

PERKEMBANGAN PEMERIKSAAN *INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAY (IGRA)* DENGAN METODE T-SPOT.TB SERTA ASPEK KLINIS PELAPORAN HASIL

Juliani Dewi

Spesialis Patologi Klinis, Laboratorium Rampal Diagnostika - Malang

ABSTRAK

Screening dan pengobatan *latent tuberculosis infection* (LTBI) memainkan peranan penting dalam mengontrol *tuberculosis* (TB). *Centers for Disease Prevention and Control* (CDC) mengingatkan adanya risiko transmisi TB bagi para petugas kesehatan dan menganjurkan setiap pelayanan kesehatan memiliki program kontrol infeksi TB. CDC merekomendasikan penggunaan pemeriksaan *Interferon-Gamma Release Assay* (IGRAs) pada orang yang memiliki riwayat kontak dengan penderita *atypical mycobacteria*, pemeriksaan selama kehamilan, *screening* petugas kesehatan, serta evaluasi serial infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Saat ini tersedia kit komersial untuk pemeriksaan IGRA yaitu QFT dan T-SPOT.TB. Penyebutan *indeterminate* digunakan pada QFT sebagai nilai *borderline*, sedangkan pada T-SPOT.TB digunakan untuk hasil *invalid*. Hanya T-SPOT.TB yang menggunakan zona *borderline* yang didesain untuk mengurangi ketidakpastian hasil pada rentang yang sempit di sekitar titik *cut-off* tunggal. Masih belum ada rekomendasi terkait penggunaan pemeriksaan IGRA untuk memantau keberhasilan terapi.

Kata kunci: LTBI, IGRA, QFT, T-SPOT.TB, *indeterminate*, *borderline*

ABSTRACT

Latent tuberculosis infection (LTBI) screening and its treatment play important role in controlling tuberculosis (TB). Healthcare workers are known to be at high risk of latent TB infection. CDC suggests that every healthcare service should have TB controlling program. CDC recommends IGRA test for people who have history of contact with atypical mycobacteria patients, screening in pregnancy, healthcare worker screening, and serial evaluation for *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) infection.

IGRA test kits that are commercially available are QFT and T-SPOT.TB. Term "indeterminate" is used as a borderline value in QFT, but in T-SPOT.TB, it means the result is invalid. Term "borderline zone" is used in T-SPOT.TB, but not in QFT. T-SPOT.TB uses borderline zone which is designed to reduce uncertainty result in narrow range around single cut-off point. There are still no recommendations to use IGRA test for therapeutic monitoring.

Keywords: LTBI, IGRA, QFT, T-SPOT.TB, *indeterminate*, *borderline*

PENDAHULUAN

TB (*tuberculosis*) adalah salah satu dari 10 penyebab utama kematian di dunia serta penyebab paling banyak kematian dari kasus infeksi (melebihi HIV/AIDS). Pada tahun 2017, TB

menyebabkan sekitar 1,3 juta kematian pada penderita non-HIV dan 300.000 kematian pada penderita HIV. Sekitar 10 juta orang menderita penyakit TB di tahun 2017, sebagian di antaranya adalah anak-anak. Dari semua negara dan kelompok umur, 90% di antaranya adalah orang dewasa (berusia lebih dari 15 tahun), 9% merupakan penderita HIV (72% terdapat di Afrika) dan sisanya tersebar di 8 negara, termasuk Indonesia (8%).¹

Diagnosis TB merupakan sebuah tantangan, terutama di negara berkembang. Standar diagnostik yang pada umumnya digunakan berupa pemeriksaan basil tahan asam dengan menggunakan mikroskop memiliki nilai sensitivitas yang rendah. Pemeriksaan kultur kuman TB memerlukan waktu yang sangat lama, sementara pemeriksaan histopatologi relatif mahal dan invasif, sehingga jarang digunakan. Seluruh metode itu juga memiliki keterbatasan untuk mendiagnosis TB ekstrapulmonal. *Tuberculin Skin Test* (TST) juga telah digunakan secara luas untuk prosedur diagnostik. Meskipun prosedurnya relatif sederhana dan murah, spesifitas TST dipengaruhi oleh reaksi silang dengan vaksin *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) dan mikobakteria nontuberkulosa. Sensitivitas TST tidak stabil, terutama pada populasi dengan status imunitas yang rendah.² Qin dkk dalam penelitiannya merekomendasikan pemeriksaan T-SPOT.TB dibandingkan TST untuk penapisan *Latent Tuberculosis Infection* (LTBI) dan *Active Tuberculosis* (ATB) pada pasien dengan keganasan hematologi serta resipien transplantasi sel punca hematopoietik.³

Latent Tuberculosis Infection (LTBI) dapat dilihat dari hasil TST positif atau *Interferon-Gamma Release Assay* (IGRA) positif, namun foto rontgen toraks terlihat normal dan pasien tidak menunjukkan gejala ATB. Orang-orang yang memiliki riwayat kontak dengan pasien ATB dalam kurun waktu 2 tahun menjadi kelompok berisiko tinggi mengalami LTBI yang dapat berkembang menjadi ATB dan kelompok ini direkomendasikan untuk menjalani TST atau pemeriksaan IGRA untuk memulai terapi profilaksis.⁴

Penapisan dan pengobatan LTBI memainkan peranan penting dalam mengontrol keseluruhan infeksi TB. Perkembangan LTBI menjadi ATB lebih banyak terjadi pada kelompok orang lanjut usia dan pasien dengan status imunitas rendah, di mana LTBI tidak terdiagnosis, dan pasien tidak menerima terapi preventif. Frontini dkk mengatakan bahwa perkembangan LTBI menjadi ATB lebih sering terjadi pada pasien dengan status perawatan kesehatan yang buruk, kepatuhan minum obat antiretroviral pada pasien HIV yang rendah, serta terapi profilaksis pada pasien LTBI yang tidak teratur.⁵

Diagnosis akurat infeksi TB sangat penting dalam pengendalian penyakit ini dan sebagai bagian dalam usaha eliminasi penyakit pada jangka panjang. Selain itu, diagnosis yang akurat juga dapat membantu mencegah berkembangnya LTBI menjadi ATB. Hingga saat ini, belum terdapat tes diagnostik yang pasti untuk menegakkan diagnosis infeksi TB laten (LTBI). Oleh karena

itu, penapisan LTBI saat ini banyak mengandalkan kombinasi pemeriksaan laboratorium *in vivo* dan *in vitro*, riwayat infeksi TB, pengamatan radiologis, gejala klinis, serta melihat faktor risiko individual terkait adanya paparan.^{3,6}

Tersedianya kit komersial *interferon-gamma (IFN- γ) release assays* (IGRA) lebih dari satu dekade terakhir ini memungkinkan diagnosis LTBI semakin mudah dan tepat dibandingkan dengan TST. IGRA dikembangkan untuk mengatasi kelemahan TST, termasuk di antaranya kelemahan dalam hal spesifitas (terutama pada pasien yang telah menerima vaksin BCG), kebutuhan untuk datang 2 kali ke klinik, ketidakakuratan, serta bias dalam pembacaan hasil.⁶

Terdapat 2 jenis kit komersial untuk pemeriksaan IGRA, yaitu QuantiFERON-TB Gold (QFT, Celestis Ltd, Victoria, Australia) dan T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, UK). Perangkat ini berfungsi untuk mendeteksi secara *in vitro* kadar IFN- γ yang dilepaskan oleh sel T sebagai respons terhadap antigen spesifik MTB (*Mycobacterium tuberculosis*) sehingga dapat digunakan untuk mendiagnosis infeksi tuberkulosis (TB).⁷ Kadar IGRA dapat digunakan untuk mengukur respons imun adaptif terhadap infeksi TB dan variasi biologisnya besar pada setiap individu.⁶

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) mengingatkan bahwa transmisi TB adalah risiko bagi petugas kesehatan dan menganjurkan setiap pelayanan kesehatan untuk memiliki program kontrol infeksi TB. Semua tenaga kesehatan harus menjalani pemeriksaan *screening* TB serial untuk menentukan klasifikasi risiko. Tenaga kesehatan yang bekerja pada sebuah institusi memiliki beragam situasi dan setiap institusi memiliki kebijakan masing-masing untuk melakukan pemeriksaan.^{6,8}

CDC dan *American Thoracic Society* (ATS) belum lama ini mempublikasikan panduan baru untuk *screening* TB. Panduan itu dikeluarkan sebagai respons terhadap meningkatnya kebutuhan untuk dapat mengidentifikasi TB pada penderita terinfeksi, bahkan di negara dengan kejadian TB yang rendah seperti Amerika Serikat, serta sebagai usaha untuk mendukung target *World Health Organization* (WHO) untuk mengeliminasi TB di dunia pada tahun 2030. CDC merekomendasikan penggunaan pemeriksaan IGRA pada orang yang memiliki riwayat kontak dengan penderita ATB, *screening* selama kehamilan, *screening* pekerja kesehatan, serta evaluasi serial infeksi MTB.^{1,8,9,10,11}

CDC menyebutkan bahwa data penggunaan IGRA untuk anak-anak di bawah usia 5 tahun, orang yang baru saja terpapar MTB, orang dengan *immunocompromised*, dan pemeriksaan IGRA serial masih terbatas. Selain itu, pemeriksaan IGRA memang masih tergolong pemeriksaan yang mahal.⁸

INTERFERON-GAMMA (IFN- γ) RELEASE ASSAYS

Sebagai metode imunodiagnostik infeksi TB yang baru, saat

ini IGRA digunakan secara luas dan berkembang sebagai tes imunodiagnostik yang sensitif, spesifik, dan cepat untuk mendiagnosis adanya infeksi TB.¹² Karena IGRA memiliki sensitivitas yang tinggi, pemeriksaan ini baik jika digunakan untuk keperluan *screening* infeksi TB. Bila hasil tes IGRA negatif, maka kemungkinan infeksi TB dapat disingkirkan, sehingga pemberian terapi yang tidak perlu dapat dihindari. Di Cina, hampir 20% pasien bukan TB diterapi dengan pengobatan TB sementara 25% pasien dengan pleuritis TB tidak terdiagnosis.¹³

IGRA mendeteksi interferon- γ yang disekresi oleh sel T sebagai respons terhadap antigen spesifik MTB (*Mycobacterium tuberculosis*), yaitu *Early Secretory Antigenic Target-6* (ESAT-6) 6kD dan *Culture Filtrate Protein-10* (CFP-10) 10 kD. Penelitian membuktikan bahwa IGRA berkorelasi baik dengan waktu dan intensitas paparan pada pasien TB aktif dibandingkan TST, serta tidak terpengaruh oleh status vaksinasi BCG.² Dua kit komersial yang tersedia saat ini adalah QuantiFERON-TB Gold (QFT, Celestis Ltd, Victoria, Australia) dan T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, UK).

Metode yang digunakan pada kit QFT adalah *whole blood enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) yang telah direkomendasikan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat sebagai alat diagnostik. Sementara itu, metode yang digunakan pada kit T-SPOT.TB adalah *enzyme-linked immunospot* (ELISPOT) assay yang direkomendasikan sebagai tes diagnostik di Eropa dan saat ini juga telah direkomendasikan oleh FDA.⁷ T-SPOT.TB juga telah mendapatkan sertifikasi dari *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA).⁶

Kedua kit ini menggunakan antigen yang sama, yaitu ESAT6 dan CFP-10. Keduanya juga membutuhkan waktu inkubasi yang sama yaitu semalam (*overnight*). Perbedaan utama antara keduanya terletak pada teknik deteksi IFN- γ , yaitu ELISA pada QFT dan ELISPOT pada T-SPOT.TB, serta pada spesimen yang digunakan. Spesimen pada QFT berupa *whole blood*, sementara T-SPOT.TB menggunakan sel mononuklear. Tes QFT terlihat lebih nyaman dan mudah dalam pengerjaan daripada T-SPOT.TB karena QFT menggunakan spesimen *whole blood*. Metode ELISA lebih umum digunakan dan relatif lebih sederhana dibandingkan dengan metode ELISPOT. Walaupun demikian, metode ELISPOT lebih sensitif untuk mendeteksi sel yang memproduksi IFN- γ .⁷

Pada T-SPOT.TB, IFN- γ ditangkap oleh antibodi spesifik pada permukaan membran, dan setelah penambahan substrat, terlihat sebagai titik-titik (*spot*). Jumlah titik-titik ini menggambarkan jumlah limfosit T yang tersensitisasi di dalam sampel. Hasil T-SPOT.TB dilaporkan sebagai positif, negatif, *invalid*, atau *borderline*, tergantung pada jumlah titik yang diproduksi. Dengan menggunakan *Receiver Operator Curve* (ROC), Rego dkk menentukan spesifitas maksimal dan sensitivitas optimal tes ini pada jumlah 6 titik, setelah dikurangi jumlah titik pada kontrol

negatif. Titik ini digunakan untuk titik *cut-off* antara hasil positif dan hasil negatif. Zona *borderline* dibuat dengan menambah ± 1 titik dari nilai *cut-off*. Oleh karena itu, hasil positif adalah jumlah titik ≥ 8 setelah dikurangi jumlah titik pada kontrol negatif. Hasil negatif adalah bila jumlah titik ≤ 4 setelah dikurangi jumlah titik pada kontrol negatif. Hasil *invalid* ditandai dengan jumlah titik pada kontrol negatif lebih dari 10 titik, atau kontrol positif kurang dari 20 titik.⁹

KELEMAHAN T-SPOT.TB

T-SPOT.TB sebenarnya bukan merupakan suatu alat diagnosis yang sempurna untuk mendiagnosis ATB karena terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi hasil pemeriksaannya. Penelitian Zhang dkk menunjukkan bahwa riwayat TB atau gambaran radiologis yang menunjukkan adanya infeksi TB sebelumnya secara independen merupakan faktor risiko yang memengaruhi spesifitas pemeriksaan IGRA. Hal ini membuktikan bahwa reaksi sel T spesifik masih bertahan setelah sembuh dari ATB. Umur dan pemberian obat imunosupresan / *glucocorticoid* juga secara signifikan memengaruhi sensitivitas T-SPOT.TB. Zhang menemukan bahwa jumlah limfosit juga berpengaruh pada sensitivitas T-SPOT.TB dalam mendiagnosis ATB. Zhang menemukan bahwa hasil T-SPOT.TB akan positif bila jumlah limfosit pada penderita TB tersebut lebih dari 1500 sel/mm³.² Demikian juga pada penelitian Komiya dkk di Jepang, yang menunjukkan penurunan sensitivitas secara signifikan dengan adanya penurunan jumlah limfosit pada darah tepi pasien ATB pulmonal positif mikrobiologis. Hasil T-SPOT.TB pasien ATB pulmonal negatif bila jumlah limfosit kurang dari 500 sel/mm³.¹²

Walaupun demikian, penelitian Zhang menunjukkan bahwa *Negative Predictive Value* (NPV) pemeriksaan ini tergolong tinggi (91.2%), yang mengindikasikan bahwa hasil T-SPOT.TB negatif mampu digunakan untuk menyingkirkan diagnosis ATB. Pada daerah endemis, infeksi TB seringkali menyebabkan demam yang tidak diketahui sebabnya dan sering membutuhkan diagnosis banding. Penelitian menunjukkan bahwa 21,8-24,8% pasien yang mengalami *Febris Unknown Origin* (FUO) per tahun akhirnya didiagnosis dengan ATB dengan rata-rata waktu diagnosis 19 minggu. Oleh karena itu, hasil T-SPOT.TB negatif merupakan jalan yang efisien untuk menyingkirkan diagnosis ATB pada beberapa pasien, sehingga dapat mencegah pemberian obat anti-TB yang tidak perlu dan menghindari efek samping dari penggunaan obat-obat tersebut.²

Yang dkk memaparkan beberapa faktor risiko yang dapat menyebabkan hasil negatif palsu. Peningkatan umur merupakan salah satu faktor risiko terjadinya hasil T-SPOT.TB negatif palsu pada pasien ATB. Jumlah CD8+ yang lebih tinggi berkorelasi dengan penurunan angka kejadian hasil tes negatif palsu. Hal ini membuktikan bahwa respons sel T CD8+ lebih kuat pada pasien-pasien dengan ATB. Jumlah CD3+, CD4+, dan rasio CD4+/CD8+ ternyata tidak berkorelasi serupa. Jadi, sel T CD8+ memainkan

peranan yang lebih signifikan pada infeksi *M. tuberculosis*.¹⁴

Pada penelitian Yang dkk hasil negatif pada pemeriksaan BTA sputum dan kultur mikobakteria merupakan faktor risiko pula untuk terjadinya hasil T-SPOT.TB negatif palsu. Hal ini menunjukkan bahwa infeksi TB yang lebih berat berhubungan dengan respons imun yang lebih besar. Disebutkan pula pada penelitian tersebut bahwa TB ekstrapulmonal juga merupakan faktor risiko terjadinya hasil tes T-SPOT.TB negatif palsu, sedangkan diabetes melitus, limfopenia, peningkatan kadar *C-reactive protein* (CRP) dan *marker* inflamasi lain, serta penyakit keganasan, tidak memengaruhi terjadinya hasil tes T-SPOT.TB negatif palsu.¹⁴

Penelitian Gao dkk menyebutkan bahwa IGRA memiliki keterbatasan nilai diagnostik untuk penyaring *Extrapulmonary Tuberculosis* (EPTB), terutama di negara dengan pendapatan rendah atau menengah. Status imun pasien tidak memengaruhi akurasi diagnostik IGRA pada EPTB. Dikatakan oleh Gao, pemeriksaan IGRA tergolong buruk sebagai alat diagnostik, menghabiskan waktu, dan mahal. Selain itu, pemeriksaan IGRA untuk memantau keberhasilan terapi (perubahan dari positif menjadi negatif) tidak memperlihatkan perubahan yang signifikan. Dikatakan juga bahwa pemeriksaan IGRA serial terbatas penggunaannya pada anak-anak yang mendapatkan pengobatan anti-TB.¹³

Sementara itu, Zhu dkk membuktikan bahwa T-SPOT.TB memiliki superioritas dalam diagnosis ATB pada populasi dengan risiko rendah infeksi TB, dengan sensitivitas sebesar 85,64% dan spesifitas sebesar 91,76%. Sedangkan pada populasi dengan risiko tinggi infeksi TB, terjadi penurunan sensitivitas dan spesifitas (sensitivitas 85,64% dan spesifitas 66,04%). Hal ini disebabkan karena interferensi tingginya insiden infeksi LTBI. Dalam kondisi ini, nilai prediktif negatif lebih baik daripada nilai prediktif positifnya. Sensitivitas T-SPOT.TB untuk diagnosa ATB pada kelompok dengan hasil BTA sputum positif lebih tinggi secara signifikan daripada kelompok dengan hasil BTA sputum negatif. Zhu berpendapat bahwa jumlah kuman TB memengaruhi hasil pemeriksaan dengan T-SPOT.TB. Sel T spesifik RD1 memproduksi IFN- γ yang secara langsung berhubungan dengan *bacterial load* pada pasien yang sedang mendapatkan terapi TB.¹⁵

INDETERMINATE

Kobashi dkk membuktikan pentingnya karakteristik klinis yang dapat menyebabkan hasil *indeterminate*, terutama pada metode QFT. Karakteristik klinis tersebut meliputi usia lanjut dan penyakit nonrespiratori yang mendapatkan terapi immunosupresan. Temuan laboratorium berupa penurunan jumlah limfosit, termasuk limfosit CD4, atau penurunan kadar protein serum, termasuk kadar albumin serum, dapat secara signifikan memengaruhi risiko terjadinya hasil *indeterminate* pada metode QFT.⁷ Sedangkan pada metode T-SPOT.TB, hasil *indeterminate* dapat diartikan juga sebagai hasil *invalid*, berbeda dengan pelaporan pada metode QFT, di mana penyebutan *indeterminate* dikonotasikan sebagai hasil *borderline*.

Hasil *indeterminate* (*invalid*) pada metode T-SPOT.TB dapat terjadi karena 3 hal di bawah ini:

1. Kurangnya respons mitogen kontrol positif.
2. Adanya kontaminan nonspesifik yang ikut terwarnai di dalam *well*.
3. Adanya zat nonspesifik interferon- γ yang dilepaskan oleh sel mononuklear di dalam *well* (menghasilkan *spot* pada kontrol negatif).⁷

Efek-efek ini dapat dipengaruhi oleh beberapa hal berikut:

1. Efek sistem imun pasien yang dapat menyebabkan lemahnya respons pada mitogen kontrol positif sehingga kurang banyak menghasilkan *spot* sebagai kontrol positif.
2. Kualitas sampel pasien yang menurun karena transportasi yang dapat menyebabkan viabilitas sel T dalam sampel menurun.
3. Kesalahan teknis dalam pengerjaan oleh personil laboratorium.

Bukti bahwa respons *indeterminate* ini tidak membaik pada semua sampel yang diperiksa ulang menunjukkan bahwa penyebab utama terjadinya hasil *indeterminate* adalah karena efek dari sistem imun pasien. Pengaruh dari sistem imun pasien ini juga termasuk penurunan fungsi sel-sel mononuklear dalam memproduksi bermacam-macam sitokin lebih jarang daripada menurunnya jumlah sel-sel mononuklear. Hal ini dibuktikan ketika dua macam kit ini memperlihatkan hasil *indeterminate* pada kegagalan kontrol positif.⁷

Karakteristik pasien yang memperlihatkan hasil *indeterminate* pada kedua kit ini seringkali adalah pasien lanjut usia atau pasien dengan penyakit parah seperti penyakit keganasan atau pasien yang sedang menjalani pengobatan dengan obat immunosupresan.⁷ Walaupun demikian, ternyata Frontini dkk dalam penelitiannya menemukan bahwa hasil T-SPOT.TB tidak tergantung pada penekanan status imun pasien dengan HIV.⁵

BORDERLINE

Pada prinsipnya, pemeriksaan IGRA mengukur jumlah sel yang memproduksi *interferon-gamma* (IFN- γ). Secara *in vitro*, sel T distimulasi dengan antigen spesifik TB. Interpretasi tes dapat berubah antara negatif dan positif dengan perubahan kecil pada penghitungan sekitar nilai tunggal *cut-off*. Untuk mengidentifikasi orang-orang yang terinfeksi TB secara lebih akurat, tes T-SPOT.TB (Oxford Immunotec Ltd., Oxford UK) memasukkan zona *borderline*. Pada pemeriksaan IGRA, hanya T-SPOT.TB yang menggunakan zona *borderline* yang didesain untuk meningkatkan batas jelas antara hasil positif dan negatif. Zona *borderline* ini mengurangi ketidakpastian hasil pada rentang yang sempit di sekitar titik *cut-off* tunggal.⁹

Oxford Diagnostic Laboratories (ODL), suatu divisi dari Oxford Immunotec, yang telah disertifikasi oleh CLIA dan diakreditasi oleh CAP, mengerjakan lebih dari 800.000 tes T-SPOT.TB per tahunnya. Mereka secara unik dan ekstensif memiliki hasil tes yang cukup untuk meneliti kegunaan zona *borderline* untuk mengurangi hasil positif dan negatif palsu akibat nilai titik *cut-off* tunggal.⁹

Analisis dari semua data yang dikumpulkan di Laboratorium Sentral Oxford Immunotec selama 10 bulan mengindikasikan bahwa >93% dari hasil pemeriksaan T-SPOT.TB adalah negatif, 4% positif, 1,8% *borderline*, dan 0,6% *invalid*. Banyaknya jumlah hasil tes negatif diperkirakan karena Amerika Serikat adalah negara dengan kejadian TB yang rendah. Hasil tes positif juga diperkirakan sebagai hasil *screening* TB untuk kelompok berisiko tinggi sesuai dengan perkiraan CDC sebesar 3% dari rata-rata penduduk Amerika.⁹

Hasil *borderline* harus diikuti dengan pengulangan tes menggunakan spesimen baru. Dengan cara demikian T-SPOT.TB memperlihatkan sensitivitas dan spesifitas lebih dari 95%. Penelitian King dkk sebelumnya membuktikan bahwa 79,8% dari hasil *borderline* akan menjadi positif atau negatif pada pengulangan tes. Karena 23% dari hasil *borderline* menjadi positif setelah pemeriksaan diulang, maka menjadi sangat penting untuk menetapkan kategori *borderline*. Penelitian tersebut menyarankan untuk tidak menggunakan metode yang memiliki spesifitas kurang dari 98,6% untuk pemeriksaan *screening* tenaga kesehatan. Metode T-SPOT.TB dinyatakan akurat dan dapat dipercaya sebagai metode pemeriksaan *screening* infeksi TB pada tenaga kesehatan.⁶

Sebagian besar pengulangan tes pada kasus *borderline* menjadi negatif sebesar 59%, menjadi positif sebesar 20%, dan 20% tetap menunjukkan hasil *borderline*. Faktor yang berpotensi menyebabkan hasil tes tetap *borderline* tidak sepenuhnya dimengerti. Bervariasinya respons imun terhadap paparan *Mycobacterium* pada kadar yang rendah dapat menghasilkan hasil tes di sekitar titik *cut-off*. Konsep ini didukung oleh tingginya hasil positif pada pengulangan tes yang *borderline* tinggi.⁹

Hasil pengulangan tes yang negatif dapat dipengaruhi oleh faktor lain seperti infeksi TB sementara, infeksi virus atau bakteri lain, bermacam-macam pengobatan, maupun variabilitas pemeriksaan. Variabilitas tes *intra-assay* menunjukkan koefisien variasi 3,64-5,76%, dan variabilitas *inter-assay* untuk penghitungan titik-titik hasil tes di dekat titik *cut-off* menunjukkan koefisien variasi sebesar 24,95%. Hasil tes *borderline* yang diperiksa ulang dalam 7 hari dan tetap terbaca *borderline* menunjukkan variabilitas penghitungan titik dekat dengan jumlah *cut-off* dengan koefisien variasi sebesar 26,9%.⁹

Kategori *borderline* terbagi ke dalam 3 kelompok jumlah titik; *low borderline* (5 titik), *borderline at the cut-off* (6 titik), dan *high borderline* (7 titik). Pada pengulangan tes, hasil sesuai dengan hipotesis, yaitu *low borderline* akan menjadi negatif pada pengulangan tes, dan *high borderline* mayoritas akan menjadi positif. Pada penelitian Regoa dkk 18,2% hasil *low borderline* menjadi positif pada pengulangan dan 50% *high borderline* menjadi negatif. Berdasarkan penelitian itu, maka penggunaan nilai titik *cut-off* tunggal dapat berpotensi memberikan hasil yang salah bila tidak disertai dengan hasil tes pengulangan untuk konfirmasi. Data atau faktor risiko yang mendukung interpretasi hasil pemeriksaan menjadi informasi yang berharga untuk menentukan pendekatan terapi. Ketika jumlah subyek penelitian kecil, terdeteksi bahwa tanpa kategori *borderline*, 48% menerima pengobatan yang tidak perlu dan 11% tidak diobati dengan semestinya. Oleh karena itu, kategori *borderline* sangat penting untuk membantu mengurangi hasil negatif atau positif palsu bila menggunakan *cut-off* tunggal.⁹

Frontini dkk menemukan bahwa 8% dari hasil *borderline* menjadi positif atau negatif pada pengulangan tes. Hasil *borderline* menjadi negatif pada 67% kasus *borderline* dan menjadi positif pada 13% kasus. Frontini membuktikan bahwa jumlah titik yang lebih tinggi pada pembacaan hasil tes berkorelasi lebih kuat pada pasien dengan riwayat menderita TB daripada pasien dengan status LTBI.⁵

PERKEMBANGAN

Belum terdapat penelitian besar yang melaporkan perkembangan hasil pemeriksaan IGRA secara serial. Namun dari penelitian King dkk terlihat bahwa rata-rata angka konversi sekitar 0,8% dan rata-rata angka reversi 17,6% dari 2,3% tenaga kesehatan yang positif pada

pemeriksaan T-SPOT.TB awal.⁶

Dalam penelitian Frontini dkk, pengulangan pemeriksaan T-SPOT.TB merupakan tes konfirmasi infeksi *Mycobacterium* TB, dengan peningkatan sensitivitas menjadi 85,2%. Rata-rata hasil pemeriksaan T-SPOT.TB dari positif menjadi negatif sebesar 58%.⁵

MONITORING TERAPI

Variabilitas respons IFN- γ dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, termasuk karakteristik pemeriksaan, jumlah antigen pada berbagai stadium penyakit yang berbeda, serta respons sel T fungsional. Periode inkubasi yang pendek (16-24 jam) yang digunakan pada pemeriksaan IGRA untuk mendeteksi respons sel T efektor yang dengan cepat melepaskan IFN- γ juga menjadi faktor yang berkontribusi pada hasil pemeriksaan IGRA. Sebaliknya, sel T memori yang hidup dalam jangka waktu lama mungkin kurang melepaskan IFN- γ selama periode pendek paparan antigen yang digunakan pada pemeriksaan IGRA. Kemungkinan sel-sel ini akan dapat terdeteksi setelah stimulasi *in vitro* dengan periode yang lebih lama. Respons sel juga dipengaruhi oleh jumlah antigen, yang kemungkinan dipengaruhi adanya replikasi aktif *Mycobacterium* (ATB tanpa terapi) dan jumlah sel T efektor yang meningkat. Pada jumlah antigen yang rendah, yaitu pada pasien dengan terapi TB yang berhasil, jumlah sel-sel efektor spesifik *M. tuberculosis* dapat jauh lebih rendah di bawah nilai *cut-off*.¹⁶

Penurunan respons IFN- γ diobservasi selama pemberian terapi TB efektif. Namun hasil ini tidak terjadi pada pasien yang gagal terapi. Sauzullo dkk meneliti perubahan hasil IGRA sebesar 71% pada orang dewasa dengan ATB. Walaupun demikian, peneliti masih belum merekomendasikan pemeriksaan serial IGRA untuk pemantauan terapi TB.^{16,17} Rata-rata perubahan hasil IGRA lebih rendah pada laporan peneliti lain, yaitu sebesar 5,71-50%, sedangkan data pada anak-anak sangat terbatas. Chiappini juga meneliti bahwa IGRA serial selama pemberian terapi anti-TB memiliki kegunaan yang terbatas pada anak-anak.¹⁷

Beberapa penjelasan mengapa perubahan hasil IGRA tersebut rendah antara lain karena:

1. Paparan *Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacteria* lain kemungkinan menyebabkan respons imun tetap berlangsung.
2. Limfosit T efektor sirkulasi menetap untuk jangka waktu lama pasca-infeksi teratasi.
3. Reversi atau konversi kemungkinan adalah gambaran fluktuasi biologis produksi IFN- γ , atau variabilitas prosedur laboratorium.¹⁷

Penurunan respons IFN- γ terhadap antigen *Mycobacteria* pada pasien dengan keberhasilan terapi ternyata tidak secara langsung dipengaruhi oleh penghambatan oleh obat anti-TB atau variabilitas pemeriksaan IGRA, tetapi lebih disebabkan karena penurunan jumlah bakteri.¹⁶

Katiyar dkk dalam penelitiannya menyebutkan bahwa respons IFN- γ yang lebih tinggi setelah 2 bulan merupakan indikator independen menetapnya kultur sputum positif MTB.^{16,18} Demikian juga pada penelitian lain, Carrara dkk menunjukkan bahwa penurunan pelepasan IFN- γ dapat menjadi indikator adanya respons buruk terhadap terapi yang diberikan. Alasan menetapnya peningkatan respons IFN- γ meskipun ATB telah berhasil diterapi belum terbukti.^{16,19}

KESIMPULAN

Dari beberapa penelitian yang dilakukan, pemeriksaan IGRA dengan metode T-SPOT.TB tetap lebih unggul daripada metode QFT, baik dalam hal sensitivitas, spesifitas, maupun interferensi hasil. Penetapan nilai *borderline* sangat penting untuk meningkatkan nilai sensitivitas dan spesifitas. Nilai *indeterminate* dilaporkan sebagai kegagalan pemeriksaan. Walaupun demikian, T-SPOT.TB masih belum direkomendasikan untuk pemantauan terapi.

Berdasarkan pengalaman lebih dari 1.000 pemeriksaan T-SPOT.TB yang telah kami kerjakan, dijumpai 2 kasus hasil *indeterminate* (0,2%). Walaupun demikian, dengan pengulangan pemeriksaan, hasil *indeterminate* berubah menjadi negatif. Beberapa pengulangan pemeriksaan dalam periode pengobatan menunjukkan perubahan dalam hasil T-SPOT.TB. Berkurangnya *spot* dalam pengulangan menunjukkan respons terhadap terapi. Walaupun demikian, karena keterbatasan data dan jumlah sampel kami, masih diperlukan penelitian lebih jauh.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274453>
2. Zhang L, et al. Analysis of Factors Influencing Diagnostic Accuracy of T-SPT.TB for Active Tuberculosis in Clinical Practice. *Scientific Reports*. 2017;7:1-8.
3. Qin LL, et al. T-SPOT.TB for Detection of Tuberculosis Infection Among Hematological Malignancy Patients and Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14:7415-9.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Latent Tuberculosis Infection: A Guide for Primary Health Care Providers. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2013
5. Frontini M, et al. Characteristics of HIV/TB Co-Infected Patients with Data of T-Spot TB Testing: Review of Practice Pattern in an HIV outpatient Clinic in New Orleans, Louisiana. *J Tuberc Ther*. 2017;2(1):1-5.
6. King TC, et al. T-SPOT.TB Interferon-g Release Assay Performance in Healthcare Worker Screening at Nineteen U.S. Hospitals. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192:367-73
7. Kobashi Y, Sugiy T, Shimizu H, Ohue Y, Mouri K, Obase Y, et al. Clinical Evaluation of the T-SPOT-TB Test for Patients with Indeterminate Results on the QuantiFERON TB-2G Test. *Inter Med*. 2009;48:137-42.
8. Mycobacterium tuberculosis Infection, United States. MMWR 2010; 59 (No.RR-5). Citation in: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5905a1.htm?s_cid=rr5905a1_e
9. Rego K, et al. Utility of the T-SPoT® TB Test's Borderline Category to Increase Test Resolution For Results Around The Cut-Off Point. *Tuberculosis* 2018;108:178-85
10. World Health Organization. The END TB Strategy. Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015. http://www.who.int/tb/strategy/End_TB_Strategy.pdf?ua=1/; 2014, Accessed date: 17 August 2017.
11. CDC fact sheet -TB in the United States: a snapshot. <https://www.cdc.gov/nchhstp/newsroom/docs/factsheets/TB-in-the-us-a-snapshot.pdf/>; 2017, Accessed date: 17 August 2017
12. Komiya K, et al. Impact of Peripheral lymphocyte Count on the Sensitivity of 2 IFN-g Release Assays, QFT-G and ELISPOT, in Patients with Pulmonary Tuberculosis. *Inter Med*. 2010;49:1849-55.
13. Gao Y, et al. The Overview of the Clinical Significance of Interferon-Gamma Release Assays for the Diagnosis of Tuberculosis. *SM J Pulm Med*. 2015;1:1001-2.
14. Yang C, et al. Evaluation of Risk Factors For False-Negative Results With An Antigen-Specific Peripheral Blood-Based Quantitative T Cell Assay (T-SPOT-TB) In The Diagnosis of Active Tuberculosis: A large-Scale Retrospective Study In China. *Journal of International Medical Research* 2018;46:1815-25.
15. Zhu C, et al. The Performance And limitation of T-SPOT.TB For The Diagnosis of TB in A High Prevalence Setting. *J Thorac Dis*. 2014;6:713-9.
16. Sauzullo I, et al. In Vivo and In Vitro Effects of Antituberculosis Treatment on Mycobacterial Interferon-g T Cell Response. *PloS ONE* 2009;4:e5187.
17. Chiappini E, et al. Serial T-SPOT.TB And Quantiferon-Tb-Gold In-Tube Assays To Monitor Response To Antitubercular Treatment In Italian Children With Active or latent Tuberculosis Infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2012;31(9):974-7.
18. Katiyar SK, et al. Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008;12(10):1146-52.
19. Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, Amicosante M, Girardi E, et al. Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 2004;38(5):754-6.

LIPATAN PERTAMA

LIPATAN KEDUA

Stapler di sini

Perangko

BARANG CETAKAN

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Kepada:
 Redaksi CME MEDICINUS
 Gedung Titan Center Lt. 10
 Jl. Boulevard Bintaro blok
 B7/B1 No. 05
 Bintaro Jaya Sektor 7
 Tangerang Selatan 15224

BIODATA

(gunakan huruf cetak dan tulis dengan jelas)

NAMA LENGKAP (beserta titel lengkap)*:

[Grid for name input]

DOKTER UMUM/GP*

DOKTER SPESIALIS* :

ALAMAT*:

[Grid for address line 1]

[Grid for address line 2]

KOTA*:

[Grid for city 1]

KOTA*:

[Grid for city 2]

NO. TELEPON* :

[Grid for phone number]

EMAIL*:

[Grid for email address]

NO. ANGGOTA IDI/POGI/IDAI*:

[Grid for membership ID]



* Wajib diisi



Pilih Jawaban A, B, atau C, pada pertanyaan di bawah untuk jawaban yang benar dengan mencantumkan pilihan pada kotak jawaban (untuk Medicinus versi cetak)

NO	PERTANYAAN
1	<p>Pernyataan yang benar terkait pemeriksaan IGRA pada petugas kesehatan adalah</p> <p>A. Petugas kesehatan memiliki risiko TB laten sehingga tidak memerlukan <i>screening</i> menggunakan tes IGRA</p> <p>B. Petugas kesehatan memiliki risiko TB laten sehingga memerlukan <i>screening</i> menggunakan tes IGRA</p> <p>C. Petugas kesehatan tidak memiliki risiko TB laten sehingga tidak memerlukan <i>screening</i> menggunakan tes IGRA</p> <p>D. Petugas kesehatan tidak memiliki risiko TB laten sehingga memerlukan <i>screening</i> menggunakan tes IGRA</p>
2	<p>Jenis kit pemeriksaan IGRA yang tersedia secara komersial adalah</p> <p>A. QuantiFERON-TB Gold (QFT, Celestis Ltd, Victoria, Australia)</p> <p>B. T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford, UK) Radioterapi</p> <p>C. A dan B benar</p> <p>D. A dan B salah</p>
3	<p>Variabel berikut memengaruhi efek total dari paparan asap rokok pada imunitas tubuh yaitu</p> <p>A. <i>Tuberculin Skin Test</i></p> <p>B. <i>Bacillus Calmette–Guérin</i></p> <p>C. <i>Peripheral blood smear</i></p> <p>D. <i>Atypical mycobacteria</i></p>
4	<p>Berikut adalah kriteria yang perlu dicurigai sebagai <i>latent tuberculosis infection</i> (LTBI), kecuali</p> <p>A. Hasil TST positif</p> <p>B. Interferon-Gamma Release Assay (IGRA) positif</p> <p>C. Foto rontgen toraks terlihat normal</p> <p>D. Foto rontgen toraks menunjukkan karakteristik infeksi TB</p>
5	<p>Pernyataan yang salah mengenai <i>latent tuberculosis infection</i> (LTBI) adalah</p> <p>A. LTBI rentan dialami oleh petugas kesehatan</p> <p>B. Perkembangan LTBI menjadi ATB lebih banyak terjadi pada kelompok orang lanjut usia dan pasien dengan status imunitas rendah</p> <p>C. Penapisan dan pengobatan LTBI memainkan peranan penting dalam mengontrol keseluruhan infeksi TB</p> <p>D. LTBI tidak dapat menyerang orang dengan gangguan fungsi sistem imun</p>
6	<p>Perkembangan LTBI menjadi ATB lebih sering terjadi pada pasien berikut, kecuali</p> <p>A. Pasien dengan status imunitas yang baik</p> <p>B. Pasien dengan status perawatan kesehatan yang buruk</p> <p>C. Pasien HIV dengan kepatuhan minum obat antiretroviral yang rendah</p> <p>D. Terapi profilaksis pada pasien LTBI yang tidak teratur</p>





Pilih Jawaban A, B, atau C, pada pertanyaan di bawah untuk jawaban yang benar dengan mencantumkan pilihan pada kotak jawaban (untuk Medicinus versi cetak)

NO	PERTANYAAN
7	<p>Pernyataan yang tidak tepat mengenai pemeriksaan IGRA dengan kit QFT dan T-SPOT.TB adalah</p> <p>A. QFT menggunakan metode ELISA sementara T-SPOT.TB menggunakan metode ELISPOT assay</p> <p>B. QFT menggunakan spesimen <i>whole blood</i> sementara T-SPOT.TB menggunakan spesimen sel mononuclear</p> <p>C. QFT dan T-SPOT.TB menggunakan antigen yang sama, yaitu ESAT6 and CFP-10</p> <p>D. QFT dan T-SPOT.TB tidak memerlukan waktu inkubasi</p>
8	<p>Berikut adalah hal yang dapat menyebabkan hasil <i>indeterminate (invalid)</i> pada metode T-SPOT.TB yaitu</p> <p>A. Kurangnya respons mitogen kontrol positif</p> <p>B. Adanya kontaminan nonspesifik yang ikut terwarnai di dalam well.</p> <p>C. Adanya zat nonspesifik interferon-γ yang dilepaskan oleh sel mononuklear di dalam well (menghasilkan spot pada kontrol negatif)</p> <p>D. Semua benar</p>
9	<p>Pernyataan yang benar mengenai istilah <i>indeterminate</i> pada kedua jenis kit pemeriksaan IGRA adalah</p> <p>A. Pada kit QFT, <i>indeterminate</i> diartikan sebagai nilai <i>borderline</i></p> <p>B. Pada kit T-SPOT.TB, <i>indeterminate</i> diartikan sebagai nilai <i>invalid</i></p> <p>C. A dan B benar</p> <p>D. A dan B salah</p>
10	<p>Pernyataan yang benar mengenai pemeriksaan IGRA untuk tujuan pemantauan terapi anti-TB adalah</p> <p>A. Belum terdapat rekomendasi untuk menggunakan pemeriksaan IGRA untuk tujuan pemantauan terapi anti-TB</p> <p>B. Pemeriksaan IGRA direkomendasikan untuk tujuan pemantauan terapi anti-TB</p> <p>C. A dan B benar</p> <p>D. A dan B salah</p>

KETERANGAN:

- Sasaran dari program CME ini adalah untuk dokter umum/dokter spesialis.
- Peserta akan memperoleh **jumlah SKP yang tertera di bagian atas kuis CME**.
- Peserta akan memperoleh sertifikat jika bisa mencapai *grade* > 60%.
- Masa berlaku kuis CME untuk setiap edisi adalah 3 tahun sejak terbit.

CARA MENGIRIM JAWABAN:

- Artikel bisa diakses dengan cara **men-scan QR-Code di samping kanan ini dengan telepon seluler**, sehingga akan langsung terhubung dengan website CME Medicinus.
- Atau bisa langsung diakses melalui website: <http://cme.medicinus.co/>
- Atau dengan cara mengerjakan langsung di halaman kuis CME ini, lalu mengirimkan lembar kuis dan jawaban di atas ke alamat redaksi yang tertera di halaman depan kuis CME.

