

# Çocuklarda Latent Tüberküloz Tanısında Tüberkülin Deri Testi ve İn Vitro İnterferon-Gama Salınım Testinin Karşılaştırılması

## Comparison of Tuberculin Skin Testing and In Vitro Interferon-Gamma Release Assay Test for Diagnosis of Latent Tuberculosis in Children

Yeliz ÇAĞAN APPAK,<sup>a</sup>  
Özgür APPAK,<sup>b</sup>  
Özden ANAL,<sup>a</sup>  
Nuran ESEN,<sup>b</sup>  
Seçil ARSLANSOYU ÇAMLAR,<sup>a</sup>  
Balahan MAKAY,<sup>a</sup>  
Şevket Erbil ÜNSAL<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,  
<sup>b</sup>Tıbbi Mikrobiyoloji AD,  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 06.02.2013  
Kabul Tarihi/Accepted: 23.09.2013

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Yeliz ÇAĞAN APPAK  
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,  
İzmir,  
TÜRKİYE/TURKEY  
yelizcagan@yahoo.com

**ÖZET Amaç:** Çocukluk çağında latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE), yaşamın bir döneminde aktif tüberküloz (TB) hastalığı gelişme riski yönünden önemlidir. *Mycobacterium tuberculosis* ile enfeksiyonun belirlenmesinde yararlanılan tüberkülin deri testinin (TDT) yorumlanması güçtür. İn vitro interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) salınımını ölçen testler ile bu güçlüklerin giderilmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmada, LTBE açısından araştırılan çocuklarda IFN- $\gamma$  salınım testi TDT endürasyonları ile karşılaştırılmaktadır. **Gereç ve Yöntemler:** QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT-Gold IT) testi ile periferik kan T hücrelerinde *Mycobacterium tuberculosis*'e özgül ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 antijenlerine karşı önceden duyarlanması olup olmadığı araştırılan 7 ay ile 15 yaş arası 54 çocuk çalışmaya alınmıştır. TDT uygulanmış olan bu hastalar, endürasyon ölçümlerine göre 10-14 mm ve  $\geq 15$  mm olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her iki grup QFT-Gold IT test pozitifliği yönünden karşılaştırılmıştır. **Bulgular:** TDT endürasyonu 10-14 mm olan 21 çocuğun 2 (%9,5)'sinde, endürasyonu  $\geq 15$  mm olan 33 çocuğun 2 (%6)'sinde QFT-Gold IT testi pozitif bulunmuştur. İsoniazid profilaksisi, TDT endürasyonlarına göre olguların %64,8'ine başlanmış olup bu çocukların %91,4'ünde QFT-Gold IT testi negatiftir. TDT pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılık %38,9 olarak saptanmıştır. **Sonuç:** BCG aşısının rutin uygulandığı ve TDT yanlış pozitiflik oranının yüksek olduğu topluluklarda, IFN- $\gamma$  salınımına dayanan testler çocuklarda kesin LTBE tanısının konulabilmesinde yardımcı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Tüberkülin testi; BCG aşısı; ESAT-6 proteini, *Mycobacterium tuberculosis*

**ABSTRACT Objective:** Latent tuberculosis infection (LTBI) in childhood carries a greater risk of developing tuberculosis (TB) disease. Tuberculin skin testing (TST) is utilized for identifying infection with *Mycobacterium tuberculosis*, but its interpretation is difficult. In vitro interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) release tests are introduced to overcome these difficulties. The aim of this study is to compare the IFN- $\gamma$  release assay with the TST in children investigated for LTBI. **Material and Methods:** Fifty four children aged between 7 months and 15 years were tested with QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT-Gold IT) test based on in vitro interferon-gamma release from peripheral blood T cells in response to *Mycobacterium tuberculosis* specific antigens ESAT-6, CFP-10 and TB 7.7. The patients were divided into two groups depending on the induration size of their TST, either 10-14 mm or  $\geq 15$  mm. **Results:** QFT-Gold IT test was found positive in 2 (9.5%) of 21 children with tuberculin induration of 10-14 mm, and in 2 (6%) of 33 children with tuberculin induration of  $\geq 15$  mm. Isoniazid prophylaxis was given to 64.8% of the patients. In 91.4% of these children, QFT-Gold IT test was negative. TST positivity and QFT-Gold IT test positivity were found weakly consistent (38.9%). **Conclusion:** In a BCG vaccinated population, TST causes overdiagnosis of LTBI. QFT-Gold IT test is a highly specific assay that provides a solution for such undesirable aspects of TST.

**Key Words:** Tuberculin test; BCG vaccine; ESAT-6 protein, *Mycobacterium tuberculosis*

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(6):1402-7

doi: 10.5336/medsci.2013-34393

Copyright © 2013 by Türkiye Klinikleri

**T**überküloz (TB) tüm dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Latent tüberküloz enfeksiyonunda (LTBE), TB basili kişide dormant (uyur) halde kalıp, yaşamın bir döneminde %5-10 oranında

aktif hastalık gelişmesine yol açar.<sup>1</sup> Aktif hastalık gelişmesini önlemek için LTBE'nin özellikle çocukluk döneminde belirlenip tedavi edilmesi önemlidir.

Tüberkülin deri testi (TDT), LTBE tanısında yaygın kullanılan basit bir testtir. Tüberkülin deri testinde, mikobakterinin belirli antijenik birleşenleri, TB basili ile enfekte kişilerde gecikmiş tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu ortaya çıkarır. PPD (saflaştırılmış protein türevi=purified protein derivative) TB basil kültürü filtresinden protein presipitasyonu ile izole edilir; "tüberkülinler" denilen antijenik öğeleri içerir. Testin, BCG (basille Calmette-Guérin) aşılması yapılan toplumlarda özgüllüğü, immün yetersizliği olan hastalarda ise duyarlılığı düşüktür.<sup>2-5</sup> Testi okuyan kişiler arasındaki ölçüm farklılıkları, eğitilmiş personel ihtiyacı, hastaların 72 saat sonra tekrar görülmesi gerekliliği TDT'nin olumsuz yanlarıdır.<sup>3,5</sup> Testin en büyük avantajı düşük maliyetli olması ve laboratuvar alt yapı gerektirmemesidir.<sup>4,6</sup>

Tüberkülin deri testine alternatif bir yöntem olan QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT-Gold IT), antijenlerle uyarılan T hücrelerinden salınan IFN- $\gamma$ 'nın ölçümüne dayanan in vitro tanı testlerindedir. Bu testte hastadan alınan heparinli tam kan içinde bulunan lenfositleri uyarmak amacıyla antijen olarak, *Mycobacterium tuberculosis* genomunun RD1 (region of difference 1) bölgesinde kodlanan ESAT-6 (Early-Secreted Antigenic Target 6-kDa protein), CFP-10 (culture filtrate protein 10) ve phiRv2 (phage-inserted region) bölgesinde kodlanan TB7.7 peptid karışımı kullanılmaktadır. Bu proteinler, BCG aşı suşu veya diğer mikobakterilerin büyük çoğunluğunda bulunmamaktadır.<sup>4,7</sup> Hastanın yalnızca bir kez gelmesini gerektirmesi, derideki endürasyonun ölçümünde farklılıklar gibi kişisel faktörleri dışta bırakması nedeniyle, in vitro testin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir.<sup>4,6,8</sup>

Tüberküloz riskinin yüksek olduğu ülkemizde, LTBE oranını belirlemede spesifikliğı yüksek bir tanı yöntemi geliştirilmesi önemlidir. Bu çalışmada amaç, çocuklarda LTBE tanısında QFT-Gold IT testini TDT ile karşılaştırarak LTBE varlığını daha spesifik olarak gösterebilmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine 6 aylık süre boyunca 3 haftadan uzun süren öksürük yakınması ile başvuran ve TB'nin dışlanması için TDT uygulanıp 10-14 mm ve TDT  $\geq$ 15 mm endürasyon bulunan, ancak aktif TB hastalığı olmadığı saptanan olgular çalışmaya alındı. Çalışma Helsinki Deklerasyonu Prensiplerine uygun olarak, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan alınan onay ile yapıldı. Çalışmaya katılan hastalardan ve ebeveynlerinden "bilgilendirilmiş olur" alındı. Hastalar yaş, cinsiyet, BCG aşılama sayısı ve aşı izi, aile taraması ile TB temas öyküsü, bağışıklığı baskılayacak hastalık veya tedavi alma açısından değerlendirildi. Latent TB enfeksiyonu olarak değerlendirilen hastalara 6 aylık 10/mg/kg/gün izoniyazid profilaksisi başlandı.

Tüberkülin deri testi, 5 tüberkülin ünitesi (TU)/0,1 mL içeren saflaştırılmış protein türevi (PPD) solüsyonunun sol ön kol 2/3 üst dış ventral yüze intradermal uygulanması, 72 saat sonra mevcut endürasyonun ölçülmesi ile elde edildi. Endürasyon  $\geq$ 15 mm ise TDT pozitif kabul edildi. Olgulardan öncelikle QFT-Gold IT testi için venöz kan alındı, sonrasında TDT uygulandı.

QuantiFERON-TB Gold in Tube testi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında üretici firmanın (Cellestis, Carnegie, Australia) önerileri doğrultusunda çalışıldı. Bu test ile ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 peptid karışımı kullanılarak T hücrelerinde uyarılan IFN- $\gamma$  yanıtı ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile ölçüldü. Bu amaçla, tüm hastalardan üç ayrı tüpe (nil, antijen ve mitojen içeren) 1'er mililitre venöz tam kan alındı. Tüplerden biri *Mycobacterium tuberculosis*'e özgü ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 antijenlerini, pozitif kontrol tüpü T hücre mitojen fitohemaglutinin, negatif kontrol tüpü ise sadece heparin içermekteydi. Kan alındıktan sonra tüpler 5 saniye çalkalanarak karıştırıldı, sonrasında 37°C'de etüvde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında santrifüjleme ile elde edilen plazma örneklerinde peptid antijenlerine tepki olarak salınan IFN- $\gamma$  (IU/mL) düzeyi ELISA yön-

temi ile ölçüldü. Ekonomik olması açısından 28 hasta örneğinin birlikte çalışılması planlandı ve hemen çalışılmayacak plazma örnekleri -70°C'de bekletildi. Salınan interferon-gama miktarı  $\geq 0,35$  IU/mL ve nil kontrolünden  $\geq 25$  ise test pozitif kabul edildi. Interferon-gama miktarı  $< 0,35$  IU/mL veya IFN- $\gamma$   $\geq 0,35$  IU/mL ve nil kontrolünden  $< 25$  iken mitojen kontrol  $\geq 0,5$  IU/mL ise, test negatif kabul edildi. Interferon-gama miktarı  $< 0,35$  IU/mL veya IFN- $\gamma$   $\geq 0,35$  IU/mL ve nil kontrolünden  $< 25$  iken mitojen kontrol  $< 0,5$  IU/mL ise, test geçersiz olarak kabul edildi.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada veri analizi için SPSS 15.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık, p değeri  $< 0,05$  olanlar için kabul edildi. Analizde Pearson ki-kare testi kullanıldı. Gözlerden birinde beklenen değer 5'in altında olduğunda Fisher'in kesin testi sonuçları kullanıldı. Tüberkülin deri testi pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılık kappa katsayısı ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine Aralık 2008-Mayıs 2009 tarihleri arasında başvuran ve LTBE yönünden araştırılan 54 çocuk alındı. Çalışma grubunu yaşları 7 ay ile 15 yıl arasında değişen 31 (%57,4)'i erkek, 23 (%42,6)'ü kız hasta oluşturdu. Hastaların ortalama yaşı  $8,7 \pm 3,9$  yıl idi.

QuantiFERON-TB-Gold In Tube testi negatif olanların median yaşı 9 yıl (min 1,5-maks 15 yıl), pozitif olanların median yaşı 4 yıl (min 7 ay-maks 10 yıl), TDT 10-14 mm olanların median yaşı 7 yıl (min 7 ay-maks 15 yıl), TDT  $\geq 15$  mm olanların median yaşı 10 yıl (min 2-maks 15 yıl) olarak bulundu.

Tüberkülin deri testi uygulaması sonucunda, 21 (%38,9) hastada TDT 10-14 mm arasında, 33 (%61,1) hastada TDT  $\geq 15$  mm olarak ölçüldü. Hastaların 37 (%68,5)'sinde bir BCG aşılması, 17 (%31,5)'sinde iki BCG aşılması olduğu saptandı (Tablo 1). BCG aşı sayısı bir ve iki olanlar arasında TDT'nin 15 mm üzerinde görülme sıklığı açısından

**TABLO 1:** BCG aşı sayısı ve tüberkülin deri testi (TDT) sonuçlarının karşılaştırılması.

	BCG aşı sayısı	TDT					
		10-14 mm		$\geq 15$ mm		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
1	17	45,9	20	54,1	37	100	
2	4	23,5	13	76,5	17	100	
Toplam		21	39	33	61	54	100

p=0,117.

**TABLO 2:** BCG aşı sayısı ve QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi (QFT-Gold IT) sonuçlarının karşılaştırılması.

	BCG aşı sayısı	QFT-Gold IT					
		Negatif ( $< 0,35$ IU/mL)		Pozitif ( $\geq 0,35$ IU/mL)		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
1	34	91,9	3	8,1	37	100	
2	16	94,1	1	5,9	17	100	
Toplam		50	92,6	4	7,4	54	100

p=1,000.

istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Pearson ki-kare: 2,46, p=0,117).

Çalışmada bir BCG aşılması olan 34 (%91,9) hastanın QFT-Gold IT testi negatif, 3 (%8,1) hastanın pozitif saptandı. İki BCG aşılması olan 16 (%94,1) hastanın QFT-Gold IT testi negatif, 1 (%5,9) hastanın ise QFT-Gold IT testi pozitif bulundu (Tablo 2). BCG aşı sayısı bir ve iki olanlar ile QFT-Gold IT testinin pozitif veya negatif olması arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Fisher'in kesin testi, p=1,000).

Hastaların 4 (%7,4) tanesinde QFT-Gold IT testi pozitif bulundu. TDT  $\geq 15$  mm olan 33 hastanın 2 (%6)'si QFT-Gold IT testi pozitif, TDT 10-14 mm olan 21 hastanın 2 (%9,5)'si QFT-Gold IT testi pozitif olarak saptandı. TDT  $\geq 15$  mm olan 33 hastadan 31 (%94)'inde QFT-Gold IT testi negatif idi (Fisher'in kesin testi, p=0,640) (Tablo 3).

Çalışmada, TDT pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılık %38,9 olup, kappa katsayısının (p=0,630) anlamsız olmasından dolayı bir tutarlılık olmadığı sonucuna varıldı.

Çalışmada ev içi TB teması olan 5 hastanın bir tanesinde QFT-Gold IT testi pozitif saptandı (%20).

**TABLO 3:** QuantiFERON-TB-Gold In Tube testi (QFT-gold IT) ve tüberkülin deri testi (TDT) sonuçlarının karşılaştırılması.

		TDT					
		≥ 15 mm		10-14 mm		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
QFT-gold IT	Pozitif (≥ 0,35 IU/mL)	2	50	2	50	4	100
	Negatif (<0,35 IU/mL)	31	62	19	38	50	100
Toplam		33	61	21	39	54	100

p=0,640.

Öyküde TB teması olmayan 49 hastanın 3 tanesinde ise QFT-Gold IT testi pozitif saptandı (%6,1). Hastaların TB temasının olması ile QFT-Gold IT testinin pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Fisher'in kesin testi, p=0,330).

Tüberküloz teması olan 5 hastadan birinde (%20), TB teması olmayan 49 hastanın 32 (%65,3)'ünde TDT ≥15 mm saptandı. Tüberküloz teması olan hastaların %80'inde, TB teması olmayanların %34,7'sinde TDT 10-14 mm arasında bulundu. Tüberkülin deri testi 10-14 mm ve ≥15 mm olan hastalar TB teması açısından değerlendirildiğinde, TB teması ile TDT değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı (Fisher'in kesin testi, p=0,070).

Tüm hastaların LTBE açısından değerlendirilmesi sonucunda hastaların %64,8'ine izoniyazid profilaksisi başlandı. İzoniyazid profilaksisi başlanan hastaların %91,4'ünde QFT-Gold IT testi negatif idi.

Çalışmada izoniyazid profilaksisi alanlardan sadece bir hastada (%2,86) karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik nedeni ile tedaviye ara verildi.

## TARTIŞMA

Dünya nüfusunun üçte birinden fazlasını enfekte eden *Mycobacterium tuberculosis*, her yıl 450 000'den fazla çocuğun ölümüne neden olmaktadır. Özellikle küçük çocukların erişkinlere göre immatür bağışıklık sistemleri nedeni ile ciddi hastalık geliştirme riski fazladır. Bu nedenle aktif TB riskini azaltmak için LTBE olan çocukları erken tanımlayıp tedavi etmek çok önemlidir.

Çocuklarda LTBE tanısını koymak zordur ve TDT'ye dayalı olarak değerlendirilir. BCG aşılması

yapılan toplumlarda spesifitesi, immün yetersizlikli hastalarda sensitivitesi düşük olan TDT'yi değerlendiren kişilerin ölçümleri arasındaki farklılıklar, eğitilmiş personel ihtiyacı, hastaların 72 saat sonra tekrar görülmesi gerekliliği, diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyon, TDT'nin olumsuz yanlarıdır. Yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar verebilen TDT'nin duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olmadığından, tanısal değeri sınırlıdır.

QuantiFERON-TB Gold In Tube testinde ise BCG aşısı suşunda ve çoğu tüberküloz dışı mikobakteride bulunmayan (*Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai*, *Mycobacterium marinum* hariç) ancak *Mycobacterium tuberculosis*'te mevcut olan ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 özgül antijenleri kullanılarak T hücrelerinden IFN-γ salınımı uyarılmaktadır. Bu nedenle *Mycobacterium tuberculosis* için yüksek oranda özgüldür.<sup>4,9</sup> Interferon-gama salınımına dayalı testler ile yapılan bazı çalışmalarda TDT'ye göre üstün oldukları bulunmuştur.<sup>10-12</sup>

Ülkemizde BCG aşılması rutin aşı programında yer almaktadır. Çalışmamızda BCG aşılması ile QFT-Gold IT test sonucu ilişkisine bakıldığında, QFT-Gold IT testinin BCG aşılmasından etkilenmediği görülmüştür. Tüberküloz hastasıyla temas öyküsü bulunan ve yarısı BCG aşıları 309 kişiyle yapılan bir çalışmada IFN-γ testlerinin aşılardan etkilenmediği gösterilmiştir.<sup>13</sup> Lighter ve ark.nın çalışmasında da TDT ve QFT-Gold IT testleri arasında en yüksek uyum (%91), BCG aşılması olmayan ve TDT ≥15 mm olan hastalarda bulunmuştur.<sup>14</sup> BCG aşılması olan çocuklarda QFT-Gold IT pozitiflik oranı ile TDT endürasyon yüksekliği arasında ilişki saptanmamıştır.<sup>14</sup>

QuantiFERON-TB Gold In Tube testinde bağışıklık sistemini baskılayan tedavi ya da tıbbi durumlar IFN- $\gamma$  yanıtını azaltabilir. Enfeksiyonun durumu (hücrel bağışıklık yanıtı oluşmadan önce testin uygulanması gibi), hastanın bağışıklık sistemi ile ilgili durumu, örneklerin yanlış alınması, testin hatalı çalışması veya diğer immünolojik değişkenler nedeniyle hatalı negatif sonuçlar elde edilebilir. IFN- $\gamma$  salınımına dayalı testler ile özellikle bağışıklığı baskılanmış ve yaşı küçük hastalarda duyarlılığın azaldığı bildirilmektedir.<sup>15,16</sup> Benzer çalışmalarda enfeksiyon başlangıcından sonra geçen zaman arttıkça, özellikle 2 yaşın altındaki hastalarda IFN- $\gamma$  salınımına dayalı testlerin duyarlılığının azaldığı gösterilmiştir.<sup>17</sup>

Bu çalışmada, TDT 10-14 mm olan 21 çocuktan ikisinde TDT 14 mm ile sınır değerde saptanmış olup, ev içi birinci derece akrabanın aktif TB nedeni ile tedavi altında olması nedeni ile profilaktik tedavi başlanmıştır. Bu çocuklardan birinde QFT-Gold IT testi pozitif bulunmuştur. QuantiFERON-TB Gold In Tube testi pozitif olan 4 çocuktan diğer 2'sinde ise TDT  $\geq$ 15 mm ölçüldüğünden, LTBE olarak değerlendirilerek profilaksi başlanmıştır.

QFT-Gold IT testi pozitif olarak sonuçlanan dördüncü olgu, TDT endürasyonu 10 mm olan, aile içi TB teması olmayan ve LTBE olarak değerlendirilmeyen 7 aylık bir bebektir. Bu hastada QFT-Gold IT testinde IFN  $\gamma \geq$ 0,35 IU/mL olması gereken pozitiflik yanıtı  $>$ 10 IU/mL olarak yüksek düzeyde saptanmıştır. Klinik, radyolojik ve laboratuvar bulguları ile LTBE veya aktif TB düşünülmeyen bu hastada olduğu gibi, pozitif IFN- $\gamma$  test sonucunun enfeksiyon hakkında karar vermede tek veri olarak değerlendirilemeyeceği açıktır. Ölçülen düzey ile hastalığın durumu, enfeksiyonun derecesi, bağışıklık yanıtı veya aktif hastalığa geçiş olasılığı ilişkilendirilemez. Test uygulanmasındaki yanlışlıklar hatalı pozitif sonuca neden olabilir. Pozitif test sonucu sonrasında aktif TB için klinik ve mikrobiyolojik tanısal değerlendirme yapılmamıştır. ESAT-6, CFP 10 ve TB 7,7 içeren *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium szulgai* veya *Mycobacterium marinum* kaynaklı bir enfeksiyonda da test sonucunun pozitif olabileceği unutulmamalıdır.

Lighter ve ark.nın çalışmasında yakın zamanda aktif TB hastası ile teması olan 8 hastanın IFN- $\gamma$  değeri ortalamasının 31,4 IU/mL olduğu bildirilmektedir. Bu hastalardan yakın zamanda teması olanların, eski temas şüphesi olan hastalara göre daha yüksek düzeyde IFN- $\gamma$  değerleri ( $>$ 10 IU/mL) gösterdiği saptanmıştır.<sup>14</sup> Bazı çalışmalarda da çocukların yaşı arttıkça pozitif mitojen kontrol yanıtında da artış olduğu bulunmuştur.<sup>13</sup>

Japonya'da erişkinler için QFT-Gold IT testinin eşik değeri 0,35 IU/mL olarak belirlenmiştir.<sup>18</sup> Bu eşik değer özellikle okul çağı çocuklar ve erişkinlerden daha az IFN- $\gamma$  üreten çok küçük çocuklar için gözden geçirilmelidir. Lighter ve ark.nın çalışmasında 2 yaş altındaki hastaların 1/3'ünde TDT pozitif ve QFT-Gold IT negatif saptanmış, mitojen fitohemaglutinine yanıt olarak salınan IFN- $\gamma$  miktarının yaş ile ilişkili olduğu bulunmuştur.<sup>14</sup>

QuantiFERON-TB-Gold In Tube testinde 24 saat inkübasyon zamanı ile efektör T hücrelerden salınan IFN- $\gamma$  miktarı ölçülmektedir. Tüberkülin deri testinde ise 48-72 saat gibi daha uzun bir inkübasyon süresi olup, efektör ve hafıza hücrelerinin her ikisinin de cilt reaksiyonunun oluşmasında payı bulunmaktadır. Bu nedenle IFN- $\gamma$  salınımına dayalı testlerde inkübasyon süresinin artırılmasının bu testlerin duyarlılığını ve TDT ile uyumunu artırabileceği düşünülmektedir.<sup>19,20</sup> QuantiFERON-TB-Gold In Tube testinde üçüncü tüp olan mitojen tüp pozitif kontrol olarak kullanılır ve opsiyoneldir. Bu çalışmada kişinin bağışıklık sistemi ile ilgili şüphe durumunda, kan alma ve inkübasyon işlemlerinin kontrolü için sonuçların daha anlamlı olması açısından önemli olan mitojen tüp de tercih edilmiştir.

Çalışmadaki hastaların TB teması ile QFT-Gold IT testi ve TDT değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmamış olup, bu durum özellikle ülkemiz şartlarında hastalardan temas öyküsünün sağlıklı olarak elde edilememesine bağlanmıştır. Testin 28 hastalık plaklarda toplanılıp çalışılması gerektiğinden, QFT-Gold IT test sonucu beklenmeden LTBE olarak değerlendirilen hastalara profilaktik tedavi başlanmıştır. Latent tüberküloz enfeksiyonu olarak değerlendirilen ve izoniyazid profilaksisi başlanan hastaların %91,4'ünde QFT-Gold IT testi

negatif bulunmuştur. Bu hastaların çoğunluğunun toksik etkileri olan izoniyazid tedavisini gereksiz aldığı düşünülebilir. Ülkemizde olduğu gibi BCG aşısının rutin olarak uygulandığı ve TDT'nin yanlış pozitifliğinin görüldüğü popülasyonlarda, IFN- $\gamma$  ölçümüne dayalı testler bireylere gereksiz profilaktik tedavi başlanmasını ve yol açacağı toksisite riskini azaltabilir. Bununla beraber çalışmamızdaki izoniazid profilaksisi başlanan hastalardan sadece bir hastada (%2,86) hepatotoksisite saptanmış, diğer hastalarda tedavi yan etkisi görülmemiştir.

Hastaların 1,5 yıllık izleminde hiçbir hastada aktif TB hastalığı da saptanmamıştır. Higucki ve ark. TB'li olgu ile teması olan lise öğrencilerinde TDT ile QFT-Gold testinin kullanılmasını karşıladıkları bir çalışmada 349 lise öğrencisini test etmiş, ve TDT pozitif olan 88 hastanın sadece 4'ünde QFT-Gold testinin pozitif olduğunu saptamışlardır.<sup>21</sup> Profilaktik tedaviyi sadece bu 4 hastaya vermişlerdir. Hastaların 3,5 yıllık izlem döneminde

hiçbirinin aktif TB hastalığı geliştirmediğini gözlemlemişler; temaslı araştırılmasında TDT yerine QFT-Gold testinin kullanılmasının ya da pozitif TDT'nin QFT-Gold testi ile doğrulanmasının gerektiğini öne sürmüşlerdir.<sup>21</sup>

QuantiFERON-TB Gold In Tube testinin eğitimli personel ve uygun laboratuvar koşulları gerektirmesi, ve hasta başı maliyetinin TDT ile karşılaştırıldığında çok yüksek olması nedeniyle, ülkemiz gibi gelişmekte olan bölgelerde LTBE tanısında TDT önemini korumaktadır. QuantiFERON-TB Gold In Tube testi, henüz rutin olarak kullanımı kısıtlı olsa da, ayrıntılı epidemiyolojik ve klinik inceleme ile birlikte uygulanan TDT için tamamlayıcı olmalıdır. Bu alanda yapılacak olan yeni çalışmalar ile bu testlerin kullanımının yaygınlaşacağı ve gelecekte *Mycobacterium tuberculosis*'e özgül yeni antijenlerin sayısının artması ile LTBE ile hastalık ayırımı yapacak yeni tanı metodlarının geliştirilebileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Stewart GR, Robertson BD, Young DB. Tuberculosis: a problem with persistence. *Nat Rev Microbiol* 2003;1(2):97-105.
- Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002;347(23):1860-6.
- Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993;17(6):968-75.
- Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356(9235):1099-104.
- Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(4 Pt 1):1376-95.
- Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004;4(12):761-76.
- Sørensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1995;63(5):1710-7.
- Barnes PF. Diagnosing latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(1):5-6.
- Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998;393(6685):537-44.
- Chun JK, Kim CK, Kim HS, Jung GY, Lee TJ, Kim KH, et al. The role of a whole blood interferon-gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in Bacille Calmette-Guérin vaccinated children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62(4):389-94.
- Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M, 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(9519):1328-34.
- Çiftçi F, Sezer O, Kaya H, Tozkoparan H, Bozkanat H, Deniz O, et al. [Comparison of tuberculin skin test and quantiFERON-TB gold in tube assay in young male patients with pulmonary tuberculosis]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2011;31(3):534-40.
- Diel R, Nienhaus A, Lange C, Meywald-Walter K, Forssbohm M, Schaberg T. Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir Res* 2006;7:77.
- Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics* 2009;123(1):30-7.
- Arend SM, Thijsen SF, Leyten EM, Bouwman JJ, Franken WP, Koster BF, et al. Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(6):618-27.
- Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, Buttery JP. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax* 2006;61(7):616-20.
- Mori T, Harada N, Higuchi K, Sekiya Y, Uchimura K, Shimao T. Waning of the specific interferon-gamma response after years of tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11(9):1021-5.
- Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170(1):59-64.
- Cehovin A, Cliff JM, Hill PC, Brookes RH, Dockrell HM. Extended culture enhances sensitivity of a gamma interferon assay for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14(6):796-8.
- Leyten EM, Arend SM, Prins C, Cobelens FG, Ottenhoff TH, van Dissel JT. Discrepancy between *Mycobacterium tuberculosis*-specific gamma interferon release assays using short and prolonged in vitro incubation. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14(7):880-5.
- Higuchi K, Harada N, Mori T, Sekiya Y. Use of QuantiFERON-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. *Respirology* 2007;12(1):88-92.