
Tüberküloz tanısında yeni bir yöntem: İnterferon-gama araştırmasına dayanan testler

Ümit ÇELİK, Emine KOCABAŞ

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İnfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Adana.

ÖZET

Tüberküloz tanısında yeni bir yöntem: İnterferon-gama araştırmasına dayanan testler

Halen önlenabilir infeksiyon hastalıkları içinde birinci ölüm nedeni olan tüberküloz (Tbc)'un tanısında 2000'li yıllarda yeni gelişmeler kaydedilmiştir. Tbc'nin bilinen ilk immünolojik tanı aracı tüberkülin deri testi (TDT), latent Tbc infeksiyonunun tanısında günümüzde altın standart olma özelliğini korurken, bu testin yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlara yol açma özelliği nedeniyle, daha duyarlı ve özgül tanı araçları geliştirme zorunluluğu doğmuştur. Son yıllarda TDT'ye alternatif olarak ortaya çıkan, in vitro T-hücrelerinden salınan, interferon-gama (IFN- γ)'nın araştırmasına dayanan bu testlerin çalışma ilkesi, Tbc antijenleri ile duyarlanmış kişilerin T-hücrelerinin, mikobakteriyel antijenlerle karşılaştıklarında IFN- γ üretimlerine dayanmaktadır. Bu yazıda IFN- γ araştırmasına dayanan yeni tanı testleri gözden geçirilmiş ve günlük yaşamda uygulanabilirlikleri tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, tüberkülin deri testi, interferon-gama araştırmasına dayalı yöntemler.

SUMMARY

New diagnostic tool of tuberculosis: Interferon-gamma assays

Ümit ÇELİK, Emine KOCABAŞ

Department of Children's Infections Diseases, Faculty of Medicine, Çukurova University, Adana, Turkey.

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Ümit ÇELİK, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İnfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı,
01330 ADANA - TÜRKİYE

e-mail: ucelik@cu.edu.tr, tamerumit@hotmail.com

New developments have been performed in diagnosis of the tuberculosis (Tbc) which is still the most common and the most mortal preventable infectious disease. Tuberculosis skin test (TST) an immunologic diagnostic method has been used in the diagnosis of Tbc ever since, and is still considered as a gold standart for diagnosis of latent Tbc infection but so far has lost its credibility as a diagnostic test due to its false positivity and negativity characteristics and due to this reason a more sophisticated diagnostic method search is underway. An alternative to the TST has emerged in the form of a new type of in-vitro T-cell-based assay: The interferon-gamma (IFN- γ) assay. IFN- γ assays are based on the principle that T-cells of individuals sensitised with Tbc antigens produce IFN- γ when they reencounter mycobacterial antigens. In this article the principles leading to the production of IFN- γ has been reviewed and its usage in real practise has been discussed.

Key Words: Tuberculosis, tuberculin skin test, interferon-gamma assay.

1980'li yılların başında insan immünyetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu ile birlikte özellikle endüstrileşmiş ülkelerde yeniden gündemin ilk sıralarına oturan, çağımızın vebası tüberküloz ile savaş insanlık tarihi kadar eskidir. Dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ü *Mycobacterium tuberculosis* ile enfektedir. Bu nedenle tüberkülozun erken ve doğru tanısı tüberküloz kontrolünde ve tedavisinde oldukça önemlidir. Tüberküloz tanısında altın standart, klinik değerlendirme, balgam incelemesi ve mikobakteriyel kültür pozitifliğidir. Ancak çocukluk çağı tüberkülozu ve ekstrapulmoner tüberkülozun tanısında güçlükler vardır. 2000'li yıllarla birlikte tüberküloz tanısında devrim sayılabilecek gelişmeler olmuştur. Bunlar içinde belki de en önemli olanı interferon-gama (IFN- γ) araştırmasına dayanan testlerdir.

Bu yazıda IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin patogenezdaki yeri, tanı ve tedavideki değeri tartışılmış ve tüm dünyada halen tüberküloz tanısında çok yaygın olarak kullanılan tüberkülin deri testi (TDT) ile karşılaştırılması makaleler ve derlemeler eşliğinde irdelenmiştir.

TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ (TDT)

Tüberkülozun bilinen ilk immünolojik tanı aracı TDT'dir. Tüberküloz basilinin saflaştırılmış protein türevi (PPD), *M. tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) suşu ve pek çok tüberküloz dışı mikobakterilerce [non-tuberculosis mycobacteria (NTM)] paylaşılan kaba bir antijen karışımıdır (1,2). Yüksek BCG aşılama oranlarına ve yüksek NTM temas oranlarına sahip topluluklarda AIDS, ilerlemiş tüberküloz, malnütrisyon gibi bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde TDT'nin özgüllüğü düşüktür (1-4). Ayrıca, TDT'yi uygulayan ve oku-

yan kişilerin deneyimli olma gerekliliği, hekim ve hasta için en az iki ziyaret gerektirmesi diğer olumsuz noktalarını oluşturmaktadır (1,4).

TDT, latent olarak enfekte kişilerde aktif hastalık riskini öngörebilmesi nedeniyle, bugün için hala önemini korumaktadır. TDT sonuçlarına göre tanı almış latent tüberküloz enfeksiyonu olan olguların tedavisi, aktif hastalık riskini %90 oranında azaltmaktadır (5). Ürütücü olan, latent tüberküloz enfeksiyonuna sahip semptomsuz kişilerde tüberküloz basilinin tekrar aktive olarak, enfekte kişilerin %10'unda aktif hastalığa neden olmasıdır. Ancak latent tüberküloz enfeksiyonuna sahip olanlarda aktif hastalık gelişim oranı, çocukluk yaş grubunda özellikle yenidoğan döneminde %50'lere ulaşmaktadır (6-8). Tüberküloz kontrolünde en büyük güçlük, tanı koymak, prognozu öngörmek ve latent tüberküloz enfeksiyonuna sahip olan kişilere aktif hastalık gelişmeden koruyucu tedavi vermektir.

İMMÜNOLOJİK TEMELE DAYALI YENİ TANI TESTLERİ

Son yıllarda *M. bovis*, BCG suşları ve birçok NTM'de bulunmayan, sadece *M. tuberculosis* genomunda yer alan fark 1 bölgesi (region of difference) (RD1) gen segmentinin saptanması ve bu gen segmenti ürünlerine özgün immün yanıtın ölçülebiliyor olması, tüberküloz enfeksiyonunun saptanmasında yeni bir testin geliştirilebileceği fikrini doğurmuştur (9).

İlk olarak, in vitro T-hücrelerine dayalı yeni bir ölçüm olarak ortaya çıkan IFN- γ araştırmasına dayalı testler, tüberküloz antijenleri ile duyarlı hale getirilmiş kişilerin T-hücrelerinin, mikobakteriyel antijenlerle karşılaştıklarında IFN- γ üret-

mesi ilkesine dayanmaktadır (2,10-12). Bu nedenle, yüksek IFN- γ üretim düzeyi tüberküloz enfeksiyonu için bir gösterge olarak kabul edilir. Başlangıçtaki testler, uyarı antijeni olarak PPD kullanan testler üzerine odaklanırken, daha yeni testler *M. tuberculosis*'e özgül antijenler olan Erken Sekretuar Antijenik Hedef 6 (ESAT-6), Kültür Filtrat Protein 10 (CFP-10) ve antijen 7.7 (RV2645)'yi kullanmaktadır (2,9). *M. tuberculosis* genomunun RD1 bölgesinde lokalize genler tarafından kodlanan bu proteinler, anlamlı olarak PPD'ye kıyasla *M. tuberculosis*'e daha özgüldür. Çünkü bu antijenler BCG alt zinciriyle veya *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum* ve *Mycobacterium szulgai* hariç diğer NTM türleri ile paylaşılmamaktadır (2,13).

Son 10 yılda yapılan araştırmalarla dört ticari IFN- γ araştırmasına dayanan test geliştirilmiştir (9):

1. QuantiFERON-TB assay (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia),
2. T SPOT-TB assay (Oxford Immunotec, Oxford, UK),
3. QuantiFERON-TB Gold (Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia),
4. QuantiFERON-TB Gold (In-Tube metod).

Her dört test de, tüberküloz antijenleri ile uyarıya yanıt olarak T-hücrelerinden salınan IFN- γ 'yı ölçerek hücre aracılı bağışıklığı değerlendirmektedir. Bu testlerde, ELISA ve enzime-bağlı immünospot assay (ELISPOT) yöntemleri kullanılmaktadır. Tablo 1'de her dört testin özellikleri özetlenmiştir.

Birinci kuşak testlerden QuantiFERON-TB, ELISA yöntemiyle PPD ile T-hücre uyarısına IFN- γ yanıtını ölçen bir testtir. Bu test "Food and Drug Administration (FDA)" tarafından onaylanmıştır ve pek çok ülkede ticari olarak satılmaktadır (14). Bu testte hücre kaynağı tam kandır. Ayrıca, yakın dönemde "Centers for Disease Control and Prevention (CDC)" tarafından testin kullanım kılavuzu yayınlanmıştır (15). ESAT-6 ve CFP-10 özgül antijenlerini kullanarak, IFN- γ üreten T-hücrelerinin sayısını saptayan T SPOT-TB testte ise periferik kan mononükleer hücreleri kullanılır (11). Bu test Avrupa'da kullanılmak üzere onay almıştır ve FDA onayını beklemektedir.

Tüm IFN- γ araştırmasına dayanan testler, IFN- γ yanıtını ölçen hücre-temelli testler olsa da, bu testlerin çalışma özellikleri oldukça değişkendir. Örneğin; kullanılan inkübasyon periyodları QuantiFERON-TB ve T SPOT-TB testte 24-48 saat kadar kısa iken, pek çok in-house testte beş-altı gün arasındadır. Hafıza T-hücreleri IFN- γ üretmeden önce, antijen varlığında birkaç gün inkübasyon gerektirebilir.

IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin TDT'ye kıyasla pek çok avantajı vardır (2,9,11,14) (Tablo 2). Test in vitro yapıldığı ve deri endüsyonu gibi ölçümler gerektirmediği için sonuçlar daha az kişiseldir ve hastayı birkez görmek yeterlidir. Deri testi ve IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin çalışma prensipleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

RD1-temelli IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin, PPD-temelli testlere oranla daha özgül oldukları

Tablo 1. T-hücrelerinde IFN- γ araştırmasına dayanan testler ve özellikleri.

	T-hücre kaynağı	İnkübasyon periyodu (saat)	Stimulan antijenler	Çalışma yöntemi
QuantiFERON-TB	Tam kan	24-48	PPD	ELISA
T SPOT-TB	Periferik kan mononükleer hücreleri	16-24	ESAT-6, CFP-10	ELISPOT
QuantiFERON-TB Gold	Tam kan	16-24	ESAT-6, CFP-10	ELISA
QuantiFERON-TB Gold (In Tube Metod)	Tam kan	16-24	ESAT-6, CFP-10, Antijen 7.7	ELISA

Tablo 2. Tüberkülin deri testi (TDT) ve IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin performans ve işlevsel özellikleri.

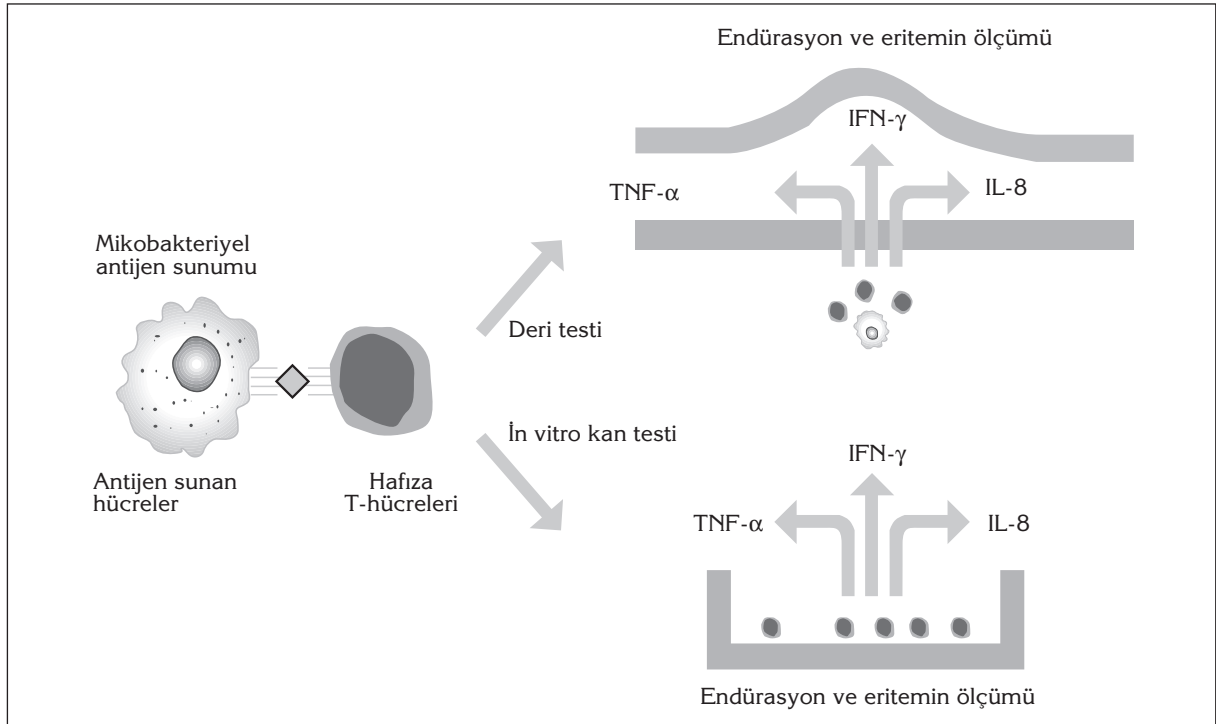
Performans ve işlevsel özellikler	TDT	IFN- γ araştırmasına dayalı testler
Duyarlılık	%75-90	%80-95
Özgüllük	%70-95	%95-100
BCG ile çapraz reaksiyon	Var	Daha az
NTM'ler ile çapraz reaksiyon	Var	Daha az
Test pozitifliği ile izlem sürecinde aktif Tbc gelişim riski ilişkisi	Orta-güçlü ilişki	Yetersiz veri
Tbc ile temas ilişkisi	Var	Var
Güvenilirlik	Var	Kanıt yok
Booster etkisi	Var	Yok
Yan etki	Nadir	Nadir
Hasta viziti	İki	Bir
Maliyet	Düşük	Yüksek
Laboratuvar alt yapısı	Gerekmez	Gerekli
Testin sonuçlanma hızı	2-3 gün	1-2 gün
Personel ihtiyacı	Var	Var

düşünülmektedir (4,9). Başlangıçta bu konuda yapılan araştırmalar büyük ölçüde latent tüberkülozun tanısına odaklandıysa da günümüzde bu testlerin birçok uygulama alanı vardır. Bunlar (9);

1. Aktif tüberkülozun tanısı,
2. Aktif tüberkülozun öngörebilmesi,
3. *M. tuberculosis* infeksiyonu ile önceden yapılmış BCG aşısı arasındaki ayrımın yapılması,
4. Latent tüberküloz infeksiyonu olanlarda aktivasyonun öngörülebilmesi,
5. Tedaviye yanıtın izlenmesi.

Aktif Tüberküloza Sahip Hastalarda IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testlerin Duyarlılığı

IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin duyarlılığının değerlendirildiği çalışmalarda, bakteriyolojik olarak tüberküloz tanısı doğrulanmış (kültür veya yayma pozitifliği) hastalar alınırken, birçok çalışmada tedavi edilmemiş veya çok az tedavi almış HIV negatif hastalar da çalışmaya alınmıştır. TDT ve IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin başa baş kıyaslamalarında, çoğu çalışma, TDT için daha yüksek duyarlılık bildirmiştir. Testler



Şekil 1. Tüberkülin deri testi ve IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin çalışma prensipleri.

kendi içinde değerlendirildiklerinde ise, PPD'ye dayalı IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin, ESAT-6 veya CFP-10 kullanan testlere oranla daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu raporlanmıştır (16-24).

Tedavi edilmiş hastalarda yapılan çalışmalar, tedavi edilmemiş hastalara göre, IFN- γ araştırmasına dayalı testler için, TDT'ye göre daha düşük duyarlılık göstermiştir (12,25-27). Hastalık şiddeti IFN- γ yanıtını etkileyebilmekte ise de, çoğu çalışma özgüllük üzerine hastalık şiddetinin etkisini araştırmamıştır.

Duyarlılık üzerine HIV enfeksiyonunun etkisi Chapman ve arkadaşları tarafından değerlendirilmiştir (19). Bu çalışmada, ELISPOT testlerin HIV negatif hastalarda %100 duyarlılığa sahip olduğu, duyarlılığın HIV pozitif hastalarda %90 olduğu bildirilmiştir. Bu bulguya karşın, Elliott ve arkadaşları, PPD'ye ve CFP-10'a IFN- γ yanıtının HIV pozitif kişilerde HIV negatiflere göre şiddetle bozulduğunu göstermişlerdir (28).

Aktif Tüberküloza Sahip Olmayan Kişilerde IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testlerin Özgüllüğü

IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin özgüllüğünün değerlendirildiği çalışmalarda, tüberküloz öyküsü ve *M. tuberculosis* ile bilinen bir karşılaşma öyküsü olmayan düşük-endemik bölgelerden sağlıklı katılımcılar seçilmiştir. TDT'ye karşı başa baş kıyaslamalarda çoğu çalışma her iki test için benzer özgüllük bildirirken, bir kısım araştırmacı da RD1'e dayalı testlere ilişkin daha yüksek özgüllük bildirmiştir. Brock ve arkadaşları, aşısızlarda PPD ve RD1'e dayalı testler için %100 spesifisite, aşıllarda ise PPD için %53, RD1'e dayalı testler için %89 özgüllük bildirirken, Lalvani bu oranı sırasıyla %45 ve %92 olarak bildirmiştir. Sonuç olarak RD1'e dayalı antijenleri kullanan testler, PPD'ye dayalı testlere oranla daha yüksek özgüllüğe sahiptir (29,30).

Kuşkulu Latent Tüberküloz Enfeksiyonu Olan Kişilerde IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testlerin Duyarlılığı

Latent tüberküloz eğilimi olan topluluklarda IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin duyarlılığının değerlendirildiği çalışmalarda, PPD'ye ve RD1 an-

tijenlerine dayalı testlerde %80'den fazla duyarlılık bildirilmiştir. Başa baş kıyaslamalarda PPD'ye dayalı testlerin, RD1'e dayalı testlere göre daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (27,28,31-35).

Mazurek ve arkadaşları çok merkezli bir çalışmada, değişik enfeksiyon riski taşıyan 1226 erişkine QuantiFERON-TB'yi (PPD kullanarak) ve TDT'yi uygulamış, testler arasında toplam uyuşmayı %83 olarak bildirmiştir ($k= 0.60$) (26). IFN- γ araştırmasına dayanan testlerde pozitif iken, TDT'de negatif çıkan hastaların çoğunun, tüberküloz riskini artıran fakat aynı zamanda yanlış-negatif TDT'ye neden olan ileri yaş, hepatit C, alkolizm, böbrek yetmezliği, steroid tedavisi ve kanser gibi risk faktörlerinden en az birine sahip olduğu belirtilmiştir (35).

Ewer ve arkadaşları, ELISPOT assay (ESAT-6 ve CFP-10) ve Heaf testi kullanarak yayma pozitif akciğer tüberkülozu olan enfeksiyöz bir olgudan ortaya çıkan okul salgınını araştırmışlardır. Bu çalışmada aşı ve aşısız değişik derecede temaslı 535 çocuk değerlendirilmiş ve iki test arasındaki toplam uyuşma %89 olarak bulunmuştur ($k= 0.72$). ELISPOT testi, BCG durumu ile anlamlı ilişki göstermezken, bu test temas derecesi ile daha ilişkili bulunmuştur (36).

***M. tuberculosis* ile Temaslılarda IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testler ve TDT**

M. tuberculosis ile karşılaşanlarda, TDT ve IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin değerlendirildiği çalışmalarda, temasın varlığı, enfeksiyöz tüberküloz hastasıyla temasın süresi ve yakınlığına göre derecelendirme yapılmıştır (34,37-39). Ewer ve arkadaşlarının yaptığı salgın araştırmasında, RD1'e dayalı ELISPOT ve TDT arasındaki ilişki, kaynak olgu ile temasın derecesine göre kıyaslanmıştır. Yakınlaşma ve ortak aktivitelere göre, 535 öğrenci dört temas grubuna ayrılmıştır. ELISPOT testi, TDT'ye kıyasla temas derecesi ile anlamlı olarak daha ilişkili bulunmuştur ($p= 0.03$) (36). Benzer bir çalışmada, Brock ve arkadaşları Danimarka'da bir lisede kaynak olgu ile temaslı 125 kişiyi (40'ı BCG ile aşı) araştırmıştır. Aşılanmamış temaslılarda, hem RD1'e dayalı QuantiFERON-TB Gold test hem de Qu-

antiFERON-TB kullanarak yüksek ve düşük temas grupları arasında ayırım yapmışlardır. BCG ile aşıli temaslılarda ise, sadece RD1'e dayalı QuantiFERON-TB Gold test temas durumu ile yüksek ilişki göstermiştir (37).

Hill ve arkadaşları, 130 balgam yayması pozitif tüberküloz hastası ile temaslı 735 ev halkını TDT ve iki testi (PPD, ESAT-6 veya CFP-10 kullanılarak) kullanarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada temas durumu, temaslıların hasta ile aynı odada uyuyup uyumadıklarına göre tanımlanmıştır. Pozitif TDT sonuçları ve negatif ESAT-6 veya CFP-10 ELISPOT sonuçları olan kişilerin yüzdesinin artan temasla birlikte anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir (38).

Richeldi ve arkadaşları, nozokomiyal temastan sonra *M. tuberculosis* geçişini araştırmışlardır. Bu çalışmadaki kaynak olgu, doğum sonrası çok ilaca dirençli yayma pozitif tüberküloz tanısı konan bir anne idi. Bu çalışmada 41 yenidoğan ve 47 erişkin TDT ve RD1'e dayalı ELISPOT test ile taranmış, 17 kişide ELISPOT, dört kişide de TDT pozitif bulunmuştur. ELISPOT sonuçları tüberküloz teması ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Oda havasının kaynak olgu ile paylaşıldığı her bir saat için, pozitif bir ELISPOT sonucu odds değerini (OR) 1.05 kat artırırken [güven aralığı (CI) 1.02-1.09], TDT sonuçları temasla ilişki göstermemiştir (39).

IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testlerin BCG Aşısına Sahip Olanlarda Etkisi

Danimarka'da yapılmış bir çalışmada, RD1'e dayalı QuantiFERON-TB Gold testin, PPD'ye dayalı teste göre temaslıların BCG durumundan daha az etkilendiği bildirilmiştir (37). ESAT-6 veya CFP-10'un kullanıldığı QuantiFERON-TB Gold test ile yapılan çalışmalar, TDT ve PPD'nin kullanıldığı IFN- γ ölçümüne dayalı testlere göre, BCG ile aşılanan kişilerde daha yüksek özgüllük göstermiştir (40).

Almanya'dan Diel ve arkadaşlarının çalışmasında, 15 kaynak olgunun 309 temaslına TDT ve QuantiFERON-TB Gold test uygulanmıştır. Bunların %50.8'i daha önceden BCG aşısı olmuş ve %27.2'si Almanya'ya tüberküloz açısından yüksek prevalanslı ülkelerden göç eden kişilerdir.

Temaslılarda TDT'nin pozitiflik oranı %44.3 iken, QuantiFERON-TB Gold test pozitifliği %10 bulunmuştur. Aşıllılarda her iki testin uyumu zayıf bulunurken, aşısızlarda her iki testin uyumu daha yüksek bulunmuştur (41).

IFN- γ Araştırmasına Dayalı Testlerin Latent İnfeksiyona Sahip Olanlarda Aktif Tüberküloz Öngörüsü

Doherty ve arkadaşları, Etiyopya'da tüberkülozlu hastalarla temaslı 24 HIV negatif kişiyi değerlendirmiş ve aktif tüberküloz ile ilişkili olarak, başlangıçta ve iki yıl sonra PPD ve ESAT-6 kullanılan IFN- γ testleri çalışmışlardır. İzlemede, 24 temaslıdan 7 (%29)'sinde aktif tüberküloz gelişmiş ve aktif tüberküloz gelişen yedi temaslının 7 (%100)'sinde de başlangıçta PPD'ye dayalı IFN- γ testleri pozitif bulunmuştur. Ayrıca, 17 temaslıdan 14 (%83)'ünde başlangıçta ELISPOT testi pozitif saptanmıştır. Aktif tüberküloz gelişen yedi temaslıdan 6 (%86)'sı ESAT-6'ya kuvvetle yanıt verirken, öte yandan tüberküloz gelişmeyen 17 temaslıdan sadece üçü ESAT-6'ya yanıt vermiştir. Olgu sayısı az olmasına rağmen bu çalışma, ESAT-6'ya IFN- γ yanıtı ve daha sonra aktif tüberküloz gelişimi arasında kuvvetli bir ilişki göstermesi bakımından önemlidir (42).

Antitüberküloz Tedavinin IFN- γ Yanıtı Üzerine Etkisi

Birçok çalışma IFN- γ yanıtı üzerine tüberküloz tedavisinin etkisini değerlendirmiştir. ELISPOT kullanan çalışmalarda; ESAT-6'ya IFN- γ yanıtı aktif tüberkülozlu hastalarda tedavi ile azalmıştır (43-45). Ancak bazı çalışmalarda tedavi, ESAT-6'ya yanıt artışı ile sonuçlanmıştır (46-48). Wu-Hsieh ve arkadaşları, pulmoner tüberküloz nedeniyle tedavi edilen kişilerde tedaviden sonra ESAT-6'ya yanıtın devam ettiğini bildirmişlerdir (47). Hirsch ve arkadaşları PPD'ye IFN- γ yanıtının aktif tüberkülozlu hastalarda daha az olduğunu ve yanıtın tedaviden sonraki 12 ay boyunca düşük kaldığını göstermişlerdir (48).

Aiken ve arkadaşları ise, 89 tüberküloz hastasının tedavi öncesi ve sonrası ELISPOT sonuçlarını karşılaştırmış, tedavi öncesi 89 hastanın, 70/85 HIV negatif hastada (%82) ESAT-6 veya

CFP-10 kullanılan ELISPOT testi pozitifken, 77 (%90)'sinde PPD'ye dayalı IFN- γ testi pozitif saptanmıştır. Seksen iki (%96) hasta tedaviyi problemsiz tamamlamış, 44 (%55; $p < 0.001$)'ünün 12 ay sonra ELISPOT testi negatifleşirken, 17 (%21; $p = 0.051$)'sinin PPD'ye dayalı IFN- γ testi negatif saptanmıştır. Altmış (%73) hastada CFP-10 ELISPOT sayımı, 64 (%78) hastada ESAT-6 ELISPOT sayımı, 58 (%70) hastada ise PPD bazlı IFN- γ sayımında azalma saptanmıştır. Dört HIV'li hastanın üçünde tam iyileşme sağlanmış ve ELISPOT testi negatifleşmiş, oysa tedaviye yanıtız dört hastanın (üç HIV negatif, bir HIV pozitif) ESAT-6, CFP-10 ve PPD ELISPOT testleri 12 ay boyunca pozitif kalmıştır (49).

Carrara ve arkadaşları, hastalarının çoğunda üç aylık tedaviden sonra ELISPOT yanıtının kaybolduğunu göstermiş, testi halen pozitif olan hastalarda ise aktif hastalık bulgularının devam ettiğini bildirmişlerdir (43).

Latent Tüberküloz İnfeksiyonu Profilaksisi Alanlarda IFN- γ 'nın Etkinliği

Pai'nin bir çalışmasında, latent tüberküloz enfeksiyonu tanısıyla altı aylık koruyucu tedavi verilen sağlık çalışanlarında, koruma bitiminden 4-10 ay sonra dahi IFN- γ yanıtlarının devam ettiği gösterilmiştir (50). Bu çalışma sonucunda yazının yorumu, belki de yüksek tüberküloz insidansına sahip bölgelerde latent tüberküloz enfeksiyonuna sahip kişilerin IFN- γ yanıtının daha belirgin olduğu ve bu nedenle altı aylık koruyucu tedavi süresinin yeterli olmadığıdır. Ancak bu sonuca varmak için konuyla ilgili daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Tekrarlayan TDT'lerin ELISPOT Testi Üzerine Etkisi

Richeldi ve arkadaşlarının çalışmasında aşısız olup, başlangıçta hem TDT hem de ELISPOT testi negatif olan 44 temaslıda, 3, 9, 15 ve 24. aylarda hem deri testi hem de ELISPOT testi tekrarlanmıştır. Başlangıçta ELISPOT testi negatif hiçbir hastanın, tekrarlayan TDT'lere rağmen ELISPOT testi sonradan pozitifleşmemişken, bu kişilerin üçünün TDT'si sonradan pozitifleşmiştir (51). Booster fenomeni açısından bakıldığında, tanıda güçlük gösteren hastalarda, ELISPOT testi daha faydalı olabilir.

Latent Tüberküloz İnfeksiyonu Tanısında T SPOT-TB ve QuantiFERON-TB Gold'un Karşılaştırmalı Performansı

Ferrara ve arkadaşlarının çalışmasında, latent veya aktif tüberküloz kuşkusu ile izledikleri 393 hastaya eş zamanlı olarak T SPOT-TB ve QuantiFERON-TB Gold'u test ederken, bu hastaların 313'üne TDT yapmışlardır. Her iki test deri testi ile genel uyumlu bulunurken (T SPOT-TB $k = 0.508$, QuantiFERON-TB Gold $k = 0.460$), TDT ile karşılaştırıldığında BCG aşısı olan daha az sayıda kişide her iki test de pozitif bulunmuştur. QuantiFERON-TB Gold ile belirsiz sonuçlar, T SPOT-TB'ye göre anlamlı derecede daha sık görülmüştür. Beş yaşından küçük olgularda QuantiFERON-TB Gold ile belirsiz sonuç elde edilmesi arasında anlamlı ilişki bulunurken ($p = 0.003$), T SPOT-TB ile böyle bir ilişki belirlenmemiştir. Aktif tüberkülozlu hastalarla yakın temasta bulunan olgularda, T SPOT-TB pozitif olma olasılığı QuantiFERON-TB Gold'a göre daha fazla bulunmuştur ($p = 0.001$) (52).

TESTLERİN RUTİN KLİNİK KULLANIMDAKİ YERİ

Testlerin mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin klinik kullanımı ile ilgili pek çok rapor bildirilmiştir. QuantiFERON-TB Gold, İtalya ve Danimarka'daki üniversite hastanesi laboratuvarında, T SPOT-TB ise Almanya'da tanısız amaçlı mikrobiyoloji laboratuvarında, Teksas ve İsviçre'de özel laboratuvarlarda rutin kullanımda yer almaktadır (53-57).

Ferrara ve arkadaşları, test ettikleri rastgele seçilmiş 318 hastanın 68 (%21.4)'inin belirsiz sonuçlar verdiğini tespit etmiştir. Bu grup hastaların daha çok immünsüpresif tedavi alan grupta olduğunu bildirmişlerdir (53). Benzer sonuçlar 393 kişinin tarandığı bir prospektif çalışmada da raporlanmıştır (58). Pozitif kontrol başarısızlığına bağlı belirsiz sonuçlar T SPOT-TB ile daha az sıklıkta saptanıyor gibi görünmektedir. Dheda ve arkadaşlarının çalışmasında 29 HIV ile infekte kişiye, T SPOT-TB testi uygulanmış, hastaların %3'ünde belirsiz sonuçlar elde edilmiş ve pozitif kontrol cevabı CD4 sayımı ile ilişkili bulunmamıştır (59). Öte yandan daha fazla sayıda olgunun QuantiFERON-TB Gold (In Tube) testi ile

değerlendirildiği bir çalışmada ise, HIV'lı hastalarda yüksek (%24) belirsiz sonuçların daha çok CD4+ T-hücre sayımı 100'ün altında olan kişilerde olduğu görülmüştür (54).

SONUÇ

IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin duyarlılık ve özgüllüğü açısından yapılan çalışmalar farklılıklar göstermektedir. Özgül RD1 antijenleri kullanan IFN- γ araştırmasına dayanan testlerin daha yüksek özgüllük, *M. tuberculosis* teması ile daha iyi ilişki, önceki BCG aşısı ve NTM ile göreceli daha düşük çapraz reaksiyon gösterme gibi TDT'ye oranla birçok üstünlüğü olabilir. Antijen karışımları kullanan IFN- γ araştırmasına dayalı testler, özgüllük ve duyarlılık açısından en iyi bileşenler gibi görünmektedir. Bu durum klinik olarak, tüberküloz enfeksiyonu için duyarlı olan bu yeni testlerin, özellikle yanlış negatif TDT sonuçlarına eğilimli gruplara (bağışıklığı baskılanmış, malnütrisyonlu hastalar) ve bir kez enfekte olup da aktif tüberküloz gelişme riski olan kişilere tanı koymaya yardımcı olacağı anlamına gelir. IFN- γ araştırmasına dayalı testler yanlış pozitif sonuçları azaltarak gereksiz tedavileri ve yan etkileri azaltabilir (9).

Yapılan çalışmaların bir kısmında açıklanamayan TDT ve IFN- γ uyumsuzluğu olduğu görülmüştür. Bağışıklık sistemi baskılanmış ya da bağışıklık yetmezliği olan kişiler, ekstrapulmoner tüberkülozlular gibi özel hasta gruplarında ölçümlerin kullanılabilir olduğunu gösteren güçlü kanıtlar vardır. Tüberküloz tedavisinin etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar ise halen devam etmektedir. Aktif tüberküloz tedavisi sırasında veya latent tüberküloz enfeksiyonu olan kişilerin izlemleri için testin kullanılabilirliği ile *M. leprae* enfeksiyonu ve NTM ile teması değerlendirmedeki sonuçlar henüz açık değildir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, IFN- γ araştırmasına dayalı testlerin, klinikte ve halk sağlığında yararlı tanısal araçlar olma gücüne sahip olduğu yönündedir. Ancak bu gücün günlük yaşamda uygulanıp uygulanamayacağı büyük, iyi planlanmış çalışmalarla ve uzun dönem izlem çalışmalarıyla doğrulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 968-75.
2. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099-104.
3. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1860-66.
4. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1376-95.
5. Ferebee SH. Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review. *Bibl Tuberc* 1970; 26: 28-106.
6. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: Mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 578-90.
7. Styblo K. Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. *Adv Tuberc Res* 1980; 20: 1-63.
8. Mandalakas AM, Starke JR. Current concept of childhood tuberculosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16: 93-104.
9. Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: A systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 761-76.
10. Dockrell HM, Weir RE. Whole blood cytokine assays-a new generation of diagnostic tests for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 441-2.
11. Lalvani A. Spotting latent infection: The path to better tuberculosis control. *Thorax* 2003; 58: 916-8.
12. Lein AD, Von Reyn CF. In vitro cellular and cytokine responses to mycobacterial antigens: Application to diagnosis of tuberculosis infection and assessment of response to mycobacterial vaccines. *Am J Med Sci* 1997; 313: 364-71.
13. Sorensen AL, Nagai S, Houen G, et al. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1995; 63: 1710-7.
14. Mazurek GH, Villarino ME. Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep* 2003; 52: 15-8.
15. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P. Guidelines for using the QuantiFERON TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States. *MMWR Recomm Rep* 2005; 54: 49-55.
16. Arend SM, Andersen P, van Meijgaarden KE, et al. Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted antigenic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. *J Infect Dis* 2000; 181: 1850-4.
17. Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-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.

18. Brock I, Weldingh K, Leyten EM, et al. Specific T-cell epitopes for immunoassay-based diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2379-87.
19. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by numeration of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cells. *AIDS* 2002; 16: 2285-93.
20. 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.
21. Munk ME, Arend SM, Brock I, et al. Use of ESAT-6 and CFP-10 antigens for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2001; 183: 175-6.
22. Ravn P, Munk ME, Andersen AB. The diagnostic potential of the QuantiFERON-RD1 test in patients with active tuberculosis. Abstract O411. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 80.
23. Scarpellini P, Tasca S, Galli L, et al. Selected pool of peptides from ESAT-6 and CFP-10 proteins for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3469-74.
24. Van Pinxteren LA, Ravn P, Agger EM, et al. Diagnosis of tuberculosis based on the two specific antigens ESAT-6 and CFP10. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 155-60.
25. Lein AD, von Reyn CF, Ravn P, et al. Cellular immune responses to ESAT-6 discriminate between patients with pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex and those with pulmonary disease due to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 606-9.
26. 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.
27. Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, Wells VC. Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: Potential to replace the Mantoux skin test. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3229-32.
28. Elliott AM, Hurst TJ, Balyeku MN, et al. The immune response to *Mycobacterium tuberculosis* in HIV-infected and uninfected adults in Uganda: Application of a whole blood cytokine assay in an epidemiological study. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 239-47.
29. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 824-8.
30. Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-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.
31. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 824-8.
32. Ravn P, Demissie A, Eguale T, et al. Human T cell responses to the ESAT-6 antigen from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1999; 179: 637-45.
33. Vekemans J, Lienhardt C, Sillah JS, et al. Tuberculosis contacts but not patients have higher gamma interferon responses to ESAT-6 than do community controls in The Gambia. *Infect Immun* 2001; 69: 6554-7.
34. Vekemans J, Ota MO, Sillah J, et al. Immune responses to mycobacterial antigens in the Gambian population: Implications for vaccines and immunodiagnostic test design. *Infect Immun* 2004; 72: 381-8.
35. Fietta A, Meloni F, Cascina A, et al. Comparison of a whole-blood interferon-gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Am J Infect Control* 2003; 31: 347-53.
36. 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.
37. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, et al. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 65-9.
38. Hill PC, Brookes RH, Fox A, et al. Large-scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection against a gradient of exposure in The Gambia. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 966-73.
39. Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 288-95.
40. Johnson PD, Stuart RL, Grayson ML, et al. Tuberculin-purified protein derivative-, MPT-64, and ESAT-6-stimulated gamma interferon responses in medical students before and after *Mycobacterium bovis* BCG vaccination and in patients with tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 934-7.
41. Diel R, Nienhaus A, Lange C, et al. Tuberculosis contact investigation with a new specific blood test in low incidence population containing a high proportion of BCG vaccinated persons. *Respiratory Research* 2006; 17: 77.
42. 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.
43. Carrara S, Vincenti D, Petrosillo N, et al. Use of a T cell-based assay for monitoring efficacy of antituberculosis therapy. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 754-6.

44. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet* 2001; 357: 2017-21.
45. Pathan AA, Wilkinson KA, Klenerman P, et al. Direct ex vivo analysis of antigen-specific IFN-gamma secreting CD4 T cells in *Mycobacterium tuberculosis*-infected individuals: associations with clinical disease state and effect of treatment. *J Immunol* 2001; 167: 5217-25.
46. Ullrichs T, Anding R, Kaufmann SH, Munk ME. Numbers of IFN-gamma-producing cells against ESAT-6 increase in tuberculosis patients during chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 1181-3.
47. Wu-Hsieh BA, Chen CK, Chang JH, et al. Long-lived immune response to early secretory antigenic target 6 in individuals who had recovered from tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1336-40.
48. Hirsch CS, Toossi Z, Othieno C, et al. Depressed T-cell interferon-gamma responses in pulmonary tuberculosis: Analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy. *J Infect Dis* 1999; 180: 2069-73.
49. Aiken A, Hill P, Fox A, et al. Reversion of the ELISPOT test after treatment in Gambian tuberculosis cases. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 2334-46.
50. Pai M, Joshi R, Dogra S, et al. Persistently elevated T cell interferon-gamma responses after treatment for latent tuberculosis infection among health care workers in India: A preliminary report. *J Occup Med Toxicol* 2006; 23: 1-7.
51. Richeldi L, Ewer K, Losi M, et al. Repeated tuberculin testing does not induce false positive ELISPOT results. *Thorax* 2006; 6: 180.
52. Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: A prospective study. *Lancet* 2006; 367: 1328-34.
53. Ferrera G, Losi M, Meacci M, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 631-5.
54. Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, et al. Latent tuberculosis in HIV positive diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon gamma test. *Respir Res* 2006; 7: 56.
55. Meier T, Eulenbruch HP, Wringhton-Smith P, et al. Sensitivity of a new commercial enzyme linked immunospot assay (T SPOT TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 529-36.
56. Shams H, Weis SE, Klucar P, et al. Enzyme-linked immunospot and tuberculin skin testing to detect latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1161-8.
57. Zellweger JP, Zellweger A, Ansermet S, et al. New T cell based test correlates better with tuberculosis exposure than tuberculin skin test. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 1242-7.
58. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, et al. Prospective evaluation of a whole blood test using *Mycobacterium tuberculosis* specific antigens ESAT 6 and CFP10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 491-6.
59. Dheda K, Lalvani A, Miller RF, et al. Performance of a T cell based diagnostic for tuberculosis infection in HIV infected individuals is independent of CD4 cell count. *AIDS* 2005; 19: 2038-41.