

Tüberküloz Tanısında İnterferon- γ Yanıtının Ölçülmesi

Tüberküloz (TB) basili ile infekte olan sağlıklı kişilerin %5'inde ilk iki yıl içinde aktif TB, %95'inde ise latent TB infeksiyonu (LTBI) gelişmektedir. Latent infeksiyon geçiren kişilerin çoğu sağlıklı kalabilmekteyken yaklaşık %5-10'unun yaşamlarının ileriki yıllarında yeniden aktif infeksiyon gelişebilmektedir. Bu nedenle TB'un erken ve zamanında, doğru tanısı, gerek hastalığın korunma ve kontrolü, gerekse tedavisi bakımından önemlidir (1).

TB'un kesin tanısı için altın standart; klinik bulguların yanında mikroskopi ve kültürdür (1). Son yıllarda tanıda gündemde olan yaklaşımlardan biri PCR ile mikroorganizmanın varlığının saptanmasıdır. Diğer güncel yaklaşım ise TB infeksiyonu sırasında üretimi artan interferon gamma (IFN- γ) yanıtının ölçülmesidir.

İFN- γ Yanıtının Ölçülmesi

İFN- γ yanıtını ölçen testlerin ortaya çıkması LTB infeksiyonu tanısında önemli bir gelişmedir (3,4). LTB infeksiyonu için test yapılmasının amacı; TB gelişme riski yüksek olan ve bu nedenle de latent TB infeksiyon tedavisinden yarar görece bireylerin belirlenmesidir (6). Bu testlerden ilk grup; M. tuberculosis'e özgül antijenlerle duyarlı hale gelmiş kişilerin T hücrelerinden bu antijenlerle tekrar karşılaştığında salınan İFN- γ yanıtını ölçen in vitro kan testleridir (5,6). Kullanılan antijenler, ESAT-6 (Early-Secreted Antigenic Target 6-kDa protein) ve CFP-10 (culture filtrate protein 10), BCG aşı suşu ve diğer mikobakterilerin büyük çoğunluğunda bulunmamaktadır (3,4). İkinci grup testler de in vivo Tüberkülin Deri Testleri (TDT) dir (1).

In vitro testler, BCG aşısından etkilenmedikleri için, aşıli bireylerde LTB infeksiyonu tanısında yararlıdır. Buna karşın deri testleri BCG'den etkilendiği için, özgüllükleri ne zaman aşı yapıldığı ya da tekrarlayan aşılama yapıp yapılmadığı ile değişmektedir. Yine aynı şekilde in vitro testler çevresel tüberküloz dışı mikobakterilerden de etkilenmez, deri testlerinde bu mikroorganizmalara bağlı yalancı pozitiflikler görülebilmektedir (6).

M. marinum, M. szulgai, M. flavescens ve M. kansasii'de de ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini kodlayan genler bulunduğundan bu mikroorganizmalardan herhangi biri ile infeksiyon geliştiğinde İFN- γ yanıtını ölçen testlerde ve TDT'de yalancı pozitiflik gözlenmektedir (6).

Bu testler aktif ve latent infeksiyon ayrımını yapamazlar. Bu nedenle de aktif TB tanısında yerleri yoktur. Pozitif sonuç her zaman aktif TB infeksiyonunu göstermeyebildiği gibi, negatif sonuç da infeksiyon olasılığını dışlamaz. Çocuklarda aktif TB infeksiyonunun ortaya konmasında yardımcı tanı aracı olarak kullanılabilirler de; bu testlerin etkinliğine dair sınırlı bilgi bulunmaktadır (6).

In vitro testlerin deri testlerine olan üstünlükleri arasında, hastanın hastaneye yalnızca bir kez gelmesini gerektirmesi, sonuçların objektif olması, yalancı pozitiflik (BCG ile çapraz reaksiyon sonucu) göstermemesi, duyarlılık ve özgüllüğünün daha yüksek olması ve daha kısa sürede sonuçlanması sayılabilir (3,5).

Amerika'nın CDC kurumu, İFN- γ yanıtını ölçen testlerin BCG aşılarında ve takip sıkıntısı olan TDT yapılmış bireylerde uygulanmasını önermektedir. Merkeze göre deri testleri 5 yaş altı çocuklarda tercih edilmelidir (6).

QuantIFERON®-TB Gold In-Tube (QFT-G) testi, IFN- γ yanıtını ELISA yöntemi ile ölçen bir in vitro testtir (5). Hastadan alınan heparinli tam kan içinde bulunan lenfositleri uyarmak amacıyla antijen olarak, M. tuberculosis'e ait ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) peptid karışımı kullanılmaktadır (3,4).

Testte kullanılan Nil kontrolü, kan örneklerindeki heterofil antikor etkisini ya da nonspesifik İFN- γ yanıtının varlığını ortaya çıkarmaya olanak sağlar (8). Mitojen kontrolü ile stimüle edilen plazma örneği ise her hasta için bir "pozitif kontrol" teşkil etmektedir. Kişinin lenfositlerinin bu kontrole mutlaka yanıt vermesi beklenir. Mitojene karşı oluşmuş İFN- γ yanıtı yeterli düzeyde saptanmadıysa test sonucu indeterminate-belirsiz olarak kabul edilir (5).

Sonuçların Yorumlanması/Değerlendirilmesi

“Negatif” sonuç:

Sağlıklı bir bireyde negatif QFT-G sonucu saptandığında, büyük olasılıkla M. tuberculosis infeksiyonu olmadığı söylenebilir. İleri incelemeye gerek yoktur (7). Fakat negatif sonuç, TB infeksiyonunu her zaman dışlamaz; yalancı negatiflikler mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır;

- Heparin dışında başka bir antikoagülan kullanımı,
- Örneklerin uygun olmayan koşullarda taşınması,
- Örneğin alımından inkübasyona dek geçen sürenin 1/2 saatten daha uzun olması (sürenin uzaması daha düşük oranda IFN- γ salınımı saptanmasına yol açmaktadır),
- İnkübasyon süresi ve sıcaklığında yapılan hatalar,

testin çalışılmasındaki yanlışlıklar sonuçların da hatalı olmasına yol açmaktadır (1,5,8).

Ayrıca;

- HIV pozitifliği,
- İmmünespresif ilaç kullanımı,
- Organ transplantasyonu,
- Diyabet, kronik böbrek yetmezliği, hematolojik bozukluk, spesifik maligniteler,
- Silikozis,
- Örneğin hücrel immun yanıt gelişmeden önce alınmış olması,
- Hastanın tıbbi tedavi altında olması,

yalancı negatif sonuçlara neden olabilmektedir (5,8).

Aktif TB infeksiyonlu hastalarla temas öyküsü olan bireylerde ise; negatif sonuç temastan 8-10 hafta sonra yeni bir testle doğrulanmalıdır (7).

“Pozitif” sonuç:

TB infeksiyonunu gösterir ancak aktif veya latent infeksiyon ayrımını yapamaz. Bu yüzden pozitif sonuç elde edildiğinde LTB infeksiyonu tanısı konulabilmesi için klinik ve radyolojik olarak aktif hastalığın olmadığı gösterilmesi gerekmektedir (5).

ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 (p4)'ü kodlayan genler M. kansasii, M. szulgai veya M. marinum'da da bulunduğu için, bu mikobakterilerle infeksiyon varlığında da QFT-G sonucu pozitif bulunabilir. Böyle bir infeksiyon şüphesi varsa, alternatif testlerle araştırılmalıdır (4).

Ayrıca testin, test prosedürüne uygun şekilde çalışılmamasına bağlı olarak da yalancı pozitif sonuç elde edilebilir. Bu nedenle pozitif sonucun doğruluğu mutlaka ek tanısal testlerle araştırılmalıdır (8).

“Belirsiz/Geçersiz” sonuç:

Nil kontrolüne yüksek IFN- γ yanıtı ya da mitojene yetersiz yanıt belirsiz sonuç olarak değerlendirilir (7,8). Belirsiz QFT-G sonucu saptanan hastaların takibi ile ilgili kesin kriterler yoktur. En sık uygulama, testin yeni kan örneği ile tekrarlanması, yeniden aynı sonuç elde edilirse, diğer başka testler, risk faktörleri ve klinik bilginin de göz önünde bulundurulmasıdır (6,7).

Fakat tüberküloz şüphesi olmayan hastalara ikinci bir testin yapılmasına gerek yoktur (7).

Mitojene yetersiz yanıt;

- Lenfosit sayısı yetersiz olduğunda,
- Örneğin uygunsuz taşınması nedeni ile,
- Örneklerin uygun olmayan inkübasyonu (ya hiç inkübe edilmemesi ya da olması gerekenden uzun süre bekletilmesi) nedeni ile,
- Mitojen tübünün yanlış doldurulması veya yetersiz karıştırılmasına bağlı azalmış lenfosit aktivitesi görüldüğünde,
- Hastanın lenfositlerinin İFN-γ yanıtı oluşturamadığı (HIV enfeksiyonu, malignensi, renal disfonksiyon) durumlarda görülebilmektedir (5,8,9).

Daha az sıklıkta görülebilecek diğer nedenler şunlardır;

- Hasta örneğinde heterofil antikorların varlığı,
- İntrensek İFN-γ salınımı,
- Geçirilmiş hastalıklar,
- Geçirilmiş aşı öyküsü,
- Lenfositlerin uygunsuz cevabı,
- Fitohemaglutinine (mitojen) cevapsızlık (1/1000'den daha az sıklıkta görülmektedir) (9).

Eğer TB enfeksiyonundan kuşulanılıyorsa; QFT-G yapılmadan önce ya da aynı zamanlarda akciğer filmi, kültür, HIV serolojisi gibi ek incelemeler de yapılmalıdır (7).

Eldeki verilere göre, TB ile karşılaşmadan 4-7 hafta sonra bu testlerin çoğunlukla pozitifleşmeye başladığı görülmektedir. Bazı vakalarda bu sürecin 6 haftadan uzun sürebildiği görülmüştür, bu nedenle bilinen TB ile karşılaşılmasından 6-8 hafta sonra testin tekrarlanabileceği söylenebilir. Tekrarlanabilirlik ve bu

bahsedilen serokonversiyon çeşitliliği nedeniyle İFN-γ yanıtını ölçen testlerin tedavi takibinde kullanılması önerilmez (6).

Özet

İFN-γ araştırmasına dayalı testlerin kullanımı, klinik olarak özellikle yanlış negatif TDT sonuçlarına eğilimli kişilerde (bağışıklığı baskılanmış, malnütrisyonlu hastalar) ve bir kez enfekte olup da aktif tüberküloz gelişme riski olan kişilerde tanı koymaya yardımcı olur. Ayrıca bu testler, "yanlış pozitif" sonuçları azaltarak gereksiz tedavileri ve yan etkileri engelleyebilir (5).

Test Kodu : 42960

Test Adı : QuantiFERON®-TB Gold IT TEST

Test Yöntemi : ELISA

Örnek : QuantiFERON®-TB IT Gold Test tüpüne alınmış tam kan

Çalışma Günleri : Perşembe

Rapor Tarihi : Cuma 13:00 sonrası

Saklama koşulları : Kan örnekleri 30 dk içinde inkübasyona kaldırılmalıdır (16 saat inkübasyon), İnkübasyondan sonra örnekler 2-8 °C'de 3 gün saklanabilir. İnkübasyondan sonra plazm örnekleri 2-8 °C 'de 4 hafta, -20 C°'de daha uzun süre saklanabilir.

KAYNAKLAR:

- 1) Özerol İ. H. Tüberkülozun Serolojik Tanısı, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Kurs Kitapçığı, Samsun, 2003.
- 2) Türk Tabipleri Birliđi Tüberküloz Raporu, Türk Tabipler Birliđi Yayınları, 1. Baskı, Ankara Ocak 2012.
- 3) Appak YÇ, Appak Ö, Anal Ö, Esen N, et al. Çocuklarda Latent Tüberküloz Tanısında Tüberkülin Deri Testi ve İn Vitro İnterferon-Gama Salınım Testinin Karşılaştırılması. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(6):1402-7.
- 4) QuantiFERON-TB Gold IT Kit Kullanım Kılavuzu.
- 5) Tüberküloz Tanısında QuantiFERON-TB Gold Kullanımı, Centro Laboratuvarları
- 6) Madhukar P, Menzies D. Interferon-gamma Release Assays For Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection. UpToDate. Mayıs, 2014.
- 7) Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Gold Test for Detecting Mycobacterium tuberculosis Infection-Morbidity and Mortality Weekly Report-CDC, December 16, 2005; 54(RR15);49-55.
- 8) QuantiFERON®-TB Gold (In-Tube Method), The Whole Blood IFN-gamma Test Measuring Responses to ESAT-6, CFP-10 & TB7.7 Peptide Antigens Package Insert, FDA.
- 9) QuantiFERON®-TB Gold In-Tube Test, Quest Diagnostics Education center, <http://education.questdiagnostics.com/faq/QFT>