

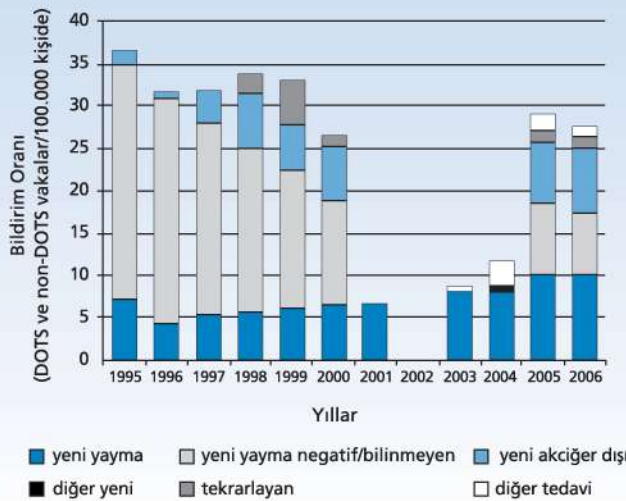
## Tüberküloz Tanısında Quantiferon TB Gold Kullanımı

Tüberküloz bütün yaş gruplarında görülen ve tüm sistemleri tutan bir hastalıktır. Tüberküloz prevalansının yüksek olduğu toplumlarda kişi genellikle çocuk yaşlarda tüberküloz basili ile karşılaşır. Ancak erişkin yaşlarda da görülebilmekte ve büyük oranda akciğerlerin hastalığı şeklinde ortaya çıkmaktadır. Günümüzde dünya

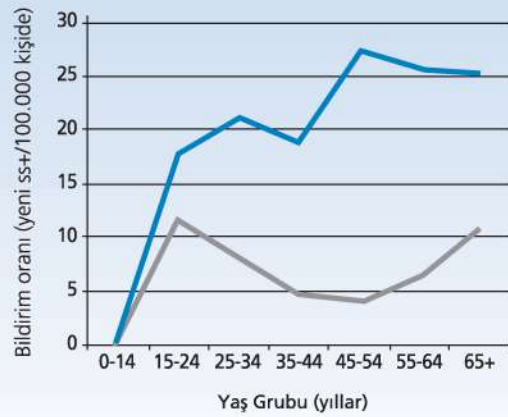
nüfusunun yaklaşık üçte biri M. tuberculosis ile infektidir. Bu nedenle, tüberkülozun erken ve doğru tanısı hastalığın toplumda yayılımının kontrolünde ve tedavisinde büyük önem taşımaktadır (5,6,13). Dünya sağlık örgütünün (WHO) yayınladığı Türkiye tüberküloz profili raporuna göre (18):

### İzlem ve Epidemiyoloji

#### Bildirilen Vakalar



#### Yaşa ve cinsiyete göre bildirilen vakalar, 2006



**Şekil 1:** DOTS: Directly Observed Treatment Short Period – Kısa dönemli doğrudan izlenen vakalar.  
 ss+: yayma pozitif  
 ss-: yayma negatif  
 bilinmeyen: pulmoner yayma yapılmamış ya da sonucu bilinmeyen

Not: [http://www.who.int/GlobalAtlas/predefinedReports/TB/PDF\\_Files/tur.pdf](http://www.who.int/GlobalAtlas/predefinedReports/TB/PDF_Files/tur.pdf) adresinden 03.08.2008 tarihinde alıntılanmış bilgilerdir.

Tüberküloz tanısında altın standart, klinik değerlendirme, balgam incelemesi ve mikobakteriyel kültür pozitifliğidir. Ancak çocukluk çağı tüberkülozu ve ekstrapulmoner tüberkülozun tanısında güçlükler vardır (5,13).

Tüberküloz hastalarıyla temaslı kişilerde ve özellikle çocuklarda tüberküloz infeksiyonunun saptanması profilaksi açısından önemlidir. Tüberküloz kontrolünde

en büyük güçlük, tanı koymak, prognozu öngörmek ve latent tüberküloz infeksiyonuna sahip olan kişilere aktif hastalık gelişmeden koruyucu tedavi vermektir(5).

Günümüzde tüberküloz tanısında tüberkülin deri testi (TDT) yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu testin uygulanması ve yorumlanmasında yaşanan sıkıntılar nedeniyle alternatiflere gereksinim duyulmaktadır.

## Tüberküloz tanısında Tüberkülin Deri Testi (TDT)

❑ Tüberkülozun bilinen ilk immunolojik tanı aracıdır. Mikobakteriyel protein derivelerine karşı gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Deri içine yapılır.

❑ Tüberküloz basilinin saflaştırılmış protein türevi (PPD), M.tuberculosis, M.bovis, Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) suşu ve pek çok tüberküloz dışı mikobakterilerce (non-tuberculosis mycobacteria (NTM)) paylaşılan kaba bir antijen karışımıdır Mikobakteri türleri ile daha önce temas edildiğini gösterir. BCG aşısı olanlarda pozitifdir.

❑ HIV pozitiflerde tüberküloz infeksiyonuna rağmen negatif çıkabilir.

❑ Virulan mikobakterilerle tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonları arasında çapraz reaksiyonlar sıktır.

❑ Yüksek BCG aşılama oranlarına ve yüksek NTM temas oranlarına sahip topluluklarda AIDS, ilerlemiş tüberküloz, malnütrisyon gibi bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde TDT'nin özgüllüğü düşüktür.

❑ TDT'yi uygulayan ve okuyan kişilerin deneyimli olma gerekliliği, hekim ve hasta için en az iki görüşme gerektirmesi diğer olumsuz noktalarıdır.

❑ TDT'ni değerlendirirken yanlış pozitif (çünkü mikobakteriyel antijenler M.tuberculosis'e spesifik değildir.) ve yanlış negatif reaksiyonlar görülebilmektedir.

❑ Yanlış pozitiflikler, BCG aşılması, NTM infeksiyonu, Booster etkisi, küçük venüllerin rüptürü, sekonder infeksiyon, eritemin ölçülmesi gibi hatalı yorumlamalar, yeni kan transfüzyonu gibi durumlarda görülebilir.

❑ Yanlış negatif reaksiyonlar, test edilen kişiye ait faktörler (sistemik viral, bakteriyel, fungal infeksiyonlar,

canlı virus aşılı, böbrek yetmezliği gibi metabolik bozukluklar, proteinlerin düşüklüğü, lenfoid organları etkileyen hastalıklar, kortikosteroid ve immunsupresif kullanımı, yaş (yenidoğan, 45 yaş üstü kişiler), stres (cerrahi, yanıklar, mental hastalıklar), kullanılan tüberküline ait faktörler [uygunsuz depolama, uygunsuz sulandırım, kimyasal denatürasyon, kontaminasyon, yapışma (adsorbsiyon)], uygulama yöntemine ilişkin faktörler (çok az enjekte etmek, cilt altına enjeksiyon, enjektöre çektikten sonra geç uygulama, diğer cilt testlerine çok yakın enjeksiyon), deneyimsiz okuyucu, kayıt hataları gibi durumlarda görülebilir (1,4,5,11,12,14).

Mikobakteriler Th1 hücrelerden gamma interferon salınımının potent indükleyicisidirler. Tüberküloz hastalarındaki MHC Class II CD4 T hücreleri ESAT-6'nın N terminal aminoasit sekanslarında oluşturulan bir epitopu spesifik olarak hatırlamakta ve cevap olarak Th1 hücreleri gamma interferon üretmektedirler. RD1 gamma interferon bazlı testler kan lenfositlerini ESAT-6 veya CFP-10 ile uyarak ya gamma interferon düzeyini ELISA (enzyme linked immun assay) ile ya da gamma interferon üreten hücreleri ELISPOT (enzyme linked immunospot assay) ile saptama esasına dayanır. Bu testler IGRA (Interferon gamma release assay) olarak adlandırılmaktadır (5,9,10,12).

Son yıllarda tanımlanan ESAT-6 (early secreted antigenic target 6 kD protein), CFP-10 (culture filtrate protein) ve antijen 7.7 (p4)(RV2645) adlı proteinler M. tuberculosis genomunda, region of difference 1 (RD1) bölgesinde kodlanmıştır ve BCG ile birçok nontüberküloz mikobakteride bulunmamaktadır (M.kansasii, M.szulgai

ve *M. marinum* hariç). Yanlış pozitif reaksiyonlar bu infeksiyonlara bağlı olarak görülebilir. IGRA testleri, gerçek tüberküloz infeksiyonunu BCG aşılı kişilerde aşı etkisinden ve NTM infeksiyonlarının büyük bir çoğunluğundan ayırt edebilmektedir (5,9,10,12).

T hücrelerine dayalı yeni bir *in vitro* ölçüm olarak ortaya çıkan IFN-gamma salınımına dayalı testler, tüberküloz

antijenleri ile duyarlı hale getirilmiş kişilerin T hücrelerinin, mikobakteriyel antijenlerle karşılaştıklarında IFN-gamma üretmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu nedenle, tüberküloz antijenleri ile uyarılma sonrasında yüksek IFN-gamma üretim düzeyi tüberküloz infeksiyonu için bir gösterge olarak kabul edilir (5).


## Quantiferon TB-Gold Testi

- ❑ Quantiferon TB-Gold Testi ikinci nesil Quantiferon TB testi olup antijen olarak PPD yerine ESAT-6 ve CFP-10 antijenini kullanmaktadır.
- ❑ Bu testte tüberküloza özgü antijenlere karşı oluşan gamma interferon yanıtının *in vitro* belirlenmesi esastır.
- ❑ Kişide gamma interferon cevabı testin cut off değerlerinin üzerine çıkmışsa test pozitif kabul edilir. Eğer gamma interferon cevabı testin cut off değerinin altındaysa test negatif kabul edilir.
- ❑ Mitojen (fitohemaglütinin) ile stimüle edilen plazma örneği her hasta için bir pozitif kontrol teşkil etmektedir. Örneğin TB spesifik antijene pozitif cevap veren ancak mitojen cevabı olmayan temasının sonucu geçersiz olarak kabul edilir. Çünkü kişi antijene cevap vermese bile mutlaka pozitif kontrole cevap vermelidir.
- ❑ Kan örneğinde ne mitojene ne de TB spesifik antijene karşı oluşmuş gamma interferon cevabı yeterli düzeyde saptanmadıysa test sonucu indeterminate-belirsiz olarak kabul edilir. Kanda düşük lenfosit sayısı veya HIV, malignensi veya renal disfonksiyonun neden olduğu azalmış lenfosit aktivitesi, örneğin uzamış ve uygun

olmayan transportu gibi durumlarda indeterminate sonuçlar görülebilir. Belirsiz test sonucu tüberküloz infeksiyonu hakkında bilgi vermez. Test sonucu belirsiz çıkan bireylerde takip süresi belirlenmiş değildir. Bu bireylerde test yeni alınan bir kan örneğinden tekrar edilebileceği gibi bu bireylere tüberkülin deri testi birlikte veya tek başına yeniden uygulanabilir.

- ❑ Negatif kontrol olarak alınan Nil kontrol (salin) ise heterofil antikor etkisi veya kan örneklerindeki nonspesifik gamma interferon düzeyine göre sonuçların uyarlanmasını sağlar. Yani negatif kontrol ile uyarılan serumda gamma interferon cevabı bazal düzeylerde saptanmalıdır.
- ❑ ESAT-6 ve /veya CFP-10 ve Nil kontrol ile uyarılan plazmalarda ölçülen gamma interferon konsantrasyon farkı (IU/mL)  $\geq 0.35$  ise test pozitifdir. Bu fark 0.35'ten küçük ise mitojen ve Nil kontrol ile uyarılan plazmadaki gamma interferon düzeyine (IU/mL) bakılır. Bu düzey  $\geq 0.5$  ise test negatifdir.  $< 0.5$  ise indeterminate-belirsiz olarak kabul edilir (2,3,7,9,12,15,16).

## Örnek alımında dikkat edilmesi gerekenler

			
1. Kan alma tüplerine alım işleminin hemen sonrasında tüpleri <b>aşağıya yukarıya en az on (10) kez</b> dikkatle çevirerek tüpün iç yüzeyinin tümü ile kanla temas ettiğinden emin olunuz.	2. Tüpleri <b>dikey</b> konumda 16-24 saat süre ile 37°C'de inkübe ediniz.	3. Inkübasyon sonrasında plazma ve eritrositleri ayırmak için 15 dakika 2000 - 2000 RCF'de (g) tüpleri santrifüjleyiniz.	4. Santrifüjleme sonrasında IFN-gamma kantitasyonu yapabilmek için her tüpten elde ettiğiniz plazmayı daha önceden etiketlediğiniz aynı isim/kod yazılı tüplere aktarınız.

Şekil 2

Heparin dışında başka bir antikoagülan kullanımı, kan örneklerinin uygun olmayan koşullarda taşınması, kan örneği alımından antijenlerle inkübasyona dek geçen sürenin yarım saten daha uzun sürede olması (sürenin

uzaması daha düşük oranda gamma interferon salınımı saptanmasına yol açmaktadır), inkübasyon süresi ve sıcaklığında yapılan hatalar sonuçların da hatalı olmasına yol açmaktadır.

## Quantiferon testi negatif olduğunda şu durumlar göz önünde bulundurulmalıdır

- HIV pozitif veya immunsupresyon
- İmmun supressif ilaç kullanımı
- Organ transplantasyonu yapılanlar
- Diyabeti olanlar

- Kronik böbrek yetmezliği
- Hematolojik bozukluğu olanlar
- Silikozis
- Spesifik malignitesi olanlar

### TDT ve gamma interferon araştırmasına dayanan testlerin özelliklerinin karşılaştırılması

Performans ve işlevsel özellikler	TDT	IFN-gamma araştırmasına dayalı testler
Duyarlılık (aktif tüberkülozlu hastalarda)	%75-90 (immün yetmezliği olanlarda daha düşük)	%80-95 (immün yetmezliği olan popülasyonlar için yeterli bilgi yok)
Özgüllük (tüberküloz hastalığı veya teması olmayan sağlıklı bireylerde)	%70-95	%95-100
BCG ile çapraz reaksiyon	Var (BCG PPD pozitifliğini %20-40 oranında arttırır.)	Yok
NTM'ler ile çapraz reaksiyon	Var	Daha az (bazı NTM türleri ile çapraz reaksiyon verebiliyor)
Test pozitifliği ile izlem sürecinde aktif tüberküloz gelişim riski ilişkisi	Orta-güçlü ilişki	Yetersiz veri
Güvenilirlik	Var	Kanıt yok
Booster etkisi	Var, tekrarlanan testlerde görülebilir	Yok
Yan etki	Nadir	Nadir
Hasta/doktor görüşmesi	İki	Bir
Laboratuvar alt yapısı	Gerekmez	Gerekli
Testin sonuçlanma hızı	2-3 gün	1-2 gün
Personel ihtiyacı	Var	Var
İmmunsupresyon	İmmunsupresyona bağlı yanlış negatif sonuçlar bulunabilir.	Pozitif kontrol eklenen mitojene cevap gözlenmemesi immunsupresyona bağlı negatifliklerin açığa çıkmasını sağlayabilir.
Test değerlendirilmesi	Subjektiftir, değerlendirilene göre değişir.	Objektiftir. Sonuçlar var veya yok şeklinde verilir.

**Tablo 1**

Not: 4,11 ve 17 numaralı referanslardan alıntı yapılarak hazırlanmıştır.

IFN-gamma araştırmasına dayalı testlerin kullanımı klinik olarak, özellikle yanlış negatif TDT sonuçlarına eğilimli gruplara (bağışıklığı baskılanmış, malnütrisyonlu hastalar) ve bir kez infekte olup da aktif tüberküloz gelişme riski olan kişilere tanı koymaya yardımcı olacağı anlamına gelir. IFN-gamma araştırmasına dayalı testler yanlış pozitif sonuçları azaltarak gereksiz tedavileri ve yan etkileri azaltabilir (5).

Pozitif test, tüberküloz infeksiyonunu gösterir ancak aktif veya latent infeksiyon ayırımını yapmaz. Bu yüzden pozitif sonuç elde edildiğinde latent tüberküloz infeksiyonu tanısı konulabilmesi için klinik ve radyolojik

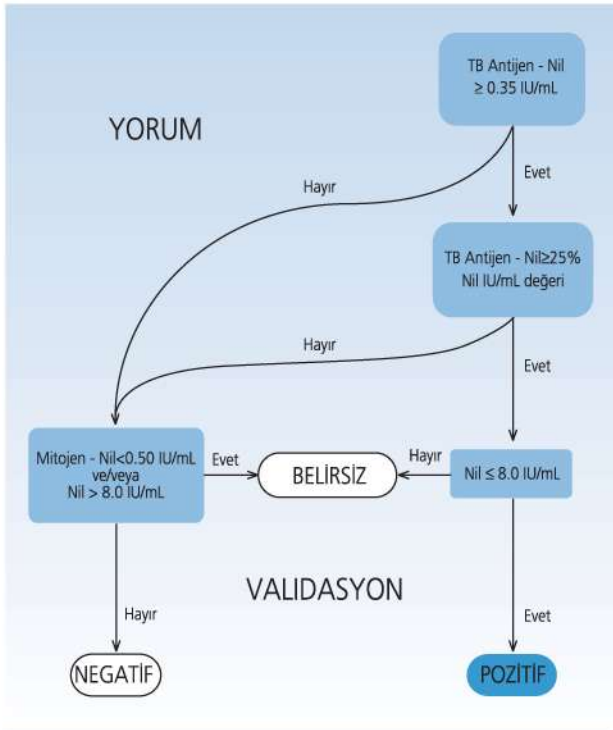
olarak aktif hastalığın olmadığını gösterilmesi gerekmektedir. Benzer diğer testlerde de olduğu gibi bu testin tanısal değeri incelemenin yapıldığı popülasyondaki tüberküloz hastalığı prevalansı ile ilişkilidir. Bu yüzden bu testin sonucu yorumlanırken epidemiyolojik, fiziksel ve diğer tanısal bulguların göz önünde bulundurulması gerekmektedir (12,13).

M.tuberculosis'teki T-ESAT-6 antijeniyle homolog M.leprae'da L-ESAT antijeni lepranın endemik olarak görüldüğü populasyonlarda IFN-gamma üretiminde artış ve çapraz reaksiyonlara neden olabilir (8).

## Quantiferon TB Gold'un sensitivite ve spesifitesi ve Quantiferon TB Gold ve TDT arasındaki uyum

TDT ile uyum	% 79-94
Latent tüberkülozda sensitivite	% 89-100
Latent tüberkülozda sensitivite	% 90
Aktif tüberkülozda spesifite	% 97-100
Aktif tüberkülozda sensitivite	% 72-89

Not: Madariaga, MD ve ark, Evidence-Based Clinical Medicine. Clinical Utility of Interferon Gamma assay in the Diagnosis of Tuberculosis, J Am Board Fam Med, 2007'den alıntılanmıştır.



Şekil 3

Negatif tüberkülin deri testi ve negatif Quantiferon TB-Gold testi tüberküloz hastalığı belirti ve bulguları olan bireyde tüberküloz tanısını ekarte ettirmez. Çünkü AIDS hastalarında, immunosupressif tedavi, yüksek doz steroid tedavisi, anti-TNF alfa tedavisi alanlarda, hematolojik bozukluğu, spesifik malignitesi olanlarda, diabetiklerde, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda TDT'nin duyarlılığı düşmektedir. Bu durumlarda IFN-gamma üretiminde de düşüklük olabileceği göz önüne alınmalıdır (12).

Quantiferon TB-Gold testi negatif olan ve şikayeti olmayan sağlıklı erişkinlerde ileri tetkik yapılmasına gerek yoktur. Eğer kişide tüberkülozlu ile temas söz konusuysa ve Quantiferon TB-Gold test sonucu negatif ise, TDT gibi Quantiferon TB-Gold testi de yaklaşık 8-10 hafta sonra tekrarlanmalıdır (16).

Quantiferon TB-Gold testi pozitif olan hastalarda ileri tetkik yapılarak tüberküloz hastalığının belirti ve bulguları araştırıldıktan sonra M.tuberculosis infeksiyonu tanısı konulmalı ve infeksiyon tedavisi önerilmelidir.

Quantiferon TB-Gold testi temaslı taraması, sağlık çalışanlarında tüberküloz infeksiyonu açısından tarama, tüberküloz infeksiyonu araştırmaları gibi tüberkülin deri testinin kullanıldığı her klinik durumda TDT yerine kullanılabilir (16).

## Referans Kaynaklar

1. A joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 161:221-247, 2000.
2. Brock I, Munk M.E, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or specific antigens ESAT-6 and CFP-10, *Int J Tuberc Lung Dis* 5(5): 462-467, 2001.
3. Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, Westh H, Mathiesen L R and Ravn P. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the M. tuberculosis Specific Interferon-gamma test, *Respiratory Research* 7:56, 2006.
4. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F and Andersen P. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170:65-69, 2004.
5. Çelik Ü, Kocabaş E. Tüberküloz tanısında yeni bir yöntem: Interferon-gama araştırmasına dayanan testler, *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 55(1): 108-117, 2007.
6. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis: Estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *JAMA* 282:677-686, 1999.
7. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, Bergamini B.M, D'Amico R, Marchegiano P, Rumpianesi F, Fabbri L.M and Richeldi L. Routine Hospital Use of a New Commercial Whole Blood Interferon-gamma Assay for the Diagnosis of Tuberculosis Infection, *Am J Respir Crit Care Med*, Vol 172:631-635, 2005.
8. Geluk A, Meijgaarden K.E., Franken Kees L.M.C, Subronto Y.W, Wieles B, Arend S.M, Sampaio E.P, Boer T, Faber W.R, Naafs B and Ottenhoff T.H.M. Identification and Characterization of the ESAT-6 Homologue of *Mycobacterium leprae* and T-cell Cross-Reactivity with *Mycobacterium tuberculosis*, *Infection and Immunity*, May; 2544-2548, 2002.
9. Gerald H.Mazurek,MD, John Jereb, MD, Phillip LoBue, MD, Michael F. Iademarco, MD, Beverly Metchock. PhD, Andrew Vernon, MD. Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention. Guidelines for Using the Quantiferon-TB Gold Test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. Vol.54/RR-15, December 16, 2005.
10. Harboe M, Oettinger T, Wiker H.G, Rosenkrands I, and Andersen P. Evidence for Occurrence of the ESAT-6 Protein in *Mycobacterium tuberculosis* and Virulent *Mycobacterium bovis* and for Its Absence in *Mycobacterium bovis* BCG. *Infection and Immunity*, Jan: 16-22, 1996.
11. Mazurek G.H, LoBue P.A, Daley C.L, Bernardo J, Lardizabal A, Bishai W.R, Iademarco M.F, Rothel J.S. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection, *JAMA*, 286,(14): 2001.
12. Miguel G. Madariaga, MD, Ziba Jalali, MD, PhD, and Susan Swindells, MBBS. Evidence-Based Clinical Medicine. Clinical Utility of Interferon Gamma assay in the Diagnosis of Tuberculosis, *J Am Board Fam Med* 20:540-547, 2007.
13. Özerol H. İ. Tüberkülozun serolojik tanısı, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II, Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Kurs Kitapçığı, Samsun, 2003.
14. Pai M. Alternatives to the tuberculin skin test. Interferon gamma assays in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection., *Indian Journal of Medical Microbiology* 23 (3):151-158, 2005.
15. Ravn P, Munk M.E, Andersen A.B, Lundgren B, Lundgren J.D, Nielsen L.N, Jensen A, andersen P and Weldingh K. Prospective Evaluation of a Whole-Blood Test Using *Mycobacterium tuberculosis*-Specific Antigens ESAT-6 and CFP-10 for Diagnosis of Active Tuberculosis, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12 (4):491-496, 2005.
16. Soysal A, Bakır M. Tüberküloz infeksiyonunda yeni tanı yöntemleri-derleme, *Çocuk Enfeksiyon Dergisi* 1:151-7, 2007.
17. Streeton J.A, Desem N, Jones S.L. Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2(6):443-450, 1998.
18. WHO TB country profile-Turkey.  
[http://www.who.int/GlobalAtlas/predefinedReports/TB/PDF\\_Files/tur.pdf](http://www.who.int/GlobalAtlas/predefinedReports/TB/PDF_Files/tur.pdf) adresinden 03.08.2008 tarihinde alıntılanmış bilgilerdir.

