiredo MC, Turner MM, Rolla VC, Kritski AL, Cordeiro-Santos M, Andrade BB, Sterling TR, Rebeiro PF; Regional Prospective Observational Research in Tuberculosis (RePORT) Brazil Consortium. Possible sex difference in latent tuberculosis infection risk among close tuberculosis contacts. *Int J Infect Dis.* 2022; 122:685-692. doi: 10.1016/j.ijid.2022.07.031
204. <https://raportsdg.stat.gov.pl/2023/> (dostęp 24.02.2025)
205. Nhamoyebonde S, Leslie A. Biological differences between the sexes and susceptibility to tuberculosis. *J Infect Dis.* 2014; 15:209:3:S100-6. doi: 10.1093/infdis/jiu147
206. Dodd PJ, Looker C, Plumb ID, Bond V, Schaap A, Shanaube K, Muyoyeta M, Vynnycky E, Godfrey-Faussett P, Corbett EL, Beyers N, Ayles H, White RG. Age- and Sex-Specific Social Contact Patterns and Incidence of *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Am J Epidemiol.* 2016; 15:183:156-66. doi: 10.1093/aje/kwv160
207. Dodd PJ, Yuen CM, Becerra MC, Revill P, Jenkins HE, Seddon JA. Potential effect of household contact management on childhood tuberculosis: a mathematical modelling study. *Lancet Glob Health.* 2018; 6:e1329-e1338. doi: 10.1016/S2214-109X(18)30401-7
208. Horton KC, Hoey AL, Béraud G, Corbett EL, White RG. Systematic Review and Meta-Analysis of Sex Differences in Social Contact Patterns and Implications for Tuberculosis Transmission and Control. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26:910-919. doi: 10.3201/eid2605.190574
209. Augustynowicz-Kopeć E., Zwolska Z. Epidemiology of tuberculosis in children and some problems of microbiological confirmation. 2008; *Borgis - Postępy Nauk Medycznych.* 9:569-577
210. <https://nazdrowie.pl/ryzyko-czy-szansa-czyli-krotko-o-podstawowych-pojeciach-ebm/> (dostęp 21.03.2025)
211. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Reported Tuberculosis in the United States, 2021. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human

- Services, 2022. <https://www.cdc.gov/tb/statistics/reports/2021/default.htm> (dostęp 13.03.2025).
212. Ekramnia M, Li Y, Haddad MB, Marks SM, Kammerer JS, Swartwood NA, Cohen T, Miller JW, Horsburgh CR, Salomon JA, Menzies NA. Estimated rates of progression to tuberculosis disease for persons infected with *Mycobacterium tuberculosis* in the United States. *Epidemiology*. 2024; 1:35:164-173. doi: 10.1097/EDE.0000000000001707
 213. Campbell JR, Winters N, Menzies D. Absolute risk of tuberculosis among untreated populations with a positive tuberculin skin test or interferon-gamma release assay result: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020; 10:368:m549. doi: 10.1136/bmj.m549
 214. Borkowska-Tatar D, Krasińska M, Augustynowicz-Kopeć E. QuantiFERON-TB Gold Plus Test in Diagnostics of Latent Tuberculosis Infection in Children Aged 1-14 in a Country with a Low Tuberculosis Incidence. *Pol J Microbiol*. 2021;70:461-468. doi: 10.33073/pjm-2021-042
 215. Darmawan G, Liman LMS, Hamijoyo L, Atik N, Alisjahbana B, Sahiratmadja E. Comparison of interferon-gamma production between TB1 and TB2 tubes of QuantiFERON-TB Gold Plus: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*. 2023; 25:61:2067-2075. doi: 10.1515/cclm-2023-0293
 216. Critselis E, Amanatidou V, Syridou G, Spyridis NP, Mavrikou M, Papadopoulos NG, Tsolia MN. The effect of age on whole blood interferon-gamma release assay response among children investigated for latent tuberculosis infection. *J Pediatr*. 2012; 161:632-8. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.04.007
 217. Philbin VJ, Levy O. Developmental biology of the innate immune response: implications for neonatal and infant vaccine development. *Pediatr Res*. 2009; 65:98-105. doi: 10.1203/PDR.0b013e31819f195d
 218. Vekemans J, Amedei A, Ota MO, D'Elios MM, Goetghebuer T, Ismaili J, Newport MJ, Del Prete G, Goldman M, McAdam KP, Marchant A. Neonatal bacillus Calmette-Guérin vaccination induces adult-like IFN-gamma production by CD4⁺ T lymphocytes. *Eur J Immunol*. 2001; 31:1531-5. doi: 10.1002/1521-4141(200105)31:5<1531::AID-IMMU1531>3.0.CO;2-1
 219. Lewinsohn DA, Zalwango S, Stein CM, Mayanja-Kizza H, Okwera A, Boom WH, Mugerwa RD, Whalen CC. Whole blood interferon-gamma responses to *Mycobacterium tuberculosis* antigens in young household contacts of persons

- with tuberculosis in Uganda. PLoS One. 2008; 3:e3407. doi: 10.1371/journal.pone.0003407
220. Tsuyuzaki M, Igari H, Okada N, Suzuki K. Role of CD8 T-cell in immune response to tuberculosis-specific antigen in QuantiFERON-TB Gold Plus. J Infect Chemother. 2020; 26:570-574. doi: 10.1016/j.jiac.2020.01.011
 221. Gupta RK, Kunst H, Lipman M, Noursadeghi M, Jackson C, Southern J, Imran A, Lozewicz S, Abubakar I. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Predicting Incident Tuberculosis among Recent Contacts: A Prospective Cohort Study. Ann Am Thorac Soc. 2020; 17:646-650. doi: 10.1513/AnnalsATS.201905-407RL
 222. Pérez-Recio S, Pallarès N, Grijota-Camino MD, Sánchez-Montalvá A, Barcia L, Campos-Gutiérrez S, Pomar V, Rabuñal-Rey R, Balcells ME, Gazel D, Montiel N, Vicente D, Goić-Barišić I, Schön T, Paues J, Mareković I, Cacho-Calvo J, Barac A, Goletti D, García-Gasalla M, Barcala JM, Tórtola MT, Anibarro L, Suárez-Toste I, Moga E, Gude-Gonzalez MJ, Naves R, Karşılıgil T, Martín-Peñaranda T, Stevanovic G, Trigo M, Rubio V, Karaoğlu İ, Bayram N, Alcaide F, Tebé C, Santin M; ESCMID Study Group for Mycobacterial Infections (ESGMYC) and the Mycobacteria Study Group (GEIM) of the Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC). Identification of Recent Tuberculosis Exposure Using QuantiFERON-TB Gold Plus, a Multicenter Study. Microbiol Spectr. 2021; 22:9:e0097221. doi: 10.1128/Spectrum.00972-21
 223. Geremew, D., Melku, M., Endalamaw, A. et al. Tuberculosis and its association with CD4+ T cell count among adult HIV positive patients in Ethiopian settings: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2020; 20:325. doi.org/10.1186/s12879-020-05040-4
 224. Prezzemolo T, Guggino G, La Manna MP, Di Liberto D, Dieli F, Caccamo N. Functional Signatures of Human CD4 and CD8 T Cell Responses to *Mycobacterium tuberculosis*. Front Immunol. 2014; 22:5:180. doi: 10.3389/fimmu.2014.00180
 225. Barcellini L, Borroni E, Brown J, Brunetti E, Campisi D, Castellotti PF, Codecasa LR, Cugnata F, Di Serio C, Ferrarese M, Goletti D, Lipman M, Rancoita PM, Russo G, Tadolini M, Vanino E, Cirillo DM. First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening. Eur Respir J. 2016; 48:1411-1419. doi: 10.1183/13993003.00510-2016

226. Hong JY, Park SY, Kim A, Cho SN, Hur YG. Comparison of QFT-Plus and QFT-GIT tests for diagnosis of *M. tuberculosis* infection in immunocompetent Korean subjects. *J Thorac Dis.* 2019;11:5210-5217. doi: 10.21037/jtd.2019.12.11
227. Lee JK, Lee HW, Heo EY, Yim JJ, Kim DK. Comparison of QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube tests for patients with active and latent tuberculosis: A prospective cohort study. *J Infect Chemother.* 2021; 27:1694-1699. doi: 10.1016/j.jiac.2021.08.003
228. Immunologia pod red. Jakóbisiak M. PWN Warszawa 1998 [W]: Gołąb J. Krążenie limfocytów oraz migracja innych leukocytów. 121-168.
229. Jafari C, Ernst M, Kalsdorf B, Lange C. Comparison of molecular and immunological methods for the rapid diagnosis of smear-negative tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17:1459-65. doi: 10.5588/ijtld.13.0108
230. Cattamanchi A, Ssewenyana I, Nabatanzi R, Miller CR, Den Boon S, Davis JL, Andama A, Worodria W, Yoo SD, Cao H, Huang L. Bronchoalveolar lavage enzyme-linked immunospot for diagnosis of smear-negative tuberculosis in HIV-infected patients. *PLoS One.* 2012; 7:e39838. doi: 10.1371/journal.pone.0039838
231. Zhou Q, Chen YQ, Qin SM, Tao XN, Xin JB, Shi HZ. Diagnostic accuracy of T-cell interferon- γ release assays in tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Respirology.* 2011; 16:473-80. doi: 10.1111/j.1440-1843.2011.01941.x
232. Sahiratmadja E, Alisjahbana B, de Boer T, Adnan I, Maya A, Danusantoso H, Nelwan RH, Marzuki S, van der Meer JW, van Crevel R, van de Vosse E, Ottenhoff TH. Dynamic changes in pro- and anti-inflammatory cytokine profiles and gamma interferon receptor signaling integrity correlate with tuberculosis disease activity and response to curative treatment. *Infect Immun.* 2007; 75:820-9. doi: 10.1128/IAI.00602-06.
233. Gupta RK, Kunst H, Lipman M, Noursadeghi M, Jackson C, Southern J, Imran A, Lozewicz S, Abubakar I. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Predicting Incident Tuberculosis among Recent Contacts: A Prospective Cohort Study. *Ann Am Thorac Soc.* 2020; 17:646-650. doi: 10.1513/AnnalsATS.201905-407RL
234. Korzeniewska-Koseła M. IGRA tests- what do we know about them? *Forum Zakażeń* 2019; 10:3:185-189. doi: 10.15374/FZ2019022

235. Shleider Carnero Canales C, Marquez Cazorla J, Furtado Torres AH, Monteiro Filardi ET, Di Filippo LD, Costa PI, Roque-Borda CA, Pavan FR. Advances in Diagnostics and Drug Discovery against Resistant and Latent Tuberculosis Infection. *Pharmaceutics*. 2023; 30:15:2409. doi: 10.3390/pharmaceutics15102409
236. Rudeeaneksin J, Srisungngam S, Klayut W, Bunchoo S, Bhakdeenuan P, Phetsuksiri B. QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-tube assays for detecting latent tuberculosis infection in Thai healthcare workers. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2023; 6:65:e13. doi: 10.1590/S1678-9946202365013
237. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health organization; 2022. licence: cc bY-Nc-sa 3.0 iGo
238. Yi L, Sasaki Y, Nagai H, Ishikawa S, Takamori M, Sakashita K, Saito T, Fukushima K, Igarashi Y, Aono A, Chikamatsu K, Yamada H, Takaki A, Mori T, Mitarai S. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in Japan. *Sci Rep*. 2016; 29:6:30617. doi: 10.1038/srep30617
239. Machingaidze S, Wiysonge CS, Gonzalez-Angulo Y, Hatherill M, Moyo S, Hanekom W, Mahomed H. The utility of an interferon gamma release assay for diagnosis of latent tuberculosis infection and disease in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*. 2011; 30:694-700. doi: 10.1097/INF.0b013e318214b915
240. Sali M, Buonsenso D, Goletti D, D'Alfonso P, Zumbo A, Fadda G, Sanguinetti M, Delogu G, Valentini P. Accuracy of QuantiFERON-TB Gold Test for Tuberculosis Diagnosis in Children. *PLoS One*. 2015; 6:10:e0138952. doi: 10.1371/journal.pone.0138952
241. Buonsenso D, Seddon JA, Esposito S, Barcellini L. QuantiFERON-TB Gold Plus Performance in Children: A Narrative Review. *Pediatr Infect Dis J*. 2023; 1:42:e158-e165. doi: 10.1097/INF.0000000000003877
242. Aishwarya R, Maheshwary D, Leele KV, Suriya VR, Kanya R. Performance of Current Diagnostic Tools in Detecting Latent Tuberculosis Among Healthcare Workers: A Systematic Review. *Cureus*. 2024; 1:16:e70621. doi: 10.7759/cureus.70621
243. Theel ES, Hilgart H, Breen-Lyles M, McCoy K, Flury R, Breeher LE, Wilson J, Sia IG, Whitaker JA, Clain J, Aksamit TR, Escalante P. Comparison of

- the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube Interferon Gamma Release Assays in Patients at Risk for Tuberculosis and in Health Care Workers. *J Clin Microbiol.* 2018; 25:5:e00614-18. doi: 10.1128/JCM.00614-18
244. Oh CE, Ortiz-Brizuela E, Bastos ML, Menzies D. Comparing the Diagnostic Performance of QuantiFERON-TB Gold Plus to Other Tests of Latent Tuberculosis Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2021; 7:73:e1116-e1125. doi: 10.1093/cid/ciaa1822
245. De Maertelaere E, Vandendriessche S, Verhasselt B, Coorevits L, André E, Padalko E, Boelens J. Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus on Liaison XL in a Low-Tuberculosis-Incidence Setting. *J Clin Microbiol.* 2020; 25:58:e00159-20. doi: 10.1128/JCM.00159-20
246. Kadkhoda K, Dee M, Simeone J. Comparison of LIAISON QuantiFERON-TB Gold Plus with QuantiFERON-TB Gold Plus. *Microbiol Spectr.* 2023; 14:11:e0475422. doi: 10.1128/spectrum.04754-22
247. Brantestig S, Kinnunen A, Almfelo S, Restorp K, Ahlqvist J, Dyrdak R. Comparative evaluation of CLIA and EIA for Quantiferon-TB Gold Plus. *APMIS.* 2020; 128:343-349. doi: 10.1111/apm.13025
248. Chin KL, Anibarro L, Sarmiento ME, Acosta A. Challenges and the Way forward in Diagnosis and Treatment of Tuberculosis Infection. *Trop Med Infect Dis.* 2023; 28:8:89. doi: 10.3390/tropicalmed8020089
249. Kadkhoda K, Schwichtenberg G, Dee M, Horejsei R. Operational Usability Evaluation of the LIAISON QuantiFERON-TB Gold Plus Solution in a High Volume Laboratory Setting. *Clin Lab.* 2020; 1;66. doi: 10.7754/Clin.Lab.2020.200338
250. Cornaby C, Giardina CK, Schmitz JL. Repeatability of QuantiFERON-TB gold plus testing utilizing microparticle chemiluminescence. *J Immunol Methods.* 2022; 509:113340. doi: 10.1016/j.jim.2022.113340
251. Jonsson J, Westman A, Bruchfeld J, Sturegard E, Gaines H, Schon T. A borderline range for Quantiferon Gold In-Tube results. *PLoS ONE* 2017; 12:e0187313
252. Brown J, Kumar K, Reading J, Harvey J, Murthy S, Capocci S, Hopkins S, Seneviratne S, Cropley I, Lipman M. Frequency and significance of indeterminate and borderline Quantiferon Gold TB IGRA results. *Eur Respir J.* 2017; 50; 1701267. doi: 10.1183/13993003.01267-2017

253. Torres Costa J, Silva R, Sá R, Cardoso MJ, Nienhaus A. Serial testing with the interferon- γ release assay in Portuguese healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2011; 84:461–469. doi: 10.1007/s00420-010-0571-x
254. Public Health Agency of Sweden. Recommendations on preventive measures against tuberculosis, 3rd ed. Sweden: Stockholm, 2017
255. Barry CE 3rd, Boshoff HI, Dartois V, Dick T, Ehrt S, Flynn J, Schnappinger D, Wilkinson RJ, Young D. The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7:845-55. doi: 10.1038/nrmicro2236
256. Lin PL, Flynn JL. The End of the Binary Era: Revisiting the Spectrum of Tuberculosis. *J Immunol*. 2018; 1:201(9):2541-2548. doi: 10.4049/jimmunol.1800993
257. Schnappinger D, Ehrt S. A broader spectrum of tuberculosis. *Nat Med*. 2016; 6:22(10):1076-1077. doi: 10.1038/nm.4186
258. Kestler B, Tyler SK. Latent tuberculosis testing through the ages: the search for a sleeping killer. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2022; 1:322:L412-L419. doi: 10.1152/ajplung.00217.2021
259. Chai Q, Lu Z, Liu CH. Host defense mechanisms against *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell Mol Life Sci*. 2020; 77:1859-1878. doi: 10.1007/s00018-019-03353-5
260. Rosenberg SA, Sportès C, Ahmadzadeh M, Fry TJ, Ngo LT, Schwarz SL, Stetler-Stevenson M, Morton KE, Mavroukakis SA, Morre M, Buffet R, Mackall CL, Gress RE. IL-7 administration to humans leads to expansion of CD8⁺ and CD4⁺ cells but a relative decrease of CD4⁺ T-regulatory cells. *J Immunother*. 2006; 29:313-9. doi: 10.1097/01.cji.0000210386.55951.c2
261. Bai C, Zhou L, Tang J, He J, Han J, Niu H, Zhu B. Fusion Cytokines IL-7-Linker-IL-15 Promote *Mycobacterium Tuberculosis* Subunit Vaccine to Induce Central Memory like T Cell-Mediated Immunity. *Vaccines (Basel)*. 2020; 1;8:715. doi: 10.3390/vaccines8040715
262. Correia MP, Costa AV, Uhrberg M, Cardoso EM, Arosa FA. IL-15 induces CD8⁺ T cells to acquire functional NK receptors capable of modulating cytotoxicity and cytokine secretion. *Immunobiology*. 2011; 216:604-12. doi: 10.1016/j.imbio.2010.09.012

263. Henc I, Bryl E. Chemokiny jako ważne mediatory stanu zapalnego. *For.Med. Rodz.* 2013; 7:251-262
264. Krupa A, Fol M, Dziadek BR, Kepka E, Wojciechowska D, Brzostek A, Torzewska A, Dziadek J, Baughman RP, Griffith D, Kurdowska AK. Binding of CXCL8/IL-8 to *Mycobacterium tuberculosis* Modulates the Innate Immune Response. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015:124762. doi: 10.1155/2015/124762
265. Liu M, Guo S, Hibbert JM, Jain V, Singh N, Wilson NO, Stiles JK. CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011; 22:121-30. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.06.001
266. Borgström E, Andersen P, Atterfelt F, Julander I, Källenius G, Maeurer M, Rosenkrands I, Widfeldt M, Bruchfeld J, Gaines H. Immune responses to ESAT-6 and CFP-10 by FASCIA and multiplex technology for diagnosis of *M. tuberculosis* infection; IP-10 is a promising marker. *PLoS One.* 2012; 7:e43438. doi: 10.1371/journal.pone.0043438
267. Comella-Del-Barrio P, Abellana R, Villar-Hernández R, Jean Coute MD, Sallés Mingels B, Canales Aliaga L, Narcisse M, Gautier J, Ascaso C, Latorre I, Dominguez J, Perez-Porcuna TM. A Model Based on the Combination of IFN- γ , IP-10, Ferritin and 25-Hydroxyvitamin D for Discriminating Latent From Active Tuberculosis in Children. *Front Microbiol.* 2019; 14:10:1855. doi: 10.3389/fmicb.2019.01855
268. Jacobs R, Malherbe S, Loxton AG, Stanley K, van der Spuy G, Walzl G, Chegou NN. Identification of novel host biomarkers in plasma as candidates for the immunodiagnosis of tuberculosis disease and monitoring of tuberculosis treatment response. *Oncotarget.* 2016; 6:7:57581-57592. doi: 10.18632/oncotarget.11420
269. Kumar NP, Hissar S, Thiruvengadam K, Banurekha VV, Suresh N, Shankar J, S E, N S G, S K, J G, M A A, Baskaran D, Tripathy S, Swaminathan S, Babu S. Discovery and Validation of a Three-Cytokine Plasma Signature as a Biomarker for Diagnosis of Pediatric Tuberculosis. *Front Immunol.* 2021; 16:12:653898. doi: 10.3389/fimmu.2021.653898
270. Cannas A, Calvo L, Chiacchio T, Cuzzi G, Vanini V, Lauria FN, Pucci L, Girardi E, Goletti D. IP-10 detection in urine is associated with lung diseases. *BMC Infect Dis.* 2010; 22:10:333. doi: 10.1186/1471-2334-10-333

271. Chegou NN, Detjen AK, Thiart L, Walters E, Mandalakas AM, Hesselning AC, Walzl G. Utility of host markers detected in Quantiferon supernatants for the diagnosis of tuberculosis in children in a high-burden setting. PLoS One. 2013; 15:8:e64226. doi: 10.1371/journal.pone.0064226
272. Chegou NN, Heyckendorf J, Walzl G, Lange C, Ruhwald M. Beyond the IFN- γ horizon: biomarkers for immunodiagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*. Eur Respir J. 2014; 43:1472-86. doi: 10.1183/09031936.00151413
273. Whittaker E, Gordon A, Kampmann B. Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than IFN γ ? PLoS One. 2008; 3:e3901. doi: 10.1371/journal.pone.0003901
274. Li H, Pang Y. Response to: Immunodiagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*. QJM. 2024 Feb 26; 117:156-157. doi: 10.1093/qjmed/hcad245
275. Sampath P, Rajamanickam A, Thiruvengadam K, Natarajan AP, Hissar S, Dhanapal M, Thangavelu B, Jayabal L, Ramesh PM, Ranganathan UD, Babu S, Bethunaickan R. Plasma chemokines CXCL10 and CXCL9 as potential diagnostic markers of drug-sensitive and drug-resistant tuberculosis. Sci Rep. 2023; 6:13:7404. doi: 10.1038/s41598-023-34530-z
276. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1975 Sep;72(9):3666-70. doi: 10.1073/pnas.72.9.3666
277. Nonghanphithak D, Reechaipichitkul W, Namwat W, Naranbhai V, Faksri K. Chemokines additional to IFN- γ can be used to differentiate among *Mycobacterium tuberculosis* infection possibilities and provide evidence of an early clearance phenotype
278. Maeurer MJ, Trinder P, Hommel G, Walter W, Freitag K, Atkins D, Störkel S. Interleukin-7 or interleukin-15 enhances survival of *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice. Infect Immun. 2000; 68:2962-70. doi: 10.1128/IAI.68.5.2962-2970.2000
279. Singh V, Gowthaman U, Jain S, Parihar P, Banskar S, Gupta P, Gupta UD, Agrewala JN. Coadministration of interleukins 7 and 15 with bacille Calmette-Guérin mounts enduring T cell memory response against *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis. 2010; 15:202:480-9. doi: 10.1086/653827

280. Acheampong I, Minadzi D, Adankwah E, Aniagyei W, Vivekanandan MM, Yeboah A, Arthur JF, Lamptey M, Abass MK, Kumbel F, Osei-Yeboah F, Gawusu A, Laing EF, Batsa Debrah L, Owusu DO, Debrah A, Mayatepek E, Seyfarth J, Phillips RO, Jacobsen M. Diminished Interleukin-7 receptor expression on T-cell subsets in tuberculosis patients. *Hum Immunol.* 2023; 84:543-550. doi: 10.1016/j.humimm.2023.08.141
281. Lundtoft C, Afum-Adjei Awuah A, Rimpler J, Harling K, Nausch N, Kohns M, Adankwah E, Lang F, Olbrich L, Mayatepek E, Owusu-Dabo E, Jacobsen M. Aberrant plasma IL-7 and soluble IL-7 receptor levels indicate impaired T-cell response to IL-7 in human tuberculosis. *PLoS Pathog.* 2017; 5:13:e1006425. doi: 10.1371/journal.ppat.1006425

14 ANEKSY

14.1 Dane dotyczące 712 pacjentów u których wykonano test QuantiFeron-TB Gold Plus

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/ml]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
1	1139	M	33	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
2	1938	K	12	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2019	
3	4730	M	53	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2020	
4	1178	M	13	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
5	3451	K	67	dorosły	dodatni	0,57	0,37	0,57	brak			2019	
6	1015	K	8	dziecko	dodatni	0	0,46	0,46	brak			2022	
7	5070	M	2	dziecko	ujemny	0,03	0	0,03	brak			2017	
8	4092	M	43	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
9	4810	K	66	dorosły	dodatni	1,71	0,95	1,71	brak			2017	
10	1760	K	36	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
11	3401	M	56	dorosły	ujemny	0,01	0,15	0,15	brak			2021	
12	924	K	60	dorosły	dodatni	0,47	2,88	2,88	brak			2017	
13	3919	K	64	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
14	5806	K	0,083	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
15	2668	K	42	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
16	1800	M	15	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2020	2021
17	5180	M	65	dorosły	dodatni	0,01	0,87	0,87	brak			2021	
18	2700	K	39	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
19	2111	M	46	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2019	
20	3923	K	61	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2020	
21	2700	K	44	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
22	6509	M	66	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
23	8045	K	6	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
24	5282	M	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
25	3519	K	59	dorosły	dodatni	3,02	4,65	4,65	brak			2017	
26	997	M	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
27	8910	M	81	dorosły	dodatni	0,36	0,39	0,39	brak			2017	
28	3203	M	50	dorosły	ujemny	0	0,03	0,03	brak			2019	
29	4099	K	2	dziecko	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2018	
30	4092	M	6	dziecko	ujemny	0,01	0,03	0,03	brak			2018	
31	4095	M	8	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2018	
32	636	M	0,166	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
33	637	K	1,583	dziecko	ujemny	0,28	0,26	0,28	brak			2020	
34	3767	K	12	dziecko	ujemny	0,05	0,03	0,05	brak			2019	
35	3747	M	8	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
36	2764	K	76	dorosły	ujemny	0,01	0,04	0,04	brak			2017	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
37	2568	M	27	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2018	
38	4493	K	14	dziecko	dodatni	8,28	6,55	8,28	brak			2018	
39	1815	K	40	dorosły	dodatni	5,68	7,58	7,58	brak			2018	
40	3799	M	26	dorosły	ujemny	0,11	0	0,11	brak			2017	
41	2426	M	57	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
42	6518	K	32	dorosły	ujemny	0,12	0,16	0,16	brak			2021	
43	4629	M	4	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
44	5768	M	5	dziecko	ujemny	0,04	0,01	0,04	brak			2020	
45	2704	K	53	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
46	2353	M	47	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
47	4212	K	62	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
48	4245	K	72	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2020	
49	5485	M	36	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2020	
50	8967	M	34	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
51	9135	K	55	dorosły	dodatni	1,9	2,17	2,17	brak			2021	
52	5198	K	8	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
53	1270	M	10	dziecko	ujemny	0,12	0,24	0,24	brak			2021	
54	3233	K	47	dorosły	ujemny	0	0,08	0,08	brak			2019	
55	7352	K	0,75	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
56	6645	M	9	dziecko	ujemny	0,03	0	0,03	brak			2017	
57	3179	M	31	dorosły	ujemny	0,02	0,01	0,02	zgłoszono TB	plucna	BK+	2020	2020
58	3918	K	20	dorosły	ujemny	0,01	0,04	0,04	brak			2019	
59	1893	M	26	dorosły	ujemny	0,01	0,02	0,02	brak			2021	
60	4237	M	18	dorosły	dodatni	2,03	1,96	2,03	brak			2018	
61	7463	M	49	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2017	
62	3626	M	46	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
63	4518	K	8	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
64	4517	M	13	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
65	6158	K	0,333	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
66	2528	M	50	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
67	105	M	0,75	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2020	
68	2672	M	10	dziecko	ujemny	0,07	0,07	0,07	brak			2020	
69	2682	K	20	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
70	218	K	65	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
71	4185	M	45	dorosły	ujemny	0,01	0,03	0,03	brak			2021	
72	184	M	29	dorosły	dodatni	2,13	1,79	2,13	brak			2020	
73	1837	K	29	dorosły	dodatni	1,42	1,23	1,42	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
74	3760	K	3	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
75	3229	M	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
76	1306	M	27	dorosły	ujemny	0	0,11	0,11	brak			2021	
77	958	M	47	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
78	9431	M	13	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
79	3648	K	64	dorosły	dodatni	1,32	0	1,32	brak			2020	
80	6811	M	45	dorosły	ujemny	0,21	0,26	0,26	brak			2019	
81	2273	M	48	dorosły	ujemny	0,02	0,03	0,03	brak			2021	
82	9018	K	0,5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
83	7939	M	45	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2019	
84	5759	M	50	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2020	
85	4064	M	15	dziecko	dodatni	0,54	0,06	0,54	brak			2017	
86	1896	M	48	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
87	19	K	31	dorosły	dodatni	2,02	1,99	2,02	brak			2019	
88	5565	K	44	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2018	
89	10050	K	2	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
90	1272	K	16	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
91	10048	M	12	dziecko	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2021	
92	5140	M	46	dorosły	dodatni	0,95	0,81	0,95	brak			2019	
93	1547	K	19	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2018	
94	1999	M	3	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
95	2000	K	2	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
96	4096	M	15	dziecko	dodatni	3,86	4,22	4,22	brak			2018	
97	4262	K	69	dorosły	ujemny	0,13	0,08	0,13	brak			2018	
98	5711	K	69	dorosły	ujemny	0,15	0,2	0,2	brak			2017	
99	8283	M	8	dziecko	dodatni	0	0,65	0,65	zgłoszono TB	płucna	BK+	2018	2019
100	4062	K	46	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2020	
101	3212	K	9	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
102	3618	K	16	dziecko	ujemny	0,01	0,19	0,19	brak			2020	
103	2520	K	11	dziecko	ujemny	0,06	0	0,06	brak			2020	
104	2637	M	43	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2019	
105	38	K	63	dorosły	dodatni	0,76	0,47	0,76	brak			2017	
106	109	M	58	dorosły	dodatni	0	1,03	1,03	brak			2017	
107	226	M	53	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
108	538	K	16	dziecko	dodatni	1,85	1,44	1,85	brak			2017	
109	632	M	10	dziecko	dodatni	2,62	3,47	3,47	brak			2017	
110	633	K	8	dziecko	dodatni	1,6	1,49	1,6	brak			2017	
111	805	M	8	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2017	
112	877	M	80	dorosły	dodatni	2,98	4,88	4,88	brak			2017	
113	939	K	31	dorosły	dodatni	3,06	0	3,06	brak			2017	
114	1110	M	44	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2017	
115	1210	K	13	dziecko	dodatni	0,52	0,33	0,52	zgłoszono TB	płucna	BK-	2017	2017
116	1324	K	45	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
117	1330	K	26	dorosły	dodatni	0,08	0,45	0,45	brak			2017	
118	1331	K	56	dorosły	ujemny	0,3	0,33	0,33	brak			2017	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
119	1355	K	43	dorosły	dodatni	0,58	0,17	0,58	brak			2017	
120	1401	M	3	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2017	
121	1449	K	56	dorosły	dodatni	6,86	10	10	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2017	2017
122	1581	M	33	dorosły	dodatni	2,95	3,13	3,13	brak			2017	
123	1715	M	63	dorosły	dodatni	1,23	0,99	1,23	brak			2017	
124	1748	M	46	dorosły	dodatni	4,74	2,97	4,74	brak			2017	
125	1923	K	86	dorosły	dodatni	1,15	0,46	1,15	brak			2017	
126	1930	K	61	dorosły	dodatni	1,66	1,34	1,66	brak			2017	
127	1966	K	54	dorosły	dodatni	10	8,55	10	brak			2017	
128	1992	M	46	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2017	
129	2144	M	61	dorosły	dodatni	0,46	0,64	0,64	brak			2017	
130	2162	K	67	dorosły	dodatni	8,75	10	10	brak			2017	
131	2249	M	45	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2017	
132	2267	K	5	dziecko	dodatni	2,73	5,15	5,15	brak			2017	
133	2412	K	47	dorosły	dodatni	1,15	0,61	1,15	brak			2017	
134	2455	M	60	dorosły	dodatni	0,67	0,85	0,85	brak			2017	
135	2470	K	17	dziecko	dodatni	2	3,51	3,51	brak			2017	
136	2614	M	36	dorosły	ujemny	0,05	0	0,05	brak			2017	
137	2813	K	52	dorosły	dodatni	3,2	3,21	3,21	brak			2017	
138	2835	K	41	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2017	
139	2856	K	54	dorosły	dodatni	0,06	6,1	6,1	brak			2017	
140	2875	K	53	dorosły	dodatni	0,21	0,39	0,39	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
141	2877	M	29	dorosły	dodatni	1,88	1,35	1,88	brak			2017	
142	2958	K	65	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2017	
143	2973	M	51	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
144	3071	K	68	dorosły	ujemny	0,21	0,18	0,21	brak			2017	
145	3122	K	59	dorosły	dodatni	2,18	1,42	2,18	brak			2017	
146	3157	M	44	dorosły	dodatni	0,39	0,08	0,39	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2017	2017
147	3475	M	28	dorosły	dodatni	0,66	0,22	0,66	brak			2017	
148	3490	K	34	dorosły	ujemny	0,19	0,2	0,2	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
149	3942	K	74	dorosły	dodatni	0,16	0,54	0,54	brak			2017	
150	3945	M	61	dorosły	ujemny	0,19	0,27	0,27	brak			2017	
151	3952	M	4	dziecko	dodatni	0,95	1,86	1,86	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
152	3998	K	28	dorosły	dodatni	0,56	0	0,56	brak			2017	
153	4018	K	64	dorosły	dodatni	2,79	3,37	3,37	brak			2017	
154	4069	K	40	dorosły	ujemny	0,01	0,02	0,02	brak			2017	
155	4147	K	0,5	dziecko	dodatni	2,32	3,72	3,72	brak			2017	
156	4148	M	4	dziecko	dodatni	2,43	2,13	2,43	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
157	4366	K	58	dorosły	dodatni	2,96	2,48	2,96	brak			2017	
158	4390	M	53	dorosły	dodatni	0,41	0,38	0,41	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2019
159	4408	M	53	dorosły	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2017	2017

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
160	4486	K	68	dorosły	dodatni	2,44	1,89	2,44	brak			2017	
161	4513	K	58	dorosły	ujemny	0,33	0,26	0,33	brak			2017	
162	4662	M	34	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2017	
163	4772	M	58	dorosły	dodatni	0,34	0,39	0,39	brak			2017	
164	4807	K	60	dorosły	dodatni	1,37	0,03	1,37	brak			2017	
165	4809	K	69	dorosły	dodatni	0,08	1,86	1,86	brak			2017	
166	4811	M	30	dorosły	ujemny	0,21	0,18	0,21	brak			2017	
167	4912	K	21	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
168	4918	K	52	dorosły	ujemny	0	0	0	zgłoszono TB	bd	BK+	2017	2018
169	4996	M	42	dorosły	ujemny	0,01	0,09	0,09	brak			2017	
170	5049	M	37	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
171	5068	K	7	dziecko	dodatni	0,21	0,56	0,56	brak			2017	
172	5072	M	0,833	dziecko	ujemny	0,19	0,24	0,24	brak			2017	
173	5105	M	62	dorosły	dodatni	0,87	1,19	1,19	brak			2017	
174	5251	K	56	dorosły	ujemny	0,22	0,24	0,24	brak			2017	
175	5304	M	58	dorosły	dodatni	0,47	0,53	0,53	brak			2017	
176	5403	K	63	dorosły	ujemny	0,02	0,02	0,02	brak			2017	
177	5416	M	56	dorosły	dodatni	1,39	1,23	1,39	brak			2017	
178	5417	K	70	dorosły	dodatni	9,46	10	10	brak			2017	
179	5443	M	1,166	dziecko	dodatni	1,23	1,04	1,23	brak			2017	
180	5444	M	3	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2017	
181	5445	K	5	dziecko	dodatni	5,34	4,07	5,34	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
182	5519	M	41	dorosły	dodatni	0,06	0,52	0,52	brak			2017	
183	5650	M	50	dorosły	ujemny	0,07	0,25	0,25	brak			2017	
184	5705	M	69	dorosły	dodatni	8,37	7,95	8,37	brak			2017	
185	5708	K	61	dorosły	dodatni	0,19	0,47	0,47	brak			2017	
186	5789	M	67	dorosły	dodatni	1,14	1,45	1,45	brak			2017	
187	5816	M	0,1666	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2017	
188	5817	K	3	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2017	
189	6081	K	60	dorosły	ujemny	0,31	0,19	0,31	brak			2017	
190	6151	K	0,666	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2017	
191	6190	M	69	dorosły	dodatni	1,16	1,02	1,16	brak			2017	
192	6545	M	41	dorosły	dodatni	2,02	1,8	2,02	zgłoszono TB	plucna	BK+	2017	2017
193	6634	M	49	dorosły	dodatni	3,52	3,68	3,68	brak			2017	
194	6792	M	54	dorosły	dodatni	3,96	5,51	5,51	brak			2017	
195	6837	K	5	dziecko	dodatni	0,57	0,5	0,57	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
196	6838	K	0,25	dziecko	dodatni	5,04	3,37	5,04	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2017
197	7138	K	56	dorosły	dodatni	2,09	4,09	4,09	brak			2017	
198	7377	K	5	dziecko	dodatni	0,68	0,59	0,68	zgłoszono TB	plucna	BK-	2017	2018
199	7761	K	29	dorosły	dodatni	0,4	0,62	0,62	brak			2017	
200	7767	K	1,083	dziecko	dodatni	3,47	10	10	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2017	2017

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
201	8073	K	59	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2017	
202	8380	M	33	dorosły	dodatni	3,51	4,39	4,39	brak			2017	
203	8626	M	49	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2017	
204	8758	M	52	dorosły	dodatni	0,62	0,2	0,62	brak			2017	
205	8759	K	55	dorosły	dodatni	0,85	0,82	0,85	zgłoszono TB	plucna	BK+	2017	2018
206	8868	K	3	dziecko	dodatni	1,11	1,23	1,23	brak			2017	
207	8917	K	23	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2017	
208	9176	K	42	dorosły	dodatni	0,58	0,59	0,59	zgłoszono TB	plucna	BK+	2017	2017
209	9218	M	57	dorosły	dodatni	0,34	0,39	0,39	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2017	2018
210	9295	M	22	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
211	9298	M	52	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2017	
212	35	M	30	dorosły	dodatni	0,98	0,66	0,98	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
213	105	M	58	dorosły	dodatni	4,17	3,85	4,17	brak			2018	
214	173	M	53	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
215	191	M	67	dorosły	dodatni	0,8	0,59	0,8	brak			2018	
216	199	M	16	dziecko	dodatni	0,04	0,64	0,64	brak			2018	
217	398	M	43	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
218	435	K	56	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2018	
219	672	M	21	dorosły	dodatni	4,98	6,9	6,9	brak			2018	
220	674	M	72	dorosły	ujemny	0,03	0,04	0,04	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2020
221	689	K	66	dorosły	dodatni	0,44	0,19	0,44	brak			2018	
222	788	K	55	dorosły	dodatni	1,74	2,82	2,82	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
223	888	M	68	dorosły	ujemny	0,21	0,27	0,27	brak			2018	
224	912	K	85	dorosły	ujemny	0,21	0,29	0,29	brak			2018	
225	1039	M	38	dorosły	dodatni	0,44	0,98	0,98	brak			2018	
226	1075	K	74	dorosły	dodatni	3,1	3,11	3,11	brak			2018	
227	1104	M	84	dorosły	dodatni	3,68	4,82	4,82	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
228	1138	M	77	dorosły	ujemny	0,34	0,27	0,34	brak			2018	
229	1229	K	2	dziecko	dodatni	3,29	4,28	4,28	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
230	1277	M	64	dorosły	dodatni	0,88	0,88	0,88	brak			2018	
231	1833	K	51	dorosły	ujemny	0,02	0,04	0,04	brak			2018	
232	1906	M	82	dorosły	dodatni	1,55	1,46	1,55	brak			2018	
233	1991	M	44	dorosły	dodatni	1,33	1,15	1,33	brak			2018	
234	2034	K	39	dorosły	dodatni	3,79	3,66	3,79	brak			2018	
235	2293	M	62	dorosły	ujemny	0,26	0,18	0,26	brak			2018	
236	2295	M	41	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
237	2373	K	2	dziecko	dodatni	0,55	0,75	0,75	brak			2018	
238	2374	K	7	dziecko	dodatni	2,59	3,03	3,03	brak			2018	
239	2404	K	49	dorosły	dodatni	5,31	6,1	6,1	brak			2018	
240	2684	K	73	dorosły	dodatni	0,5	0,76	0,76	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
241	2726	M	61	dorosły	ujemny	0,24	0,2	0,24	brak			2018	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
242	2904	K	48	dorosły	dodatni	1,32	1,93	1,93	brak			2018	
243	2940	M	68	dorosły	ujemny	0,31	0,18	0,31	brak			2018	
244	3012	M	44	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
245	3030	K	74	dorosły	dodatni	0,9	0,94	0,94	brak			2018	
246	3212	K	2	dziecko	ujemny	0,3	0,15	0,3	brak			2018	
247	3387	K	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
248	3401	K	55	dorosły	dodatni	0,36	0,38	0,38	brak			2018	
249	3551	M	63	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2018	
250	3557	M	46	dorosły	dodatni	0,21	0,38	0,38	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
251	3626	K	65	dorosły	dodatni	0,48	0,52	0,52	brak			2018	
252	3742	K	74	dorosły	dodatni	0,56	0,34	0,56	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
253	3770	M	9	dziecko	dodatni	1,99	2,59	2,59	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
254	3810	K	55	dorosły	dodatni	6,6	6,78	6,78	brak			2018	
255	3811	M	39	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2018	
256	4098	M	11	dziecko	dodatni	0,63	0,87	0,87	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
257	4107	M	26	dorosły	ujemny	0,03	0,07	0,07	brak			2018	
258	4128	K	53	dorosły	dodatni	2,28	2,51	2,51	brak			2018	
259	4309	K	56	dorosły	dodatni	7,09	6,76	7,09	brak			2018	
260	4462	K	81	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2018	
261	4526	M	1,25	dziecko	dodatni	6,96	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
262	4529	K	2	dziecko	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
263	4549	K	61	dorosły	dodatni	0,46	0,36	0,46	brak			2018	
264	4588	K	27	dorosły	dodatni	1,82	2,2	2,2	brak			2018	
265	4705	M	51	dorosły	dodatni	8,02	6,3	8,02	brak			2018	
266	4767	K	70	dorosły	dodatni	0,82	0,63	0,82	brak			2018	
267	4899	K	54	dorosły	dodatni	1,07	0,85	1,07	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
268	4955	M	2	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2018	
269	4976	M	69	dorosły	ujemny	0,26	0,24	0,26	brak			2018	
270	4990	K	53	dorosły	dodatni	1,44	1,32	1,44	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
271	5029	M	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
272	5180	M	6	dziecko	dodatni	4,32	1,58	4,32	zgłoszono TB	pozapłucna	BK+	2018	2018
273	5181	M	10	dziecko	dodatni	1,54	3,04	3,04	brak			2018	
274	5221	K	65	dorosły	dodatni	0,32	0,62	0,62	brak			2018	
275	5273	K	86	dorosły	dodatni	2,01	1,46	2,01	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
276	5388	M	39	dorosły	dodatni	0,94	0,92	0,94	brak			2018	
277	5600	M	3	dziecko	dodatni	2,31	1,83	2,31	brak			2018	
278	5602	K	33	dorosły	ujemny	0,07	0,01	0,07	brak			2018	
279	5693	M	17	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
280	5725	M	14	dziecko	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2018	
281	5756	M	15	dziecko	ujemny	0,05	0	0,05	brak			2018	
282	5763	K	2	dziecko	ujemny	0	0,07	0,07	brak			2018	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
283	5764	M	87	dorosły	dodatni	0,98	1,03	1,03	brak			2018	
284	5812	K	4	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
285	5817	K	42	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
286	5825	M	34	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2018	
287	5969	M	18	dorosły	dodatni	1,46	2,18	2,18	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
288	5970	M	1,5	dziecko	dodatni	6,15	5,04	6,15	brak			2018	
289	5971	K	4	dziecko	dodatni	2,94	2,96	2,96	brak			2018	
290	5979	M	66	dorosły	ujemny	0,03	0,01	0,03	brak			2018	
291	6183	K	59	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
292	6248	K	14	dziecko	dodatni	0,93	1,08	1,08	zgłoszono TB	pozapłucna	BK+	2018	2018
293	6370	K	57	dorosły	dodatni	2,76	3,84	3,84	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
294	6426	K	4	dziecko	dodatni	8,59	9,42	9,42	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
295	6562	K	61	dorosły	dodatni	2,71	1,91	2,71	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
296	6604	K	72	dorosły	ujemny	0,03	0	0,03	brak			2018	
297	6628	M	77	dorosły	dodatni	0,37	0,27	0,37	brak			2018	
298	6636	K	65	dorosły	dodatni	2,04	1,39	2,04	brak			2018	
299	6638	M	72	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
300	6793	M	3	dziecko	ujemny	0,04	0,03	0,04	brak			2018	
301	6974	K	42	dorosły	dodatni	0,41	0,28	0,41	brak			2018	
302	7111	K	1,416	dziecko	dodatni	0,3	0,53	0,53	brak			2018	
303	7384	K	30	dorosły	dodatni	0,5	0,58	0,58	brak			2018	
304	7463	K	2	dziecko	dodatni	2,4	2,9	2,9	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
305	7487	K	69	dorosły	dodatni	0,41	0,42	0,42	brak			2018	
306	7494	M	53	dorosły	ujemny	0,12	0,03	0,12	brak			2018	
307	7496	K	15	dziecko	dodatni	1,27	0,74	1,27	brak			2018	
308	7497	K	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
309	7758	K	73	dorosły	dodatni	0,49	0,29	0,49	brak			2018	
310	7759	K	63	dorosły	ujemny	0,06	0,09	0,09	brak			2018	
311	7775	M	36	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2018	
312	7979	K	36	dorosły	ujemny	0,15	0,07	0,15	brak			2018	
313	7984	M	51	dorosły	ujemny	0,28	0,3	0,3	brak			2018	
314	8044	K	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2018	
315	8058	M	85	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
316	8120	K	63	dorosły	dodatni	2,45	2,44	2,45	brak			2018	
317	8135	M	77	dorosły	dodatni	0,52	0,31	0,52	brak			2018	
318	8150	M	12	dziecko	dodatni	0,92	0,39	0,92	brak			2018	
319	8151	M	13	dziecko	dodatni	5,94	4,09	5,94	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
320	8154	K	8	dziecko	ujemny	0,22	0,19	0,22	zgłoszono TB	plucna	BK-	2018	2018
321	8300	M	42	dorosły	dodatni	0,77	0,33	0,77	brak			2018	
322	8402	M	69	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
323	8444	M	42	dorosły	dodatni	2,47	3,58	3,58	brak			2018	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
324	8701	K	33	dorosły	dodatni	4,08	4,75	4,75	brak			2018	
325	8748	K	42	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2018	
326	8775	M	42	dorosły	dodatni	6,22	4,99	6,22	brak			2018	
327	8938	K	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
328	9189	M	64	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2018	
329	9223	K	2	dziecko	dodatni	2,28	6,31	6,31	brak			2018	
330	9248	M	0,333	dziecko	dodatni	6,54	9,34	9,34	zgłoszono TB	plucna	BK+	2018	2018
331	18	K	61	dorosły	ujemny	0,12	0,16	0,16	brak			2019	
332	189	M	12	dziecko	dodatni	2,43	2,42	2,43	brak			2019	
333	192	K	11	dziecko	dodatni	3,79	2,74	3,79	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
334	193	K	16	dziecko	dodatni	6,23	5,58	6,23	brak			2019	
335	210	K	12	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2011	
336	225	M	52	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
337	312	K	71	dorosły	dodatni	0,66	0,49	0,66	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
338	355	M	5	dziecko	dodatni	0,85	0,92	0,92	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
339	356	M	8	dziecko	dodatni	2,57	5,22	5,22	brak			2019	
340	381	M	48	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
341	409	K	33	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
342	419	M	16	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
343	434	K	50	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
344	619	K	72	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
345	700	M	75	dorosły	ujemny	0,03	0,04	0,04	brak			2019	
346	1008	K	25	dorosły	dodatni	0,82	0,94	0,94	brak			2019	
347	1150	K	19	dorosły	dodatni	1,49	1,61	1,61	brak			2019	
348	1396	K	17	dziecko	dodatni	3,8	3,03	3,8	zgłoszono TB	plucna	BK+	2019	2019
349	1397	M	1	dziecko	dodatni	1,44	1,11	1,44	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2019	2019
350	1621	K	69	dorosły	dodatni	0,78	0,78	0,78	brak			2019	
351	1629	K	16	dziecko	dodatni	6,75	7,5	7,5	brak			2019	
352	1630	M	8	dziecko	dodatni	3,38	2,66	3,38	brak			2019	
353	1631	M	7	dziecko	dodatni	2,48	1,89	2,48	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2019	2019
354	1678	K	67	dorosły	dodatni	1,03	1,08	1,08	brak			2019	
355	1823	M	35	dorosły	ujemny	0,02	0,02	0,02	brak			2019	
356	1848	M	61	dorosły	ujemny	0,02	0,02	0,02	zgłoszono TB	plucna	BK+	2019	2019
357	2005	K	66	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
358	2066	K	56	dorosły	dodatni	0,21	0,54	0,54	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
359	2153	M	43	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
360	2233	M	65	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2019	
361	2621	K	9	dziecko	dodatni	0,63	0,66	0,66	brak			2019	
362	2638	K	75	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
363	2649	M	51	dorosły	dodatni	1,8	2,18	2,18	brak			2019	
364	2650	M	41	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
365	2689	K	54	dorosły	dodatni	0,55	0,91	0,91	brak			2019	
366	2691	M	38	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
367	2979	M	33	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
368	3029	K	74	dorosły	dodatni	5,87	3,14	5,87	brak			2019	
369	3044	K	55	dorosły	dodatni	0,99	1,49	1,49	brak			2019	
370	3171	K	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
371	3172	M	21	dorosły	dodatni	1,09	1,06	1,09	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
372	3221	K	74	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2019	
373	3373	M	3	dziecko	dodatni	2,08	1,27	2,08	brak			2019	
374	3457	K	65	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
375	3614	K	69	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2019	
376	3615	M	58	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
377	3640	M	21	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
378	3654	M	63	dorosły	ujemny	0	0,04	0,04	brak			2019	
379	3769	K	bd	dziecko	dodatni	0,28	0,43	0,43	zgłoszono TB	plucna	BK+	2019	2019
380	3917	M	55	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
381	3923	M	59	dorosły	ujemny	0,03	0,03	0,03	brak			2019	
382	3937	M	22	dorosły	dodatni	0,23	0,38	0,38	brak			2019	
383	3954	M	44	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2019	
384	3959	K	65	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
385	4065	M	37	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
386	4092	K	69	dorosły	ujemny	0,25	0,15	0,25	brak			2019	
387	4140	K	1,75	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
388	4141	M	12	dziecko	ujemny	0,22	0,3	0,3	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2019	2019
389	4171	K	61	dorosły	ujemny	0,04	0,01	0,04	brak			2019	
390	4256	K	46	dorosły	ujemny	0	0,05	0,05	brak			2019	
391	4258	K	58	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2019	
392	4290		bd	dorosły	dodatni	1,33	1,25	1,33	brak			2019	
393	4314	M	1,25	dziecko	dodatni	3,26	4,47	4,47	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
394	4316	K	2	dziecko	dodatni	0,55	0,29	0,55	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
395	4317	M	3	dziecko	dodatni	2,26	2,48	2,48	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
396	4318	K	0,666	dziecko	dodatni	8,29	7,67	8,29	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
397	4426	K	60	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2019	
398	4661	M	74	dorosły	dodatni	3,15	2,18	3,15	brak			2019	
399	4691	K	27	dorosły	ujemny	0	0	0	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
400	4784	M	40	dorosły	dodatni	6,32	4,89	6,32	brak			2019	
401	4870	K	75	dorosły	dodatni	0,79	0,68	0,79	brak			2019	
402	4928	M	32	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
403	5003	K	12	dziecko	ujemny	0,25	0,15	0,25	brak			2019	
404	5004	M	6	dziecko	dodatni	0,97	0,7	0,97	brak			2019	
405	5079	K	71	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2019	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
406	5167	M	70	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
407	5201	M	8	dziecko	dodatni	1,12	1,08	1,12	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
408	5221	K	84	dorosły	dodatni	0,64	0,9	0,9	brak			2019	
409	5240	M	37	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
410	4211	K	34	dorosły	dodatni	0,04	0,42	0,42	brak			2019	
411	5355	M	11	dziecko	dodatni	4,01	4,14	4,14	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2019	2019
412	5357	M	12	dziecko	dodatni	2,24	0,82	2,24	brak			2019	
413	5358	K	9	dziecko	dodatni	0,44	0,66	0,66	zgłoszono TB	plucna	BK-	2019	2019
414	5359	M	8	dziecko	dodatni	0,86	0,6	0,86	brak			2019	
415	5386	K	39	dorosły	ujemny	0,01	0,04	0,04	brak			2019	
416	5548	M	35	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
417	5549	K	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
418	5680	K	5	dziecko	dodatni	2,3	1,93	2,3	brak			2019	
419	5764	M	19	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
420	5774	M	46	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
421	5804	K	10	dziecko	dodatni	4,81	7,44	7,44	brak			2019	
422	5965	K	16	dziecko	dodatni	3,3	2,66	3,3	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2019	2019
423	5993	K	73	dorosły	dodatni	3,33	3,69	3,69	brak			2019	
424	6072	M	39	dorosły	ujemny	0,1	0,1	0,1	brak			2019	
425	6248	K	54	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2019	
426	6302	M	41	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
427	6353	K	8	dziecko	ujemny	0,04	0,02	0,04	brak			2019	
428	6357	K	2	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2019	
429	6638	K	70	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
430	6661	K	8	dziecko	dodatni	1	0,11	1	brak			2019	
431	6665	M	2	dziecko	dodatni	2,02	2,16	2,16	brak			2019	
432	6700	M	32	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
433	6744	K	64	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2019	
434	6839	M	12	dziecko	dodatni	1,44	1,32	1,44	brak			2019	
435	6974	M	62	dorosły	ujemny	0,09	0,12	0,12	brak			2019	
436	7147	K	48	dorosły	ujemny	0	0,03	0,03	brak			2019	
437	7166	K	44	dorosły	ujemny	0,04	0,04	0,04	brak			2019	
438	7182	M	54	dorosły	dodatni	0,75	1,96	1,96	brak			2019	
439	7572	M	40	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2019	
440	7612	M	68	dorosły	dodatni	0,54	0,18	0,54	brak			2019	
441	7639	M	25	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
442	7864	M	4	dziecko	dodatni	9,77	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK+	2019	2019
443	7871	M	67	dorosły	ujemny	0,08	0	0,08	brak			2019	
444	7959	M	24	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
445	8031	M	47	dorosły	dodatni	1,96	0,72	1,96	brak			2019	
446	8050	K	5	dziecko	dodatni	4,1	6,67	6,67	brak			2019	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
447	8173	M	45	dorosły	dodatni	0,36	0,55	0,55	brak			2019	
448	8386	K	47	dorosły	dodatni	3,4	3,41	3,41	brak			2019	
449	8413	K	8	dziecko	dodatni	1,86	2,71	2,71	brak			2019	
450	8422	M	26	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2019	
451	8593	K	7	dziecko	dodatni	2,09	2,69	2,69	brak			2019	
452	8903	K	64	dorosły	dodatni	1,94	1,49	1,94	brak			2019	
453	272	K	13	dziecko	dodatni	0,75	0,89	0,89	brak			2020	
454	616	K	54	dorosły	ujemny	0,04	0,02	0,04	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2020	2020
455	666	M	38	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2020	
456	740	M	23	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
457	807	K	86	dorosły	dodatni	3,56	1,15	3,56	brak			2020	
458	820	K	49	dorosły	dodatni	0,73	0,86	0,86	brak			2020	
459	935	M	57	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
460	996	K	2	dziecko	dodatni	3,82	4,71	4,71	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
461	1139	K	79	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2020	
462	1162	K	65	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
463	1174	K	70	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2020	
464	1318	M	32	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2020	
465	1364	M	25	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
466	1390	M	74	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
467	1467	K	73	dorosły	ujemny	0	0,1	0,1	brak			2020	
468	1522	K	66	dorosły	dodatni	4,96	3,51	4,96	brak			2020	
469	1531	M	9	dziecko	dodatni	0,53	0,61	0,61	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
470	1553	K	34	dorosły	dodatni	0,37	0,35	0,37	brak			2020	
471	1617	K	67	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
472	1649	M	21	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
473	1727	K	59	dorosły	dodatni	0,74	0,15	0,74	brak			2020	
474	1751	K	32	dorosły	dodatni	0,56	0,71	0,71	brak			2020	
475	2280	K	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
476	2286	M	1,5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
477	2351	M	62	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
478	2381	M	32	dorosły	dodatni	1,86	3,21	3,21	zgłoszono TB	plucna	BK+	2020	2020
479	2515	K	24	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2020	
480	2519	K	6	dziecko	dodatni	3,35	5,74	5,74	brak			2020	
481	2535	M	87	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2020	
482	2544	K	51	dorosły	ujemny	0,12	0,12	0,12	brak			2020	
483	2592	K	5	dziecko	dodatni	1,47	1,71	1,71	brak			2020	
484	2602	M	28	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
485	2649	M	25	dorosły	ujemny	0,06	0,02	0,06	brak			2020	
486	2673	M	0,333	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
487	2741	M	66	dorosły	dodatni	1,07	0,83	1,07	brak			2020	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
488	2746	K	38	dorosły	dodatni	0,45	0,26	0,45	zgłoszono TB	plucna	BK+	2020	2020
489	2829	K	27	dorosły	ujemny	0,04	0,04	0,04	zgłoszono TB	plucna	BK+	2020	2022
490	2845	M	17	dziecko	ujemny	0	0,11	0,11	brak			2020	
491	2857	K	34	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
492	2970	K	57	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2020	
493	3086	K	2	dziecko	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
494	3087	K	10	dziecko	dodatni	1,13	0,83	1,13	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
495	3088	M	10	dziecko	dodatni	4,62	0,7	4,62	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
496	3089	M	4	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2020	
497	3262	K	66	dorosły	dodatni	3,92	3,92	3,92	brak			2020	
498	3475	M	30	dorosły	dodatni	6,34	6,34	6,34	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2020	2020
499	3645	K	51	dorosły	dodatni	0	1,53	1,53	brak			2020	
500	3657	M	33	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2020	
501	3759	M	7	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2020	
502	3784	M	58	dorosły	dodatni	0,5	0,79	0,79	brak			2020	
503	3802	M	19	dorosły	dodatni	2,47	2,51	2,51	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
504	3844	M	40	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
505	3858	K	13	dziecko	dodatni	1,45	0,9	1,45	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
506	3859	M	17	dziecko	dodatni	0,69	1,79	1,79	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
507	3860	M	10	dziecko	dodatni	0,39	0,64	0,64	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
508	3992	K	2	dziecko	dodatni	2,8	2,67	2,8	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
509	3996	M	48	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
510	4206	M	73	dorosły	dodatni	0	0,68	0,68	brak			2020	
511	4278	K	16	dziecko	dodatni	0,48	0,61	0,61	brak			2020	
512	4306	K	44	dorosły	dodatni	6,8	8,1	8,1	brak			2020	
513	4373	K	76	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
514	4410	M	4	dziecko	ujemny	0,01	0,02	0,02	brak			2020	
515	4525	M	32	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
516	4841	M	9	dziecko	ujemny	0,06	0,1	0,1	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
517	4842	M	8	dziecko	dodatni	3,38	3,15	3,38	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
518	4879	K	35	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
519	4928	M	44	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2020	
520	4945	M	25	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2020	
521	5003	M	3	dziecko	dodatni	3,67	3,18	3,67	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
522	5016	K	13	dziecko	ujemny	0,02	0,01	0,02	brak			2020	
523	5117	M	50	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2020	
524	5141	K	45	dorosły	ujemny	0,02	0,01	0,02	brak			2020	
525	5169	M	16	dziecko	dodatni	2,03	3,27	3,27	brak			2020	
526	5178	M	70	dorosły	ujemny	0,15	0,15	0,15	brak			2020	
527	5240	M	39	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2020	
528	5253	M	61	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2020	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
529	5292	K	10	dziecko	ujemny	0,01	0,01	0,01	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2021
530	5369	M	33	dorosły	dodatni	4,14	3,77	4,14	brak			2020	
531	5434	K	52	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
532	5589	M	5	dziecko	dodatni	0,64	1,62	1,62	brak			2020	
533	5622	M	72	dorosły	dodatni	1,27	2,2	2,2	brak			2020	
534	5624	M	29	dorosły	dodatni	0,12	2,6	2,6	zgłoszono TB	pozapłucna	BK+	2020	2021
535	5760	M	62	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2020	
536	5766	K	4	dziecko	dodatni	2,25	3,47	3,47	zgłoszono TB	plucna	BK+	2020	2020
537	5767	M	13	dziecko	dodatni	7,89	7,94	7,94	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
538	5769	K	1,75	dziecko	dodatni	2,05	1,83	2,05	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2020	2021
539	5770	M	14	dziecko	dodatni	2,1	2,17	2,17	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
540	5773	M	14	dziecko	ujemny	0,21	0,21	0,21	brak			2020	
541	5864	M	15	dziecko	dodatni	1,62	2,39	2,39	zgłoszono TB	plucna	BK-	2020	2020
542	6041	K	68	dorosły	dodatni	4,52	5,26	5,26	brak			2020	
543	6069	M	49	dorosły	dodatni	0,42	0,5	0,5	brak			2020	
544	216	M	75	dorosły	dodatni	0,6	1,64	1,64	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
545	425	K	10	dziecko	dodatni	9,42	7,96	9,42	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
546	430	K	11	dziecko	dodatni	9,28	9,16	9,28	brak			2021	
547	456	M	74	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
548	462	M	12	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
549	628	M	68	dorosły	dodatni	0,11	0,46	0,46	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
550	674	M	13	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
551	910	M	41	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
552	1050	M	3	dziecko	dodatni	7,44	7,46	7,46	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
553	1051	M	6	dziecko	dodatni	1,22	0,62	1,22	brak			2021	
554	1053	K	11	dziecko	dodatni	2,06	1,79	2,06	brak			2021	
555	1066	K	74	dorosły	ujemny	0,24	0,27	0,27	brak			2021	
556	1136	K	69	dorosły	ujemny	0,01	0,03	0,03	brak			2021	
557	1191	M	48	dorosły	ujemny	0	0,06	0,06	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
558	1205	M	72	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
559	1257	M	0,333	dziecko	dodatni	7,18	8,43	8,43	brak			2021	
560	1258	K	3	dziecko	ujemny	0,22	0,34	0,34	brak			2021	
561	1274	K	68	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
562	1338	M	59	dorosły	ujemny	0,05	0,04	0,05	brak			2021	
563	1428	M	59	dorosły	ujemny	0,03	0,04	0,04	brak			2021	
564	1444	M	59	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
565	1453	M	15	dziecko	dodatni	3,54	3,26	3,54	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
566	1455	M	3	dziecko	dodatni	3,03	3,78	3,78	brak			2021	
567	1645	K	14	dziecko	ujemny	0,1	0,01	0,1	brak			2021	
568	1658	K	6	dziecko	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
569	1659	M	14	dziecko	dodatni	1,78	0,85	1,78	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
570	1660	M	7	dziecko	dodatni	0,66	0,61	0,66	brak			2021	
571	1662	M	2	dziecko	dodatni	4,21	4,21	4,21	brak			2021	
572	1784	M	20	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
573	1820	M	66	dorosły	ujemny	0,04	0,02	0,04	brak			2021	
574	1847	K	1,666	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
575	1907	K	47	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
576	1951	M	52	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
577	1971	K	60	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
578	1991	M	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
579	2104	M	73	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
580	2262	M	11	dziecko	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
581	2309	K	4	dziecko	dodatni	1,83	1,42	1,83	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2022
582	2313	K	41	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
583	2425	M	56	dorosły	ujemny	0,24	0,26	0,26	brak			2021	
584	2459	M	36	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
585	2551	M	33	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
586	2614	M	3	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
587	2796	K	73	dorosły	dodatni	0,42	0,44	0,44	brak			2021	
588	2844	K	60	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
589	2901	K	36	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
590	3024	K	10	dziecko	dodatni	10	10	10	brak			2021	
591	3044	M	37	dorosły	dodatni	1,02	2,74	2,74	brak			2021	
592	3045	M	30	dorosły	dodatni	0	2,6	2,6	brak			2021	
593	3079	M	55	dorosły	dodatni	0,04	2,78	2,78	brak			2021	
594	3275	K	77	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
595	3276	M	28	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
596	3304	K	48	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2021	
597	3325	K	12	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
598	3679	M	15	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
599	3720	M	44	dorosły	dodatni	0,02	1,06	1,06	brak			2021	
600	3820	K	15	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
601	3915	K	32	dorosły	dodatni	3,14	2,44	3,14	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
602	3960	M	72	dorosły	dodatni	1,86	2,4	2,4	brak			2021	
603	3976	M	51	dorosły	dodatni	0	2,75	2,75	brak			2021	
604	4030	M	54	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
605	4098	M	69	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2021	
606	4242	M	46	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
607	4250	K	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
608	4258	M	44	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
609	4326	K	16	dziecko	dodatni	3,81	4,88	4,88	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
610	4337	M	42	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
611	4374	K	40	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
612	4376	M	1	dziecko	ujemny	0,02	0,01	0,02	brak			2021	
613	4519	M	17	dziecko	dodatni	0,74	0,63	0,74	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
614	4520	K	14	dziecko	dodatni	6,22	6,22	6,22	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
615	4537	M	44	dorosły	dodatni	0,51	0,25	0,51	brak			2021	
616	4614	M	70	dorosły	ujemny	0,09	0,09	0,09	brak			2021	
617	4673	M	9	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
618	4729	M	7	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
619	4756	K	11	dziecko	dodatni	1,06	1,78	1,78	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
620	4759	K	13	dziecko	dodatni	8,96	8,85	8,96	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
621	4856	M	60	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
622	5007	M	17	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
623	5040	M	68	dorosły	ujemny	0,13	0,11	0,13	brak			2021	
624	5194	K	1,5	dziecko	dodatni	10	9,3	10	brak			2021	
625	5406	M	38	dorosły	dodatni	5,14	10	10	brak			2021	
626	5746	M	52	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
627	5770	M	42	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2021	
628	5967	M	27	dorosły	dodatni	8,28	7,52	8,28	zgłoszono TB	pozapłucna	BK+	2021	2021
629	6142	M	63	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
630	6313	M	5	dziecko	dodatni	0,94	1,07	1,07	brak			2021	
631	6339	M	44	dorosły	ujemny	0,02	0,01	0,02	brak			2021	
632	6654	M	36	dorosły	dodatni	1,31	1,29	1,31	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
633	6667	K	49	dorosły	ujemny	0,01	0,01	0,01	brak			2021	
634	6711	M	59	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
635	6712	M	46	dorosły	ujemny	0	0,07	0,07	brak			2021	
636	6818	K	1	dziecko	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
637	7739	M	17	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
638	7760	K	72	dorosły	dodatni	1,66	0,53	1,66	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2022
639	7785	K	3	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
640	7931	M	42	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
641	8278	K	16	dziecko	dodatni	2,72	2,62	2,72	brak			2021	
642	8458	K	74	dorosły	dodatni	0,85	0,76	0,85	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
643	8496	M	40	dorosły	ujemny	0,02	0	0,02	brak			2021	
644	8497	M	51	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
645	5117	M	51	dorosły	dodatni	8,24	9,72	9,72	brak			2021	
646	8586	K	33	dorosły	dodatni	1,14	0,91	1,14	brak			2021	
647	8649	M	28	dorosły	ujemny	0,03	0,07	0,07	brak			2021	
648	8686	K	14	dziecko	ujemny	0,01	0,02	0,02	brak			2021	
649	8884	M	17	dziecko	dodatni	10	10	10	zgłoszono TB	plucna	BK-	2021	2021
650	8902	M	62	dorosły	ujemny	0,01	0,21	0,21	brak			2021	
651	8982	K	72	dorosły	ujemny	0,02	0,07	0,07	brak			2021	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/mL]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
652	9004	K	7	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
653	9005	K	14	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
654	9006	K	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
655	9191	M	31	dorosły	ujemny	0,14	0	0,14	brak			2021	
656	9207	K	13	dziecko	ujemny	0,11	0,12	0,12	brak			2021	
657	9373	M	57	dorosły	ujemny	0,08	0,02	0,08	brak			2021	
658	9406	K	17	dziecko	dodatni	0,17	0,48	0,48	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
659	9434	M	34	dorosły	ujemny	0,25	0,04	0,25	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
660	9471	K	67	dorosły	ujemny	0,02	0,03	0,03	brak			2021	
661	9694	M	15	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2021	
662	9713	K	42	dorosły	ujemny	0,01	0,03	0,03	zgłoszono TB	plucna	BK+	2021	2021
663	9750	M	41	dorosły	ujemny	0	0,03	0,03	brak			2021	
664	9764	K	13	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2021	
665	9794	K	11	dziecko	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2021	
666	9887	M	55	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2021	
667	9896	M	16	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
668	9945	K	7	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
669	10007	K	25	dorosły	ujemny	0,07	0,04	0,07	brak			2021	
670	10161	M	65	dorosły	dodatni	0,54	0,3	0,54	brak			2021	
671	10340	K	71	dorosły	ujemny	0,05	0,01	0,05	brak			2021	
672	10422	K	56	dorosły	ujemny	0,23	0,2	0,23	brak			2021	
673	10829	M	3	dziecko	ujemny	0,06	0	0,06	brak			2021	
674	10896	M	16	dziecko	dodatni	3,8	0,52	3,8	zgłoszono TB	pozapłucna	BK-	2021	2022
675	10901	M	13	dziecko	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2021	
676	11244	K	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2021	
677	11462	M	15	dziecko	ujemny	0,05	0,01	0,05	brak			2021	
678	42	K	59	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
679	415	M	17	dziecko	ujemny	0,2	0,24	0,24	brak			2022	
680	441	K	71	dorosły	dodatni	0,77	0,81	0,81	brak			2022	
681	597	M	53	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
682	761	M	13	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2022	
683	1344	K	16	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2022	
684	1378	M	58	dorosły	dodatni	0,68	0,61	0,68	brak			2022	
685	1422	K	17	dziecko	dodatni	0,96	1,01	1,01	zgłoszono TB	plucna	BK-	2022	2022
686	1423	M	66	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
687	1511	K	3	dziecko	ujemny	0,02	0,01	0,02	brak			2022	
688	1518	M	57	dorosły	dodatni	0,71	0	0,71	brak			2022	
689	1676	K	17	dziecko	dodatni	3,39	3,81	3,81	zgłoszono TB	plucna	BK+	2022	2022
690	1679	K	14	dziecko	dodatni	1,01	0,26	1,01	zgłoszono TB	plucna	BK-	2022	2022
691	1696	M	78	dorosły	dodatni	10	10	10	brak			2022	
692	2145	M	45	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	QFT-Plus	TB1 [IU/mL]	TB2 [IU/mL]	TBmax [IU/ml]	Zgłoszenie TB do KRG	TB lokalizacja	BK+ / BK -	Rok wykonania QFT-Plus	Rok zgłoszenia TB do KRG
693	2204	K	32	dorosły	dodatni	1,53	3,35	3,35	brak			2022	
694	2216	M	63	dorosły	dodatni	0,67	0,73	0,73	zgłoszono TB	plucna	BK+	2022	2022
695	2294	M	13	dziecko	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2022	
696	2331	M	67	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
697	2496	M	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2022	
698	2530	M	29	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
699	2817	M	65	dorosły	ujemny	0	0,02	0,02	brak			2022	
700	2877	M	48	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2022	
701	2910	K	16	dziecko	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2022	
702	2924	M	56	dorosły	ujemny	0	0,01	0,01	brak			2022	
703	2935	K	53	dorosły	dodatni	1,45	1,94	1,94	zgłoszono TB	plucna	BK+	2022	2022
704	3070	M	70	dorosły	ujemny	0,01	0	0,01	brak			2022	
705	3143	K	40	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
706	3227	K	50	dorosły	ujemny	0	0	0	brak			2022	
707	3228	K	69	dorosły	ujemny	0,03	0,05	0,05	brak			2022	
708	3240	K	44	dorosły	ujemny	0,03	0,01	0,03	brak			2022	
709	3353	K	10	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2022	
710	3398	M	9	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2022	
711	3431	M	67	dorosły	dodatni	0,85	0,83	0,85	brak			2022	
712	3666	M	5	dziecko	ujemny	0	0	0	brak			2022	

14.2 Dane dotyczące 269 pacjentów u których wykonano QuantiFeron-TB Gold Plus i Liason QuantiFeron-TB Gold Plus

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liason-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
1	12.01.22	209	M	71	+	1,25	1,65	+	2,87	0,35
2	12.01.22	210	M	51	+	2,77	1,53	+	5,86	3,29
3	07.02.22	922	K	42	+	0,5	0,61	+	0,94	1,29
4	23.02.22	1422	K	17	+	0,96	1,01	+	1,24	2,54
5	24.02.22	1518	M	57	+	0,71	0	-	0	0
6	02.03.22	1676	K	17	+	3,39	3,81	+	3,73	4,32
7	02.03.22	1679	K	14	+	1,01	0,26	+	2,6	0,69
8	02.03.22	1696	M	78	+	>10	>10	+	9,05	9,05
9	14.03.22	2128	K	51	-	0,12	0,29	+	0,33	0,89
10	16.03.22	1T	M	66	+	0,38	0,54	+	0,59	0,7
11	16.03.22	2T	M	62	+	3,31	3,35	+	6,67	6,54
12	16.03.22	4T	K	67	+	5,17	4,26	+	4,6	5,37
13	16.03.22	2204	K	32	+	1,53	3,35	+	4,24	8,79
14	16.03.22	2216	M	63	+	0,67	0,73	+	1,24	1
15	16.03.22	2P	K	53	-	0	0	-	0,03	0,03
16	16.03.22	3P	K	24	-	0,01	0	-	0,02	0,04
17	16.03.22	4P	K	51	-	0	0	-	0,02	0,03
18	16.03.22	5P	K	44	-	0,03	0,01	-	0,21	0,17
19	16.03.22	6P	K	43	-	0	0	-	0	0
20	16.03.22	7P	K	33	-	0	0	-	0,06	0,09
21	16.03.22	8P	K	37	-	0,06	0	-	0,31	0,09
22	16.03.22	99P	K	39	-	0	0	-	0,01	0,03
23	16.03.22	10P	K	40	-	0	0	-	0,02	0,01
24	16.03.22	11P	K	41	-	0	0	-	0,03	0,02
25	16.03.22	12P	K	45	-	0	0	-	0	0
26	16.03.22	13P	K	40	-	0,14	0,08	+	0,44	0,36
27	16.03.22	14P	K	44	-	0	0	-	0,16	0,1
28	16.03.22	15P	K	56	+	0,7	1,2	+	1,89	2,59
29	16.03.22	16P	K	33	-	0	0	-	0	0
30	16.03.22	17P	K	45	-	0,03	0,14	+	0,11	0,53
31	16.03.22	1U	K	37	-	0	0,06	+	0,07	0,39
32	18.03.22	2U	M	13	-	0,01	0,01	-	0	0
33	18.03.22	3U	K	47	-	0	0	-	0,01	0,03
34	18.03.22	4U	K	13	-	0,01	0	-	0	0
35	18.03.22	5U	K	40	-	0	0	-	0,01	0,03
36	18.03.22	6U	M	8	-	0	0	-	0	0
37	18.03.22	7U	K	40	+	0,44	0,61	+	0,95	1,28
38	18.03.22	8U	K	6	-	0	0	-	0	0

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
39	18.03.22	9U	K	25	-	0	0	-	0	0
40	18.03.22	10U	M	2	-	0	0	-	0	0
41	18.03.22	11U	K	24	-	0	0	-	0	0,02
42	18.03.22	12U	M	7	-	0	0	-	0	0
43	18.03.22	13U	K	36	-	0	0,27	-	0,01	0
44	18.03.22	14U	M	6	-	0	0	-	0	0
45	18.03.22	15U	K	35	-	0,01	0,02	-	0	0,02
46	18.03.22	16U	M	2	-	0	0,01	-	0,01	0
47	18.03.22	17U	K	25	-	0	0	-	0,03	0,03
48	18.03.22	18U	M	0,666	-	0	0	-	0,01	0
49	18.03.22	19U	K	37	-	0	0,02	-	0	0
50	18.03.22	20U	K	9	-	0	0	-	0,02	0,07
51	18.03.22	21U	K	36	-	0	0	-	0,03	0
52	23.03.22	8T	M	49	+	0,43	0,38	+	1,32	1,34
53	24.03.22	22U	K	9	-	0	0	-	0,01	0,03
54	24.03.22	23U	K	36	-	0	0,07	-	0,1	0,32
55	24.03.22	24U	M	2	-	0	0	-	0	0
56	24.03.22	25U	K	40	-	0	0	-	0,03	0,03
57	24.03.22	27U	K	38	-	0	0	-	0	0
58	24.03.22	28U	K	14	-	0	0	-	0	0
59	24.03.22	29U	K	38	-	0	0	-	0,09	0,07
60	24.03.22	30U	M	2	-	0	0	-	0,02	0,02
61	28.03.22	31U	K	0,333	-	0	0	-	0	0
62	28.03.22	32U	K	28	-	0	0,01	-	0,03	0,02
63	29.03.22	33U	K	6	-	0	0	-	0,06	0,07
64	29.03.22	34U	K	34	-	0	0	-	0	0,01
65	29.03.22	35U	K	0,208	-	0	0,01	-	0	0
66	29.03.22	36U	K	39	-	0,02	0,07	-	0	0,08
67	30.03.22	37U	K	14	-	0	0	-	0,22	0,08
68	30.03.22	38U	K	35	-	0,01	0,1	-	0,11	0,13
69	31.03.22	39U	K	4	-	0	0,07	-	0	0,01
70	04.04.22	41U	K	47	-	0	0	-	0,03	0
71	04.04.22	42U	K	17	-	0,12	0,09	-	0,01	0,06
72	05.04.22	43U	K	4	-	0	0	-	0,01	0,01
73	05.04.22	44U	K	39	-	0	0,28	-	0	0,01
74	05.04.22	45U	M	15	-	0,04	0,02	-	0	0
75	05.04.22	46U	K	50	-	0	0,07	-	0	0,04
76	05.04.22	47U	M	3	-	0	0	-	0	0
77	05.04.22	48U	K	31	-	0	0	-	0	0
78	07.04.22	49U	M	12	-	0	0,02	-	0,05	0,05
79	07.04.22	50U	K	40	-	0	0	-	0	0

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
80	08.04.22	51U	M	6	-	0	0	-	0	0
81	08.04.22	52U	K	28	-	0	0	-	0,06	0,01
82	08.04.22	54U	K	38	-	0	0	-	0	0
83	08.04.22	56U	K	33	-	0	0	-	0,02	0,01
84	11.04.22	57U	K	0,333	-	0,01	0	-	0,02	0
85	11.04.22	58U	K	28	-	0	0	-	0,03	0
86	11.04.22	59U	K	13	-	0	0	-	0	0
87	11.04.22	60U	K	36	-	0,01	0,01	-	0	0
88	11.04.22	61U	M	13	-	0,01	0	-	0	0
89	13.04.22	62U	M	11	-	0	0	-	0	0
90	13.04.22	63U	K	38	-	0,01	0,01	-	0	0
91	14.04.22	64U	K	13	-	0,01	0	-	0,01	0
92	14.04.22	65U	K	40	-	0	0	-	0,01	0
93	14.04.22	66U	M	12	-	0,01	0,01	-	0	0
94	19.04.22	67U	M	11	-	0,01	0,09	-	0,02	0
95	19.04.22	68U	K	37	-	0,02	0,01	-	0,03	0,02
96	19.04.22	69U	M	18	-	0	0	-	0	0,02
97	19.04.22	70U	K	39	-	0,01	0,01	-	0,02	0
98	21.04.22	71U	K	2	-	0	0	-	0	0
99	21.04.22	72U	K	27	-	0,01	0,01	-	0	0
100	21.04.22	73U	M	14	-	0,09	0,08	+	0,44	0,39
101	21.04.22	74U	K	40	-	0	0	-	0	0
102	21.04.22	75U	K	4	-	0	0	-	0	0
103	21.04.22	76U	K	29	-	0	0	-	0	0,01
104	21.04.22	78U	K	32	-	0	0,01	-	0,01	0,03
105	21.04.22	79U	K	4	-	0,01	0	-	0	0
106	22.04.22	80U	M	11	-	0	0	-	0	0,26
107	22.04.22	81U	K	43	-	0,02	0	-	0,05	0,04
108	25.04.22	82U	M	4	-	0	0	-	0,01	0
109	25.04.22	83U	K	43	-	0,01	0	-	0	0
110	26.04.22	84U	K	17	-	0	0	-	0,01	0
111	26.04.22	85U	K	1	-	0	0	-	0,01	0
112	26.04.22	86U	K	5	-	0	0	-	0	0
113	26.04.22	87U	M	14	-	0,03	0,02	-	0,14	0,29
114	26.04.22	88U	M	40	-	0,08	0,04	+	0,48	0,22
115	26.04.22	89U	M	6	-	0	0	-	0,01	0,01
116	26.04.22	90U	K	32	-	0	0	-	0,08	0,14
117	27.04.22	91U	K	12	-	0	0	-	0,02	0,01
118	27.04.22	92U	K	7	-	0	0	-	0	0
119	27.04.22	93U	K	33	-	0	0	-	0,02	0,05
120	27.04.22	13T	M	69	+	1,03	1,4	+	2,15	2,64

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
121	27.04.22	14T	M	25	-	0,16	0,29	+	0,3	0,4
122	27.04.22	15T	M	47	+	0,43	0,46	+	0,76	0,74
123	29.04.22	94U	M	6	-	0	0	-	0,01	0,02
124	02.05.22	96U	K	15	-	0	0,01	-	0,07	0,05
125	02.05.22	97U	K	36	-	0,06	0	-	0,21	0,08
126	02.05.22	16T	K	38	+	8,94	8,94	+	6,2	6,2
127	02.05.22	17T	K	50	+	0,4	0,6	+	1,6	1,8
128	02.05.22	18T	M	48	-	0,02	0,05	-	0,1	0,2
129	02.05.22	19T	M	46	-	0,08	0,03	+	0,6	0,3
130	02.05.22	20T	M	48	+	2,31	1,95	+	7,7	7,1
131	04.05.22	98U	K	14	-	0	0	-	0,03	0,03
132	04.05.22	99U	M	42	-	0	0	-	0,04	0,06
133	05.05.22	100U	K	3	-	0	0	-	0,01	0
134	05.05.22	101U	K	29	-	0,03	0,02	-	0,12	0,19
135	05.05.22	102U	K	12	-	0	0	-	0,02	0
136	05.05.22	103U	K	39	-	0	0,01	-	0	0,02
137	05.05.22	104U	K	30	-	0	0	-	0	0
138	09.05.22	105U	M	11	-	0	0	-	0,02	0,05
139	09.05.22	106U	K	43	-	0	0	-	0,07	0,04
140	09.05.22	107U	M	11	-	0	0	-	0,05	0,08
141	09.05.22	108U	K	39	-	0	0	-	0,04	0,02
142	10.05.22	109U	K	14	-	0	0	-	0,03	0,04
143	10.05.22	110U	K	40	-	0,01	0,16	-	0,02	0,04
144	11.05.22	111U	K	15	-	0,08	0,05	-	0,25	0,19
145	11.05.22	112U	K	67	-	0	0,03	-	0,02	0,1
146	11.05.22	113U	M	16	-	0	0	-	0,01	0,01
147	12.05.22	114U	M	6	-	0	0	-	0	0
148	12.05.22	115U	K	34	-	0	0,09	-	0,04	0,11
149	16.05.22	116U	M	7	-	0	0,07	-	0,03	0,04
150	16.05.22	117U	K	45	-	0,01	0,02	-	0	0,01
151	16.05.22	118U	K	30	-	0	0	-	0	0,01
152	18.05.22	120U	K	26	-	0,01	0,01	-	0,02	0,02
153	19.05.22	121U	M	16	-	0,01	0,03	-	0,01	0,01
154	19.05.22	122U	K	8	-	0,01	0	-	0,03	0,01
155	20.05.22	123U	K	6	-	0	0,22	-	0,01	0
156	20.05.22	124U	K	41	-	0,01	0	-	0	0,02
157	23.05.22	125U	K	16	-	0	0,01	-	0	0
158	24.05.22	126U	M	14	+	4,86	5,13	+	8,7	8,7
159	24.05.22	127U	K	35	+	>10	>10	+	8,08	8,08
160	25.05.22	128U	M	2	-	0,01	0,02	-	0	0
161	25.05.22	129U	K	29	-	0,13	0,1	+	0,38	0,25

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
162	26.05.22	130U	M	4	-	0	0	-	0	0,07
163	26.05.22	131U	K	30	-	0,23	0,28	+	0,66	0,7
164	31.05.22	132U	K	3	-	0,01	0	-	0	0
165	31.05.22	133U	K	42	-	0	0	+	0,02	0,39
166	31.05.22	134U	K	15	-	0	0	-	0	0
167	31.05.22	135U	K	6	-	0,01	0,01	-	0,04	0,03
168	31.05.22	136U	M	7	-	0	0	-	0,03	0,03
169	31.05.22	137U	K	32	-	0	0,02	-	0,04	0,06
170	31.05.22	138U	K	14	+	0,14	0,45	-	0	0
171	01.06.22	21T	M	56	+	0,56	0,66	+	0,95	1,1
172	01.06.22	22T	M	49	+	1,39	0,69	+	2,27	1,22
173	01.06.22	23T	M	50	+	0,47	0,45	+	1,15	1,16
174	01.06.22	24T	M	20	-	0,22	0,22	+	0,44	0,38
175	07.06.22	139U	M	17	-	0	0	-	0,08	0,07
176	07.06.22	140U	K	40	-	0,01	0	-	0,03	0,04
177	07.06.22	141U	M	4	-	0	0	-	0,02	0,03
178	07.06.22	142U	K	36	-	0,02	0	-	0,05	0,03
179	07.06.22	4389	M	15	+	1,45	2,88	+	3,18	6,26
180	15.06.22	4594	M	42	+	0,35	0,29	+	1,03	1,09
181	17.06.22	143U	M	10	-	0	0	-	0,01	0,01
182	17.06.22	144U	K	41	-	0	0	-	0	0
183	22.06.22	145U	M	6	-	0	0,01	-	0,02	0,06
184	22.06.22	146U	K	37	-	0	0,01	-	0,07	0,09
185	22.06.22	147U	K	16	-	0	0	-	0,06	0,07
186	22.06.22	148U	K	40	-	0	0	-	0,03	0,06
187	27.06.22	149U	K	13	-	0	0	-	0,01	0,05
188	27.06.22	150U	K	40	-	0	0,22	-	0	0,02
189	29.06.22	151U	M	12	-	0,23	0,24	-	0,01	0,08
190	30.06.22	152U	M	5	-	0,28	0,28	-	0,01	0,02
191	01.07.22	153U	M	15	-	0	0	-	0,01	0
192	01.07.22	154U	K	56	-	0	0,11	-	0,02	0,1
193	04.07.22	155U	K	4	-	0	0	-	0	0
194	05.07.22	157U	K	44	-	0	0	-	0	0
195	07.07.22	158U	M	15	-	0	0	-	0,01	0
196	08.07.22	159U	M	0,125	-	0,01	0	-	0,01	0,01
197	08.07.22	160U	K	26	-	0,01	0	-	0,02	0
198	11.07.22	161U	K	17	-	0	0	-	0	0
199	11.07.22	162U	M	54	-	0,01	0,05	-	0,03	0,19
200	12.07.22	163U	K	7	-	0	0	-	0	0
201	12.07.22	164U	M	34	-	0	0	-	0,01	0
202	13.07.22	165U	K	2	-	0	0	-	0,02	0,01

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
203	13.07.22	166U	K	35	-	0,02	0,01	-	0,02	0,03
204	13.07.22	167U	K	0,666	-	0	0	-	0,01	0
205	13.07.22	168U	K	23	-	0,01	0,01	-	0	0,01
206	19.07.22	169U	K	11	-	0,03	0	-	0	0,01
207	19.07.22	170U	M	36	-	0,15	0,08	-	0,26	0,23
208	26.07.22	171U	K	17	-	0	0	-	0,05	0,06
209	28.07.22	172U	K	13	-	0	0	-	0,01	0
210	28.07.22	173U	M	10	-	0,01	0,01	-	0	0
211	28.07.22	174U	K	39	-	0	0	-	0	0
212	28.07.22	175U	M	3	-	0	0,03	-	0,02	0,06
213	28.07.22	176U	K	44	-	0,01	0,03	-	0,04	0,08
214	28.07.22	177U	M	16	-	0,02	0,03	-	0,09	0,13
215	05.08.22	178U	K	9	-	0	0,22	+	0,33	0,57
216	05.08.22	179U	K	47	-	0	0	-	0,03	0,04
217	05.08.22	180U	K	42	-	0,03	0,03	-	0,09	0,05
218	08.08.22	6601	M	71	+	2,13	0,48	+	3,26	0,92
219	11.08.22	182U	K	36	-	0	0	-	0	0
220	16.08.22	183U	K	8	-	0	0	-	0,03	0,03
221	16.08.22	184U	K	39	-	0,3	0,23	-	0	0
222	18.08.22	185U	M	3	-	0	0	-	0	0
223	18.08.22	6120	K	5	+	5,69	5,13	+	5,46	5,3
224	24.08.22	186U	K	8	-	0,04	0,02	-	0,01	0,02
225	25.08.22	187U	K	49	-	0	0	-	0,03	0,06
226	30.08.22	188U	M	12	-	0,02	0,06	-	0,01	0
227	30.08.22	189U	K	46	+	0,04	0,36	-	0,03	0
228	02.09.22	190U	K	13	-	0,01	0,02	-	0,01	0
229	02.09.22	191U	K	44	-	0	0,25	+	0	0,35
230	05.09.22	192U	K	15	-	0	0	-	0,08	0
231	05.09.22	193U	K	32	-	0	0,23	-	0,01	0,08
232	06.09.22	194U	M	16	-	0	0,34	-	0	0
233	06.09.22	195U	M	15	-	0	0,23	-	0,04	0,03
234	06.09.22	196U	K	39	-	0,04	0,02	-	0,03	0,05
235	06.09.22	197U	K	10	-	0	0,16	-	0	0
236	06.09.22	198U	K	40	-	0,04	0,01	-	0,12	0
237	12.09.22	200U	K	7	-	0	0,01	-	0	0
238	12.09.22	201U	K	43	-	0,02	0,07	-	0	0
239	12.09.22	202U	M	0,166	-	0	0	-	0	0
240	12.09.22	203U	K	23	-	0	0,16	-	0	0,02
241	14.09.22	204U	K	29	-	0	0	-	0	0
242	14.09.22	205U	K	7	-	0,05	0	-	0,07	0,04
243	07.09.22	6547	M	5	+	0,41	0,38	+	0,76	0,68

L.p.	Data pobrania krwi	Numer	Płeć	Wiek	QFT-Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]	Liaison-QFT Plus	TB1 [IU/ml]	TB2 [IU/ml]
244	21.09.22	6893	K	64	+	2,17	0,89	+	2,75	1,71
245	12.10.22	7336	K	13	+	0,99	0,48	+	0,9	0,5
246	12.10.22	7345	M	71	+	3,38	3,13	+	4,96	4,3
247	23.11.22	8352	M	4	+	4,56	5,13	+	5,69	6,9
248	23.11.22	8353	M	1,833	+	1,19	0,86	+	2,3	1,78
249	25.11.22	8425	K	38	+	>10	>10	+	8,83	8,83
250	07.12.22	8684	M	52	-	0,3	0,16	+	0,5	0,59
251	08.12.22	8719	K	57	+	1,78	0,38	+	1,55	0,84
252	16.12.22	8932	M	28	+	>10	>10	+	6,36	6,36
253	18.01.23	417	K	4	+	1,8	2,27	+	2,59	2,9
254	18.01.23	419	M	1,416	+	0,36	0	+	0,55	0
255	18.01.23	420	M	8	+	3,2	3,75	+	3,54	3,62
256	19.01.23	448	K	32	+	>10	>10	+	9,47	9,47
257	01.02.23	790	K	8	+	4,75	4,89	+	3,77	4,07
258	07.02.23	902	M	35	+	3,1	5,53	+	2,87	5,13
259	08.02.23	921	K	14	+	1,2	1,63	+	1,44	1,53
260	27.02.23	1346	M	64	+	0,77	0,95	+	0,9	1,13
261	01.03.23	1405	M	7	+	0,76	0,87	+	1,44	1,69
262	02.03.23	1447	K	57	+	3,85	2,21	+	5	2,9
263	28.03.23	2094	K	31	+	2,13	3,85	+	3,35	3,63
264	30.03.23	2165	M	61	+	1,76	3,73	+	2,77	4,43
265	03.04.23	2266	K	17	+	>10	>10	+	8,37	8,37
266	21.04.23	2739	M	87	+	0,25	0,39	+	0,36	0,63
267	29.05.23	3713	M	88	+	5,18	3,5	+	5,02	4,34
268	31.05.23	3745	M	42	+	1,43	1,04	+	2,31	1,78
269	31.05.23	5267	M	12	+	4,94	3,9	+	4,46	3,84

14.3 Dane dotyczące 145 pacjentów u których poszukiwano nowych biomarkerów, które odróżnią latentne zakażenie prątkiem gruźlicy od aktywnej choroby

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	TBmax [IU/ml]	QFT-Plus	Diagnoza	GM-CSF [pg/ml] TBmax	IFN- γ [pg/ml] TBmax	IL-2 [pg/ml] TBmax	IL-4 [pg/ml] TBmax	IL-5 [pg/ml] TBmax	IL-6 [pg/ml] TBmax	IL-7 [pg/ml] TBmax	IL-8/CXCL8 [pg/ml] TBmax	IL-10 [pg/ml] TBmax	IL-13 [pg/ml] TBmax	IL-15 [pg/ml] TBmax	IL-17 [pg/ml] TBmax	IL-18 [pg/ml] TBmax	IP-10/CXCL10 [pg/ml] TBmax	MCP-1/CCL2 [pg/ml] TBmax	MIG/CXCL9 [pg/ml] TBmax	MIP-1 α /CCL3 [pg/ml] TBmax	MIP-1 β /CCL4 [pg/ml] TBmax	RANTES/CCL5 [pg/ml] TBmax	TNF- α [pg/ml] TBmax
1	2166	K	75	dorosły	0,34	ujemny	Zdrowy	8,72 9	400,36 8	84,871	20,47 7	169,10 7	1,847,496	63,51 1	56,000,000	33,78 0	3,11 7	562,45 5	74,90 8	41,07 9	4,212,047	4,703,419	4,832,223	892,60 1	2,532,34 8	19,798,661	319,754
2	1345	M	66	dorosły	0,42	dodani	LTBI	7,19 8	253,25 4	57,702	15,96 3	119,29 2	321,043	72,76 5	20,682,957	10,73 3	1,51 1	507,33 8	68,77 8	63,80 5	4,433,568	1,973,503	2,961,374	395,24 2	1,217,63 4	11,795,980	217,538
3	4762	M	12	dziecko	0,36	dodani	LTBI	8,35 1	320,70 0	42,931	19,58 5	175,59 2	2,302,872	44,01 3	56,000,000	16,86 7	2,72 2	536,88 1	82,71 2	35,21 4	2,046,195	2,819,828	2,293,211	749,49 4	1,406,74 1	33,463,904	421,974
4	4761	K	36	dorosły	0,27	ujemny	Zdrowy	17,4,4 04	350,70 0	42,510	20,92 1	173,43 0	2,665,287	41,45 4	56,000,000	17,90 3	2,32 3	497,29 1	72,04 3	37,05 9	1,202,794	8,204,358	1,558,299	596,90 9	4,422,16 5	9,610,807	863,597
5	4648	M	3	dziecko	0,33	ujemny	Zdrowy	10,8,8 22	350,70 0	73,811	24,28 6	242,45 9	3,617,256	44,01 3	56,000,000	35,93 5	3,11 7	590,53 2	10,55 6	64,12 6	3,283,190	3,920,280	3,659,554	1,385,43 5	4,045,68 5	14,035,106	2,055,612
6	4257	K	43	dorosły	0,38	dodani	LTBI	15,3,3 82	425,31 3	50,940	26,23 3	205,81 8	4,940,949	38,86 0	56,000,000	34,85 7	2,32 3	638,85 1	89,31 6	48,57 2	998,029	9,277,934	1,244,364	1,415,19 8	3,162,33 6	7,411,513	2,114,228
7	5704	M	56	dorosły	0,31	ujemny	Zdrowy	8,22 5	352,46 8	110,49 4	19,90 9	177,75 2	1,822,321	58,77 5	56,000,000	37,01 6	3,89 8	533,64 0	67,14 8	58,05 7	11,940,446	6,086,405	6,723,723	412,44 5	2,117,89 1	10,429,997	300,422
8	6910	M	50	dorosły	0,34	ujemny	Zdrowy	5,8,7 6	327,74 7	51,785	15,11 9	136,64 2	1,136,476	72,76 5	28,859,257	14,29 3	1,30 3	452,46 7	54,99 2	70,23 8	6,759,387	6,938,967	3,404,158	296,69 2	1,347,89 0	12,922,601	545,490
9	398	M	71	dorosły	0,3	ujemny	Zdrowy	12,3,3 74	418,17 9	76,786	23,19 6	186,39 3	3,501,476	72,76 5	56,000,000	29,49 3	2,32 3	587,44 7	82,71 2	97,40 1	3,637,387	10,779,513	2,551,215	1,123,16 4	3,478,76 0	106,000,000	2,556,076
10	8369	K	14	dziecko	0,32	ujemny	Zdrowy	8,22 5	335,68 4	41,248	18,91 3	132,30 7	691,008	63,51 1	30,148,355	9,7,29	1,51 1	490,53 5	71,22 6	54,24 9	4,462,832	4,309,952	1,217,741	476,37 8	1,364,80 9	57,001,980	843,816
11	5246	M	10	dziecko	0,28	ujemny	Zdrowy	16,5,5 11	483,47 9	85,723	30,77 9	337,04 7	2,721,281	72,76 5	43,483,856	37,01 2	5,43 2	746,95 2	10,3,4 40	43,56 7	4,007,181	6,949,143	2,486,119	1,414,56 9	1,147,21 2	14,002,915	4,878,203
12	5170	M	64	dorosły	0,21	ujemny	Zdrowy	6,41 1	264,58 8	31,591	16,87 8	95,389	330,926	63,51 1	16,244,650	9,7,29	1,51 1	476,87 4	55,80 3	61,24 6	4,896,402	1,937,682	4,870,186	240,99 4	926,79 1	2,098,769	427,014
13	6668	M	74	dorosły	0,58	dodani	LTBI	9,84 7	416,39 6	55,587	20,10 6	190,71 2	1,290,300	94,89 4	56,000,000	10,23 1	2,52 3	527,12 8	73,67 9	70,23 8	4,918,894	7,859,792	6,528,342	738,26 3	2,963,85 5	7,923,546	942,618
14	4069	M	54	dorosły	0,5	dodani	LTBI	14,38 12	384,37 0	89,985	23,63 2	186,39 3	2,819,651	68,17 2	56,000,000	13,78 5	3,50 9	596,68 0	83,53 6	34,90 7	7,236,875	9,874,669	6,749,349	1,383,80 6	3,308,21 4	17,106,585	1,782,051
15	4594	M	42	dorosły	0,35	dodani	LTBI	10,9,9 42	413,72 3	77,211	23,19 6	203,66 1	2,814,325	94,89 4	56,000,000	18,94 2	4,66 9	691,10 3	79,83 1	42,94 4	7,440,008	18,359,016	6,891,788	1,258,74 9	3,187,69 9	1,846,323	1,376,054
16	4909	K	89	dorosły	0,4	dodani	LTBI	6,67 5	198,67 3	47,987	13,80 2	112,77 9	496,802	63,51 1	21,411,533	9,2,29	1,51 1	354,72 0	58,22 4	77,36 8	5,864,981	970,805	4,845,425	223,49 5	1,209,40 4	8,481,332	491,375
17	2739	M	87	dorosły	0,63	dodani	LTBI	7,97 0	380,81 9	45,879	18,68 9	138,80 8	886,532	63,51 1	56,000,000	15,83 4	1,51 4	497,29 1	86,42 3	47,31 7	7,750,644	6,082,717	1,763,461	745,44 1	2,458,52 8	6,848,891	808,182
18	2779	M	75	dorosły	0,51	dodani	LTBI	8,47 8	349,81 6	62,781	20,18 0	182,07 3	1,729,099	77,29 6	56,000,000	15,83 4	3,31 4	452,46 0	72,04 3	58,05 7	3,602,833	2,901,126	5,231,279	1,016,82 0	2,132,18 1	9,001,231	975,170
19	2918	K	66	dorosły	0,37	dodani	LTBI	5,74 1	243,68 1	34,106	13,41 1	108,43 5	124,398	63,51 1	16,676,634	9,7,29	1,51 1	445,35 8	49,77 4	20,42 0	5,812,721	2,537,045	2,912,708	299,98 2	1,195,29 6	7,234,733	205,182
20	2845	K	16	dziecko	0,2	ujemny	Zdrowy	11,9,9 00	300,47 8	50,096	22,09 9	164,78 3	2,873,862	53,95 4	56,000,000	16,35 0	1,92 0	584,35 3	83,12 4	43,56 7	2,233,147	3,434,975	1,170,685	1,361,49 7	4,133,77 4	12,291,813	1,405,445

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	TBmax [IU/ml]	QFT-Plus	Diagnoza	GM-CSF [pg/ml] TBmax	IFN-γ [pg/ml] TBmax	IL-2 [pg/ml] TBmax	IL-4 [pg/ml] TBmax	IL-5 [pg/ml] TBmax	IL-6 [pg/ml] TBmax	IL-7 [pg/ml] TBmax	IL-8/CXCL8 [pg/ml] TBmax	IL-10 [pg/ml] TBmax	IL-13 [pg/ml] TBmax	IL-15 [pg/ml] TBmax	IL-17 [pg/ml] TBmax	IL-18 [pg/ml] TBmax	IP-10/CXCL10 [pg/ml] TBmax	MCP-1/CCL2 [pg/ml] TBmax	MIG/CXCL9 [pg/ml] TBmax	MIP-1α/CCL3 [pg/ml] TBmax	MIP-1β/CCL4 [pg/ml] TBmax	RANTES/CCL5 [pg/ml] TBmax	TNF-α [pg/ml] TBmax
42	32	M	43	dorosły	0,01	ujemny	Zdrowy	25,17	170,84	122,88	89,74	316,51	367,290	11,76	9,895	12,71	0,61	1,678	31,10	82,28	1,556	458,656	1,610	296,99	1,151	7,827	2,310
43	33	M	44	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	20,24	154,45	101,87	79,63	279,08	321,469	11,76	12,082	11,27	1,33	1,562	27,24	90,23	13,061	244,233	6,949	235,28	988,95	8,498	1,756
44	34	M	42	dorosły	0,03	ujemny	Zdrowy	20,97	155,54	138,13	83,09	361,61	654,222	94,43	9,816	12,71	0,08	1,458	31,76	56,58	2,071	255,701	2,106	273,15	979,35	5,968	2,998
45	35	K	35	dorosły	0,01	ujemny	Zdrowy	17,22	89,397	85,537	56,80	219,59	296,113	11,76	9,234	11,27	1,10	1,061	23,11	44,97	1,132	182,502	1,957	156,55	645,27	5,674	1,924
46	36	K	45	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	15,20	117,47	76,189	59,73	147,89	100,221	10,61	5,857	12,71	1,10	1,152	18,45	10,58	3,872	219,112	2,280	158,63	999,02	8,923	1,549
47	37	K	50	dorosły	0,05	ujemny	Zdrowy	11,35	305,59	49,691	36,05	94,031	40,53	94,43	9,960	9,830	1,10	922,10	11,03	31,39	5,209	1,293	89,681	1,070	5,755	943,258	
48	38	K	37	dorosły	0,02	ujemny	Zdrowy	23,56	322,31	135,37	84,25	345,74	465,430	12,32	15,615	14,15	0,86	1,721	29,87	66,17	7,465	887,761	3,878	290,21	1,505	7,261	2,250
49	39	K	29	dorosły	0,06	ujemny	Zdrowy	17,87	198,25	77,633	61,18	167,38	193,626	88,43	11,647	14,15	1,57	1,313	18,26	54,46	6,217	497,105	7,694	160,35	814,35	5,285	1,363
50	40	K	38	dorosły	0,01	ujemny	Zdrowy	18,94	115,31	88,395	66,46	216,87	169,928	10,73	5,874	9,830	0,61	1,273	23,11	47,07	2,231	210,543	1,167	191,65	886,29	8,974	1,433
51	7145	K	52	dorosły	0,01	ujemny	Zdrowy	28,97	231,30	140,20	10,61	319,18	369,971	10,61	15,289	19,88	1,57	2,010	37,25	12,76	2,216	305,579	1,950	437,93	1,634	40,003	2,509
52	7142	M	40	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	40,76	745,05	223,88	4,41	705,62	1,728	10,61	52,606	45,48	2,02	2,278	57,82	90,23	2,213	3,535	2,452	2,886	5,800	18,147	5,040
53	9151	M	68	dorosły	0,01	ujemny	Zdrowy	40,51	734,33	261,50	15,98	715,79	2,490	10,61	56,000	20,60	2,02	2,561	60,74	10,25	6,569	2,924	4,092	1,857	3,725	7,901	7,454
54	9040	K	74	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	25,78	508,00	131,21	99,23	369,53	228,833	11,19	5,064	18,45	0,61	2,023	31,19	65,81	6,436	2,758	4,974	330,49	1,524	13,085	1,878
55	9012	M	66	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	53,48	784,39	260,16	17,66	1,366	9,002	17,18	56,000	78,81	1,57	2,773	66,02	16,27	12,378	4,457	9,877	3,293	4,875	15,858	4,927
56	9068	M	50	dorosły	0	ujemny	Zdrowy	43,62	671,31	246,74	15,47	1,033	3,632	11,76	37,153	41,22	2,25	2,524	55,10	18,40	9,918	4,594	6,175	2,636	4,325	27,315	5,758
57	6877	M	4	dziecko	0,19	ujemny	Zdrowy	34,71	585,0	184,66	11,82	526,14	952,192	11,76	24,445	39,80	1,10	2,030	50,46	81,56	7,385	4,709	5,685	483,67	1,665	23,488	3,073
58	8999	K	11	dziecko	0,31	ujemny	Zdrowy	45,82	784,39	238,68	15,77	1,163	4,677	12,88	56,000	39,80	2,91	2,530	62,49	10,69	46,333	2,550	17,180	3,102	4,257	19,006	5,445
59	9194	M	44	dorosły	0,35	dodani	LTBI	42,01	696,62	367,13	16,22	1,050	2,212	76,13	39,247	51,15	2,47	2,285	72,61	96,76	21,536	1,552	15,451	2,852	5,005	13,650	15,262
60	8369	K	14	dziecko	0,32	ujemny	Zdrowy	35,39	669,02	175,82	13,22	551,96	1,121	15,06	33,711	24,17	1,10	2,246	53,26	10,95	9,521	6,598	8,058	899,88	2,377	10,537	3,110
61	8598	M	47	dorosły	0,43	dodani	LTBI	29,41	384,6	128,44	10,86	482,08	222,557	10,61	25,224	36,97	1,10	1,577	48,53	88,06	2,452	1,652	2,544	394,48	1,580	23,442	2,479
62	8684	M	52	dorosły	0,59	dodani	LTBI	40,76	680,51	409,88	16,02	885,28	5,714	18,72	56,000	24,17	3,13	2,634	59,67	10,62	9,724	3,149	13,341	2,997	2,307	15,049	11,088

	L. P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	TBmax [IU/ml]	QFT-Plus	Diagnoza	GM-CSF [pg/ml] TBmax	IFN-γ [pg/ml] TBmax	IL-2 [pg/ml] TBmax	IL-4 [pg/ml] TBmax	IL-5 [pg/ml] TBmax	IL-6 [pg/ml] TBmax	IL-7 [pg/ml] TBmax	IL-8/CXCL8 [pg/ml] TBmax	IL-10 [pg/ml] TBmax	IL-13 [pg/ml] TBmax	IL-15 [pg/ml] TBmax	IL-17 [pg/ml] TBmax	IL-18 [pg/ml] TBmax	IP-10/CXCL10 [pg/ml] TBmax	MCP-1/CCL2 [pg/ml] TBmax	MIG/CXCL9 [pg/ml] TBmax	MIP-1α/CCL3 [pg/ml] TBmax	MIP-1β/CCL4 [pg/ml] TBmax	RANTES/CCL5 [pg/ml] TBmax	TNF-α [pg/ml] TBmax
	85	2804	M	67	doroshi	0.78	dodani	LTBI	51,457	331,569	202,162	61,326	603,763	1,055,342	34,079	56,000,000	29,660	2,322	1,410,698	34,176	12,004	12,905,634	2,652,946	11,559,891	2,856,792	1,817,931	5,042,627	798,182
	86	18	M	35	doroshi	0.01	ujemny	Zdrowy	25,618	166,398	72,594	31,646	381,530	555,951	29,271	25,302,045	23,752	0,663	860,580	18,987	56,729	393,826	1,214,277	473,093	282,890	1,133,123	8,029,710	737,948
	87	4159	M	50	doroshi	1.77	dodani	LTBI	48,260	450,875	249,489	55,108	858,966	2,050,660	41,066	52,024,903	30,831	6,751	1,269,318	32,206	10,226	7,066,720	4,488,796	4,761,805	1,274,422	2,648,273	9,791,895	1,614,564
	88	6356	K	66	doroshi	0.01	ujemny	Zdrowy	36,897	141,713	120,969	43,419	556,780	580,825	43,345	23,666,235	27,307	1,100	1,071,864	27,137	74,671	475,955	963,306	628,411	593,434	1,290,750	5,777,482	1,502,155
	89	6547	M	5	dziecko	0.76	dodani	LTBI	42,763	283,938	180,027	51,814	815,401	2,260,685	26,813	56,000,000	30,246	7,103	1,241,685	28,637	10,827	2,812,612	22,105,471	2,469,122	1,996,940	3,011,302	11,785,703	1,345,254
	90	9041	M	55	doroshi	0.49	dodani	LTBI	20,474	213,074	93,269	20,325	206,324	41,984	25,568	4,738,230	13,440	1,518	656,857	11,497	64,129	5,483,282	1,845,056	2,382,919	849,791	6,049,756	608,411	
	91	8808	M	66	doroshi	0.45	dodani	LTBI	41,001	301,245	191,097	50,226	637,151	892,535	26,813	44,815,513	23,752	1,100	1,239,159	26,704	98,475	3,203,902	3,146,438	2,313,588	3,904,788	3,334,819	16,166,560	1,672,594
	92	5295	M	67	doroshi	0.8	dodani	LTBI	34,754	135,207	127,205	44,454	482,311	548,048	47,838	15,088,646	17,739	1,100	1,117,466	25,804	10,352	2,475,549	678,559	2,295,171	535,189	984,830	2,989,726	1,077,478
	93	5248	M	133	dziecko	0.78	dodani	LTBI	44,099	273,088	184,579	52,303	819,765	2,436,255	47,838	56,000,000	36,649	2,322	1,453,260	35,717	12,516	7,959,179	2,694,925	6,504,412	531,382	2,816,038	31,498,443	1,798,743
	94	5288	K	77	doroshi	0.86	dodani	LTBI	38,803	210,483	167,620	43,419	473,225	561,684	16,478	7,480,404	16,520	1,924	1,223,949	29,237	15,449	9,734,187	3,227,707	3,799,853	533,560	1,886,506	11,382,547	974,755
	95	8952	K	73	doroshi	9.8	dodani	LTBI	41,625	681,851	387,723	49,646	592,603	629,548	47,838	9,784,781	23,752	14,866	1,291,719	32,878	94,065	23,526,139	6,361,379	20,698,926	468,147	2,211,022	4,255,477	1,077,478
	96	6704	K	14	dziecko	1.35	dodani	LTBI	54,810	352,828	237,106	59,218	1,113,289	6,204,318	36,435	56,000,000	43,556	28,080	1,448,559	37,213	11,558	6,145,339	5,885,538	5,346,317	340,255	409,974	20,196,546	513,310
	97	6706	M	5	dziecko	1.51	dodani	LTBI	43,689	262,321	214,993	50,660	679,256	1,677,306	41,066	21,875,112	29,660	3,853	1,286,757	29,141	11,049	3,900,808	20,179,086	2,821,663	580,480	1,654,951	8,274,191	1,195,388
	98	6707	M	10	dziecko	3.28	dodani	LTBI	47,051	333,737	282,220	53,751	954,298	2,806,834	36,435	56,000,000	32,000	4,225	1,229,028	30,528	11,049	15,355,445	4,462,505	6,718,962	803,583	2,313,416	25,031,671	1,302,331
	99	4498	M	33	doroshi	1.17	dodani	LTBI	43,381	346,375	216,762	55,551	817,583	1,585,557	36,435	56,000,000	22,559	3,097	1,203,528	32,878	16,786	7,404,108	4,733,323	5,492,925	2,554,021	180,233	37,759,043	3,208,354
	100	2459	K	14	dziecko	7.24	dodani	LTBI	47,455	360,210	359,302	57,169	585,899	627,298	54,435	26,899,135	20,761	8,496	1,313,941	35,380	14,154	24,164,078	5,987,474	20,211,655	847,672	2,158,794	9,563,889	1,281,497
	101	2460	K	16	dziecko	2.03	dodani	LTBI	50,960	341,978	186,670	56,389	694,720	1,103,513	38,763	56,000,000	24,941	3,853	1,434,414	41,080	16,002	16,304,409	6,049,602	13,929,617	3,054,213	3,643,259	106,000,000	2,111,779
	102	8171	M	8	dziecko	7.47	dodani	LTBI	58,025	491,641	459,005	67,998	1,059,743	3,768,433	50,055	56,000,000	33,166	97,595	1,417,832	41,623	33,965	13,610,427	4,136,070	10,550,693	4,900,000	800,000	106,000,000	3,364,461
	103	6540	K	56	doroshi	0.01	ujemny	Zdrowy	36,150	223,440	114,281	41,853	574,713	1,344,130	21,761	20,038,775	57,193	2,322	1,109,485	27,327	11,909	423,701	1,988,776	412,322	599,987	1,133,917	20,622,738	1,359,548
	104	6512	M	33	doroshi	0	ujemny	Zdrowy	46,037	341,978	191,097	55,393	1,055,453	4,976,351	31,692	56,000,000	28,485	1,518	1,169,988	32,494	11,272	841,721	3,363,870	520,027	4,612,401	2,944,274	57,001,980	3,079,219
	105	6504	M	33	doroshi	0.02	ujemny	Zdrowy	39,853	343,279	113,835	47,172	714,564	2,014,763	11,853	36,764,087	39,535	7,454	1,114,809	25,387	12,004	733,633	4,374,475	589,005	1,164,824	719,989	43,442,506	1,301,029

[illegible]

L.P.	Nr. pacjenta	Płeć	Wiek	Kategoria wiekowa	TBmax [IU/ml]	QFT-Plus	Diagnoza	GM-CSF [pg/ml] TBmax	IFN-γ [pg/ml] TBmax	IL-2 [pg/ml] TBmax	IL-4 [pg/ml] TBmax	IL-5 [pg/ml] TBmax	IL-6 [pg/ml] TBmax	IL-7 [pg/ml] TBmax	IL-8/CXCL8 [pg/ml] TBmax	IL-10 [pg/ml] TBmax	IL-13 [pg/ml] TBmax	IL-15 [pg/ml] TBmax	IL-17 [pg/ml] TBmax	IL-18 [pg/ml] TBmax	IP-10/CXCL10 [pg/ml] TBmax	MCP-1/CCL2 [pg/ml] TBmax	MIG/CXCL9 [pg/ml] TBmax	MIP-1α/CCL3 [pg/ml] TBmax	MIP-1β/CCL4 [pg/ml] TBmax	RANTES/CCL5 [pg/ml] TBmax	TNF-α [pg/ml] TBmax
128	tb20	M	64	doroshi	0,9	dodani	TB	11,4	135,80	95,263	18,97	266,29	121,664	13,83	39,677	8,9	3,90	490,52	10,32	65,12	9,658	1,472	19,099	212,31	968,03	3,446	260,757
129	tb21	M	38	doroshi	3,82	dodani	TB	28,3	334,60	239,02	28,91	674,16	1,908	10,80	56,000	11,59	2,15	648,26	15,60	67,17	15,137	1,760	19,895	988,93	1,947	2,767	2,750
130	tb22	M	31	doroshi	2,72	dodani	TB	17,1	249,76	140,57	21,05	511,65	1,581	13,83	56,000	17,99	2,15	602,23	11,19	58,00	16,290	2,010	23,832	579,41	2,121	5,068	1,286
131	tb23	M	25	doroshi	4,73	dodani	TB	18,6	249,32	108,30	19,47	441,26	1,234	13,83	56,000	8,5	3,21	512,28	93,51	18,04	10,187	1,646	14,922	656,46	2,109	20,137	2,512
132	tb24	M	28	doroshi	6,36	dodani	TB	17,1	177,52	321,13	18,12	317,77	705,974	13,83	56,000	5,3	8,63	475,78	85,59	91,24	59,132	8,103	130,000	344,31	2,319	106,000	758,598
133	tb25	M	23	doroshi	9,62	dodani	TB	24,0	460,85	541,25	26,85	799,40	1,990	48,60	56,000	31,75	11,9	678,16	13,47	92,55	140,000	4,283	130,000	838,38	1,465	16,684	2,643
134	tb26	M	22	doroshi	2	dodani	TB	17,9	195,66	135,13	21,50	564,97	2,382	13,83	56,000	8,9	1,42	597,77	10,45	14,42	20,184	1,614	15,495	774,09	1,894	106,000	1,718
135	tb27	K	17	dziecko	9,86	dodani	TB	24,0	123,76	293,79	26,80	690,79	3,234	10,80	56,000	22,09	5,27	593,29	14,25	11,93	140,000	1,858	29,756	1,156	3,575	106,000	1,122
136	tb28	M	8	dziecko	3,62	dodani	TB	21,2	180,63	172,56	20,66	542,14	1,911	10,80	56,000	14,61	5,61	535,98	10,66	89,41	21,603	2,510	23,177	971,72	3,211	106,000	1,233
137	tb29	M	35	doroshi	5,13	dodani	TB	21,6	194,46	132,23	23,36	684,75	4,537	16,83	56,000	26,56	3,55	648,26	11,36	15,54	37,846	3,779	29,366	1,050	3,250	19,523	2,030
138	tb30	M	28	doroshi	6,5	dodani	TB	16,0	124,46	124,25	17,52	328,64	615,274	16,83	56,000	5,3	2,15	485,63	92,13	35,33	45,283	6,681	30,978	486,89	1,521	1,575	645,025
139	tb31	K	14	dziecko	1,53	dodani	TB	28,0	216,97	200,62	30,01	928,65	12,154	16,83	56,000	10,06	3,55	615,54	13,36	28,23	11,603	3,185	14,755	1,243	5,800	29,657	6,401
140	tb32	K	38	doroshi	8,83	dodani	TB	40,3	193,26	284,95	28,77	826,49	6,391	13,83	56,000	8,5	67,0	597,77	14,18	12,49	130,383	5,535	130,000	1,181	5,800	6,343	1,350
141	tb33	M	48	doroshi	1,22	dodani	TB	20,3	156,25	99,608	18,57	444,33	2,170	13,83	56,000	17,99	1,42	528,92	10,77	82,63	17,528	2,578	14,912	966,72	2,369	12,380	1,007
142	tb34	M	50	doroshi	1,1	dodani	TB	17,0	146,66	109,02	20,76	505,54	2,656	10,80	56,000	19,36	2,15	507,48	98,69	63,34	3,594	5,787	4,029	1,124	2,958	12,945	1,412
143	tb35	M	65	doroshi	5,8	dodani	TB	13,8	277,65	125,33	15,24	203,28	66,315	7,735	13,027	2,745	1,42	379,62	76,36	43,94	12,552	3,650	25,885	271,27	1,435	2,694	509,451
144	tb36	M	57	doroshi	1,22	dodani	TB	22,0	146,66	138,76	24,72	727,04	6,709	28,58	56,000	42,93	2,50	584,29	12,13	15,02	4,137	2,295	4,661	1,158	2,797	7,714	3,256
145	tb37	K	72	doroshi	2,1	dodani	TB	18,3	95,781	154,74	18,37	353,44	837,557	13,83	17,804	9,2	2,85	480,71	94,89	10,94	5,381	3,501	15,542	544,03	2,720	3,842	396,641