Imunodijagostika Mycobacterium tuberculosis infekcija

Zelić, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:578555

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-26**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Marija Zelić

IMUNODIJAGNOSTIKA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INFEKCIJA

Diplomski rad

Osijek, 2018.

OVAJ JE RAD IZRAĐEN NA KATEDRI ZA MIKROBIOLOGIJU I PARAZITOLOGIJU MEDICINSKOG FAKULTETA SVEUČILIŠTA JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MENTOR: IZV. PROF. DR. SC. DOMAGOJ DRENJANČEVIĆ, DR. MED.

RAD IMA 24 LISTA, 4 TABLICE.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Uzročnik tuberkuloze 2
1.1.1. Mycobacterium tuberculosis 2
1.1.2. Patogenost Mycobacterium tuberculosis 3
1.2. Latentna tuberkuloza 4
1.3. Liječenje oboljelih od tuberkuloze 5
1.4. Epidemiološke značajke 6
2. CILJ RADA 8
3. ISPITANICI I METODE 9
3.1. Ustroj studije 9
3.2. Ispitanici 9
3.3. Uzorci i metode 9
3.4. Statistička obrada podataka 10
4. REZULTATI 11
5. RASPRAVA 16
6. ZAKLJUČAK 18
7. SAŽETAK 19
8. SUMMARY 20
9. LITERATURA 21
10. ŽIVOTOPIS 24

KRATICE

ARB – acidorezistentni bacil

ATL – antituberkulotski lijekovi

BCG - Bacillus Calmette–Guérin vakcina

CFP-10- culture filtrate protein 10

DOTS–eng. Directly Observed Treatment, Short-Course; SZO strategija za suzbijanje tuberkuloze

E - etambutol

ELISA – enzyme linked imunosorbent assay

ESAT-6 – early secretory antigenic target - 6

H - izoniazid

HIV – virus humane imunodeficijencije

IGRA - eng. Interferon-Gamma Release Assay; krvni test za detekciju M. tuberculosis

KBC – klinički bolnički centar

LTBI – latentna tuberkulozna infekcija

MDR-TB – multirezistentna tuberkuloza

MTB – Mycobacterium tuberculosis

MTC - Mycobacterium tuberculosis complex

PAS – para-aminosalicilna kiselina

PPD – eng. purified protein derivative; kožni test za otkrivanje infekcije tuberkulozom

R, RIF - rifampicin

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

TB - tuberkuloza

XDR-TB – ekstenzivno rezistentna tuberkuloza

Z – pirazinamid

ZZJZ OBŽ – Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije

QFT-Plus – Quantiferon –TB Gold Plus, test za otkrivanje interferona γ u krvi

1. UVOD

Tuberkuloza (TB) pripada među najznačajnije javnozdravstvene probleme današnjice unatoč tome što je prepoznata još u antičkoj Grčkoj. Smatra se da je *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) usmrtio više ljudi od bilo kojeg drugog poznatog patogena (1). Otkriće i identifikacija bakterije MTB u 19. stoljeću pokrenulo je novo razdoblje u borbi protiv te zarazne bolesti, a ulaganje u daljnja istraživanja u području dijagnostike i terapije tuberkuloze imalo je učinak u otkrivanju antituberkulotika sredinom 20. stoljeća. Njihovim otkrićem tuberkuloza je postala izlječiva bolest čime je smanjena njena pojavnost i smrtnost (2). No unatoč svemu tuberkulozu i dalje ubrajamo u najčešće zarazne bolesti u svijetu. Korištenjem antituberkulotika i pogrešnim pristupom liječenju oboljelih došlo je do pojave rezistencije na iste. Situaciju je i dodatno otežalo širenje virusa humane imunodeficijencije (HIV) zbog podložnosti oboljelih od virusa zarazi s tuberkulozom. Gotovo jedna trećina svjetske populacije zaražena je MTB, a 2016. godine u svijetu je zabilježeno 10,4 milijuna oboljelih i 1,8 milijuna smrtnih slučajeva (3). Hrvatska se još uvijek svrstava u red europskih zemalja sa srednje visokom incidencijom i još uvijek nije postignuta stopa ispod 10 novooboljelih na 100 000 stanovnika (4, 5).

Dijagnostika tuberkuloze još uvijek je vrlo zahtjevna i dugotrajna. Kako bi se postigla željena niska stopa incidencije i eliminacija tuberkuloze, potreban je snažniji pristup u obradi kontakata i otkrivanju novooboljelih, njihovu liječenju te obradi pacijenata s latentnom infekcijom tuberkuloze (LTBI) (6). Kao dodatni testovi, osobito u svrhu dokazivanja LTBI-a, koriste se specifični imuno-testovi - Interferon-Gamma Release Assays (IGRA-testovi). Test je zasnovan na imunoenzimskoj metodi - enzyme-linked immunosorbent assay (ELISE) koji detektira otpuštanje interferona gama iz limfocita T u svježoj heparinizirano krvi senzibiliranih osoba (7). Prije nego što je IGRA-test - QuantiFERON (QTB) odobren 2001. godine, tuberkulinski kožni test (PPD - purified protein derivative) bio je jedini test za otkrivanje latentne tuberkuloze. Zbog svoje specifičnosti smatra se da je IGRA-test bolji pokazatelj prisustva latentne tuberkuloze od tuberkulinskog kožnog testa. Pozitivan IGRA-test ne znači da je pacijent u aktivnoj infekciji *M. tuberculosis,* ali zahtjeva dodatnu obradu kliničara. Jednom nastala infekcija može trajati cijeli život kao latentna. Samo se 10 % inficiranih osoba razboli tijekom života i to prvih 5 % tijekom prve dvije godine nakon infekcije, a drugih 5 % najčešće u starijoj životnoj dobi (8).

1.1. Uzročnik tuberkuloze

Uzročnik tuberkuloze je bacil *Mycobacterium*. Rod *Mycobacterium* spada u porodicu *Mycobacteriaceae*, u kome se nalazi preko 30 raznih vrsta. Glavni uzročnik tuberkuloze u cijelom svijetu je bacil *M. Tuberculosis*. Danas se najčešće upotrebljava klasifikacija u nekoliko najbitnijh grupa:

1. *Mycobacterium tuberculosis complex,* koji mogu uzrokovati tuberkulozu: *M. Tuberculosis, M. Bovis, M. Africanum, M. Microti, M. cannetti*
2. *Mycobacterium leprae* koji uzrokuje gubu, lepru ili Hansenovu bolest
3. Netuberkulozne mikobakterije (NTM) velika skupina oportunističkih mikobakterija koje uzrokuju plućnu infekciju koja nalikuje tuberkulozi, mogu uzrokovati infekcije u imunokompromitiranih osoba (9, 10).

1.1.1. Mycobacterium tuberculosis

M. tuberculosis (MTB) uzročnik je bolesti tuberkuloze koji jedino preživljava kod čovjeka kao domaćina. Bolest je zarazna i širi se kašljem i iskašljajem. Simptomi tuberkuloze nisu karakteristični, ali ukoliko pacijent ima neke od simptoma: uzastopni kašalj, bol u prsima i vrućicu dulje od tri tjedna, iskašljava krv, može ga se smatrati potencijalno zaraznim i sumnjivim na tuberkulozu.

Bacili tuberkuloze su nepokretni, asporogeni, ravni štapići veličine 0,2 – 0,6 x 1 - 10 µm. Stanična stjenka MTB-a bogata je lipidima uz prisutnost mikolične kiseline 60 – 90 ugljikovih atoma i odgovorna je za mnoge osobine MTB-a. Glavna karakteristika bacila je njegova izrazita acidorezistentnost, spor rast na hranilištima i otpornost na uobičajene postupke dezinfekcije. Isto tako otporan je i na uobičajene antimikrobne antibiotike. Zbog karakteristične građe stanične stjenke bacil MTB se po gramu boja slabo ili se uopće ne boja. Boja se metodom po Ziehl-Neelsenu pri čemu se boja karbol fuksin veže za mikoličnu kiselinu, a peptidoglikolipidi stanične stjenke sprječavaju njihovo odbojavanje pa bacili ostaju crveno obojeni.

MTB za svoj rast i razvoj zahtijeva specifične hranjive podloge. To su uglavnom krute jajčane i agarne hranjive podloge te tekuće. Lowenstein-Jensen jajčana je podloga koja se najviše rabi u izolaciji i kultivaciji MTB-a, ili neka od njezinih modifikacija. *M. tuberculosis* kolonije kada porastu imaju specifični izgled: hrapave, izdignute, zrnaste i naborane površine te nepravilnih rubova. Tekuće podloge omogućuju brži rast i koriste se u kultivaciji MTB-a u automatiziranim

sustavima. Generacijsko je vrijeme MTB-a 18 - 22 sata, vidljiv rast na tekućim podlogama je nakon 1 - 2 tjedna, a na krutim podlogama tek nakon 3 - 10 tjedana pri inkubaciji na 35 - 37 ˚C, uz optimalni pH od 6,4 do 7,2. Za identifikaciju pojedinih vrsta *Mycobacteria* koriste se biokemijski testovi zasnovani na metabolizmu samog bacila i njegovim produktima. To su niacinski test, test katalaze, peroksidaze i redukcije nitrata. Niacin je metabolički produkt mikobakterija i vrlo je važan u identifikaciji MTB-a.

Antigenska struktura mikobakterija je složena. Građena je od polisaharida, lipida i proteina. Citoplazmatski antigeni su topljivi, dok su antigeni stanične stjenke netopljivi, to je ujedno i način podjele antigena.

Topljivi antigeni se koriste pri klasifikaciji i tipizaciji sojeva, a odgovorni su i kod reakcije preosjetljivosti kasnog tipa – stanične imunosti i nastanak humoralnih protutijela. Reakcija kasne preosjetljivosti uočava se prilikom injiciranja tuberkulinskog purificiranog proteinskog derivata (PPD) senzibiliziranoj osobi. Dolazi do kožne reakcije na mjestu injiciranja – tuberkulinska reakcija. Reakcija preosjetljivosti vidljiva je ubrzo nakon infekcije MTB-a ili nakon cijepljenja BCG cjepivom. Osoba koja razvije reakciju ne znači i da ima aktivnu tuberkulozu već da je u stanju latentne infekcije. Kao dodatna potvrda latentnoj infekciji uveo se i IGRA-test (eng. interferon-γ release assay) koji mjeri stanicama posredovane imunološke reakcije na peptidne antigene koji simuliraju mikobakterijske proteine (11, 12, 13, 14).

1.1.2. Patogenost Mycobacterium tuberculosis

Bolest se prenosi u kolektivu većinom respiratornim putem, kihanjem, kašljanjem, govorom, dovoljno je manje od 10 bacila da se inhaliraju u pluća i uzrokuju bolest. Samo unesene čestice koje su dovoljno male da se prenesu do alveola pluća, dovode do infekcije. Nakon što su bacili dospjeli do alveola, potiču izlučivanje citokina i limfokina te ubrzo budu fagocitirani od alveolarnih makrofaga, ta prva reakcija domaćina s MTB-om je primarna infekcija. Nakon kontakta s MTB-om neće se sve osobe zaraziti. Njih 10 – 30 % će razviti primarnu infekciju, 90 – 95 % neće nikada razviti kliničke znakove bolesti, 5 % će oboljeti tijekom 1 - 2 godine, a 95 % zaraženih osoba smatra se da ostaje u fazi latentne infekcije, kod njih 5 % doći će do reaktivacije i kliničkih simptoma infekcije nakon dužeg vremena. Preživljenje fagocitiranih bacila ovisi o njihovoj uspješnosti u savladavanju mehanizma makrofaga i o imunološkom statusu domaćina. Dolazi do kontakta s antigen prezentirajućim stanicama, makrofagi i dendritičke stanice koje su bitne u aktiviranju T-staničnog odgovora. MTB se razmnožava

unutar makrofaga sprječavajući spajanje fagosoma sa lizosomima. U prvim tjednima infekcije (3 - 8), dio bacila dospijeva do regionalnih limfnih čvorova gdje nastaje Ghonov kompleks, a odakle se može krvotokom raznijeti u razne organe, u ovoj fazi dolazi do pojave tuberkulinske reaktivnosti domaćina. Nastala stanična imunost, tj. tuberkulinska preosjetljivost nastala je uslijed međudjelovanja imunokompetentnih stanica, prvenstveno makrofaga i CD4 limfocita koje stvaraju posrednike upale i citokine. Nastalom reakcijom dolazi do stvaranja karakterističnih tvorbi, granuloma. Kazeozna nekroza je jedna od glavnih osobina tuberkulozne infekcije (15, 16, 17, 18).

1.2. Latentna tuberkuloza

Latentnu tuberkulozu (LTBI) definiramo kao stanje koje nastaje nakon infekcije *M. tuberculosisom*, u kojem uzročnik miruje, ne dijeli se i ne izaziva reakciju okolnog tkiva. Zaražena osoba nema znakova bolesti, nije zarazna za okolinu, a uzročnik se ne može dokazati metodom mikrobiološke kultivacije (19). Još uvijek nije do kraja razjašnjeno trajanje latentnog oblika infekcije i na koji način uzročnik tuberkuloze bude pritajen, ali viabilan unutar inficirane osobe godinama. Iz stanja mirovanja uzročnik se može aktivirati pa takve osobe imaju povećan rizik od razvoja aktivne postprimarne tuberkuloze. U odraslih se to najčešće dogodi u prve dvije godine nakon infekcije u 5 % slučajeva, dok je u djece taj postotak puno veći. U dobi od 11 do 15 godina je 15 %, od 1 do 5 godina 29 %, a kod dojenčadi čak 43 % (20, 21). Aktivacija latentne infekcije ovisi o virulenciji uzročnika, ali u većoj mjeri o stanju domaćina, uhranjenosti i njegovom imunološkom statusu. Znajući da se tuberkuloza znatno češće javlja uz bolesti smanjenog imuniteta u osjetljivu skupinu u populaciji osim djece, ubrajaju se i imunokompromitirane osobe, HIV, transplantacija organa, imunosupresivna terapija, kortikosteroidno liječenje dulje 2 - 4 tjedna, maligne bolesti, bubrežna insuficijencija, oboljeli od dijabetesa, pušači i neuhranjene osobe. Primjenom lijekova koji inhibiraju čimbenik tumorske nekroze alfa (TNF-alfa) u terapiji teških kroničnih nezaraznih bolesti povećava se učestalost teških komplikacija. Jedna od najčešćih komplikacija je tuberkuloza. Stoga je iznimno važno pregledati svakog bolesnika u svrhu otkrivanja latentne tuberkuloze, jer otkrivanje latentne tuberkuloze znači otkrivanje bolesnika kojima bi liječenje LTBI-a bilo iznimno važno prije početka primjene biološke terapije (22). Otkrivanje LTBI-a sukladno nacionalnim smjernicama uključuje procjenu rizika, radiografsku pretragu, izvođenje tuberkulinskog kožnog – PPD testa ili novijeg, IGRA-testa (23).

1.3. Liječenje oboljelih od tuberkuloze

Liječenje oboljelih od tuberkuloze (TB) provodi se primjenom antituberkuloznih lijekova (ATL) prema smjernicama koje preporučuje Svjetska zdravstvena organizacija (SZO). Za početak terapije pacijent s ATL-om mora imati bakteriološki potvrđenu TB (direktni preparat i/ili kultivacija na podlozi), bakteriološki nepotvrđenu TB, ili ima kliničke znakove TB-a (rendgen pluća) ili izvanplućnu TB. Pacijenti oboljeli od TB-a liječe se na posebnim odijelima ili bolnicama, izolirani od ostalih pacijenata radi sprječavanja širenja TB-a. Zbog velikog broja mogućih nuspojava vrlo je važno pacijenta uputiti u način primjene lijeka i naglasiti značaj redovitog uzimanja prepisanog lijeka. Samo liječenje se provodi uz pojačan nadzor pacijenta.

Liječenje se provodi kombinacijom ATL-a koji su podijeljeni u dvije skupine: ATL prvog reda: izoniazid (H), rifampicin (R), pirazinamid (Z), etambutol (E), streptomicin (S). ATL drugog reda: aminoglikozidi, paraaminosalicilna kiselina, kinoloni, drugi rifampicini, tioamidi i potencijalni antituberkulotici - amoksicilin s klavulanskom kiselinom, klaritromicin, oksazolidini, nitroimidazopiran.

Za liječenje novih slučajeva plućne ili izvanplućne tuberkuloze (pacijenti koji se nisu nikad dotad liječili ATL-terapijom), kod pacijenata osjetljivih na ATL, primjenjuje se standardizirani dvofazni režim u trajanju od šest mjeseci. Inicijalna (intenzivna ili početna) faza traje dva mjeseca i u njoj se primjenjuju četiri lijeka, rifampicin, izoniazid, pirazinamid i etambutol (2HRZE), zatim slijedi faza nastavka (ili stabilizacijska faza) koja traje četiri mjeseca, kada se primjenjuju dva lijeka, rifampicin i izoniazid (4HR). Kod pacijenata s recidivom i prekidima u liječenju režim se sastoji od pet lijekova u inicijalnoj fazi dva mjeseca (2HRZES), jedan mjesec (1HRZE) u nastavku liječenja ili stabilizacijskoj fazi primjenjuju se tri lijeka kroz pet mjeseci (5HRE). Kronični i multirezistentni bolesnici liječe se individualiziranim režimima.

Kod pacijenata s latentnom infekcijom s povećanim rizikom za razvoj aktivne bolesti preporuča se preventivni režim devet mjeseci samostalno izoniazidom ili režim 12 tjedana izoniazid i rifapentin, koji se pokazao jednako učinkovit kod HIV-negativnih pacijenata kao i kod devet mjeseci samostalnog izoniazida. Preporučeni režimi koji su učinkoviti kod prevencije aktivne bolesti kod HIV-pozitivnih pacijenata, 6 - 9 mjeseci dnevno izoniazid, tri mjeseca dnevno izoniazid i rifampicin (13, 19).

1.4. Epidemiološke značajke

Procjenjuje se da je u 2016. godini u svijetu bilo 10,4 milijuna oboljelih od tuberkuloze (TB), od kojih su jedan milijun bila djeca. Iste je godine od tuberkuloze umrlo 1,8 milijuna osoba, među kojima 250 000 djece te i 400 000 HIV-pozitivnih osoba. Oko dvije trećine oboljelih je iz sedam država na području Azije i Afrike (Indija, Indonezija, Kina, Filipini, Pakistan, Nigerija i Južna Afrika), dok Europska regija zauzima posljednje mjesto po broju oboljelih od tuberkuloze (3 % ukupno oboljelih u svijetu). Unatoč tome, tuberkuloza u Europi i dalje predstavlja relativno čestu bolest, s oko 60 000 novih slučajeva godišnje te prosječnom stopom incidencije od oko 12/100 000, uz široki raspon od 2,1 do 76,5/100 000. Djeca mlađa od 15 godina čine 4,1 % ukupno oboljelih, sa stopom incidencije 3/100 000. Broj prijava novooboljelih na području EU/EEA smanjuje se za oko 4 % godišnje, što je daleko od barem 10 % godišnje, želi li se tuberkuloza eliminirati do 2030. godine. Eliminacija tuberkuloze na određenom području je postignuta ako se godišnje bilježi manje od jednog oboljelog od tuberkuloze na milijun stanovnika. U Hrvatskoj se nekoliko posljednjih desetljeća bilježi stabilan pad incidencije tuberkuloze sve do unatrag tri godine, kada dolazi do određene stagnacije u daljnjem padu broja oboljelih na što i ukazuju brojevi prijavljenih slučajeva u 2014. 499 pozitivnih na TB, 2015. godine 486, a u 2016. godini prijavljeno je 460 (22, 27). Padu incidencije svakako pridonosi činjenica i o malom broju HIV-pozitivnih osoba u Hrvatskoj koje imaju veći rizik od oboljenja od TB-a. U 2016. godini je u Hrvatskoj zabilježeno 109 novih slučajeva infekcije HIV-om i AIDS-a, što je na razini prošle godine, te se nastavlja blag porast pojavnosti. Veliki epidemiološki problem predstavlja širenje multirezistentne tuberkuloze (MDR TB). Uzrok tomu je neprovođenje nadzirane, kombinirane i standardizirane terapije liječenja tuberkuloze. Liječenje takvih pacijenata često je bezuspješno, a i vrlo skupo. Osim MDR TB-a, uočena je i pojava prošireno rezistentne tuberkuloze (XDR TB), ta tuberkuloze ne može se liječiti postojećim ATL-om, a zabilježena je već u gotovo šezdeset zemalja svijeta. U Hrvatskoj u 2016. godini nije zabilježen nijedan slučaj MDR TB-a, dok je u prošlim godinama bilo prijavljeno 1 ili 2 slučaja. Napredak u iskorjenjivanju TB-a pridonijelo je postavljanje međunarodne strategije za kontrolu TB-a globalno DOTS. DOTS strategija se temelji na pet komponenata; nacionalnoj i lokalnoj suglasnosti i političkom i financijskom provođenju strategije; poboljšanje kvalitete u dijagnostici; standardizirano kontrolirano liječenje; osigurati neprekidno snabdijevanje lijekovima i ostalim potrepštinama; standardizirane mjere nadzora i evidentiranja podataka. Uvođenjem DOTS strategije došlo je do velikih napredaka u

nacionalnim programima kontrole i u kontroli TB-a, povećan je broj izliječenih pacijenata, smanjena smrtnost i incidencija TB-a (13, 21).

2. CILJ RADA

Ciljevi rada su:

1. Ispitati ulogu i korist IGRA-testova u dokazivanju tuberkuloze
2. Prikazati najvažnije epidemiološke karakteristike infekcije *M. tuberculosis*
3. Ispitati pojavnost infekcije *M. tuberculosis* koristeći imunoesej kvantiferon test
4. Prikazati raspodjelu bolesnika prema uputnoj dijagnozi, obiteljskom kontaktu i dodatnim faktorima rizika
5. Prikazati kod kojih pacijenata je potvrđena aktivna infekcija *M. tuberculosis.*

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Istraživanje je presječno iz povijesnih podataka.

3.2. Ispitanici

U istraživanje su uključeni uzorci bolesnika upućenih od liječnika primarne zdravstvene zaštite, specijalista epidemilogije ili odjelnih liječnika Kliničke bolnice Osijek na odjel mikrobiologije Zavoda za javno zdravstvo OBŽ-a, Odjel serološke dijagnostike na testiranje IGRA-testom. U istraživanju su obuhvaćeni samo nalazi prvog testiranja ispitanika IGRA-testom. Ispitanici nisu aktivno sudjelovali u istraživanju, već su se koristili podatci iz baze podataka Službe za mikrobiologiju unatrag pet godina.

3.3. Uzorci i metode

Svi podatci o uzorcima i ispitanicima dobiveni su iz elektroničke baze podataka Službe za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Odjel za serološku dijagnostiku. Obuhvaćeni su klinički uzorci koji su analizirani IGRA Quantiferon – TB Gold Plus imunoenzimskim testom. Postupak testiranja uzoraka izvršen je prema uputama proizvođača. Optička gustoća, apsorbanca određivana je uporabom automatiziranog čitača apsorbancije opremljenim fotometrom s referentnim filtarima (450, 620 i 650 nm). Pri izvođenju svake serije QFT-plus testa, komercijalni IFN-γ standard razrijeđen je serijski u 4 koncentracije (4, 1, 0.25 i 0 IU/mL) i testiran u triplikatu radi konstruiranja standardne krivulje. Prilikom izračunavanja i interpretacije rezultata primjenjivan je računalni program (QuantiFERON-TB Gold Plus Analysis Software). Kod svakog ispitanika određivana je koncentracija IFN-γ u plazmi prikupljenoj u negativnoj kontrolnoj epruveti (Nil), pozitivnoj kontrolnoj epruveti (Mitogen) i u epruvetama s dodatkom TB antigena TB1 i TB2.

3.4. Statistička obrada podataka

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su hi-kvadrat testom ili Fischerovim egzaktnim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je podešena na $\alpha = 0,05$.Trend frekvencija pozitivnih nalaza ocijenjen je Cochran – Armitage trend testom. Podatci su statistički obrađeni pomoću programskog paketa za statističku obradu – SPSS 19.0. i Microsoft Office Excel tabličnog kalkulatora.

4. REZULTATI

Od 1. 1. 2012. do 31. 12. 2016. godine u laboratoriju za serološku dijagnostiku Zavoda za javno zdravstvo OBŽ-a izvršeno je ukupno 2 197 QFT-plus pretraga. Rezultati pretrage bili su pozitivni u 548 (25 %) analiza, negativni u 1 599 (73 %) i neodredivi u 50 (2 %) izvršenih analiza (Tablica 1).

Kroz period 2015. – 2016. uzet je značajno veći broj uzoraka u odnosu na prethodne godine, čiji su podatci također korišteni u istraživanju. Najviše uzoraka uzeto je 2016. godine (N = 771), a najmanje 2012. godine (N = 275). Uvidom u Tablicu 1 može se uočiti kako je najveći razmjer pozitivnih i negativnih uzoraka dobiven u 2015. godini. Neodredivi uzorci niti jedne godine nisu pokazali značajan udio, a najveći postotak imali su 2013. godine, od 5 %. Od 2012. do 2016. godine u prosjeku se dobije četvrtina pozitivnih uzoraka na ukupan broj uzetih uzoraka. Uočena je statistička značajnost kod rezultata pozitivnih i negativnih analiza (p = 0,0021).

Tablica 1. Pojavnost moguće infekcije *M. tuberculosis* temeljem imunoesej kvantiferon testa od 2012. do 2016. godine podrazumijevajući uzorke koji su označeni kao pozitivni, negativni ili neodredivi na TBC.

	Broj (%) nalaza			
Godina	**Pozitivni**	**Negativni**	**p***	**Neodredivi**
2012.	93 (34)	181 (66)		0 (0)
2013.	70 (25)	194 (70)		16 (5)
2014.	82 (26)	234 (73)	0,0021	5 (1)
2015.	110 (20)	421 (77)		17 (3)
2016.	193 (25)	566 (73)		12 (2)
Ukupno	548 (25)	1599 (73)		50 (2)

* Fischerov egzaktni test

Tablica 2. Prikaz nalaza uzoraka pacijenata, sudionika u ovom istraživanju prema uputnoj dijagnozi, obiteljskom kontaktu, uključujući pacijente s dijagnozama koje su dio imunosupresivnog liječenja (Chronova bolest, ulcerozni kolitis, artritis, psorijaza, kožne promjene i tumori) od 2012. do 2016. godine.

	Broj pozitivnih nalaza						
Godina	**Ostale dg.**	**Kontakt**	**Akt. TBC**	**Sumnja na TBC**	**Simptomi RES**	**Imunosupresivno liječenje**	**p***
2012.	14	23	4	18	9	25	
2013.	11	7	7	22	7	16	
2014.	13	15	3	18	10	23	<0,001
2015.	27	9	2	19	21	32	
2016.	42	19	0	40	31	62	
Ukupno	107	73	16	117	78	158	

* Fischerov egzaktni test

Uvidom u Tablicu 2 može se uočiti kako je po pitanju kontakta najveći broj pozitivnih nalaza bio 2012. godine 23, a najniži je zabilježen 2013. godine 7, Pregledom podataka vezanih za simptome respiratornog sustava, za 2012. i 2013. godinu broj pozitivnih nalaza je podjednak odnosno, nije došlo do značajnih promjena u njihovom porastu ili padu. Međutim, u narednim godinama (2014., 2015. i 2016.) dolazi do porasta u odnosu na prethodne dvije godine. Podatci za imunosupresivno liječenje najveći broj pozitivnih uzoraka imaju u 2016. godini 62, ali moramo uzeti u obzir i da je tada svakako odrađen veći broj analiza. U ostalim godinama broj pozitivnih uzoraka je približno jednak, od 16-20. Po pitanju ostalih dijagnoza, najveći broj pozitivnih analiza bilo je 2016., 42 uzorka. Od 2012.-2014. broj pozitivnih je podjednak, dok se u 2015. bilježi blagi porast koji se nastavlja u 2016. godinu. Dobivena statistička značajnost iznosi $p<0,001$.

Tablica 3. Pojavnost moguće MTB-infekcije u primarnoj zdravstvenoj zaštiti (Domu zdravlja) i odjelima KBCO od 2012. do 2016. godine.

	Broj (%) pozitivnih nalaza						
Odijeli *	**2012.**	**2013.**	**2014.**	**2015.**	**2016.**	**Ukupno**	**p***
DZ	40 (43)	34 (48)	41 (50)	58 (53)	120 (62)	293	0,025
DER	9 (10)	3 (4)	12 (14)	10 (9)	9 (4)	43	0,047
PED	16 (17)	10 (14)	14 (17)	7 (6)	4 (2)	51	0,000
GAS	5 (5)	2 (3)	4 (5)	5 (4)	4 (2)	20	0,506
RIA	3 (3)	11 (16)	1 (1)	7 (6)	9 (5)	31	0,004
ZAR	2 (2)	2 (3)	3 (4)	3 (3)	6 (3)	16	0,984
HE	6 (6)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	8	0,002
PLO	1 (1)	1 (1)	1 (1)	6 (5)	7 (4)	16	0,348
OSTALI	11 (12)	6 (8)	6 (7)	14 (13)	33 (17)	70	0,179
Ukupno	93 (17)	70 (13)	82 (15)	110 (20)	193 (35)	548	

***** DZ = Dom zdravlja; DER = Dermatologija i venerologija; PED = Pedijatrija; GAS = Gastroenterologija; RIA = Reumatologija i imunologija; ZAR = Infektologija; HE = Služba za epidemiologiju; PLO = Pulmologija

Pregledom Tablice 3 moguće je uvidjeti kako je za navedeni period općenito zabilježen najveći broj uzoraka s mogućom MTB-infekcijom u Domu zdravlja, a najmanji broj uzoraka pojavio se kroz isti period na Službi za epidemiologiju. U Domu zdravlja najmanje je pozitivnih uzoraka bilo 2012. godine 40 (43%), od 2013. do 2015. godine broj je pozitivnih uzoraka bio stabilan, dok se u 2016. godini vidi porast broja pozitivnih uzoraka 120 (62%), no treba uzeti u obzir i ukupno veći broj testiranih uzoraka u odnosu na prošle godine. Na Odjelu za dermatologiju i venerologiju najmanje pozitivnih uzoraka dobiveno je 2013. (4 %) i 2016. (4 %) godine a najviše 2014. godine, kada je broj pozitivnih uzoraka iznosio 12 (14 %). Na pedijatriji se može uočiti podjednak broj pozitivnih uzoraka od 2012. 16 (17 %) do 2014. godine 14 (17 %) te značajan pad od 2015. do 2016. (6 % i 2 %) Na gastroenterologiji je mali broj pozitivnih uzoraka, najviše pozitivnih bilo je 2012. godine 5 (5 %) a najmanji broj je uočen 2013. godine 2 pozitivna nalaza (3 %). Odjel za reumatologiju i imunologiju bilježi nizak broj pozitivnih uzoraka, s najmanjim 2014. godine 1 (1 %), no u 2013. godini bilježi značajan rast u u odnosu na ostale godine 11 (16 %). Odjel za infektologiju bilježi najveći broj pozitivnih pacijenata 2016. godine 6 (3 %), a najmanji 2012. i 2013., 2 % i 3%. Služba za epidemiologiju je najviše pozitivnih uzoraka imala 2012. godine 6 (6 %), od 2014. do 2015. nema zabilježenih pozitivnih uzoraka, a 2013. i 2016. godine zabilježen je po jedan slučaj, odnosno, uzorak pozitivan na QFT test. Na Odjelu za pulmologiju je od 2012. do 2014. zabilježen po jedan slučaj, a od 2015. do 2016. može se uočiti porast te broj u 2016. godini iznosi 7 (4 %) pozitivnih nalaza. Po pitanju ostalih odjela, najmanji broj zabilježen je 2013. i 2014. godine 6, a najveći 2016. godine 33. statistčka značajnost uočana je na odijelima epidemilogije, ($p = 0,002$), reumatologije i alergologije ($p = 0,004$). obradom podataka Cochran –armitage trend testom isto je uočen trend porasta na istim odijelima.

Od ukupno 548 (25 %) pozitivnih pacijenata na QFT-Plus test, kod njih 316 (14 %) uzet je neki od uzoraka za mikrobiološku obradu na uzročnik MTB (urin, sputum, aspirat dišnih puteva, pleuralni izljev, aspirat bronha, aspirat želuca) i utvrđena je aktivna infekcija MTB-a (Tablica 4). Pregledom Tablice 4 može se uočiti kako je najmanji postotak aktivne infekcije *M. tuberculosis* dobiven za 2012. godinu i iznosi 4 %, dok je najveći postotak dobiven 2013. godine i iznosi 7 %. Također, 2013. godine uzet je i najmanji broj uzoraka, ukupno 43, dok je primjerice 2016. godine uzeto 113 uzoraka, unutar kojih je 4 % imalo aktivnu infekciju *M. tuberculosis.*

Tablica 4. Prevalencija pacijenata kod kojih je utvrđena aktivna infekcija *M. tuberculosisa* od 2012. do 2016. godine.

Godina	Pozitivni (%)	Negativni (%)	Ukupan broj uzoraka
2012.	2 (4)	52 (96)	54
2013.	3 (7)	40 (93)	43
2014.	3 (6)	45 (94)	48
2015.	3 (5)	55 (95)	58
2016.	5 (4)	108 (96)	113
N*	16 (26)	300 (74)	316

* ukupan broj pacijenata

5. RASPRAVA

Hrvatska pripada zemljama srednje incidencije tuberkuloze s višegodišnjim silaznim trendom pobola. Unatoč činjenici o smanjenju broja oboljelih, još uvijek nije postignuta incidencija ispod 10 novooboljelih na 100 000 stanovnika. Za daljnje smanjenje učestalosti tuberkuloze najvažnije je pravilno provoditi mjere za suzbijanje i nadzor tuberkuloze. Potreban je sustavni pristup u obradi kontakata s ciljem ranog otkrivanja i pravovremenog liječenja pacijenata te otkrivanja, nadzora i provođenja kemoprofilakse osoba s LTBI-om. Primjenjivanje imunodijagnostičkih IGRA-testova zbog svoje visoke specifičnosti (> 97 %) i osjetljivosti (80 - 90 %) pokazalo se kao dobar izbor pri potvrdi bolesti zbog svoje brzine izrade. Još uvijek je zlatni standard pri dijagnostici aktivnog oblika tuberkuloze izravno dokazivanje uzročnika i njegov uzgoj na hranjivim podlogama. Molekularna dijagnostika se u rutini koristi za direktni dokaz *M. tuberculosisa* u uzorku oboljelog, identifikaciji poraslih vrsta, otkrivanje rezistentnih sojeva i genotipizaciju *M. tuberculosisa.* Metoda lančane reakcije polimeraze (PCR) točna je, brza i učinkovita, ali preskupa za uporabu u svim laboratorijima za dokazivanje tuberkuloze (3,6,13,).

Nakon uvođenja IGRA-testa u laboratorij, bilježi se konstantni porast broja uzoraka. Tako je u 2012. godini analizirano 275 uzoraka, dok je u 2016. analiziran 771 uzorak. U ispitivanom razdoblju 2012. - 2016. godine ukupan broj analiziranih uzoraka bio je 2 198. Rezultat pretrage bio je pozitivan u 548 analiza (25 %) gdje je i uočena statistička značajnost, negativan u 1 566 (73 %) i neodrediv u 50 (2 %) analiza. Zastupljenost neodredivih rezultata prema literaturi kreće se 0 - 16 % (22, 23). Pojava neodredivih rezultata povezuje se uz primjenu imunosupresivnih lijekova, malignih bolesti, primarne imunodeficijencije, akutne tuberkuloze, pneumonija, smanjenja broja CD4+ stanica kao i primjena beta-laktamskih antibiotika (24). Najveći broj pozitivnih analiza bilo je u 2016. godini 193 (9 %). Ako uzmemo u obzir da je u toj godini i izveden najveći broj analiza, bilo je za očekivati najviše pozitivnih nalaza. Tijekom pet godina pacijenti su upućivani na QFT-plus pretragu s različitim uputnim dijagnozama. Prema nacionalnim smjernicama (20) najzastupljenije su pretrage uzoraka za pacijente s imunosupresivnom terapijom, odnosno obradom zbog uvođenja biološke terapije protutijelima za čimbenik nekroze tumora-alfa (anti TNF α) kojih je ukupno bilo 679 (31 %) kroz promatrani period. U 333 analiza (16 %) uputna dijagnoza bila je sumnja na TB. Zbog respiratornih smetnji izvršeno je 325 (15 %) analiza, kontakti osoba s oboljelima od TB-a bila je indikacija za

analizu u 190 (9 %) slučajeva, a svega 1 % (16 uzoraka) bilo je s dijagnozom aktivne tuberkuloze. Ukupno je 54 % (293 uzorka) pozitivnih nalaza analizirano iz uzoraka upućenih iz ordinacija primarne medicine, 51 (10 %) pozitivnih uzoraka je s odjela pedijatrije KBC Osijek, njih 70 (13 %) nije imalo naznačeno odjel s kojeg uzorak dolazi, odjel dermatologije KBC-a Osijek imao je 43 (8 %) pozitivne analize, odjel gastroenterologije 20 (4 %), odjel reumatologije i imunologije 31 (6 %), zarazni odjel zastupljen je sa 16 (3 %), a epidemiološka služba ZZJZ Osječko baranjske županije (OBŽ) 8 pozitivnih uzoraka (2 %) kroz pet godina. Statistička značajnost utvrđena je kod odjela za pedijatriju i reumatologiju i imunologiju. Od 548 (25 %) pacijenata pozitivnih na QFT-plus test, kod njih 316 (14 %) je uz vađenje krvi za QFT test uzet i neki od uzoraka za mikrobiološku obradu na uzročnik MTB-a (urin, sputum, aspirat dišnih puteva, pleuralni izljev, aspirat bronha, aspirat želuca). Ne možemo sa sigurnošću reći je li uzorkovanje krvi bilo nakon potvrđene dijagnoze aktivne bolesti ili kod obrade sumnje na TB, ali pozitivan nalaz QFT-plus testa je služio kao dodatna potvrda ili je usmjerio liječenje pacijenta od TB-a prije porasta bacila na podlogama. Zanimljiva je činjenica koja se navodi u literaturi o izloženosti zdravstvenih radnika i njihovom povećanom riziku za infekciju MTB-a. Učestalost latentne tuberkuloze kod zdravstvenih radnika kreće se u nerazvijenim i srednje razvijenim zemljama između 33 - 79 %, a u visokorazvijenim zemljama do 55 % (25, 26). Nažalost, u ovom radu nije se moglo doći do podataka kolika je izloženost zdravstvenih radnika OBŽ-a, ili se taj nadzor ne provodi ili se to u uputnoj dijagnozi ne navodi. Služba za mikrobiologiju s odjelom za dijagnostiku tuberkuloze testiranje QFT-plus testom provodi kod svojih djelatnika upravo zbog činjenice o povećanom riziku od infekcije MTB.

6. ZAKLJUČAK

Istraživanjem od 1. 1. 2012. do 31. 12. 2016. godine ispitana je uloga i korist IGRA-testova u imunodijagnostici tuberkuloze. U tom razdoblju analizirano je ukupno 2 198 uzoraka krvi QFT-plus testom za određivanje razine interferona γ u krvi pacijenata. U 549 (25 %) slučajeva nalaz je bio pozitivan. Negativan nalaz bio je u 1 566 (73 %) i neodrediv u 50 (2 %) analiza.

Statistička značajnost koja je utvrđena kod pozitivnih pacijenata upućenih na testiranje iz KBC-a Osijek, odjel za pedijatriju i odjel za reumatologiju i imunologiju potvrđuje navedene činjenice u literaturi o većem riziku oboljenja od tuberkuloze kod djece i aktiviranju LTBI-a kod imunokompromitiranih pacijenata.

Kod 316 (14 %) pacijenata kod kojih je bio pozitivan QFT-plus test potvrđena je aktivna tuberkuloza uzorkovanjem nekog od uzoraka za kultivaciju *M. tuberculosis*. Istraživanjem nismo mogli utvrditi kada je uzorak krvi oduzet pacijentu, prije potvrđene aktivne tuberkuloze ili nakon potvrđene aktivne tuberkuloze. Poznata je činjenica da pozitivnim IGRA-testom kod pacijenta ne možemo razlikovati aktivnu od latentne tuberkuloze bez radiološke, izravne mikrobiološke obrade, kao i ostalih dijagnostičkih postupaka (14). U ovim slučajevima pozitivan test QFT-plus testiranja pratio je kliničku sliku pacijenta i pridonio liječenju i ozdravljenju pacijenta.

Kao zaključak istraživanja možemo reći da imunodijagnostika tuberkuloze ima svoju ulogu u dijagnostici i ranom otkrivanju tuberkuloze. Za dokazivanje tuberkuloze mora se izvoditi u kombinaciji sa svim standardnim i prema nacionalnom programu utvrđenim dijagnostičkim postupcima. IGRA-testovi svakako svoj doprinos imaju kod potvrde latentne tuberkulozne infekcije (LTBI) i kao dobar pokazatelj reakcije osoba koje su bile u kontaktu s oboljelima od aktivne tuberkuloze kao i kod osoba koje su pod povećanim rizikom od razvoja LTBI-a u aktivnu bolest.

7. SAŽETAK

Uvod: Tuberkuloza je još uvijek jedan od vodećih javnozdravstvenih problema unatoč činjenici da danas imamo dobre metode prevencije, dijagnoze i liječenja kao i nacionalni program smjernica za suzbijanje TB-a. Liječenje i aktivno traženje osoba s LTBI-om put je prema iskorjenjivanju bolesti.

Ciljevi: 1. Ispitati ulogu i korist IGRA-testova (eng. interferon gamma release assay) u dokazivanju tuberkuloze, 2. Prikazati najvažnije epidemiološke karakteristike infekcije *M. tuberculosis*, 3. Ispitati incidenciju i prevalenciju infekcije *M. tuberculosis* koristeći imunoesej kvantiferon testa, 4. Prikazati raspodjelu bolesnika prema uputnoj dijagnozi, obiteljskom kontaktu i dodatnim faktorima rizika, 5. Prikazati kod kojih pacijenata je potvrđena aktivna infekcija *M. tuberculosis*.

Ispitanici i metode: izvršena je retrospektivna analiza rezultata Quantiferon-TB Gold plus (QFT-plus) testiranja provedenih u Zavodu za javno zdravstvo Osječko baranjske županije (ZZJZ OBŽ), služba za mikrobiologiju, odjel za serološku dijagnostiku. U istraživanje su uključeni uzorci bolesnika upućenih od liječnika primarne zdravstvene zaštite, specijalista epidemilogije ili odjelnih liječnika Kliničkog bolničkog centra (KBC) Osijek.

Rezultati: U petogodišnjem razdoblju (2012. - 2016.) na odjelu je primjenom QFT-plus testa analizirano 2 198 uzoraka krvi pacijenata koji su upućeni na službu za mikrobiologiju ZZJZ OBŽ-a. Rezultati analize bili su pozitivni u 549 (25 %), negativni u 1 566 (73 %) i neodredivi u 50 (2 %) izvršenih pretraga. Najzastupljenije su pretrage uzoraka za pacijente s imunosupresivnom terapijom kojih je ukupno bilo 679 (31 %) kroz promatrani period. Ukupno 54 % (293 uzorka) pozitivnih nalaza je analizirano iz uzoraka upućenih iz ordinacija primarne medicine, 51 (10 %) pozitivnih uzoraka je s odjela pedijatrije KBC Osijek, odjel dermatologije imao je 43 (8 %), odjel gastroenterologije 20 (4 %), odjel reumatologije i imunologije 31 (6 %), zarazni odjel 16 (3 %) pozitivnih uzoraka.

Zaključak: Primjena *in vitro* IGRA QFT-plus testa važna je u imunodijagnostici tuberkuloze. Značajnu ulogu ima u otkrivanju LTBI-a gdje uz standardne metode pridonosi u prevenciji tuberkuloze, osobito kod rizičnih skupina.

Ključne riječi: latentna infekcija; testovi otpuštanja interferona gama; tuberkuloza

8. SUMMARY

Introduction: Tuberculosis is still one of the leading public health problems despite the prevention measures, diagnosis and treatment methods as well as the national TB suppression program. Treating and actively seeking people with LTBI is the path to eradicating the disease.

Objectives: 1. To investigate the role and the benefit of IGRA (Interferon gamma release assay) tests in screening for tuberculosis, 2. To show the most prominent epidemiological characteristics of *M. tuberculosis* infection, 3. To investigate the incidence and prevalence of *M. tuberculosis* infection using the QFT-Plus test. 4. To show the distribution of patients according to the referral diagnosis, family contact and additional risk factors, 5. To record the patients with confirmed active *M. tuberculosis* infection.

Participants and Methods: A retrospective analysis of Quantiferon-TB Gold plus (QFT-Plus) test results was performed at the Institute of Public Health of the Osijek-Baranja County (IPH OBC), the Department of Microbiology, the Serological Diagnostics Department. The study included samples from patients referred by primary health care practitioners, epidemiologist specialists or departmental doctors of the Clinical Hospital Center (CHC) Osijek.

Results: During the five-year period (2012 – 2016), 2 198 blood samples were analyzed at the IPH OBC microbiology department using the QFT-Plus test. The results of the analysis were positive in 549 (25%), negative in 1 566 (73%) and unclear in 50 (2%) samples. The most frequent tests for patients with immunosuppressive therapy totaled 679 (31%) for a five-year period. A total of 54% (293 samples) of positive findings were analyzed from samples sent by primary health care specialists, 51 (10%) of positive samples were from the Department of Pediatrics, 43 (8%) from the Department of Dermatology, 20 (4%) from the Department of Gastroenterology, 31 (6%) from the Department of Rheumatology and 16 (3%) from The Department of Infectious Diseases.

Conclusion: The use of *in vitro* IGF QFT-plus test is important in immunodiagnostics of tuberculosis. It has a significant role in detecting LTBI where, along with the standard methods, it contributes to the prevention of tuberculosis, especially in risk groups.

Key words: latent infection; interferon-gamma release tests; tuberculosis

9. LITERATURA

1. Daniel TM. The history of tuberculosis. Respir Med 2006; 100(11): 1862–1870.

2. Snowden FM. Emerging and reemerging diseases: a historical perspective.

Immunological Reviews 2008; 225: 9–26.

3. WHO Global tuberculosis report 2017. World Health Organization: Geneva, 2017

http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/

4. Jurčev-Savičević A, Katalinić-Janković V, Gjenero-Margan I, Simunović A, Vidić D, Gunjaca J et al. Epidemiological patterns of tuberculosis in Croatia in the period 1996-2005. Coll Antropol 2011;2:523-8.

5. Čorak D, Tićac B, Manestar D, Linšak Ž, Malvić G, Tomić-Linšak D et al.Tuberculosis in Primorsko-goranska County from 2010-2012 – an epidemiological view. Medicina Fluminensis 2014;50:206-12.

6. Tićac B, Mahmić J, Barac S et al. Primjena testa otpuštanja interferona gama (IGRA) u imunodijagnostici tuberkuloze. Medicina Fluminensis 2015;51:296-304.

7. Uputa za upotrebu proizvoda QuantiFERON – TB Gold Plus (QFT – Plus) ELISA

8. Katalinić-Janković V (2013) Mikobakterije. U: Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada Zagreb, 161-162

9. Crofton J, Horne N, Miller F,. Clinical tuberculosis, 2th edition. Ibis grafika Zagreb; 2001

10. Katalinić-Janković V (2013) Mikobakterije. U: Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada Zagreb, 160-162

11. Crofton J, Horne N, Miller F,. Clinical tuberculosis, 2th edition. Ibis grafika Zagreb; 2001

12. Majić Milotić D, Popović Grle S, Ktalinić Janković V, Šimunović A. Usporedba nove i stare dijagnostike latentne tuberkulozne infekcije (Quanti FERON i PPD). Liječ vjesn 2011;133:396-402.

13. Katalinić-Janković V (2013) Mikobakterije. U: Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada Zagreb, 161-162

14. Uputa za upotrebu proizvoda QuantiFERON – TB Gold Plus (QFT – Plus) ELISA

15. Crofton J, Horne N, Miller F,. Clinical tuberculosis, 2th edition. Ibis grafika Zagreb; 2001

16. Katalinić-Janković V (2013) Mikobakterije. U: Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Medicinska naklada Zagreb, 160-162

17. Tortora G J, FunkeB R, Case C L. - 10th ed. Microbiology: an introduction. Pearson

Education, Inc.; 2010

18. NagataT, KoideY. Understanding Tuberculosis - Analyzing the Origin of

Mycobacterium Tuberculosis Pathogenicity, Dr. Pere-Joan Cardona (Ed.), InTech, 2012

19. Naputak za suzbijanje i sprečavanje tuberkuloze, Republika Hrvatska, Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, 2 izdanje. Uvez d.o.o., Zagreb; 2010

20. Hrvatsko reumatološko društvo, http://www.reumatologija.org/Preporuke.aspx?link=Smjernice_za_TB_2008

21. Podaci o tuberkulozi u Europi i Hrvatskoj Hrvatski zavod za javno zdravstvo,

https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-zarazne-bolesti/podaci-o-tuberkulozi-u-europi-i-hrvatskoj

22. Bergamini BM, Losi M, Vaienti F, Damico R, Meccugni B, Meacci M et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. Pediatrics 2009;123:419-24

23. Pavić I, Topić RZ, Raos M, Aberle N, Dodig S. Interferon-γ release assay for the diagnosis of latent tuberculosis in children younger than 5 years of age. Pediatr Infect Dis J 2011;30:866-70.

24. Čorak D, Tićac B, Manestar D, Linšak Ž, Malvić G, Tomić-Linšak D et al.Tuberculosis in Primorsko-goranska County from 2010-2012 – an epidemiological view. Medicina Fluminensis 2014;50:206-12.

25. Joshi R, Reingold AL, Menzies D, Pai M. Tuberculosis among health-care workwers in low- and middle-income countries: a systematic review. PloS Med 2006;3:2376-91

26. Seidler A, Nienhaus A, Diel R. Review of epidemiological studies on the occupational risk of tuberculosis in low-incidence areas. Respiration 2005;72:431-46.

27. Surveillance Atlas Infectious Diseases,
http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Instance=GeneralAtlas

10. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Marija Zelić

Datum rođenja: 2. 9. 1979.

Mjesto stanovanja: Petrijevci,

Kontakt broj: 098 936 3137

Mail adresa: merizelic.mz@gmail.com

Zaposlenje: Zavod za javno zdravstvo Osječko baranjske županije, Služba za mikrobiologiju Osnovna škola: Osnovna škola „Petrijevci“, (1994.).

Srednja škola: Srednja Medicinska škola Osijek, smjer zdravstveno laboratorijski tehničar, (1998.).

Fakultet: Preddiplomski sveučilišni fakultet medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek (2014.).

Diplomski sveučilišni fakultet medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek, upisan 2015. godine.