

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Emel Çalışkan¹
Cihadiye Elif Öztürk¹
Şükrü Öksüz¹
Nida Akar²

¹Düzce Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Düzce, Türkiye
²Ankara Atatürk
Sanatoryum Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Mikrobiyoloji
Laboratuvarı, Ankara,
Türkiye

Yazışma Adresi:
Emel Çalışkan
Düzce Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD.,
Düzce
Tel: +90 5421416 (4141)
emelcaliskan81@yahoo.com.tr

Geliş Tarihi: 11.08.2017
Kabul Tarihi: 08.09.2017
DOI: 10.18521/ktd.334151

Konuralp Tıp Dergisi
e-ISSN1309-3878
konuralptipdergi@duzce.edu.tr
konuralptipdergisi@gmail.com
www.konuralptipdergi.duzce.edu.tr

Gamma İnterferon Salınım Testi İle Latent Tüberküloz İnfeksiyonunun Araştırılması

ÖZET

Amaç: Tüberkülozun ilk enfeksiyonu genellikle gizli kalmakta ve vücut savunma mekanizmaları tarafından sınırlandırılmaktadır. Vücut direncinde zayıflama olursa bu enfeksiyon aktif hale gelebilmektedir. Latent enfeksiyon radyolojik ve bakteriyolojik olarak tanınmamaktadır. Bu enfeksiyonun erken tespit edilmesi günümüzde pek çok hastalıkta kullanılan immunosupresif tedaviler öncesinde gerekmektedir. Ayrıca aile içi tüberküloz geçişinin ve küçük çocuklardaki enfeksiyonun gösterilmesinde önemlidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, 20.02.2016-15.03.2017 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin servis, yoğun bakım ve polikliniklerinden tüberküloz şüphesi olan hastalar, sağlık personeli ve verem savaş dispanseri personeli olan toplam 76 kişi dahil edilmiştir. Latent enfeksiyonun gösterilmesinde gama interferon salınım testi "Quantiferon-Tb Gold ELISA testi (QIAGEN, Almanya)" kullanılmıştır.

Bulgular: Toplam 19 (% 25) kişide test pozitif olarak saptanmıştır. Pozitiflik saptanan 19 kişinin 8 (% 42)'i akciğer tüberkülozu tanısı, 4 (% 21)'ü akciğer dışı tüberküloz ön tanısı ve 7 (% 37)'si tüberkülozlu hastalarla temas etmiş olması nedeniyle çalışmaya alınmıştır. Pozitiflik saptanan kişilerin ikisi (% 10.5) akciğer tüberkülozu, biri (% 5.2) tüberküloz lenfadenit, biri (% 5.2) ise tüberküloz menenjit tanısı almıştır. Verem savaş dispanserinden çalışmaya alınan sağlık personelinin hepsinde test pozitif bulunmuştur. Son olarak, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında çalışan 19 kişiden sadece birinde test pozitif bulunmuş olup onun da ailesinde tüberküloz öyküsü olduğu öğrenilmiştir.

Sonuç: Quantiferon Tb gold ELISA testinin tüberkülozlu hastalarla sürekli temasta olan sağlık çalışanları başta olmak üzere, tüm sağlık çalışanlarında; ayrıca aktif tüberküloz enfeksiyonu düşünülüp kültür sonucu çıkıncaya kadar hastanın tedavisinin erken planlanmasının gerektiği durumlarda uygulanabilecek bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Gama İnterferon Salınım Testi, Latent Tüberküloz, Tanı.

Investigation of Latent Tuberculosis Infection with Gamma Interferon Release Test

ABSTRACT

Objective: The initial infection of tuberculosis is usually confidential and limited by body defense mechanisms. If there is weakening of the body resistance, this infection may become active. Latent infection can not be recognized as radiological and bacteriologically. Early detection of infection is necessary before immunosuppressive therapies are used in many diseases today. It is also important to demonstrated to transmission of tuberculosis from family members and presence of infections in small children.

Methods: A total of 76 people were included in the study between 20.02.2016-15.03.2017 with patients with tuberculosis suspicion at Duzce University Faculty of Medicine Hospital's intensive care unit and outpatient clinics, health personel and tuberculosis dispensary personel. Gamma interferon release assay "Quantiferon-Tb Gold ELISA test (QIAGEN, Germany)" was used to demonstrate latent infection.

Results: A total of 19 (25%) subjects had a positive test. Of the 19 patients who were positive, 8 (42%) had a pulmonary tuberculosis pre-diagnosis, 4 (21%) of them had an extrapulmonary tuberculosis pre-diagnosis and 7 (37%) had contact with tuberculosis patients. Two of the patients (10.5%) were positive for lung tuberculosis, one (5.2%) were tuberculous lymphadenitis and one (5.2%) were tuberculous meningitis. All health personel who were taken to the TB dispensary were found to be positive. Finally, only one of the 19 patients have been working at microbiology laboratory of our hospital who determinate positive test results, and he had a family story of tuberculosis.

Conclusion: The Quantiferon Tb gold ELISA test was thought to be a method that could be applied to all healthcare workers, especially healthcare workers who are constantly in contact with patients with tuberculosis. It is also considered appropriate to use of the patient with suspected active tuberculosis infection until culture end.

Keywords: Diagnosis, Gamma Interferon Release Test, Latent Tuberculosis.

GİRİŞ

Tüberküloz *M. tuberculosis complex* (*M.tuberculosis*, *M.canetti*, *M.bovis*, *M.pinnipedi*, *M. M.africanum*, *M.bovis* aşı suşu) içinde yer alan bakteriler tarafından oluşturulan bir hastalıktır (1). Hastalık, insanlık tarihi kadar eski olup, hayvanların evcilleştirip sütlerinin kullandığı zamana kadar gitmektedir. *M. tuberculosis* yavaş üreyen bir bakteri olup kültürü 6 hafta sürmektedir. Bu nedenle tüberküloz basiline maruz kalan insanların klinik bulgular olmadan latent enfeksiyonlarını göstermek önemli bir durumdur. Latent enfeksiyonu ya da bulaşmanın gösterilmesi için yıllardır kullanılan tüberkülin deri testi (TDT) yanında interferon gama salınım testleri de geliştirilmiştir (2). Bu testler deri testi gibi hastaya antijen zerk edilerek değil deney tüpünde uygulanan bir testtir. Deri testleri testi yapan ve değerlendiren kişinin mesleki tecrübesine göre değişiklikler gösterebilmekte olup ülkemizde rutin primer aşılama programında olan BCG aşısının yapılmış olmasından da etkilenmektedir. Ayrıca hastanın test yapılırken ve 48 saat sonra değerlendirilmesi için tekrar görülmesi gerekmektedir. İmmunosupresyondan da etkilenmekte ve yanlış negatif sonuç verebilmektedir. Sadece verem savaş dispanserlerinde bulunması da diğer hastanelerde takip edilen hastalar açısından zorluk yaşanmasına neden olabilmektedir (3).

Bu nedenlerle hastanemize tüberküloz ön tanısı ile gelen veya yakınlarında tüberküloz saptanan hastalarda latent tüberküloz tespiti için interferon gama salınım düzeyi araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmaya 20.02.2016-15.03.2017 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nin servis, yoğun bakım ve polikliniklerinden tüberküloz şüphesi olan hastalar, mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanları ve verem savaş dispanseri personeli dahil edilmiştir. Hastaların klinik bulguları kaydedildikten sonra kan örnekleri alınmıştır. Gama interferon salınım testi içi Quantiferon-Tb Gold ELISA testi (QIAGEN, ALMANYA) kullanılmıştır. Hastalardan alınan heparinize tam kan örnekleri bir Nil (negatif kontrol), bir TB antijen [early secretory antigenic target-6 (ESAT-6), culture filtrate protein 10 (CFP-10), ve tuberculosis 7.7 antigen] ve bir mitojen (pozitif kontrol) tüpüne alınmıştır. Heparinize kan örnekleri tüplere alınarak 10 kere alt üst edildikten sonra 37°C'de 16-24 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda santirfüj edilerek plazmalar ayrılmış ve ELISA testi yapılmaya kadar -20 °C'de bekletilmiştir. Çalışma üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmış ve 450 nm'lik bir filtresi ve 620 nm ila 650 nm'lik referans filtresi bulunan bir

spektrofotometre kullanılarak, her bir kuyunun optik dansitesi (OD) ölçülmüştür. OD değerleri sonuçların hesaplanmasında kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yorumlanmıştır. TB Antijen tüpü değeri, Nil IFN-γ IU/ml değerinin çok üzerinde olduğunda, IFN-γ yanıtına yönelik test pozitif olarak değerlendirilmiştir. Quantiferon testi pozitif sonuçlanan kişilerden prosedüre uygun şekilde yeni kan örnekleri alınarak test tekrarlanmıştır. İki kere pozitif bulunanlarda, test pozitif sonuç olarak yorumlanmıştır. İstatistiksel hesaplamalarda SPSS (veri.18) programı kullanılmış, elde edilen verilere ait değerler sayı ve yüzde halinde verilmiştir. Risk faktörlerinin Quantiferon TB testi ile sonuçlarına göre değerlendirilmesinde Pearson ki-kare testi kullanılmış ve istatistik anlamlılık düzeyi $p \leq 0.05$ olarak alınmıştır.

Çalışma için Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.03.2015 tarih ve 2015/139 karar nosu ile onay alınmıştır.

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından "2015.04.01.305" numaralı ve "Latent tüberküloz enfeksiyonunun quantiferon-tb gold ELISA testi ile araştırılması" isimli projesi ile desteklenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 76 kişi dahil edilmiştir. Bunların 6 (% 8)' sı verem savaş dispanserinde görev yapan sağlık personeli, 19 (% 25)' u Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde görev yapan mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanı, 51 (% 67)' i ise Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi. Hastanesi'nin servis, yoğun bakım ve polikliniklerinden gönderilmiş tüberküloz şüphesi bulunan hastalardı.

Quantiferon TB testi 19 (% 25) kişide pozitif bulunmuştur. Pozitiflik saptanan hastaların yaşları minimum: 0.4, maximum: 71 yıl, ortalama 39.8 ± 20.7 yıl idi. Pozitiflik saptanan 19 kişinin 8 (% 42)' i akciğer, 4 (% 21)'ü akciğer dışı tüberküloz ön tanısı ve 7 (% 37)'si tüberkülozlu hastalarla temas etmiş olması nedeniyle çalışmaya alınmıştır. Pozitiflik saptanan kişilerin ikisi (% 10.5) akciğer tüberkülozu, biri (% 5.2) tüberküloz lenfadenit, biri (% 5.2) ise tüberküloz menenjit tanısı almıştır. Verem savaş dispanserinde çalışan sağlık personelinin hepsinde test pozitif sonuçlanmıştır. Verem savaş dispanserinde çalışmanın latent tüberküloz için çok önemli bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında çalışan 19 kişiden sadece 1'inde test pozitif bulunmuş olup onun da ailesinde tüberküloz öyküsü olduğu öğrenilmiştir. Latent tüberküloz ve ilişkili durumlardaki Quantiferon sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Latent tüberküloz ve ilişkili durumlardaki Quantiferon sonuçlarının değerlendirilmesi

Latent TBC ile ilişkili durumlar	Quantiferon sonucu n (%)		Toplam
	Pozitif	Negatif	
VSD personeli	6 (100)	0	6 (100)
Mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanları	1 (5)	18 (95)	19 (100)
TBC şüpheli hasta	12 (24)	39 (76)	51 (100)

TBC: *M. tuberculosis*, VSD: Verem savaş dispanseri**TARTIŞMA**

İnterferon- γ (IFN- γ) salınım testi ile *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu tespiti peptid antijenlerine in vitro yanıtları belirlemek için kullanılır. Bu test kişinin daha önce tüberküloz basili ile karşılaşmış karşılaşmadığını göstermekte ve böylece latent tüberküloz enfeksiyonu tanısının konulmasında kullanılmaktadır. Aktif *M. tuberculosis* enfeksiyonu tanısı için tek başına yeterli olmayıp risk değerlendirmesi, radyografi ve diğer tıbbi ve diyagnostik değerlendirmelerle birlikte yorumlanmalıdır (4).

Gamma interferon salınım testleri sadece tanı desteklenmesinde değil enfeksiyonun varlığını araştırmak için tarama testi olarak da kullanılabilir (4). İnterferon gama salınım testleri latent ya da aktif tüberküloz enfeksiyonu varlığını ayırt edememektedir. Ancak immunsupresif kişilerde latent enfeksiyon varlığı araştırılmasında TDT' ye göre daha uygun bir test olabilmektedir (5). Testin duyarlılığı ve özgüllüğü ile ilgili Japonya'da yapılan bir çalışmada BCG ile aşılanmış, hemşirelik eğitimine devam eden ve *M. tuberculosis* enfeksiyonu riski düşük olan hemşirelik öğrencileri arasında % 98.1 oranında özgüllüğünün; kültürden pozitifliği teyit edilmiş 118 hastada % 89 oranında duyarlılığının olduğu bildirilmiştir (6). Kore'de BCG ile aşılanmış 99 sağlıklı kişide testin özgüllüğü % 96 bulunmuşken TDT'nin özgüllüğü % 49 olarak saptanmış; akciğer tüberkülozu hastası olan 54 hastada testin duyarlılığı % 81 iken, TDT'nin duyarlılığı % 78 olarak tespit edilmiştir (7). Çalışmamıza temas öyküsü olan ya da aktif enfeksiyon şüphesi olan hastalar dahil edildiğinden testin duyarlılık ya da özgüllüğü belirlenmemiş olup 51 tüberküloz şüpheli hastadan sadece dördünde kesinleşmiş tüberküloz enfeksiyonu olması hasta seçiminin doğru yapılmadığını düşündürmüştür.

Tüberküloz basili ile karşılaşma sonrası çoğu kişide tüberküloza karşı savunma konak tarafından başlatılır ve çoğunlukla enfeksiyon latent olarak devam eder. Bu latent enfeksiyon herhangi bir zamanda aktif hastalığa dönüşme potansiyeli taşır. Bu nedenle latent tüberküloz enfeksiyonunun tanımlanması ve tedavisi yaklaşık % 90 olguda hastalık gelişim riskini azaltması yanında toplumdaki olası enfeksiyon kaynak sayısını

azaltma ve kişilerin sağlığını korumada önemlidir (8-11). Latent tüberküloz enfeksiyonu için yüksek insidanslı ülkelere uzun seyahatler, uyuşturucu madde kullanımı, yüksek insidansa sahip ülkelere son beş yıl içinde göç almak, tıbbi olarak yetersiz bakım almak veya evsiz olmak ile sağlık çalışanı olmak risk faktörleri arasında yer almaktadır (12). Yoshiyama ve arkadaşları (13) çalışmalarında 625 tüberküloz temas öyküsü olan kişinin 168'inde gamma interferon salınım testini pozitif olarak saptamışlar ve bunların 10 (% 6)'unun ortalama 637 gün takip döneminde tüberküloza ilerlediğini tespit etmişlerdir. 168 kişiden 99'unun mesleği nedeniyle temas öyküsü bulunmaktaymış ve bunlardan 27 (% 27)'sinde test pozitif olarak bulunmuştur. Almanya'da yapılan bir çalışmada 161 sağlık çalışanında gamma interferon salınım testi pozitifliği % 12.4; İsviçre'de bir üniversite hastanesinde bu oran % 7.6; Danimarka'da ise % 1 olarak bulunmuştur (14-16). Çalışmamızda ise tüberküloz hasta örnekleriyle temas halinde olan 19 mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanından sadece birinde (% 5) pozitiflik olması ve onun da ailesinde tüberküloz öyküsünün olması laboratuvarımızda biyogüvenliğin doğru uygulandığını göstermiştir. Ayrıca pozitiflik oranının düşük olduğu ülkelerde sağlık çalışanlarının aşılama programlarına dikkat edildiği düşünülmüştür. Çalışmamızda verem savaş dispanserinde çalışanlardan alınan örneklerin tamamında ise test pozitif bulunmuştur. Literatürde ülkemizdeki diğer verem savaş dispanserlerinde çalışanlardaki latent enfeksiyon varlığının araştırılması ile ilgili çalışma bulunamamış olup verem savaş dispanserinde çalışmanın latent tüberküloz açısından ciddi risk oluşturduğu ve burada çalışanların düzenli takiplerinin yapılması gerektiği görülmektedir.

Çalışmamızda latent tüberküloz saptanması için Quantiferon Tb gold ELİSA testi kullanılmış ve kantitatif sonuç veren bu testin tüberkülozlu hastalarla sürekli temasta olan sağlık çalışanları başta olmak üzere, tüm sağlık çalışanlarında; ayrıca aktif tüberküloz enfeksiyonu düşünülüp kültür sonucu çıkıncaya kadar hastanın tedavisinin erken planlanmasının gerektiği durumlarda uygulanabilecek bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Babacan F, Över U. Mikobakterilerin genel özellikleri ve *Mycobacterium tuberculosis* complex. İçinde:Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi cilt 2. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002:1675-90.
2. Druszczyńska M, Kowalewicz Kulbat M, Fol M, et al. Latent M. tuberculosis infection pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention strategies. Polish Journal of Microbiology 2012; 61(1): 3-10.
3. Karaman S, Öztürk Ce, Bahçe başı T. Hastane temizlik personelinde latent *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu araştırılması. Düzce Tıp Dergisi 2011; 13(1): 32-44.
4. Flores-Ibarra AA, Ochoa-Vázquez MD, Sánchez-Tec GA. Diagnostic strategies in the Tuberculosis Clinic of the Hospital General La Raza National Medical Center. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2016; 54(1): 122-7.
5. McNeerney R, Maeurer M, Abubakar I, et al. Tuberculosis diagnostics and biomarkers: needs, challenges, recent advances, and opportunities. J Infect Dis. 2012; 15: 205.
6. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-g--based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 59-64.
7. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon g assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA 2005; 293: 2756-61.
8. Comstock GW. How much isoniazid is needed for prevention of tuberculosis among immunocompetent adults? Int J Tuberc Lung Dis 1999; 3: 847.
9. Horsburgh CR Jr. Priorities for the treatment of latent tuberculosis infection in the United States. N Engl J Med 2004; 350: 2060.
10. Rieder, HL. Interventions for Tuberculosis COntrol and Elimination. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2002.
11. Horsburgh CR Jr, Rubin EJ. Clinical practice. Latent tuberculosis infection in the United States. N Engl J Med 2011; 364: 1441.
12. Hartman-Adams H, Clark K, Juckett G. Update on latent tuberculosis infection. American Family Physician 2014; 89(11): 889-96.
13. Yoshiyama T, Harada N, Higuchi K, et al. Use of the QuantiFERON ®-TB Gold in Tube test for screening TB contacts and predictive value for active TB. Infectious Diseases 2015; 47: 542-9.
14. Nienhaus A, Loddenkemper R, Hauer B, et al. [Latent Tuberculosis Infection in Healthcare Workers – Evaluation of an Interferon-gamma Release Assay.]. Pneumologie 2007, 61: 219-23.
15. Stebler A, Iseli P, Muhlemann K, Bodmer T. Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 2008, 29: 681-3.
16. Soborg B, Andersen AB, Larsen HK, et al. Detecting a low prevalence of latent tuberculosis among health care workers in Denmark detected by M. tuberculosis specific IFN-gamma whole-blood test. Scand J Infect Dis 2007, 39: 554-9.