

TEMASLILARDA TÜBERKÜLOZ ENFEKSİYONUNUN TANISI İÇİN İNERFERON-GAMA TAM KAN TESTİ İLE TÜBERKÜLİN DERİ TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI*

COMPARISON OF INTERFERON-GAMMA WHOLE BLOOD ASSAY WITH
TUBERCULIN SKIN TEST FOR THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS
INFECTION IN TUBERCULOSIS CONTACTS

**Neşe ÖZTÜRK¹, Süheyla SÜRÜCÜOĞLU¹, Nuri ÖZKÜTÜK¹
Hörü GAZİ¹, Sinem AKÇALI¹, Galip KÖROĞLU², Candan ÇİÇEK³**

ÖZET: Latent tüberküloz (TB) enfeksiyonunun tanısı için kullanılan tüberkülin deri testinin, kullanılan antijenin çevresel mikobakteriler ve BCG suşu ile çapraz reaksiyonuna bağlı yalancı pozitif sonuçlar vermesi, immünsüpresyon durumunda ya da yanlış uygulama sonucu yalancı negatif sonuçların alınabilmesi ve testin uygulama ve değerlendirme zorlukları gibi birçok dezavantajı vardır. Son yıllarda geliştirilen bir yöntemde ise, *Mycobacterium tuberculosis*'e özgül antijenlerin uyarısı ile tam kanda interferon (IFN)-gama üretimi ölçülebilmektedir. Bu yöntemde kullanılan ESAT-6 ve CFP-10 antijenleri, BCG aşı suşunda ve birçok çevresel mikobakteride bulunmadığından, T hücre yanıtını belirleyen IFN-gama düzeyinin tüberküloz basiline özgül olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, temaslılarda latent tüberküloz enfeksiyonunun belirlenmesinde tüberkülin deri testi ile tam kan IFN-gama testinin (QuantiFERON®-TB Gold, Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia) karşılaştırılmasıdır. İki test sonucunun karşılaştırılmasında Kappa (K) uyum analizi metodu kullanılmış; K değerinin <0.4 olması zayıf, 0.4-0.75 olması orta ve >0.75 olması yüksek uyum olarak kabul edilmiştir. Çalışmaya üç farklı risk grubundan toplam 233 hasta alınmıştır. Grup 1; yayma pozitif indeks olgu ile temas eden aile içi temaslılardan (n=133), Grup 2; yayma pozitif indeks olgu ile temas eden aile dışı temaslılardan (n=46) ve Grup 3; TB'lu hastalarla ya da örnekleriyle ilişkisi olan sağlık personelinden (n=74) oluşmaktadır. Çalışılan olgularda tüberkülin deri testi %37, IFN-gama testi ise %42 pozitif sonuç vermiştir. Olgu grupları arasında tüberkülin deri testi pozitifliği yönünden önemli bir fark saptanmamış (p>0.05), ancak IFN-gama kan testi pozitifliği, aile içi temaslılarda diğer iki gruptan daha yüksek (%51.3, p=0.013) bulunmuştur. Toplam 233 olgunun %65.7'sinde test sonuçları zayıf ölçüde uyumlu (K=0.28, p<0.001), aşısız olgularda ise orta derecede uyumlu bulunmuştur (%72.7, K=0.44). İki test arasındaki uyum gruplara göre irdelendiğinde; Grup 1 için %64.6 (K=0.3), Grup 2 için %71.7 (K=0.32) ve Grup 3 için %63.5 (K=0.21) olmak üzere zayıf düzeyde saptanmıştır. Sonuç olarak IFN-gama kan testinin, özgül

*Bu araştırma, Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiş (Proje no: 2003-050) ve 6. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu'nda (23-25 Kasım 2006, Kızılcahamam, Ankara) bildirisi olarak sunulmuştur.

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa. (suheylasurucuglu@yahoo.com)

² Manisa Sağlık Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar Şubesi, Manisa.

³ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

antijenlerin kullanılması nedeniyle aşılardan etkilenmemesi, kolay uygulanabilir olması ve objektif kantitatif sonuç vermesi gibi avantajlarının yanında, maliyetinin yüksek olması ve laboratuvar donanımı gerektirmesi gibi dezavantajları vardır. Dolayısıyla enfeksiyon prevalansının ve aşılama oranlarının yüksek olduğu ülkemizde, bu yöntemin değerinin sınırlı olduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Mycobacterium tuberculosis, enfeksiyon, tanı, interferon gama.

ABSTRACT: Tuberculin skin test which is used for the detection of latent tuberculosis (TB), has many disadvantages such as false positivities due to cross reactions between environmental mycobacteria and BCG strain, false negativities due to immunosuppression and malpractice, and also difficulties in application and evaluation. Recently a new diagnostic test which measures the production of interferon (IFN)-gamma in whole blood upon stimulation with specific ESAT-6 and CFP-10 antigens of *Mycobacterium tuberculosis* has been introduced. Since most of the mycobacteria other than tuberculosis and BCG strain do not contain these antigens, the detection of IFN-gamma levels indicates the specific T-cell response against *M.tuberculosis*. The aim of the study was to compare the tuberculin skin test and whole blood IFN-gamma assay (QuantIFERON®-TB Gold, Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia) for the identification of latent TB infection in the contacts with active TB patients. The tests results were evaluated by using Kappa (K) analysis, and K coefficients of <0.4, 0.4-0.75 and >0.75 were accepted as poor, moderate and excellent agreements, respectively. A total of 233 subjects from three risk groups were included to the study. Group 1 included the household members (n=133) who had contact with smear positive index cases, Group 2 included the subjects from community (n=46) who had contact with smear positive index cases, and Group 3 included health care workers (n=74) who had contact with TB patients or their specimens. The positivity rates of tuberculin skin test and IFN-gamma assay in the cases were found as 37% and 42%, respectively. There were no significant differences among the three patient groups with regard to the results of the tuberculin skin test ($p>0.05$). However, the positive result of the IFN-gamma assay in Group 1 was found statistically higher than the other groups (51.3%, $p=0.013$). A poor agreement between the two tests was detected in the results taken from 233 subjects (65.7%, $K=0.28$), while agreement was moderate in unvaccinated group (72.7%, $K=0.44$). Evaluation of agreement rates of the tests according to the risk groups yielded 64.6% ($K=0.3$) for Group 1, 71.7% ($K=0.32$) for Group 2, and 63.5% ($K=0.21$) for Group 3, which all coefficients showed poor agreement. Although IFN-gamma blood assay has many advantages such as objective and quantitative results, no interference with vaccination due to the use of specific antigens and being practical, the high cost and the need for well-equipped laboratory are its disadvantages. As a result it was concluded that, IFN-gamma blood assay has limited value for the detection of latent TB infection in our country, since the prevalence of TB infection and BCG vaccination rates are high in Turkey.

Key words: Mycobacterium tuberculosis, infection, diagnosis, interferon gamma.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) enfeksiyonunun kontrolüne yönelik çalışmaların önemli bir bölümü, latent TB enfeksiyonlu temaslıların belirlenmesi ve tedavisine yöneliktir. Böylelikle enfekte kişilerde hastalık gelişme riski önlenmeye ve enfeksiyon havuzu azaltılmaya çalışılır¹. Latent TB enfeksiyonunun saptanması için yaklaşık 100 yıldır tüberkülin deri testi (TDT) kullanılmaktadır. Ancak TDT'nde kullanılan antijen

(Purified Protein Derivatives; PPD), aynı zamanda çevresel mikobakterilerde ve *Mycobacterium bovis* BCG suşunda da ortak olarak bulunduğundan, deri testinde çapraz reaksiyona bağlı yalancı pozitif sonuçlar alınabilmektedir². İmmün baskılanma durumunda ve testin doğru uygulanmadığı durumlarda ise yalancı negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Ülkemizde BCG aşısı yaygın olarak uygulandığından aşuya bağlı reaksiyon sıklığının da daha yüksek olması beklenebilir. Bunun dışında testin uygulanmasında ve değerlendirilmesinde zorluklar yaşanmakta ve hastanın en az iki kez görülmesi gerekmektedir. Bu nedenle latent enfeksiyonun tanısı için TDT'ne alternatif olarak yeni immünolojik tanı yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır.

"QuantIFERON-TB Gold" testi (Cellestis Ltd, Carnegie, Australia) bu amaçla geliştirilen ve TB basiline özgül antijenlerin kullanılarak T lenfositlerden interferon (IFN)-gama salınımının ölçülmesine dayalı bir tam kan testidir³⁻⁵. Bu testte de TDT'nde olduğu gibi hastadaki hücresel immün yanıt ölçülmektedir. Ancak kullanılan ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerinin BCG aşısı suşunda ve birçok çevresel mikobakteride bulunmaması, T hücre yanıtını belirleyen IFN-gama düzeyinin tüberküloz basiline özgül olduğunu düşündürmektedir.

Latent TB enfeksiyonunun tanısında kabul edilen bir altın standart yöntem olmadığından, yeni kan testlerinin duyarlılık ve özgüllüğünü kesin olarak belirlemek olanaksızdır. Bu nedenle konu ile ilgili araştırmaların birçoğunda, deri testi ile IFN-gama kan testinin sonuçları karşılaştırılarak yöntemin geçerliliği tartışılmış ve her iki test arasında orta veya yüksek oranda (%60-80) uyum olduğu bildirilmiştir^{4,6-13}. Ancak toplumumuzda BCG ile aşılama oranının yüksek olmasının ve TDT değerlendirme kriterlerinin CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ve DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) kriterlerinden farklılık göstermesinin, sonuçları etkileyebileceği düşüncesiyle, bu çalışmada, latent TB enfeksiyonu tanısında özgül IFN-gama kan testi ile (QuantIFERON-TB Gold) TDT'nin karşılaştırması ve toplumumuzda yeni yöntemin uygulanabilirliğinin ve tanısız değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Olgular: Bu çalışma, yayma pozitif hasta ile temas eden aile içi ve aile dışı temaslılar ile TB hastası ile ilgilenen sağlık personelinde latent TB enfeksiyonunun TDT ve "QuantIFERON-TB Gold" testi ile taranması amacıyla prospektif olarak planlandı. Çalışma protokolü Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul'u tarafından onaylandı (protokol no: 2005/0164).

Araştırmada TB enfeksiyonu için yüksek ve orta derecede risk taşıyan üç farklı temaslı grubu incelendi. Tüm olgulara bilgilendirilmiş onay formu verildi. Daha sonra demografik özellikleri ve basil ile karşılaşma riski kaydedildi. Ayrıca immünsüpresyona neden olacak hastalıkları olup olmadığı sorgulandı. Ülkemizde HIV enfeksiyonu prevalansı düşük olduğundan rutin HIV testi uygulanmadı. BCG aşılama öyküleri sorgulandı ve aşı skarı arandı. Aktif TB hastası olan veya geçirilmiş TB öyküsü olan hastalar ve kan testinin çocuklarda güvenilirliğine ilişkin çalışmalar sınırlı olduğundan 15 yaşın altındaki çocuklar çalışma dışında bırakıldı. Olgular aşağıdaki şekilde gruplandırıldı:

Grup 1: Yayma pozitif akciğer TB'lu hastalar ile temas eden ve yüksek risk grubunu oluşturan aile içi temaslı 113 kişiden oluşturuldu. Hasta kayıtlarına Manisa Sağlık Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar Şubesi aracılığı ile Verem Savaş Dispanseri kayıtlarından ulaşıldı.

Grup 2: Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi'nde ve Manisa Dinlenme Evi'nde kalan yayma pozitif indeks olgular ile temas eden 46 kişi aile dışı temaslı olarak çalışmaya dahil edildi. İndeks olgu ile günde en az 8 saat ve 3 aydan uzun süre temas eden kişiler seçildi. Manisa Sağlık Müdürlüğü tarafından bu hastaların taranmasına ilişkin resmi onay belgesi alındı.

Grup 3: Manisa merkezinde bulunan sağlık kurumlarında (Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi, Göğüs Hastanesi ve Verem Savaş Dispanseri) TB'lu hastaların tedavisi ile ilgilenen doktor, hemşire, hastabakıcı gibi sağlık personeli ve tüberküloz laboratuvarı personeli bu grubu oluşturdu. Bu kişilerin seçilmesinde bir yıldan uzun süre kurumda çalışıyor olması ve araştırmaya gönüllü olarak katılması dikkate alındı.

Grup 1 ve Grup 2'deki olgular buldukları kurumda ziyaret edildi, aile içi temaslılar ise verem savaş dispanserine davet edildi.

Kan Örneğinin Alınması ve Tüberkülin Deri Testinin Uygulanması: Tüm olgulardan önce 5 ml heparinli venöz kan örneği alındı. Daha sonra 0.1 ml (5 TÜ) PPD antijeni ile deri testi yapıldı. TDT sonuçları 48-72 saat sonra deneyimli araştırmacılar tarafından değerlendirildi ve milimetrik ölçüm yapılarak kaydedildi. Testin değerlendirilmesinde ülkemizde uygulanmakta olan Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı kriterleri kullanıldı¹⁴.

IFN-Gama Kan Testinin Uygulanması: Bu test, tüberküloz laboratuvarında üç aşamada çalışıldı: 1) Alınan kan örneklerinin özgül antijenler ve kontrol antijenleri ile indüklenmesi, 2) Antijen ile karşılaşan duyarlı T lenfositlerin uyarılarak IFN-gama salgılamaları için 37°C'de 24 saat inkübasyon, 3) İnkübasyon sonunda toplanan plazma örneklerinden ELISA yöntemi ile IFN-gama miktarının ölçülmesi.

Alınan heparinli kan örnekleri 12 saat içinde 24 kuyucuklu doku kültürü plaklarına her hasta için 4 ayrı kuyucuğa olacak şekilde birer ml dağıtıldı. Daha sonra kuyucuklara sırası ile kitin içinde bulunan ESAT-6 antijeni, CFP-10 antijeni, pozitif kontrol antijeni (mitogen) ve negatif kontrol antijeni (nil) üçer damla damlatıldı. Plaklar çalkalayıcıda 5-10 dakika karıştırıldıktan sonra kapakları kapatılarak CO₂'li ortamda, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucukların üzerinde toplanan plazmadan mikropipet ile 100 µl alındı ve her antijenin adının etiketli olduğu 0.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktararak çalışılincaya kadar -20°C'de saklandı. Kan örneklerinin toplanması tamamlandıktan sonra, saklanan plazmalarda üretici firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemi (QuantIFERON®-TB Gold, Cellestis Ltd, Carnegie, Victoria, Australia) ile IFN-gama düzeyleri araştırıldı. Elde edilen kantitatif test sonuçları özel yazılım aracılığı ile bilgisayarda değerlendirildi ve pozitif, negatif veya geçersiz (indetermine) olarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz: Olguların demografik özellikleri, BCG aşılama durumu, TDT sonuçları ve tam kan IFN-gama testi sonuçları Excel 2000 programına girildi. Daha sonra veriler SPSS 10.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA) programına aktarılarak istatistiksel analiz yapıldı. İstatistiksel analizde gruplar arasındaki farklar ki-kare testi ile belirlendi ve $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi. İki test sonucunun karşılaştırılmasında Kappa (K) uyum analizi kullanıldı. Testler arasındaki uyum derecesinin değerlendirilmesinde K değerinin < 0.4 olması zayıf, $0.4-0.75$ olması orta ve > 0.75 olması mükemmel uyum olarak kabul edildi.

BULGULAR

Olguların Tanımlanması: Çalışmamızda toplam 233 hasta sonucu değerlendirmeye alınmıştır. Olguların 113'ü (%48) aile içi temaslılardan, 46'sı (%20) aile dışı temaslılardan ve 74'ü (%32) sağlık personelinde oluşmaktadır. Yaş sınırı 15-92 yıl olup, yaş ortalaması 45 yıl (median: 42 ± 18.14) olarak saptanmıştır. Aile dışı temaslılardan oluşan Grup 2'de yaş ortalaması (71.02 yıl) diğer iki gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Olguların 130'u (%56) erkek, 103'ü (%44) kadındır. Grup 1'in çoğunluğu erkeklerden (%78), Grup 3'ün çoğunluğu ise kadınlardan (%72) oluşmaktadır ($p < 0.001$). BCG ile aşılama durumu incelendiğinde, 167 (%72) olgunun aşılı, 66 (%28) olgunun ise aşısız olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$). Sağlık personeli en yüksek aşılama oranına (%93.2) sahiptir.

Test Sonuçları: TDT sonuçları incelendiğinde 87 olguda (%37) pozitif, 146 olguda (%63) ise negatif sonuç alınmıştır ve gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Tam kan testi sonucu ise 97 (%42) olguda pozitif, 136 (%58) olguda negatif sonuç vermiştir. Tablo I'de olguların demografik özellikleri, aşılama durumu ve test sonuçları gösterilmiştir.

Aile içi temaslılarda IFN-gama kan testi sonucu diğer gruplara oranla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (%51.3, $p = 0.013$).

Tablo I. Olguların Özellikleri ve Test Sonuçları

Özellik	Grup 1 (n=113) Sayı (%)	Grup 2 (n=46) Sayı (%)	Grup 3 (n=74) Sayı (%)	Toplam (n=233) Sayı (%)	P değeri
Ortalama Yaş	41.63±15.07	71.02±12.51	37.01±9.77	45.97±18.15	$P < 0.001^*$
Cinsiyet					
Kadın	25 (22.1)	25 (54.3)	53 (71.6)	103 (44.2)	
Erkek	88 (77.9)	21 (45.7)	21 (28.4)	130 (55.8)	$P < 0.001^{**}$
BCG skarı					
Var	88 (77.9)	10 (21.7)	69 (93.2)	167 (71.7)	
Yok	25 (22.1)	36 (78.3)	5 (6.8)	66 (28.3)	$P < 0.001^{***}$
TDT pozitif	46 (40.7)	13 (28.3)	28 (37.8)	87 (37.3)	$P > 0.05^{***}$
IFN-gama pozitif	58 (51.3)	14 (30.4)	25 (33.8)	97 (41.6)	$P = 0.013^{***}$

* Anova (Post Hoc, tukey B karşılaştırma), Grup 2 > (Grup 1 = Grup 3).

** Trend ki-kare testi.

*** Ki-kare testi.

Test Sonuçlarının Karşılaştırılması: Her iki tanı yöntemi arasındaki uyumun belirlenmesinde olguların ait oldukları risk grupları, yaşları, cinsiyetleri ve aşı olup olmadıkları dikkate alınarak istatistiksel analiz yapılmıştır (Tablo II).

Tablo II. TDT ve IFN-gama Kan Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Değişken (Sayı)	K Değeri	P Değeri	Pozitif Uyum(%)	Negatif Uyum(%)	Toplam Uyum (%)	PPD Pozitif IFN Negatif (%)	PPD Negatif IFN Pozitif (%)
Yaş							
15-30 (50)	0.33	0.009	20.0	48.0	68.0	26.0	6.0
31-40 (53)	0.20	0.14	13.2	52.8	66.0	13.2	20.8
≥41 (130)	0.30	0.001	26.9	37.7	64.6	11.5	23.8
Cinsiyet							
Kadın (103)	0.34	0.001	21.3	47.6	68.9	19.4	11.7
Erkek (130)	0.25	0.003	23.1	40.0	63.1	11.5	25.4
Grup							
1 (113)	0.30	0.001	28.3	36.3	64.6	12.4	23.0
2 (46)	0.32	0.03	15.2	56.5	71.7	13.0	15.3
3 (74)	0.21	0.073	17.6	45.9	63.5	20.3	16.2
Aşı							
Var (167)	0.22	0.005	19.8	43.1	62.9	16.8	20.4
Yok (66)	0.44	<0.001	28.7	44.0	72.7	10.6	16.7
Toplam (233)	0.28	<0.001	22.3	43.4	65.7	15.0	19.3

Toplam 233 olgunun %65.7'sinde test sonuçları zayıf ölçüde uyumlu, %34.3'ünde ise uyumsuz bulunmuştur (K=0.28, p<0.001). Yaş gruplarına göre incelendiğinde ise, 15-30 yaş grubunda (%68, K=0.33, p=0.009) ve 41 yaşın üzerinde olanlarda (%64.6, K=0.30, p=0.001) her iki test arasındaki uyum, 31-40 yaş grubuna oranla daha anlamlı bulunmuştur (%66.0, K=0.20, p=0.14). Olguların cinsiyetlerine göre test sonuçları karşılaştırıldığında; kadınlarda testler arasındaki uyum biraz daha yüksek olmakla birlikte (%68.9, K=0.34, p=0.001), hem erkeklerde (%63.1, K=0.25, p=0.003) hem de kadınlarda zayıf ölçüde uyumlu bulunmuştur.

Olguların ait oldukları risk gruplarına göre test sonuçları karşılaştırıldığında; en yüksek risk grubunda bulunan aile içi temaslılarda (Grup 1) toplam test uyumu %64.6, uyumsuzluk oranı ise %35.4 olarak saptanmıştır (K=0.3, p=0.001). Aile dışı temaslılardan oluşan Grup 2'de ise sonuçların %71.7'si uyumlu, %28.3'ü uyumsuz bulunmuştur (K=0.32, p=0.03). Sağlık personelinde ise test sonuçları arasındaki uyum diğer gruplara göre daha düşüktür (%63.5, K=0.21, p=0.07).

Test sonuçları BCG ile aşı olgularda zayıf derecede uyumlu iken (%62.9; K=0.22, p=0.005), aşısız olgularda orta derecede uyumlu (%71.7, K=0.44, p<0.001) bulunmuştur.

TARTIŞMA

TB enfeksiyonunun saptanmasında günümüze kadar tek tanı yöntemi olan TDT'nin duyarlılık ve özgüllüğü istenilen düzeyde değildir. TDT'nin sahip olduğu en önemli dezavantaj kullanılan antijenin TB basiline özgü olmaması ve BCG ile aşılama durumunda yalancı pozitif yanıt alınabilmesidir. Ülkemizde TB dışı mikobakteri enfeksiyonlarının sıklığına ilişkin yeterli bilgi olmamakla birlikte, BCG aşısı rutin olarak uygulanmaktadır. Bu araştırmada da, taranan olguların %71'inde aşı skarı vardır. Bu nedenle TDT sonuçlarının güvenilirliğine ilişkin kuşku duyulmaktadır. Ülkemizde TDT değerlendirme kriterleri Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı tarafından aşılama durumu dikkate alınarak düzenlenmişse de, bu konuda yapılan çalışmalar gerçekte TDT pozitifliğinin sınır değerlerinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır¹⁵. TDT'nin sahip olduğu dezavantajlar nedeniyle latent TB enfeksiyonunun tanısı için daha duyarlı ve daha özgül sonuçlar elde etmeye yönelik yeni tanı yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Bu amaçla geliştirilen tanı yöntemlerinden IFN-gama kan testinde, TB basiliinin RD1 gen bölgesi tarafından kodlanan, BCG aşısı suşunda ve birçok çevresel mikobakteride bulunmayan ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı özgül hücrel immün yanıt ölçülmektedir^{16,17}.

Bu araştırmada yayma pozitif indeks olgu ile temas eden ve yüksek risk grubunu oluşturan aile içi temaslılar ile diğer temaslı gruplarında latent enfeksiyonun tanısı için TDT ve IFN-gama kan testi karşılaştırılmıştır. Taranan tüm olguların %37'sinde TDT, %42'sinde ise IFN-gama testi pozitif bulunmuştur. Olgu grupları arasında TDT pozitifliği yönünden fark bulunmamış, ancak IFN-gama testi, yüksek risk grubunu oluşturan aile içi temaslılarda diğer temaslı grubuna göre daha yüksek (%51) oranda pozitif bulunmuştur ($p=0.013$, Tablo I). Aşılama oranı ise en yüksek sağlık personelinde (%93) saptanmıştır. Bu durum IFN-gama testinin aşılama durumundan etkilenmediğini ve elde edilen yüksek IFN-gama pozitiflik oranının bu gruptaki olguların taşıdığı risk ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Daha önce yapılan benzer çalışmalarda, aşıya bağlı olarak TDT'nin IFN-gama testine göre daha yüksek oranda pozitiflik gösterdiği bildirilmiştir^{4,18,19}. Ancak bu çalışmada aşılamanın TDT testi üzerine belirgin bir olumsuz etkisi bulunamamıştır. Bu durumun, ülkemizde TDT değerlendirilirken aşılama durumunun göz önünde bulundurulmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Yurt dışında yapılan benzer çalışmalarda ise, CDC'nin değerlendirme kriterleri kullanılmakta ve aşıllı olup olmamasına bakılmaksızın temaslılarda 5 mm eşik değer kabul edilmektedir¹.

IFN-gama testi ile TDT testini karşılaştıran çalışmalarda yaşanan en önemli sorun standart bir tanı yönteminin bulunmamasıdır. Bu nedenle konu ile ilgili çalışmalarda iki farklı yaklaşım kullanılmaktadır¹⁶. Bunlardan ilki, epidemiyolojik özellikleri benzer olan olgularda eski yöntem ile yeni yöntemin sonuçlarını karşılaştırarak istatistiksel uyum analizi yapmaktır. İkinci yaklaşım ise, yeni testin enfeksiyon riski taşıyan ve taşımayan olgular ile TB'lu hastalar üzerinde çalışılarak gruplar arasında karşılaştırma yapılmasıdır. Bu araştırmada TDT'nin ülkemizde sık uygulanan ve iyi bilinen bir test olması nedeniyle ilk yaklaşım uygulanmıştır.

Araştırmanın sonuçlarına göre TDT ve IFN-gama testi %65.7 oranında ve zayıf derecede uyumlu bulunmuştur ($K=0.28$, $p<0.001$). Negatif uyum oranı (%43.4), pozitif uyum oranından (%22.3) daha yüksektir. Olguların cinsiyetlerine ve yaş gruplarına göre belirlenen uyum derecesi de istatistiksel olarak zayıf bulunmuştur. Gruplara göre uyum derecesi incelendiğinde, aile içi temaslılarda (%65) ve aile dışı temaslılarda (%72) test sonuçları zayıf derecede uyumlu saptanmıştır (Tablo II). Ancak sağlık personelinde oluşan Grup 3'de test sonuçları arasındaki uyum, diğer gruplardan daha düşüktür ($K=0.21$, $p=0.073$). Ülkemizde çevresel mikobakterilerle karşılaşma oranı bilinmemekle birlikte sağlık personelinde uyum oranının düşük bulunması, bu meslek grubunda bulunan kişilerde TB dışı mikobakteriler ile karşılaşma olasılığını düşündürmektedir. Hindistan'da yapılan benzer bir çalışmada ise, sağlık personelinde her iki testin sonuçları %81 ve orta derecede uyumlu ($K=0.61$) olarak bildirilmiştir⁸. Ancak çalışmalarda kullanılan PPD antijeni miktarının standart olmaması ve ülkemizde uygulanan TDT değerlendirme kriterlerinin CDC kriterlerinden farklı olması, literatür verilerinin karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Hindistan'da yapılan çalışmada sağlık personeline 1 TÜ PPD antijeni uygulanmıştır. Farklı ülkelerde yapılan benzer çalışmalarda da 2 TÜ antijen kullanıldığı bildirilmektedir⁴. Bizim ülkemizde ise TDT'nde standart olarak 5 TÜ PPD antijeni kullanılmaktadır. Bunun amacı aşırıya bağlı reaksiyon olasılığını düşürmektir. Ancak PPD antijeni mikobakterilerde ortak olarak bulunduğu için, antijen miktarı artırdıkça testin özgüllüğü de azalmaktadır.

Araştırmada olguların aşılama durumlarına göre test sonuçları karşılaştırıldığında aşısı olmayan grupta her iki test sonucunun orta derecede uyumlu olduğu saptanmıştır (%72.7, $K=0.44$, $p<0.001$). Aşılı olan olgularda ise testler arasındaki uyum zayıf ölçüde derecelenmiştir (%62.9, $K=0.22$, $p=0.005$). Ülkemizde BCG aşısı doğumdan sonra ikinci ay sonunda ve birinci sınıfta rutin olarak uygulanmakta¹⁴ iken, Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nün 2006/120 no'lu genelgesinde²⁰, sadece ikinci ayını dolduran bebeklere yapılacağı bildirilmektedir. BCG aşısına bağlı olarak TDT konversiyonu görülmesi aşının etkin olduğunu kanıtlar; ancak bu durum ileri dönemlerde tarama amaçlı uygulanan TDT sonuçlarını da etkilemektedir. Bu çalışmada aşılamanın TDT üzerine belirgin olumsuz bir etkisi saptanmamış olsa da, aşısı olmayan grupta her iki test sonucunun daha uyumlu olması bu görüşü destekler niteliktedir.

Araştırmanın sonuçları ülkemizde latent TB enfeksiyonu tanısında yeni tanı yöntemi ile elde edilen sonuçların TDT sonuçları ile zayıf-orta derecede uyumlu olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda her iki test arasındaki uyumu orta-yüksek derecede bildiren çalışmalar da vardır⁶⁻⁸. Ancak çalışılan popülasyonlardaki aşılama oranının, kullanılan antijen çeşitlerinin ve PPD antijeni miktarının farklı olması, ayrıca toplumun epidemiyolojik farklılığı sonuçları etkileyebilmektedir. Ülkemizde enfeksiyon prevalansının ve aşılama oranının yüksek olduğu düşünülürse, TDT yerine kullanılacak daha güvenilir tanı testlerine gereksinim duyulmaktadır.

IFN-gama kan testinin aşılardan etkilenmemesi, kolay uygulanabilir olması, tek hasta ziyareti gerektirmesi, kullanılan antijenlerin PPD antijenine oranla daha özgül olması ve kantitatif kesin sonuç vermesi gibi avantajları vardır. Ancak ülkemiz koşulları düşünüldüğünde testlerin maliyetlerinin de göz ardı edilmemesi gereklidir. IFN-gama kan testinin ülkemizde henüz resmi fiyatlandırılması yapılmamıştır. Ancak Kore’de yapılan bir araştırmada kan testinin birim fiyatı 20-30 dolar, TDT birim fiyatı ise 1 dolar olarak bildirilmiştir⁹. Bunun dışında kan testinin laboratuvar donanımı gerektirmesi de ek mali yük oluşturmaktadır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, ülkemizde latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında IFN-gama tam kan testinin değerinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Ülkemizde yeni tanı testinin rutin olarak kullanılabilmesi için daha uzun süreli ve latent enfeksiyonun aktif hastalığa dönüşümünün izlendiği geniş çaplı araştırmaların yapılmasına gerek vardır.

KAYNAKLAR

- Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000; 49 (RR06): 1-54.
- Huebner RE, Schein MF, Bass JB. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis 1993; 17: 968-75.
- Doherty TM, Demissie A, Olobo J, et al. Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis* specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. J Clin Microbiol 2002; 40: 704-6.
- Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection; an interferon gamma based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 59-64.
- Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood interferon gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5: 462-7.
- Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 65-9.
- Arend SM, Engelhard CF, Groot G, et al. Tuberculin skin testing compared with T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis* specific and nonspecific antigens for detection of latent infection in persons with recent tuberculosis contact. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 1089-96.
- Pai M, Gokhale K, Joshi R, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India. JAMA 2005; 293: 2746-55.
- Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis burden country. JAMA 2005; 293: 2756-61.
- Scarpellini P, Tasca S, Gali L, Beretta A, Lazzarin A, Fortis C. Selected pool of peptides from ESAT-6 and CFP-10 proteins for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. J Clin Microbiol 2004; 42: 3469-74.
- Taggart EW, Hill HR, Ruegner RG, Martins TB, Litwin CM. Evaluation of an in vitro assay for gamma interferon production in response to *Mycobacterium tuberculosis* infections. Clin Diagn Lab Immunol 2004; 11: 1089-93.
- Katial RK, Hershey J, Purohitt-Seth T, et al. Cell mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole blood culture. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 339-45.

13. Crevel R, Ottenhoff THM, Meer JWM. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 294-309.
14. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H (eds). Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. 2003, T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı, Reklam Basımevi, Ankara.
15. Uçan ES, Sevinç S, Abadoğlu Ö, Arpaz S, Ellidokuz H. Tüberkülin deri testi sonuçlarının yorumlanması, ülkemiz standartları ve yeni gereksinimler. Toraks Derg 2000; 1: 25-9.
16. Whalen CC. Diagnosis of latent tuberculosis infection. JAMA 2005; 293: 2785-7.
17. Pinxteren LAH, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP-10. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 7: 155-60.
18. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. JAMA 2001; 286: 1740-7.
19. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2003; 361: 1168-73.
20. <http://www.saglik.gov.tr/VSDB/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF71BE64510F6C8BC9531B8E8429B26AF0>