

TC.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA LATENT TÜBERKÜLOZ
TANISINDA TÜBERKÜLİN CİLT TESTİ VE
IN-VITRO INTERFERON-GAMA SALINIM
TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR.YELİZ ÇAĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÖZDEN ANAL

İZMİR-2010

TC.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA LATENT TÜBERKÜLOZ
TANISINDA TÜBERKÜLİN CİLT TESTİ VE
IN-VITRO INTERFERON-GAMA SALINIM
TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. YELİZ ÇAĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÖZDEN ANAL

İZMİR-2010

TC.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ÇOCUKLARDA LATENT TÜBERKÜLOZ
TANISINDA TÜBERKÜLİN CİLT TESTİ VE
IN-VITRO INTERFERON-GAMA SALINIM
TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. YELİZ ÇAĞAN

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ÖZDEN ANAL

İZMİR-2010

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 99.3456.23 sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ŞEKİL LİSTESİ	I
TABLO LİSTESİ	I
RESİM LİSTESİ	I
KISALTMALAR	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
SUMMARY	V
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2. 1. Dünyada tüberküloz	2
2. 2. Türkiyede tüberküloz	3
2. 3. Mikobakterilerin genel özellikleri	5
2. 4. Tüberkülozda bulaşma	6
2. 5. Tüberkülozda immun-patogenez	7
2. 6. Çocukluk tüberkülozu ve tanısı	10
2. 7. Tüberkülin cilt testi	12
2. 8. Interferon-gamma salınımına dayalı yeni tanı testleri	18
2.8.1 QuantiFERON-TB Gold In Tube testi	19
2. 9. Tüberkülozdan koruyucu ilaç tedavisi kararında tüberkülin cilt testi ve interferon-gama salınımına dayalı testlerin yeri	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM	23
4.İSTATİKSEL ANALİZ	24
5.BULGULAR	25
6.TARTIŞMA	30
SONUÇLAR	38
KAYNAKLAR	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1: Verem savaşı dispanseri kayıtlarında yeni olguların (1991-2007) ve tüm olguların (2005-2007) olgu hızları.....	4
Şekil 2: 1980-2007 yılları yeni olgu sayısı, temaslı muayenesi ve ilaçla koruma	5
Şekil 3: QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının yaşa ve cinsiyete göre Dağılımı.....	25
Şekil 4: Tüberkülin cilt testi sonuçlarının yaşa ve cinsiyete göre dağılımı	26

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Tüberkülin cilt testi uygulaması	13
Resim 2: Tüberkülin cilt testinde endürasyonun belirlenmesi.....	13
Resim 3: Tüberkülin cilt testinde endürasyonun ölçülmesi.....	14

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Ülkemizde tüberkülin cilt testi reaksiyonunu değerlendirme kriterleri.....	15
Tablo 2: Tüberkülin cilt testinde yalancı negatif reaksiyona neden olan durumlar	17
Tablo 3: T-hücrelerinde IFN- γ araştırmasına dayanan testler ve özellikleri	19
Tablo 4: Quanti FERON-TB Gold In Tube testi'nde Nil, TB Antijen ve Mitojen Tüpleri kullanıldığında değerlendirme	22
Tablo 5: BCG aşı sayısı ve tüberkülin cilt testi sonuçlarının karşılaştırılması	27
Tablo 6: BCG aşı sayısı ve QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının karşılaştırılması	27
Tablo 7: QuantiFERON-TB-Gold In Tube testi ve tüberkülin cilt testi sonuçlarının karşılaştırılması	28
Tablo 8: Tüberküloz Teması ile QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	29
Tablo 9: Tüberküloz teması ile tüberkülin cilt testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	29

KISALTMALAR

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
ARB:	Asido rezistan basil
BCG:	Bacille Calmette-Guérin
CFP-10:	Culture filtrate protein 10
DGTS:	Doğrudan gözetimli tedavi stratejisi
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA:	Enzyme linked immun assay
ELISPOT:	Enzyme linked immunospot
ESAT-6 :	Early-Secreted Antigenic Target 6-kDa protein
IFN-γ:	Interferon-gama
LTBI:	Latent tüberküloz enfeksiyonu
NTM:	Nontüberküloz mikobakteriler
PPD:	Purified protein derivative = Saflaştırılmış protein türevi
QFT-Gold:	QuantiFERON-TB Gold
QFT-Gold IT:	QuantiFERON-TB Gold In Tube
RCF:	Relative centrifugal force
RD1:	Region of difference 1 geni
TB:	Tüberküloz
TNF-α:	Tümör nekrozis faktör- α
TCT:	Tüberkülin cilt testi
TU:	Tüberkülin ünitesi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini aktaran, desteklerini esirgemeyen Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hale Ören'e ve tüm değerli hocalarıma, tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, hoşgörü ve iyi niyeti ile her türlü yardım ve desteği sağlayan, tez danışmanım Prof. Dr. Özden Anal'a,

Tez çalışmamda gösterdiği yakın ilgi, yardım ve desteklerinden dolayı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nuran Esen'e, örneklerin çalışılmasında büyük emeği olan, özveri ve sabırla desteğini her zaman hissettiğim Dr. Özgür Appak'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve deneyimlerini aktaran uzmanlarımıza, Birarada olmaktan keyif aldığım, çok şey paylaştığımız, ileride de meslektaşlarım ve dostlarım olarak görmekten mutluluk duyacağım asistan arkadaşlarıma, Hayatta en büyük desteğim olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yeliz Çağan

ÖZET

Amaç: Çocukluk çağında latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI) yaşamın bir döneminde tüberküloz hastalığı gelişme riski yönünden önemlidir. *Mycobacterium tuberculosis* ile enfeksiyonun belirlenmesinde yaygın olarak yararlanılan tüberkülin cilt testinin (TCT) BCG aşıli kişilerde ve tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonu olasılığında yanlış pozitiflikler nedeniyle yorumlanması güç olmaktadır. Son yıllarda bu gibi zorlukları giderebilecek, interferon-gama salınımının ölçümüne dayanan in vitro testler geliştirilmiştir. Bu çalışmada LTBI açısından araştırılan çocuklarda interferon-gama salınım testi sonuçlarının TCT endürasyonları ile karşılaştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yaşları 7 ay ile 15 yaş arası 54 çocukta QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT-Gold IT) testi ile periferik kan T hürelerinde *Mycobacterium tuberculosis*'e özgül ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 antijenlerine karşı önceden enfeksiyon yoluyla duyarlanma olup olmadığı araştırılmıştır. Bu testi takiben TCT uygulanmış olan bu hastalar, endürasyon ölçümlerine göre 10-14 mm ve ≥ 15 mm olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Her iki grup QFT-Gold IT test pozitifliği yönünden karşılaştırılmıştır. Tüberkülin endürasyonu ≥ 15 mm olan çocuklara temaslı taraması, klinik ve laboratuvar testleri sonucunda LTBI tanısı koyularak izoniazid ile profilaksi başlanmıştır.

Bulgular: TCT endürasyonu 10-14 mm olan 21 çocuğun %9.5'inde, endürasyonu ≥ 15 mm olan 33 çocuğun %6'sında QFT-Gold IT testi pozitif bulunmuştur. İsoniazid profilaksisi, olguların %64.8'ine başlanmış, ancak bu çocukların %91.4'ünde QFT-Gold IT test sonucu negatif bulunmuştur. BCG aşılmasına bağlı olarak değerlendirilen 10-14 mm lik endürasyonu olan olgularda %9.5 oranında QFT-Gold IT test pozitifliği, bu olgularda profilaksi endikasyonunun tek başına TCT ile ayırt edilememiş olduğunu göstermiştir. Çalışmada, TCT pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılık %38.9, kappa değeri 0.03 (p: 0.63) olup her iki test arasındaki tutarlılığın çok zayıf olduğu görülmüştür.

Sonuç: Ülkemizde olduğu gibi, BCG aşısının rutin olarak uygulandığı ve TCT yanlış pozitiflik oranının yüksek olduğu topluluklarda interferon-gama salınımına dayanan testlerle çocuklarda LTBI tanısı daha spesifik olarak konulabilecek; böylece izoniazid profilaksisinin yerinde kullanımı sağlanabilecektir. Ancak, bu in vitro testlerin donanımlı laboratuvar koşulları gerektirmeleri nedeniyle henüz rutin olarak kullanımları kısıtlı olup, ayrıntılı epidemiyolojik ve klinik inceleme ile birlikte değerlendirilen TCT için tamamlayıcı olabilecekleri düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Latent tüberküloz enfeksiyonu, tüberkülin cilt testi, QuantiFERON-TB Gold In Tube testi, BCG aşısı

SUMMARY

Objective: Latent tuberculosis infection (LTBI) in childhood causes greater risk of developing tuberculosis disease when compared with older age. Tuberculin skin testing (TST) is utilized extensively in identifying infection with *Mycobacterium tuberculosis* while the interpretation of this in vivo test is affected by the BCG vaccination status and possible infection with non-tuberculous mycobacteria. In vitro interferon-gamma release based tests are recently introduced to overcome these difficulties. The aim of this study is to compare the results of an interferon-gamma release based assay with the TST in children investigated for LTBI.

Material and Methods: Fifty four children between 7 months and 15 years of age 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. Following the Quantiferon assay, the patients were studied in two groups depending on the induration size of their TST, either 10-14 mm and ≥ 15 mm. Isoniazid prophylaxis was started for the patients with ≥ 15 mm tuberculin indurations who were evaluated as LTBI in accordance with contact investigation, clinical and laboratory studies.

Results: QFT-Gold IT test was found positive in 9.5% of 21 children with tuberculin induration of 10-14 mm, and in 6% of 33 children with tuberculin induration of ≥ 15 mm. Isoniazid prophylaxis was given to 64.8% of the patients. In 91.4% of these children, QFT-Gold IT test result was negative. In the group with tuberculin induration sizes of 10-14 mm, that was considered to be due to the BCG vaccination, presence of *Mycobacterium tuberculosis* infection, therefore the need for prophylaxis could not be excluded by TCT alone in 9.5% , who had positive result in QFT-Gold IT test. In this study, TST positivity and QFT-Gold IT test positivity were found weakly consistent (38.9 %) with kappa value of 0.03 (p: 0.63).

Conclusion: In a BCG vaccinated population, TST yielded high percentage of induration sizes ≥ 15 mm, probably causing an overdiagnosis of LTBI and unnecessary administration of isoniazid prophylaxis in children. QFT-Gold IT test is a highly specific assay that would provide a solution for such undesirable aspects of TST. Considering the requirement for sophisticated laboratory facilities, in vitro interferon-gamma based tests could still be suggested as supplementary to TST performed with a careful epidemiological and clinical investigation.

Key words: Latent tuberculosis infection, tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold in Tube test, BCG vaccination

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz (TB) tüm dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedenidir. İnsanda TB etkeni *Mycobacterium tuberculosis kompleks* içindeki mikobakterilere bağlı 9,2 milyon yeni olgu ve iki milyonun üstünde ölüm olduğu tahmin edilmektedir.¹ Tüberküloz insidansı Avrupa ülkelerinin çoğunda yüz binde 20'den az iken, ülkemizde 2000 yılında Verem Savaş Dispanserlerine kayıtlı hastalara göre hesaplandığında yüz binde 27'dir.² Latent tüberküloz enfeksiyonunda (LTBI), TB basili kişide dormant (uyur) halde kalıp, yaşamın bir döneminde %5-10 oranında aktif hastalık gelişmesine yol açar.^{3,4} Dünya nüfusunun üçte birinde LTBI bulunmakta, yeni olgular için önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Tüberküloz kontrolünde önemli hedeflerden biri, aktif hastalık gelişmesini önlemek üzere LTBI'nın özellikle çocukluk döneminde belirlenip tedavi edilmesidir.

Tüberkülin cilt testi (TCT), LTBI tanısında yaygın kullanılan basit bir testtir. Tüberkülin cilt testi'nin esası, basilin belirli antijenik bileşenlerinin, tüberkül basili ile enfekte olan kişilerde gecikmiş tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu yapmasıdır. PPD (saflaştırılmış protein türevi = purified protein derivative) tüberkül basil kültürü filtresinden protein presipitasyonu ile izole edilir. Kültür filtresinde bulunan ve "tüberkülinler" denilen antijenik öğeleri içerir. Testin, BCG (basille Calmette-Guérin) aşılması yapılan toplumlarda özgüllüğü, immun yetmezlikli hastalarda ise duyarlılığı düşüktür.^{5,6,7,8} Testi okuyan kişiler arasındaki ölçüm farklılıkları, eğitimli personel ihtiyacı, hastaların 72 saat sonra tekrar görülmesi gerekliliği TCT'nin olumsuz yanlarıdır.^{6,8} Tüberkülin cilt testinin en büyük avantajı düşük maliyeti olması ve laboratuvar alt yapı gerektirmemesidir.^{7,11}

Tüberkülin cilt testi'ne alternatif bir yöntem, *M.tuberculosis* ile enfekte olmuş bireylerin bakteriye özgü antijenlerle duyarlı hale gelmesi ve periferik kan T hücrelerinden salınan interferon-gama (IFN- γ) miktarının in-vitro olarak ölçülmesidir.^{7,9,10} Bu testlerde, PPD yerine *M. tuberculosis* için özgül antijenler kullanılmaktadır. QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT-Gold IT); (Cellestis Ltd., Carnegie, Avustralya), antijenlerle uyarılan T hücrelerinden salınan IFN- γ 'nın ölçümüne dayanan laboratuvar tanı testlerindedir. Bu testte hastadan alınan heparinli tam kan içinde bulunan lenfositleri uyarmak amacıyla antijen olarak, genomunun fark bölgesinde (RD1-region of difference 1) kodlanan ESAT-6 (Early-Secreted Antigenic Target 6-kDa protein), CFP-10 (culture filtrate protein 10) ve phiRv2 (phage-inserted region) denilen bölgede kodlanan TB7.7 peptit karışımı kullanılmaktadır. Bu proteinler, BCG aşı suşu veya diğer mikobakterilerin büyük çoğunluğunda bulunmamaktadır.^{7,11}

Bu test TCT'e göre, bireyin *M.tuberculosis* ile karşılaştığını dolaylı yoldan daha spesifik olarak gösteren, BCG aşılması ve diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyonu daha az olan bir testtir. Hastanın yalnızca bir kez gelmesini gerektirmesi, ayrıca derideki endürasyonun ölçümünde farklılıklar gibi kişisel faktörleri dışta bırakması nedeniyle, in-vitro testin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir.^{7,9,12}

Tüberküloz riskinin yüksek olduğu ülkemizde latent enfeksiyon oranını belirlemede ve önleyici tedavi ile aktif enfeksiyon gelişimini engellemede spesifikliği yüksek bir tanı yöntemi geliştirilmesi, BCG aşısının uygulanması sonucu çocuklarda tüberkülin pozitifliğinin yüksek oranda olduğu toplumumuzda gereksiz profilaksi uygulanmasını önleyecektir.

Bu çalışmanın amacı; çocuklarda LTBI tanısında QFT-Gold IT testini TCT ile karşılaştırarak latent tüberküloz enfeksiyonunun varlığını daha spesifik olarak gösterebilmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2. 1. Dünyada tüberküloz

Tüberküloz insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olmasına rağmen hala tüm dünyada bir toplum sağlığı sorunu olarak önemini korumaktadır. Günümüzde dünya nüfusunun %32'si TB basili ile enfektedir. Her yıl yaklaşık dokuz milyon kişi TB hastalığına yakalanmakta ve yaklaşık iki milyon insan ölmektedir.^{1,13} Dünyada TB artışıdaki önemli nedenler;(a) yöntemlerin ihmalî sonucunda TB kontrol sistemlerinin zayıflaması hatta kaybolması; (b) doğru yaklaşımların uygulanmadığı TB kontrol programları ile hastalığın artışı yanında ilaca dirençli TB artışına neden olunması; (c) HIV'in endemik olduğu yerlerde TB'nin patlayıcı şekilde ortaya çıkması; (d) nüfus artışının TB olgularının sayılarında artışa yol açmasıdır.¹⁴ Sanayileşmiş ülkelerde ise göçlerle gelen TB olguları, bu ülkelerde ki TB artış nedenlerinden birini oluşturmaktadır.^{15,16}

Tüberküloz hasta sayılarındaki artışlar ve TB kontrolü çabalarının yeterince başarı sağlayamaması nedeni ile, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 1993 yılında ilk kez bir hastalık için acil durum ilan etmiştir. 2007 yılında belirlenen TB olgu sayısı 9,27 milyondur (139/100.000). Bu hastalardan 1,37 milyonu HIV pozitif hastadır ve HIV pozitiflerin %79'u Afrika'da yaşamaktadır. En çok hastanın bulunduğu ülkeler Hindistan, Çin, Endonezya, Nijerya ve Güney Afrika'dır. 2007 yılı için TB prevalansı 13,7 milyon (206/100.000) ve TB hastalığından ölüm sayısı 1,3 milyon (20/100.000) olarak belirlenmiştir.¹⁷

Tüm dünyadaki mevcut hastaların %95'i ve TB ölümlerinin %97'si gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir.¹⁸ Gelişmekte olan ülkelerdeki TB hastalarının %80'i 15-49 yaşlar arasındadır. Dünya Sağlık Örgütü raporları gelişmekte olan ülkelerdeki 15 yaş altındaki çocuklarda yaklaşık 1,3 milyon TB'li hasta olduğunu bildirmektedir. Her yıl 450,000 çocuk TB hastalığı nedeni ile yaşamını yitirmektedir.^{1,17}

Dünya Sağlık Örgütü öncülüğünde 1991'den bu yana uygulanan Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (DGTS) günümüzde TB kontrolünün temelini oluşturmaktadır.

2. 2. Türkiyede tüberküloz

Türkiye'de bu yüzyılın başında ciddi bir TB epidemisi yaşanmaktaydı ve TB ölümleri, bütün ölüm nedenleri içinde birinci sırada yer almaktaydı. Ülkemizde 1949 tarihli "Veremle Mücadele Kanunu" ile verem savaşı hizmetlerinin yasal çerçevesi çizilmiştir.

Tüberküloz hastalığı epidemiyolojik karakteri gereği, kısa vadede ortadan kaldırılabilecek bir hastalık değildir. Kontrol programlarının başarıya ulaşması için geçerli bilimsel metod olarak DSÖ tarafından önerilen DGTS ülkemizde verem savaşının bugünkü temelini oluşturmaktadır. Bu stratejinin beş temel unsuru: Politik kararlılık ile sürekli ve yeterli finansman sağlanması, kalite kontrollü bakteriyolojik muayene ile vaka bulunması, standart ilaç tedavisi ile tedavinin gözetimi ve hasta desteği, kesintisiz ve düzenli ilaç ikmali yapılması, her bir hastanın tedavi sonuçlarını ve programın başarısını değerlendirmeyi sağlayan kayıt ve raporlama sisteminin oluşturulmasıdır. Ülkemizde de 2007 yılından itibaren bilimsel kriterler çerçevesinde TB verilerini gözden geçirmek, epidemiyolojik olarak değerlendirmek ve sonuçta amaca yönelik erken müdahalelerde bulunmak için Türkiye'de Verem Savaşı Raporları çıkarılmaya başlanmıştır.¹⁹

Dünya Sağlık Örgütü "Küresel TB Raporu, 2009'a göre dünya genelinde 2007 yılında yeni yayma pozitif hastalar için olgu bulma oranı (%70) ve tedavi başarısı oranı (%85) hedeflerine 36 ülke ve Batı Pasifik Bölgesi ulaşmıştır. Türkiye, hem olgu bulmada hem de tedavi başarısında hedeflenen bölgeye ulaşmış 36 ülkeden birisi olmuştur.¹⁷

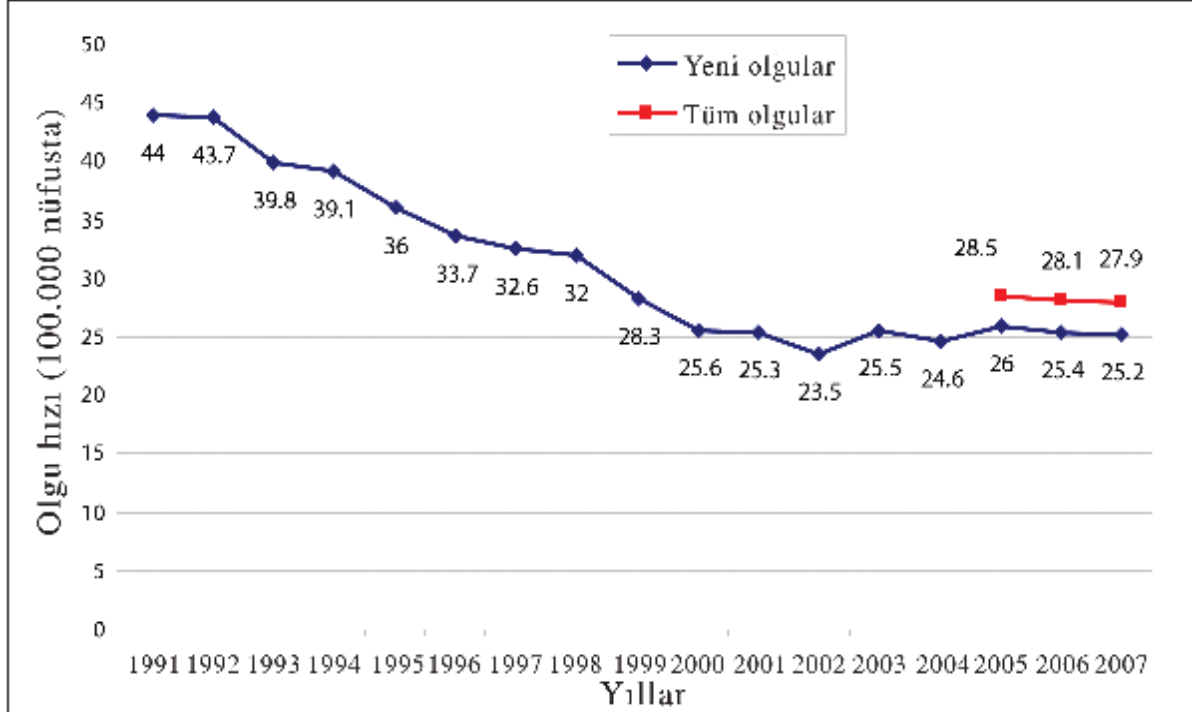
Türkiye'de Verem Savaşı, 2009 Raporu'na göre kayıtlı TB hastalarının toplam sayısı 2006 yılında 20,526 iken 2007 yılında 19.694 olmuştur ve bir yılda %4 düşüş görülmüştür (Şekil 1). Kayıtlı 19,694 hastanın 17,781'i (%90.3) yeni olgu, 1,913'ü (%9.7) tedavi görmüş olgudur. Hastaların 12,381'i (%62.9) erkek, 7,313'ü (%27.1) kadın hastadır. Akciğer TB'si olan 13,690 hastadan 12,219 (%89.3)'üne mikroskopi yapılmış ve akciğer TB'si olanlardan 8,797 (%64.3)'ünde yayma pozitif bulunmuştur. İlaç duyarlılık testi yapılan 4,917 hastanın

%20.8'inde en az bir ilaç direnci saptanırken, 240 (%4.9) çok ilaca dirençli TB hastası bulunmuştur. Tedavi sonuçları incelendiğinde, 2006 yılında tanı konulan tüm hastalarda, tedavi başarısı %89.4, terk oranı %4.7'dir; bu oranlar bir yıl öncesine göre yaklaşık %2 daha başarılıdır. Özellikle önceden tedavi görmüş hastalarda 2005 yılına göre 2006 yılında tedavi başarısı %72.4'ten %75.6'ya çıkarken; tedavi terki ise %13.4'ten %10.4'e gerilemiştir.¹⁹

Ülkemizde, TB hasta temaslarının muayenesi ve koruyucu tedavi uygulamaları uzun yıllardır devam etmektedir. 2007 yılında 117,455 temaslı muayenesi yapılmıştır. Bulunan toplam olgu sayısının 19,694 olduğu göz önünde bulundurulursa, bulunan her hasta için ortalama 6 temaslı taranmıştır. İlaçla korumaya alınan kişi sayısı 2007 yılında 23,529'dur.¹⁹ (Şekil 2)

Şekil 1. Verem savaşı dispanseri kayıtlarında yeni olguların (1991-2007) ve tüm olguların (2005-2007) olgu hızları (Türkiye'de Verem Savaşı, 2009 Raporu'ndan alınmıştır)

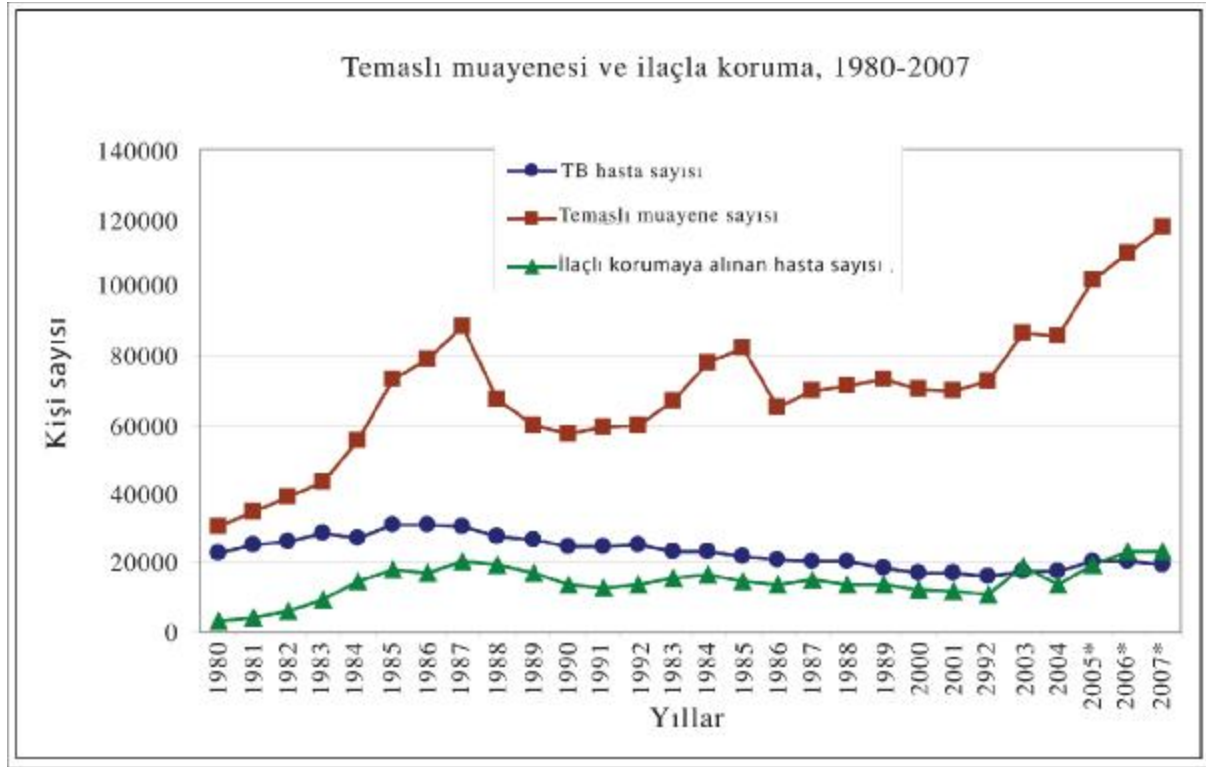
*2004 ve öncesinde yığılma veriler, 2005-2007'de TUTSA ile toplanan bireysel veriler kullanıldığı için tüm olgularda olgu hızı hesaplaması sadece 2005-2007 için verilmiştir.



Şekil 2. 1980-2007 yılları yeni olgu sayısı, temaslı muayenesi ve ilaçla koruma

(Türkiye’de Verem Savaşı, 2009 Raporu’ndan alınmıştır)

*1980-2004 arasında yeni TB olgu sayısı, 2005-2007 arasında toplam TB olgu sayısı yazılmıştır.



2. 3. Mikobakterilerin genel özellikleri

Mikobakterilerin temel özelliği, yavaş üremeleri, aside dirençli olmaları ve hücre duvarlarında bol lipit içermeleridir. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüz organizmalardır. Hastalık yapma potansiyeli açısından *M.tuberculosis* en önemli üyedir. "Kompleks" başlığı altında toplanmalarının nedeni bakteriyolojik özellikleri ve DNA benzerlikleridir.

"*M. tuberculosis kompleks*" *M.tuberculosis*, *M.bovis* (*M.bovis* subs.*bovis*, *M.bovis* subs.*caprae* ve *M.bovis* subs.*BCG*), *M.africanum*, *M.canettii* ve *M.pinnipedii* içermektedir. Çok az sayıda (% 1-2) olguda *M. bovis* ve *M. africanum* etken olarak saptanır. *M. tuberculosis kompleks* dışındaki mikobakterilere "tüberküloz dışı mikobakteriler" veya "atipik mikobakteriler" denmektedir, insandan insana geçişi çok enderdir ve çoğu patojen değildir.²⁰

Mikobakterilerin hücre duvarı üç tabakadan oluşmuştur. Plazma zarının üzerinde bulunan en iç tabaka peptidoglikandan (mürein) oluşmuştur. Bu tabaka kısa peptid zincirleri,

çapraz bağlarla sıkıca bağlanan uzun polisakkarit zincirleri içerir ve hücrenin sert yapısını sağlar. Peptidoglikan tabakasının üzerinde bulunan ikinci tabaka arabinogalaktan tabakası olup hücre duvarı kitlesinin %35'ini yapar ve peptidoglikan tabakasına fosfodiester köprüleriyle bağlıdır. Arabinogalaktanların yan zincirindeki uç arabinaz birimlerine mikolik asit diye adlandırılan, uzun zincirli bir grup yağ asiti kovalent olarak bağlanırlar. Bu asitler hücre duvarı kalınlığından ve büyük oranda da hücrenin aside dirençli olmasından sorumludur. Mikolik asitler, trehaloz gibi bir şekere bağlanarak kord faktörü oluşturabilirler. En dış tabaka ise bir grup heterojen peptidoglikolipidler ve/veya fenolik glikolipidden oluşmuştur ve mikozidler olarak adlandırılırlar. Hücre duvarında bulunan ve duvar ağırlığının %60'ını yapan lipidlerin çoğu uzun zincirli yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bu lipidler tüberkülostearik asit, mikoserik asit ve mikolik asitleri içerirler.²⁰

Hücre duvar yapısının büyük bölümünü oluşturan lipidlerin hidrofobik özelliklerinden dolayı bakteriyolojik boyalarla zor boyanırlar. Mikobakteriler aside - alkole dirençli boyanma özelliği gösterirler. Bakterinin aside dirençli boyanma özelliği, fiziki bütünlüğü yanında hücre duvarındaki mikolik asit ve lipid bariyer sisteme bağlıdır.^{21,22,23} Mikobakterilerin lipid yapısında bulunan Balmumu (WaxD)'nin interferon yapımını indüklediği gösterilmiştir.^{21,24} Fosfolipidler peptidoglikan ve hücre duvar polisakkaridinin sentezinde rol oynar.²¹ Sulfatidler bakterinin intrasellüler yaşamını sürdürmesini sağlarlar ve basilin virülansından sorumludurlar. Mikobakterilerde hücre duvarında bulunan proteinlerin başlıca işlevleri ise; hücre bölünmesinde rol alan enzimler ve duvar polimerlerinin sentezinde yer almak, atıkların hücre duvarından geçmesinde rol oynamak, porları oluşturmak ve antijenik özellik sağlamaktır.²³ Mikobakterilerin yapısında bulunan polisakkaritler de konak hücre makrofajlarından tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) salınımını arttırırlar.²¹

2. 4. Tüberkülozda bulaşma

Tüberküloz'da en önemli bulaş yolu inhalasyondur. Tüberküloz enfeksiyonu canlı TB basili içeren ve havada asılı durabilen 1-10 μ m boyutunda partiküllerin solunum yolu ile alınması ve alveollere yerleşmesi ile gerçekleşir. Çapları 1-3 μ m olan partiküller alveollere daha yüksek oranda ulaşır. Yaklaşık 1 mikron çaplı partiküller havada birkaç saat asılı kalabilmektedir. En bulaştırıcı olan hastalar balgam mikroskopisinde asido rezistan basil (ARB) pozitif olan akciğer ve larinks TB'li hastalardır. Yayma negatif TB'li hastaların bulaştırıcılığı çok daha azdır.²⁵ Yayma pozitif olgu temaslılarında ilk 5 yıldaki hastalık olasılığı %5.9-8.2 iken yayma negatif kültür pozitif olguların temaslılarında %0.8-2.3'tür.²⁶

Hasta ile yakın ve uzun süreli teması olan kişilere bulaşma riski fazladır. Ortamda basil konsantrasyonu yüksek ve karşılaşma süresi uzun ise bulaşma olasılığı da o kadar yüksektir. Tüberküloz basili içeren aerosollerin yoğun bulunduğu ortamlarda, birkaç saat maruziyette bireylerin %40-80'i enfekte olabilmektedir. Konuşma, öksürük, hapşırık, esneme gibi hareketler çok sayıda sekresyon damlacıklarının saçılmasını sağlar. Konuşma ile 0-210, öksürme ile 0 – 3,500 ve hapşırma ile 4,500 – 1,000,000 partikül oluşabilmektedir. Yapılan deneysel araştırmalar, TB basilinın tozla, toprakla, hastaların eşyalarını kullanmakla ya da aynı kaptan yemekle bulaşmayacağını göstermiştir.

Hastaların bulaştırıcılık özelliği, etkili tedavi ile ikinci haftadan sonra kaybolur. Öksürürken ağızı kapatmak gibi basit yöntemler damlacık oluşumunu azaltabilirler. Hastanın maske ile ağızını kapatması sonucu, damlacık çekirdekleri daha büyük partiküller halindeyken maske tarafından tutulurlar. Hasta ile karşılaşan kişilerin maske kullanıyor olması, hastanın maske kullanması kadar etkin bir yöntem değildir. Havaya karışmış olan damlacıklar daima kendini oluşturan ana damlacıklara göre çok daha küçüktürler ve çok uzun süre havada asılı kalabilirler. Daha büyük partiküller, dansiteleri ve yüzey alanları ile uyumlu olarak çökerler ve tekrar havalandıklarında büyüklükleri değişmediklerinden ilk baştaki durumdan daha tehlikeli değillerdir. Bu nedenle TB'li hastalar ile aynı evde yaşayanlarda, kontamine havanın yeterli havalandırma ile temizlenmesi önemlidir. Tüberküloz izolasyon odaları ile saatte 6-10 hava değişimi yapacak havalandırma sistemi özellikle HEPA filtre kullanılarak 0,3 mikron ya da daha büyük partikülleri %99.97 etkinlikte uzaklaştırılabilir. Ultraviyole ışık da, *M.tuberculosis*'in inaktivasyonunda etkilidir.^{4,18}

2. 5. Tüberkülozda immüno-patogenez

Solunum yolu ile alınan basiller genellikle akciğerlerin alt ve orta alanlarında, plevraya yakın alveollere ulaştıklarında makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Basil aktive olmamış makrofajların içinde çoğalmaya devam eder. Virulan basiller makrofajın lizozom-fagozom füzyonunu azaltarak ve fagozom membranını harap ederek makrofajı yok ederler. Doğal direnci yüksek olan ırklarda makrofaj direnci yüksek ise basiller yok edilebilir. Tüberküloz basilinın inhalasyonu ile başlayan ve başlangıçta aktive olmamış makrofaj ve nötrofil lökositler tarafından fagosite edildiği bu evre ile primer TB enfeksiyonu başlar. Bir haftalık dönemi kapsayan bu evre başlangıç veya 1. evre olarak adlandırılır. Bulaş sonrası bu evrede enfeksiyon veya hastalık meydana gelip gelmemesi konağın direnci ile bakteriyel virulans arasındaki dengeye bağlıdır. Alveoler makrofajlar da basilin akciğere yerleşip

yerleşmemesinde belirleyici rol oynar. Enfeksiyonun gelişmesine karşı konak direnci ise kısmen genetik kontrol altındadır.^{27,28} Mikobakteri enfeksiyonlarına karşı konak direncinde özellikle hücresel immunitenin koruyucu rolü büyüktür. CD4-T hücrelerinin ve makrofaj fonksiyonlarının mikobakteri enfeksiyonlarına karşı koruyuculukta kritik önemi vardır.²⁹

Basilin ilk yerleştiği odak primer odak olarak tanımlanır. Basilin organizmaya girdiği ilk 2-3 haftasındaki bu aşamada basillerin logaritmik çoğalması devam etmekte olduğu için logaritmik çoğalma evresi, simbiotik evre veya II. evre olarak adlandırılır. Bu evrede TB basili yaşamak için kendisinin makrofajca alınmasına yardımcı olmak zorundadır. Basil alveolar makrofaj içinde çoğalır, makrofajı parçalar ve sekrete edilen kemotaktik faktörlerin etkisi ile dolaşımdaki inaktif makrofajların lezyon bölgesine gelmesine neden olur. İnaktif makrofajların sitoplazmalarındaki sitoplazmik vakuoller, basilin çoğalması için ideal bir ortamdır. Bu aşama da konak ve basilin ortak bir yaşamı mevcuttur. Basil yüklü makrofajlar, lenfatiklerle bölgesel lenf nodlarına taşınır, kontrol altına alnamazlarsa lenfohematojen yol ile tüm vücuda yayılabilirler.^{27,28}

Bu dönemde immunolojik koruma mekanizması harekete geçer. Makrofajların sentezlediği interlökin-1 TB immünitesinde belirleyici olan T lenfositlerinin aktivasyonu için önemlidir. T lenfositler TB basili antijeni ile karşılaştıktan sonra interlökin-2 salgılayarak CD4 hücrelerinin çoğalmasına neden olurlar. CD4 lenfositlerinin alt grubu olan CD4 Th1 hücresel immünitede, yani TB immünitesinde rol oynar. CD4 Th1 IFN- γ salgılayarak makrofajı aktif hale getirir. Aktive makrofaj ve lenfositlerden salgılanan sitokinler hücresel immün yanıtın gelişmesini sağlarlar. Bu evre immunolojik kontrol evresi veya III. evre olarak isimlendirilir.^{27,28}

Bu evrede TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12'nin etkisiyle granülom formasyonu gelişir ve tüberkül oluşur.^{30,31} Aktive makrofajlar, epitelooid histiositler ve lenfositlerin oluşturduğu tüberkülün amacı basilleri sınırlamak, çoğalma ve yayılmalarını önlemektir. Tüberkülün ortasında gelişen kazeifikasyon nekrozu TB'nin patognomonik özelliğidir. Basilin organizmaya girmesinden sonra geçen 3-8 haftalık III. evre sonunda hücre aracılı immun yanıt ve geç tip aşırı duyarlılık gelişmiştir. Bu evrede önemli özellik TCT'nin pozitif olmasıdır. Basilin akciğerlerde ilk yerleştiği orta alt akciğer zonlarındaki primer lezyon (Ghon odağı), hiler ve paratrakeal lenfatiklerle birlikte primer kompleksi (Ranke kompleksi) oluşturur. Normal konakçıların çoğunda, akciğerdeki primer lezyon ve diğer alanlar T hücre aracılı bağışıklık yanıt ile kendini sınırlar. Bazı konakçılar, TB'i kontrol edebilecek immun yanıtı yeterli derecede oluşturamaz. Bu kişilerde basil yayılması ilerleyicidir, primer enfeksiyonu izleyerek haftalar-aylar içerisinde klinik TB bulguları gösterirler. Primer

infeksiyon geliştiren bireylerde reaktivasyon riski mevcuttur, bu değişik doku bölgelerinde canlı basillerin varlıklarını sürdürmesine bağlıdır.

Akciğerlerin apeks bölgesi, oksijenden zengin ve kan-lenf akımı yavaş olduğu için hematojen yolla yayılan basillerin en çok yerleştiği kısımdır. Bu odaklarda basiller dormant halde, yani hastalık yapmadan yaşamlarına devam ederler. Gelecekte ortaya çıkabilecek postprimer tüberkülozun endojen kaynağını oluştururlar.³²

Primer TB enfeksiyonu %90-95 sessiz seyrederek ve hücresel immünite tarafından kontrol edilir. Bu olguların primer enfeksiyon geçirdiği TCT pozitif olması ile saptanır; hastalık bulguları gözlenmez ve latent tüberküloz enfeksiyonu olarak da adlandırılır. Ancak primer TB enfeksiyonu geçiren olguların %5-10'unda primer TB hastalığı gelişir.³³ Primer TB hastalığının gelişmesinde immün yanıtın zayıflığı veya basilin virulan oluşu rol oynar.

Latent tüberküloz enfeksiyonu tedavi edilmemiş bebeklerin %40'a varan kısmı TB geliştirme riski taşır, çocukluk boyunca hastalık gelişme riski giderek azalır, erişkinlikte %5-10'a düşer. Tüberküloz basili organizmaya girip hastalık yapmadan veya asemptomatik olarak kontrol altına alınabildiği gibi hastalık sonrası tedavi edilip yine immünolojik korunma ile kontrol altına alınabilmektedir. Böylece T lenfositlerinin CD4 tipinin oluşturduğu hücresel immünite ve CD8 tipinin kontrol ettiği geç aşırı duyarlılık sayesinde basiller makrofajlar içinde uzun süre dormant olarak kalabilirler.

Evre IV veya likefaksiyon ve kavite formasyonu olarak tanımlanan dönemde immün sistemi yeterli kişilerde kazeöz odak erimezse, gelişen süreç hücre aracılı immün yanıt ile durdurulur. Tüberkül fibröz bir duvarla çevrilerek ortadaki kazeöz odak koyulaşır ve süreç yaşam boyu durdurulur. Kazez odaktan basil kaçışı olur ve basil aktive makrofajlar tarafından tutulup yok edilemezse geç tip aşırı duyarlılık yanıtı tekrarlanarak makrofajlar öldürülmeye devam edilecek, gelişen kazeöz nekroz daha geniş ve şiddetli olacaktır. Gelişen 0,1–1,3 mm çapındaki kazeöz odaklar makrofajlar tarafından temizlenir, 2–8 mm çapında olanlar hidrolitik enzimlerle eritilir ve geride fibroz bir doku oluşur, 5–20 mm apındakiler ise çevresi fibröz bir kapsülle çevrili tberklomları oluşturur. Sonuçta immün sistemi yeterli kişilerde basillerin yok edilmesi ile süreç durdurularak, sadece TCT pozitifliği ile primer enfeksiyon ortaya çıkmaktadır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde ise genişleyen kazeöz nekrozların akciğerde doku hasarına neden olduğu ve klinik olarak primer TB geliştiği bildirilmiştir.

Erime ve kavite oluşumu olarak tanımlanan Evre V genellikle primer enfeksiyon veya hastalık sonrası endojen reaktivasyon ya da eksojen reinfeksiyon sonrası gelişen yetişkin tip akciğer TB'de görülmektedir. Nadiren primer TB'de hücresel immün yanıt yeteri kadar güçlü

olsa bile süreç ilerleyip kavite oluşabilir. Kavite gelişiminin nedeni tam bilinmemekle birlikte lezyon bölgesine gelen makrofajlardan salınan hidrolitik enzimlerin etkisiyle geç tip aşırı duyarlılığın sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

2. 6. Çocukluk tüberkülozu ve tanısı

Erişkin TB hastasının temaslı taraması yapılırken çocuklar özellikle değerlendirilmelidir. Çünkü, bir yaş altında daha fazla olmak üzere, 5 yaş ve altında enfeksiyondan hastalık gelişme riski daha fazladır, ayrıca miliyer ve menenjit TB gibi önemli hastalık şekilleri bu yaşlarda daha sık görülür. Maruziyetten sonra enfeksiyon gelişen çocukların %80'i ilk 2 yılda, tamamı da ilk 5 yılda hastalanır.³⁴ Çocuklukta hastalanmayıp, LTBI olanlar, yaşamlarının sonraki dönemlerinde %10 aktif hastalık geliştirebilirler. LTBI'na sahip olanlarda aktif hastalık gelişim oranı, çocukluk yaş grubunda özellikle yenidoğan döneminde %50'lere ulaşmaktadır.^{35,36} LTBI'nin saptanması ve kemoproflaksi uygulayarak aktif TB'ye ilerlemesinin engellenmesi önemli bir TB kontrol yöntemidir. Özellikle immunsuprese hastalarda LTBI'nin aktif TB'ye ilerleme riski yüksek olduğu için araştırılması gereken gruptur.³⁷

Çocukluk çağı TB'si ve ekstrapulmoner TB'nin tanısında güçlükler mevcuttur. Özellikle küçük çocuklarda (< 5 yaş) hematogen yayılım riski yüksektir. Bu nedenle çocuklarda akciğer dışı TB görülmesi erişkinlere göre daha sıktır. Çocukların balgamında, açlık mide suyunda basil sayısı az olduğu için, erişkinden farklı olarak bakteriyolojik tanı oranı %30-50'dir.³⁸ Çocuklarda TB tanısında, semptomlar, TB hastası ile temas öyküsü, risk faktörlerinin varlığı, fizik muayene bulguları, radyolojik bulgular, mikrobiyolojik bulgular ve TCT ile birlikte değerlendirilmelidir.

1) Çocukta semptomlar; Ateş, kilo almanın durması ya da kilo kaybı, öksürük, halsizlik, iştahsızlık, gece terlemesi, balgam, hışıltılı soluma olabildiği gibi hiç semptom olmayabilir.

2) Tüberküloz hastası ile temas öyküsü; Çocukta TB'de, aile içinde ve yakın çevresinde TB hastası olan erişkinler en önemli kaynaktır. Bu nedenle bir çocukta TB düşünüldüğünde, ailede TB taraması yapılarak kaynak olgunun araştırılması ve enfekte olabilecek aile bireylerinin ve yakın çevresindeki diğer kişilerin saptanması gerekir.

3) Risk faktörleri; Bulaştırıcı TB hastası ile temas öyküsü (kaynak olgunun balgamında yayma pozitif ise bulaştırıcılığı daha fazladır), HIV pozitifliği, immun yetmezlik, diyabet, kronik böbrek yetersizliği, beslenme bozukluğu, malnutrisyon, lenfoma gibi risk faktörlerinin olması; cezaevindeki çocuklar; risk faktörü olan erişkinlerle teması olanlar.³⁹

4) Fizik muayene bulguları; Akciğerlerde düzelmeyen dinleme bulguları, ral, ronküs, stridor, hepatosplenomegali, özellikle servikal yerleşimli ağrısız ve cilde drene olan lenf nodları, eklem ve kemiklerde hassasiyet, hareket kısıtlılığı, şişlik, karında kitle ya da asit, menenjit ve diğer santral sinir sistemi semptomları, fliktenüler konjuktivit, eritema nodozum, lupus vulgaris, kutanöz tüberküloidler ve akut miliyer TB'nin cilt bulguları olabilir. Bazı hastalarda ise hiçbir fizik bulgu olmayabilir.

5) Radyolojik bulgular; Hiler ya da paratrakeal büyümüş lenf nodu ve/veya buna eşlik eden parankimdeki küçük odaklar, infiltrasyon, atelektazi en sık görülen bulgulardır. Bunun dışında konsolidasyon, miliyer görünüm, segmental havalanma artışı, interstisyel dansite artışı, apse oluşumu, plevra efüzyonu görülebilir. Kavite, küçük çocuklarda nadiren, adölesan dönemde ise daha sıklıkla görülebilir.^{40,41}

6) Bakteriyolojik inceleme; TB'nin kesin tanısı klinik örneklerde TB basilinin gösterilmesi ile konabilir. Büyük çocuklar balgam verebilir, balgam veremeyen çocuklardan açlık mide suyu, üç gün sabah yataktan kalkmadan alınabilir. Üç yaşından büyük çocuklarda nebulizörle verilen %3-10'luk serum fizyolojik ile balgam indüksiyonu yapılabilir.⁴² Bronkoskopik lavaj da alınabilir. Tüberküloz tanısı için her türlü doku ve sıvı örneği bakteriyolojik açıdan direk mikroskopik bakı ve kültür olarak incelemeye alınabilir. Kültür TB tanısında altın standart kabul edilmektedir.

2. 7. Tüberkülin cilt testi

Tüberkülin cilt testi 1930'lu yıllardan itibaren TB infeksiyonlarının tanısında yaygın olarak kullanıma girmiş ilk ve halen geçerliliğini koruyan bir testtir. Tüberkülin cilt testi, latent olarak enfekte kişilerde aktif hastalık riskini öngörebilmesi nedeni ile, bugün için hala önemini korumaktadır. Tüberkülin cilt testi sonuçlarına göre tanı almış LTBI olan olguların tedavisi, aktif hastalık riskini %90 oranında azaltmaktadır.⁴³ Semptomatik TB hastalarının (aktif TB) tanısında kültür ön planda iken, LTBI tanısında TCT kullanılır. Ancak çocuklarda kültür pozitiflikleri fazla olmadığından hastalık tanısında da TCT önem taşımaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde TB eliminasyonunda temel strateji hedeflenmiş taramalarla LTBI olan kişileri saptamak ve onları tedavi etmektir.⁴⁴ Bu amaçla TCT, LTBI saptandığında tedaviden yarar görecektir olan TB gelişme riski yüksek olan hedeflenmiş gruplara uygulanır.⁴⁵

Tüberkülin cilt testi'nin esası, basilin belirli antijenik bileşenlerinin, tüberkül basili ile enfekte olan kişilerde gecikmiş tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu yapmasıdır. PPD (saflaştırılmış protein türevi = purified protein derivative) tüberkül basil kültürü filtresinden protein presipitasyonu ile izole edilir. Kültür filtresinde bulunan ve "tüberkülinler" denilen antijenik öğeleri içerir. İçeriğinin çoğunluğu proteinlerden oluşur, ayrıca polisakkaritler ve bazı lipidler içerir. Seibert ve Glenn'in 1939 yılında ürettikleri PPD'nin biyolojik potansi uluslararası referans olarak standardize edilerek PPD-S adını almıştır. Dünyada üretilen bütün PPD'lerin PPD-S ile eşit güçte olduklarını göstermek için biyolojik olarak test edilmeleri gerekmektedir.⁴⁶

Standart PPD için doz, "intermediate" doz da denen 5 tüberkülin ünitesi(TU) dir. Standart 5 TU dozunun tanımı 0.1 mg/0.1 mL dozundaki bir PPD-S'in gecikmiş deri testi aktivitesi olarak bilinir.⁴⁶ PPD test solüsyonu, karanlıkta bulundurulmalı, +2 ila +8°C'de saklanmalıdır.

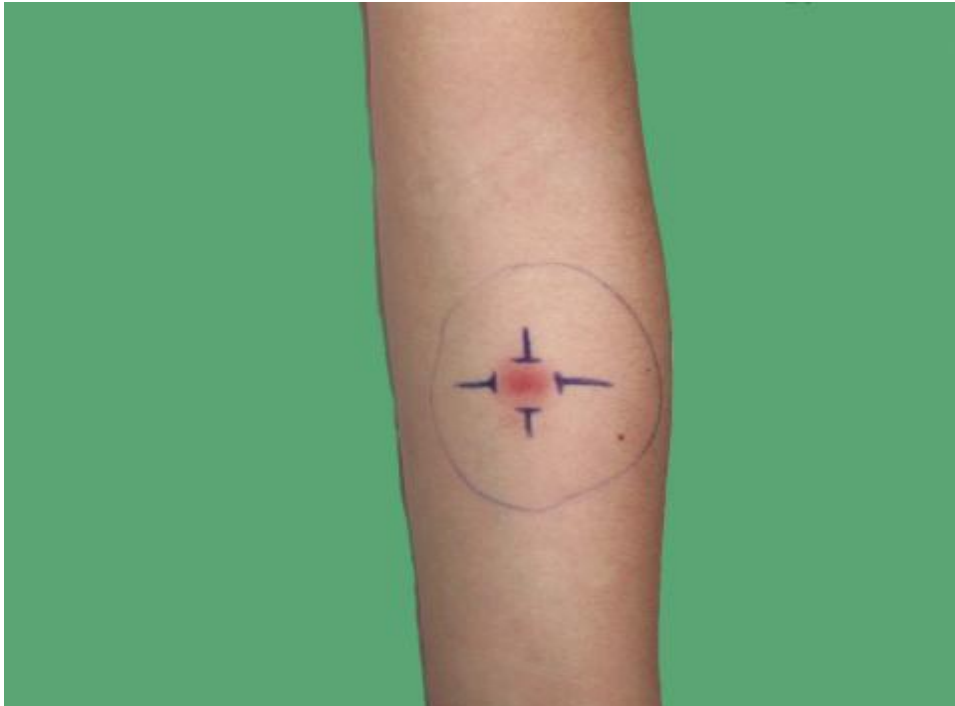
Tüberkülin cilt testi, Mantoux yöntemi ile PPD'nin tercihen sol ön kol 2/3 üst dış ventral yüzüne intradermal, venlerden uzak ve kılsız bir bölgeye 5 TU'ndan 0.1 mL intradermal 27 gauge enjektör ile uygulanarak yapılır. Tüberkülin uygulanacak sahanın antiseptikle silinmesine gerek yoktur. Uygulamada 6-10 mm çapında görünür bir papül oluşması gerekir. Bu papül oluşmadıysa hemen ikinci bir test dozu birkaç santimetre (cm) uzağa yapılmalıdır. Subkütan uygulama yalancı negatif sonuca neden olur (Resim 1).

Resim 1. Tüberkulin cilt testi uygulaması



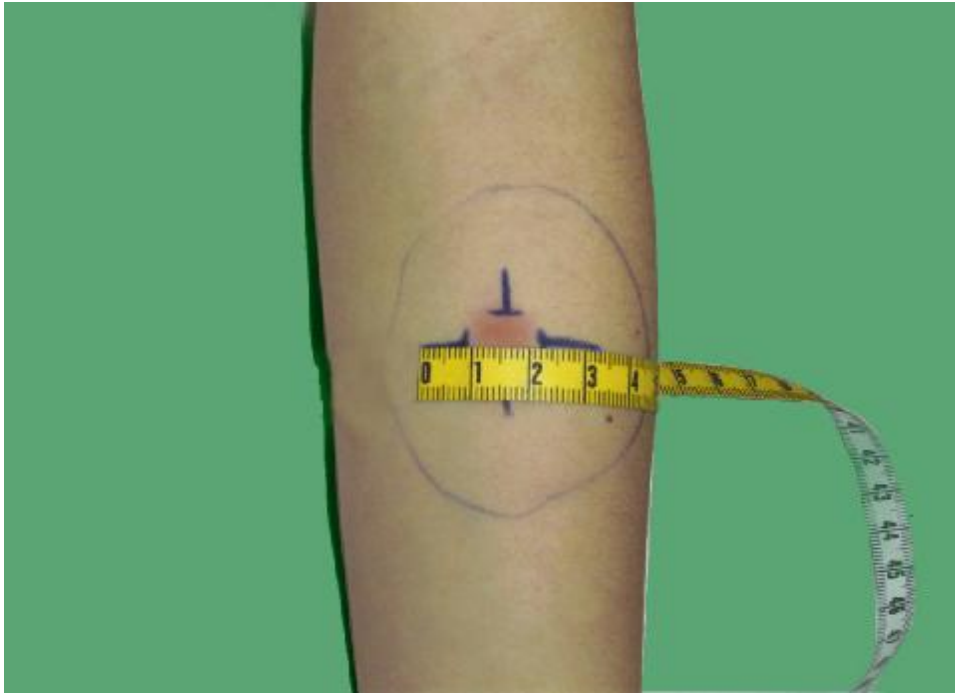
Primer infeksiyondan sonra TCT konversiyonu için gereken süre iki-sekiz haftadır. Tüberkulin cilt testi uygulanan kişi daha önce BCG ile aşılanmışsa ya da tüberkül basili ile karşılaşmışsa, 2-3 gün içinde test yerinde hiperemi ve endürasyon oluşur (Resim 2).

Resim 2. Tüberkulin cilt testinde endürasyonun belirlenmesi



Tüberkulin testine immün yanıt geç tip aşırı duyarlılık şeklinde olup intradermal antijenin inokülasyonundan sonra beş-altı saat içinde lenfosit, monosit, makrofaj göçü şeklinde başlar, 48-72 saatte maksimum boyutta reaksiyona ulaşır. Test yapılan bölgede vazodilatasyon, ödem, fibrin birikimi ve diğer inflamatuvar hücrelerin toplanmasıyla endürasyon ortaya çıkar. Uygulamadan 48-72 saat sonra kolun longitudinal aksına transvers olan endürasyon çapı milimetre (mm) olarak ölçülür, eritem dikkate alınmaz. Reaksiyon deneyimli bir okuyucu tarafından değerlendirilmelidir. İlk olarak Sokal tarafından önerilen tükenmez kalem yöntemi ile kolun longitudinal aksına transvers olacak şekilde her iki yönden endürasyona doğru çizilen kalemin direnç gördüğü noktalar belirlenir, bu yöntem ile ölçümler farklı okuyucular arasında daha güvenlidir⁴⁷ (Resim 3).

Resim 3. Tüberkulin cilt testinde endürasyonun ölçülmesi



Ülkemizde TCT reaksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılan kriterler Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo1. Ülkemizde Tüberkülin cilt testi reaksiyonunu değerlendirme kriterleri

BCG’lilerde	
0-4 mm	Negatif kabul edilir
5-14 mm	BCG’ye atfedilir
≥ 15 mm	Pozitif kabul edilir, enfeksiyon olarak değerlendirilir
BCG’sizlerde	
0-4 mm	Negatif kabul edilir
5-9 mm	Şüpheli kabul edilir, 1-3 hafta içinde test tekrarlanır; tekrar 5-9 mm bulunursa negatif kabul edilir; 10 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.*
≥ 10 mm	Pozitif kabul edilir
Bağışıklığı baskılanmış kişilerde ≥ 5mm pozitif kabul edilir.**	

*Booster olayı: Tek bir TCT ile ufak bir endürasyon oluşabilir, fakat önceden oluşmuş bir bağışıklık yanıtını uyarabilir; böylece, 1 haftadan bir yıla kadar bir sürede yapılacak ikinci TCT ile daha büyük yanıt oluşur. Ancak konversiyondan ayrımı için 1-3 hafta içinde TCT yapılmalıdır.

**Tüberkülin cilt testi ≥ 5mm olup pozitif kabul edilen bağışıklığı baskılanmış kişiler; kızamık veya boğmaca geçirenler, HIV, AIDS, diabet, lenfoma ve lösemi gibi hematolojik bozukluklar, kronik peptik ülser, kronik malabsorbsiyon sendromları, orofarinks ve üst gastrointestinal sistem karsinomları, gastrektomi, barsak rezeksiyonu, kronik alkolizm, silikozis, pnömokonyoz, kronik böbrek yetmezliği, uzun süre yüksek doz kortikosteroid ve diğer bağışıklığı baskılayıcı tedavi gerektiren durumları (2-4 hafta süreyle, günde 15 mg ve üstü prednizon dozuna eşdeğer steroid dozları yeterli yüksek doz kabul edilmektedir) kapsamaktadır.⁴⁸

Negatif TCT, LTBI veya TB hastalığını ekarte ettirmez. Çocuklarda % 10-25 oranında Tablo 2’de görülen faktörlere bağlı olarak yalancı negatif sonuç elde edilebilir. Genel olarak TB hastalarında çocuklarda % 89, erişkinlerde % 54 oranında TCT pozitifliği bildirilmiştir.⁴⁹

BCG aşılması ve nontüberküloz mikobakteriler (NTM) TCT’nin yalancı pozitif reaksiyonuna neden olabilirler. BCG aşısı TCT reaksiyonu üzerinde variabl bir etkiye sahiptir.

Yenidoğan dönemindeki aşılardan sonra TCT pozitifliği gösterenlerin oranı üç aylıkken %12-31; dört ay-bir yaş arası %3-13 ve 1-5 yaş arası %0-18 olarak bulunmuştur.⁴⁵ Neonatal BCG immünizasyonundan sonra uzun süre geçmesi (> 5 yıl) pozitif TCT'nin LTBI'na bağlı olma olasılığını arttırır. BCG'ye bağlı reaksiyon 10 yıla uzayan bir sürede giderek kaybolur. Geniş TCT reaksiyonlarında infeksiyon olasılığı yüksektir. BCG skar sayısındaki artış ile TCT reaksiyonunun LTBI'na bağlı olma olasılığı da düşer. Reaksiyonun büyüklüğü ile aşının koruma düzeyi arasında ilişki yoktur. BCG'ye bağlı reaksiyon ile TCT'ye bağlı reaksiyonu ayırd etmek mümkün görülmemektedir. Ancak yüksek TB prevalansına sahip bir ülkede pozitif bir TCT'yi BCG'ye değil de LTBI'na bağlamak daha doğru olabilir. PPD solüsyonunda 200'den fazla *M. tuberculosis* antijeni bulunur. Bunların birçoğu *M.bovis*, BCG ve NTM'ler (*M. avium*, *M.intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. abscessus*, *M. kansasii*) ile ortak olduğundan TCT ile çapraz reaksiyonlar görülür.

Tüberküloz infeksiyonu tanısında yıllardır kullanılan tek test TCT'dir. Tüberkülin cilt testinin en büyük avantajı düşük maliyet ve laboratuvar alt yapı gerektirmemesidir. BCG aşılması yapılan toplumlarda spesifitesi, immün yetmezlikli hastalarda sensitivitesi düşük olan bu testi okuyan kişilerin ölçüm farklılığı, eğitilmiş personel ihtiyacı, hastaların 72 saat sonra tekrar görülmesi gerekliliği, diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyonu TCT'nin olumsuz yanlarıdır. Bu test birçok durumda yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar verdiği için tanısal değeri sınırlıdır. Testin uygulandığı olguya göre ayrıntılı klinik değerlendirme gerektirebilir. Bu yüzden son yıllarda TB basili genomunun belirlenmesi ile yeni tanısal testler geliştirilmeye başlanmıştır.

Tablo 2. Tüberkülin cilt testinde yalancı negatif reaksiyona neden olan durumlar

<p>Test edilen kişi ile ilgili faktörler</p> <ul style="list-style-type: none">• İnfeksiyonlar; Viral (HIV, kızamık, kabakulak, suçiçeği) Bakteriyel (tifo, brusella, lepra) Fungal (blastomikoz)• Canlı virüs aşılı (kızamık, kabakulak, polio). Kızamık aşısı yapılmışsa test dört-altı hafta ertelenmelidir.• Metabolik bozukluk (Kronik Böbrek Yetmezliği)• Protein eksiklikleri (afibrinojenemi, beslenme yetersizliği, kronik malnütrisyon)• Lenfoid organ hastalıkları (Hodgkin, lenfoma, lösemi, sarkoidoz)• İlaçlar (kortikosteroid ve diğer immünsüpresif ilaçlar)• Yaş (< 3 ay ve yaşlılar)• Tüberküloz infeksiyonundan sonra geçen zaman < 10 hafta ise• Aktif hastalık durumlarında açığa çıkan sitokinlerin geç tip aşırı duyarlılığı inhibe etmesi• Ağır TB (örneğin; miliyer TB)• Stres (cerrahi, yanık, mental hastalık, greft versus host)
<p>Test solüsyonu ile ilgili durumlar</p> <ul style="list-style-type: none">• Uygun saklama (Isı ve ışığa maruziyet)• Kimyasal denatürasyon• Kontaminasyon• Adsorpsiyon
<p>Uygulama ve okuma ile ilgili durumlar</p> <ul style="list-style-type: none">• İnjekte edilen antijenin azlığı (yetersiz doz)• Subkütan enjeksiyon• Şırıngaya çektikten sonra enjeksiyonu geciktirme• Deneyimsiz okuyucu• Okumada ve kaydetmede hata

2. 8. Interferon-gama salınımına dayalı yeni tanı testleri

Tüberküloz enfeksiyonu tanısında kullanılan TCT'ye alternatif olarak son yıllarda mikobakteri türlerinin genomik yapısının belirlenmesinden sonra *M.tuberculosis*'e özgü antijenleri kullanarak daha özgül ve duyarlı testlerin geliştirilebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla geliştirilen ve TB'e özgü antijenler ile uyarılan T hücrelerinden salınan IFN- γ düzeyini belirleme ilkesi ile çalışan bu yeni testlerin TCT'nin duyarlılığının ve özgüllüğünün düşük olduğu veya kullanılmadığı birçok durumda kullanılabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Başlangıçtaki testler, uyarıcı antijen olarak PPD kullanan testler üzerine odaklanırken, daha yeni testler *M. tuberculosis*'e özgül antijenler olan ESAT-6 (Early-Secreted Antigenic Target 6-kDa protein), CFP-10 (culture filtrate protein 10) ve TB 7.7 'i kullanmaktadır.^{7,12} Bu proteinler, anlamlı olarak PPD'ye kıyasla *M. tuberculosis*'e daha özgüldür. Çünkü bu antijenler BCG veya *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum* ve *Mycobacterium szulgai* hariç diğer NTM türleri ile paylaşılmamaktadır.^{7,11} Son yıllarda yapılan çalışmalar ile IFN- γ araştırmasına dayanan dört ticari test geliştirilmiştir.¹¹

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 (Cellestis Limited, Carnegie, Australia)

Her dört test de, TB antijenleri ile uyarıya yanıt olarak T-hücrelerinden salınan IFN- γ 'yı ölçerek hücre aracılı bağışıklığı değerlendirmektedir. Bu testlerde, ELISA (Enzyme linked immun assay) ve ELISPOT (Enzyme linked immunospot) yöntemleri kullanılmaktadır. Her dört testin özellikleri Tablo 3'de görülmektedir.

Tablo 3. 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	Tam kan	16-24	ESAT-6, CFP-10, TB 7.7	ELISA

Tüm IFN- γ araştırmasına dayanan testler, IFN- γ yanıtını ölçen hücre-temelli testler olsa da, bu testlerin çalışma özellikleri birbirlerinden farklıdır. Birinci kuşak testlerden QuantiFERON-TB, hücre kaynağı olarak tam kanın kullanıldığı ELISA yöntemiyle PPD ile T-hücre uyarısına IFN- γ yanıtını ölçen bir testtir.⁵⁰ ESAT-6 ve CFP-10 özgül antijenlerini kullanarak, IFN- γ üreten T-hücrelerinin sayısını saptayan ve ELISPOT kullanılan T SPOT-TB testinde ise periferik kan mononükleer hücreleri kullanılır.⁵¹ QuantiFERON-TB Gold tam kandan ELISA yöntemi ile ESAT-6, CFP-10 ile T-hücre uyarısına IFN- γ yanıtını ölçen bir testtir. Bu çalışmada ESAT-6, CFP-10, TB 7.7 özgül antijenlerinin kullanıldığı tam kandan çalışılan QuantiFERON-TB Gold In Tube testi kullanılmıştır.

2.8.1 QuantiFERON-TB Gold In Tube testi

QuantiFERON-TB Gold In Tube mikobakteri proteinleri gibi davranan peptid antijenlerine karşı oluşan hücresel bağışıklık yanıtına dayalı bir testtir. BCG aşısı suşunda ve tüberküloz dışı mikobakterilerin çoğunluğunda bulunmayan (*M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* hariç) ancak *M. tuberculosis*'te mevcut olan ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 gibi özgül antijenlerin belirlenmesi, TB enfeksiyonunun saptanması için daha spesifik olan bu ve benzeri testlerin geliştirilmesini sağlamıştır. *M. Tuberculosis* genomunda ESAT-6 ve CFP-10 isimli antijenler BCG RD1 (region of difference 1) denilen bölgede, TB7.7 isimli antijen ise phiRv2 (phage-inserted region) denilen bölgede kodlanır ve bu antijenler T hücrelerini uyararak IFN- γ salınımına neden olur. Bu antijenler *M. Tuberculosis* için oldukça yüksek oranda özgüldür.^{7,52}

Mycobacterium tuberculosis kompleks ile enfekte olmuş bireylerin kanlarında duyarlanmış T lenfositlerden salınan IFN- γ 'nın tespiti ve miktarının belirlenmesi bu testin temelini oluşturmaktadır. *Mycobacterium Tuberculosis* ile enfekte kişilerde ESAT 6, CFP 10 ve TB 7.7 peptid antijenlerinin T hücreleri içinde IFN- γ yanıtını uyardığını, BCG aşılı ya da BCG aşısız enfekte olmamış bireylerde ise uyarmadığı görülmüştür. Bağışıklık sistemini baskılayan tedavi ya da tıbbi durumlar ise IFN- γ yanıtını azaltabilir. QuantiFERON-TB Gold In Tube testi *M.tuberculosis kompleks* ile enfekte hastalarda tanıya yardımcı olmak amacıyla kullanılabilir. Pozitif bir test sonucu, TB hastalığı tanısını destekler. *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* gibi diğer TB dışı mikobakteri enfeksiyonu olan hastalarda, bu bakterilerde de ESAT6, CFP 10, TB 7.7 antijenlerini kodlayan genleri içerdikleri için bu antijenler ile tepki verebilir ve pozitif sonuçlara sebep olabilirler. Ancak genel popülasyonda bu mikobakterilerin enfeksiyonları nadirdir. Test tek başına TB tanısı koymamakla beraber, diğer tıbbi tanı ve değerlendirmeler TB hastalığı tanısını onaylamak ya da bu olasılığı ortadan kaldırmak amacıyla gereklidir.

In-vitro interferon-gama salınım testinin TCT'ye kıyasla birçok avantajı bulunmaktadır. *Mycobacterium tuberculosis* maruziyetini indirekt olarak daha spesifik olarak gösteren bu testin BCG aşılması ve diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyonu daha azdır. Hastanın test için ikinci kez gelmesinin gerekmemesi, booster etkinin olmaması, ayrıca deri endürasyonunun ölçüm farklılıkları gibi kişisel faktörlerin olmaması nedeniyle daha güvenilir olduğu düşünülmektedir.^{7,9,12,52}

QuantiFERON-TB Gold In Tube testi, iki basamakta uygulanır. Birinci basamakta Nil kontrol, Tb Antijen ve opsiyonel olarak Mitogen kontrol olarak adlandırılan üç ayrı özel tüpe 1 mL venöz kan alınır. Birinci tüp (Nil tube) negatif kontrol için kullanılır ve sadece heparin içerir. İkinci tüp (TB antijen tube) ESAT 6, CFP 10, TB 7.7 peptid antijenlerini içerir. Üçüncü tüp (mitogen tube) ise pozitif kontrol olarak kullanılır ve T-hücre mitojen fitohemaglutinin içerir. Fitohemaglutinin genel bir T-hücre uyarıcısı olduğundan kişide bağışıklık yanıtı bozuklukları ile ilgili şüpheler varsa oldukça anlamlıdır, ayrıca kan alma ve inkübasyon işlemlerinin kontrolü için de kullanılabilir. Antijenler, kan alma tüplerinin iç duvarları üzerinde kurutulmuştur, bu nedenle kan alındığında tüplerin iyice alt üst edilerek içeriklerinin karıştırılmaları önemlidir. Kan örnekleri bu tüpler içerisinde 37°C'de 16 – 24 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında santrifüjleme ile elde edilen plazma örneklerinde peptid antijenlerine tepki olarak salınan IFN- γ (IU/mL) düzeyi ELISA yöntemi ile ölçülür.

Hemen çalışılmayacaksa plazma örnekleri 2-8°C'de 8 haftaya kadar ya da -70°C'de daha uzun süre saklanabilir.

Pozitif bir sonuç için TB antijenine yanıt olarak IFN- γ salınımının, Nil IFN- γ (IU/ml) salınımından oldukça yüksek olması gerekmektedir. Interferon-gama miktarı $\geq 0,35$ IU/mL ve nil kontrolünden %25 oranında ya da daha yüksek ise test pozitif kabul edilir. Mitojen tübünün kullanıldığı durumlarda 0.5 IU/ml'den düşük yanıt, TB antijenlerine de negatif bir tepkinin eşlik etmesi durumu geçersiz bir sonucu işaret etmektedir. Bu durum ile karşılaşılması yeterli lenfosit olmadığı, uygun olmayan örnek saklama koşulları nedeniyle lenfosit aktivitesinin azaldığı, mitojen tüplerine doğru şekilde kan alınmadığı veya hastanın lenfositlerinin IFN- γ üretmediği şeklinde değerlendirilebilir. Nil örneği, arka planı, heterofil antikor etkisinin veya kan örneklerindeki spesifik olmayan IFN- γ düzeyi için kullanılmaktadır. Tb Antijen ve kullanıldıysa mitojen tüplerindeki IFN- γ düzeylerinden Nil IFN- γ miktarı çıkartılmaktadır. Testin değerlendirilme kriterleri Tablo 4' de görülmektedir.

Negatif test sonucu *M.tuberculosis* enfeksiyonu ya da TB hastalığı olasılığını yok etmez. Enfeksiyonun durumu (örneğin hücresel bağışıklık yanıtı oluşmadan önce alınmış olması gibi), hastanın bağışıklık sistemi ile ilgili durumu, örneklerin yanlış alınması, testin hatalı çalışması veya diğer immunolojik değişkenler nedeniyle hatalı negatif sonuçlar elde edilebilir. Pozitif test sonucu enfeksiyon hakkında karar vermede kullanılan tek veri olmamalıdır. Test uygulanmasındaki yanlışlıklar hatalı pozitif sonuca neden olabilir. Pozitif test sonucu sonrasında aktif tüberküloz için klinik ve mikrobiyolojik tanısal değerlendirme yapılmalıdır. ESAT-6, CFP 10 ve TB 7.7 içeren *M. kansasii*, *M.szulgai* veya *M.marinum* kaynaklı bir enfeksiyon sonucunda da test sonucu pozitif olabilir. Bu enfeksiyonlardan şüphe ediliyorsa alternatif testler kullanılarak araştırılmalıdır. Ölçülen IFN- γ düzeyi ile hastalığın durumu, enfeksiyonun derecesi, bağışıklık yanıtı veya aktif hastalık gelişme olasılığı ilişkilendirilemez.

Tablo 4. QuantiFERON-TB Gold In Tube testi'nde Nil, TB Antijen ve Mitojen Tüpleri kullanıldığında değerlendirme

Nil (IU/ml)	Tb Antijen - Nil (IU/ml)	Mitogen - Nil (IU/ ml)	QuantiFERON® TB (IU/ml)	Yorum
≤ 8.0	< 0.35	≥ 0.5	Negatif	M. tuberculosis enfeksiyonu olasılığı yok
	≥ 0.35 ve < % 25 Nil Değeri	≥ 0.5		
	≥ 0.35 ve ≥ % 25 Nil Değeri	Her Durumda	Pozitif	M. tuberculosis enfeksiyonu olasılığı var
	< 0.35	< 0.5	Geçersiz	TB Antijen yanıtından dolayı sonuçlar geçersiz
	≥ 0.35 ve < % 25 Nil Değeri	< 0.5		
> 8.0	Her Durumda	Her Durumda		

2. 9. Tüberkülozdan koruyucu ilaç tedavisi kararında tüberkülin cilt testi ve interferon-gama salınımına dayalı testlerin yeri

Koruyucu ilaç tedavisi, kemoprofilaksi ya da LTBI tedavisi olarak da adlandırılır. Koruyucu ilaç tedavisinin amacı, TB hastası ile teması olan kişide enfeksiyon gelişimini ya da TB enfekte kişide TB hastalığı gelişimini önlemektir. Enfeksiyon gelişimini önlemede koruyucu ilaç tedavisinin etkisi randomize çalışmalarla değerlendirilmemiştir. Enfekte kişilerde hastalık gelişimini önleyici etkisi ise büyük çaplı çift-kör, randomize, plasebo kontrollü çalışma ile gösterilmiştir.⁵³ Toplumda TB basili ile enfekte olmuş herkese koruyucu ilaç tedavisi verilmesi mümkün değildir; bu nedenle, TB hastalığı gelişme riski yüksek olan gruplara önerilmektedir. Koruyucu ilaç tedavisi ile latent enfeksiyonu olanlarda hastalık gelişimi önlenerek yeni bir basil kaynağının ortaya çıkması önlediği için epidemiyolojik olarak da TB kontrolünde önemi vardır.

Ülkemizde koruyucu ilaç tedavisi verilecek kişileri sadece TCT değerlendirmesi ile belirlememiz olanaksızdır; çünkü toplumumuzda BCG aşılması, TCT değerlendirmesini

zorlaştırmaktadır. Tüberkülin cilt testi uygulamada ve yorumlamadaki sorunlar (BCG aşısı nedeni ile yüksek tüberkülin pozitifliği, NTM'ler, testin okunması için ikinci bir ziyaret gibi) nedeni ile spesifikliğı yüksek IFN- γ düzeyine dayalı testlerin tüberküloz riskinin yüksek olduğı ülkemizde latent enfeksiyon oranını belirlemede ve erken tedavi ile aktif enfeksiyon gelişimini engellemede gereksiz profilaksi uygulanmasını önleyebileceğı düşünölmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Faköltesi Çocuk Sağılığı ve Hastalıkları Polikliniğı'ne 6 aylık süre boyunca 3 haftadan uzun süren öksürük yakınması ile başvuran ve TB'nin dışlanması için TCT uygulanıp 10-14 mm ve TCT ≥ 15 mm endürasyon bulunan, ancak aktif TB hastalığı olmadığı saptanan olgular çalışmaya alındı. Bu hastalara TCT öncesi QFT-gold IT testi uygulanmış olup IFN- γ yüksekliklerinin, TCT ölçümleri ile karşılaştırılması planlandı.

Latent tüberküloz enfeksiyonu düşünölen bu hastalar yaş, cinsiyet, BCG aşılama sayısı ve aşı izi, aile taraması ile tüberküloz temas öyküsü, immun yetmezlik oluşturacak hastalık veya tedavi alma açısından değerlendirildi. Akciğer grafisi ile TB bulguları açısından değerlendirilen olgulardan aktif TB enfeksiyonu olarak değerlendirilen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Latent TB enfeksiyonu olarak değerlendirilen hastalara 6 aylık 10/mg/kg/gün izoniazid profilaksisi başlandı.

Tüberkülin cilt 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 ≥ 15 mm ise TCT pozitif kabul edildi. Olgulardan öncelikle QFT-Gold IT testi için venöz kan alındı, sonrasında TCT uygulandı.

Bu çalışmada QFT-Gold IT testi ile ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 peptid karışımı kullanılarak T hücrelerinde uyarılan IFN- γ yanıtı ölçüldü. Bu amaçla, hastalardan üç ayrı tüpe (nil, antijen ve mitojen içeren) 1'er ml venöz tam kan alındı. Kan alındıktan sonra tüpler 8-10 kez alt üst yaparak veya 5 saniye boyunca çalkalanarak karıştırıldı. Tüpler 37°C'de etüvde 16-24 saat inkübe edildi. Test tüpleri inkübasyondan sonra 2000-3000 RCF'de (Relative Centrifugal Force) 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ekonomik olması açısından 28 hasta örneğinin birlikte çalışılması planlandı ve hemen çalışılmayacak plazma örnekleri -70 °C'de bekletildi.

Çalışmaya başlamadan en az bir saat önce tüm kit ve örnekler dolaptan çıkartılarak oda ısısına gelmeleri beklendi. Standart şişesi üzerinde yazan miktarda distile su ile sulandırılarak

8.0 IU/mL konsantrasyonda Standart Solüsyonu hazırlandı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, 8.0 IU/mL konsantrasyonda Standart Solüsyonu, Green Diluent ile seri sulandırılmalar yapılarak 4 farklı IFN- γ konsantrasyonu elde edildi (S1: 4.0 IU/mL, S2: 1.0 IU/mL, S3: 0.25 IU/mL, S4: 0 IU/mL). Toz halindeki Konjugat, 0.3 μ l distile su ile sulandırılarak 100x Konjugat elde edildi. 100x Konjugat, 100 katı Green Diluent ile karıştırılarak Konjugat Çalışma Solüsyonu hazırlandı (Ör:10 μ l 100x Konjugat + 1.0mL Green Diluent). Plaktaki her kuyuya, hazırlanan Konjugat Çalışma Solüsyonundan 50 μ l pipetlenildi. Mikroplakta belirlenen kuyulara örnekler ve en son olarak standartlar pipetlendi. Pipetleme öncesinde örnek tüpleri karıştırılarak, plazma örneklerinin homojen hale gelmesi sağlandı. ELISA çalkalayıcı ile mikroplaklarda kuyular arasında kontaminasyon olmayacak şekilde 1 dakika karıştırıldı. Mikroplakların üzeri kapatılarak gün ışığı görmeyecek şekilde oda ısısında (22 ± 5 °C) 120 dakika inkübe edildi. İnkubasyon sırasında 100ml 20x konsantre yıkama tamponu, 1900ml distile su ile karıştırılarak 2 litre yıkama tamponu hazırlandı. Otomatik ELISA yıkayıcı ile kuyular 400 μ l yıkama solüsyonu doldurularak en az 6 kez yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra plaklar ters çevrilerek, emici kağıt üzerine nazikçe vurularak kalan yıkama tamponunda akıtılması sağlandı. Her kuyuya 100 μ l Enzim Substrat Solüsyonu pipetlendi. ELISA çalkalayıcı ile mikroplaklar kuyular arasında bir kontaminasyon olmayacak şekilde 1 dakika karıştırıldı. Mikroplakların üzeri kapatılarak gün ışığı görmeyecek şekilde 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Süre sonunda her kuyuya 50 μ l Stop Solüsyonu pipetlendi. Stop solüsyonunun pipetlenmesinden sonra 5 dk içinde 450 nm ile 620 / 650 nm referans filtreleri kullanılarak mikroplakların optik dansite değerleri belirlendi. Optik dansite değerleri software kullanılarak sonuçlar hesaplandı. Interferon-gama miktarı $\geq 0,35$ IU/mL ve nil kontrolünden %25 oranında ya da daha yüksek ise test pozitif kabul edildi.

4. İSTATİKSEL ANALİZ:

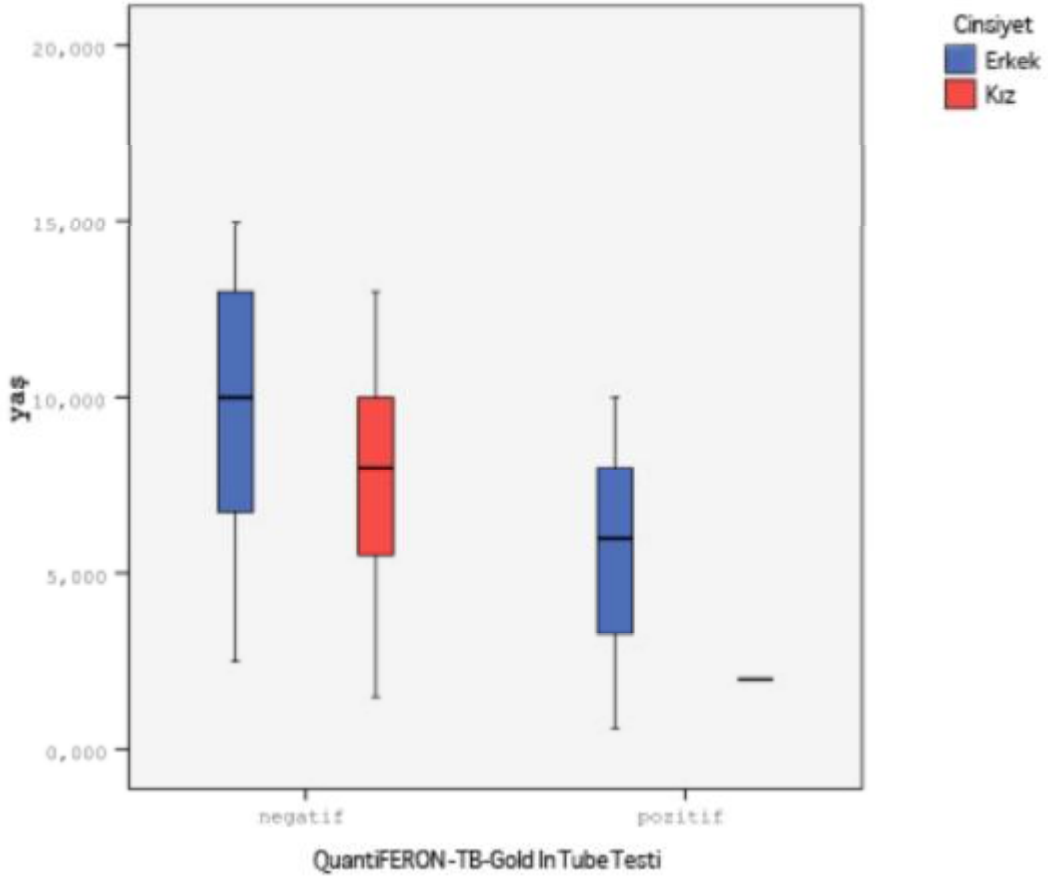
Çalışmada veri analizi için SPSS 15.0 istatistiksel paket programı kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık p değeri $<0,05$ olanlar kabul edildi. Analizde Pearson ki-kare testi kullanıldı. Gözlerden birinde beklenen değer 5'in altında olduğunda Fisher'in kesin testi sonuçları kullanıldı. Tüberkülin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

5. BULGULAR

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine Aralık 2008-Mayıs 2009 tarihleri arasında başvuran ve LTBI yönünden araştırılan ellidört çocuk alındı. Çalışma grubunu yaşları 7 ay ile 15 yıl arasında değişen 31'i erkek (% 57.4), 23'ü kız (% 42.6) hasta oluşturdu. Hastaların ortalama yaşı 8.7 ± 3.9 yıl idi.

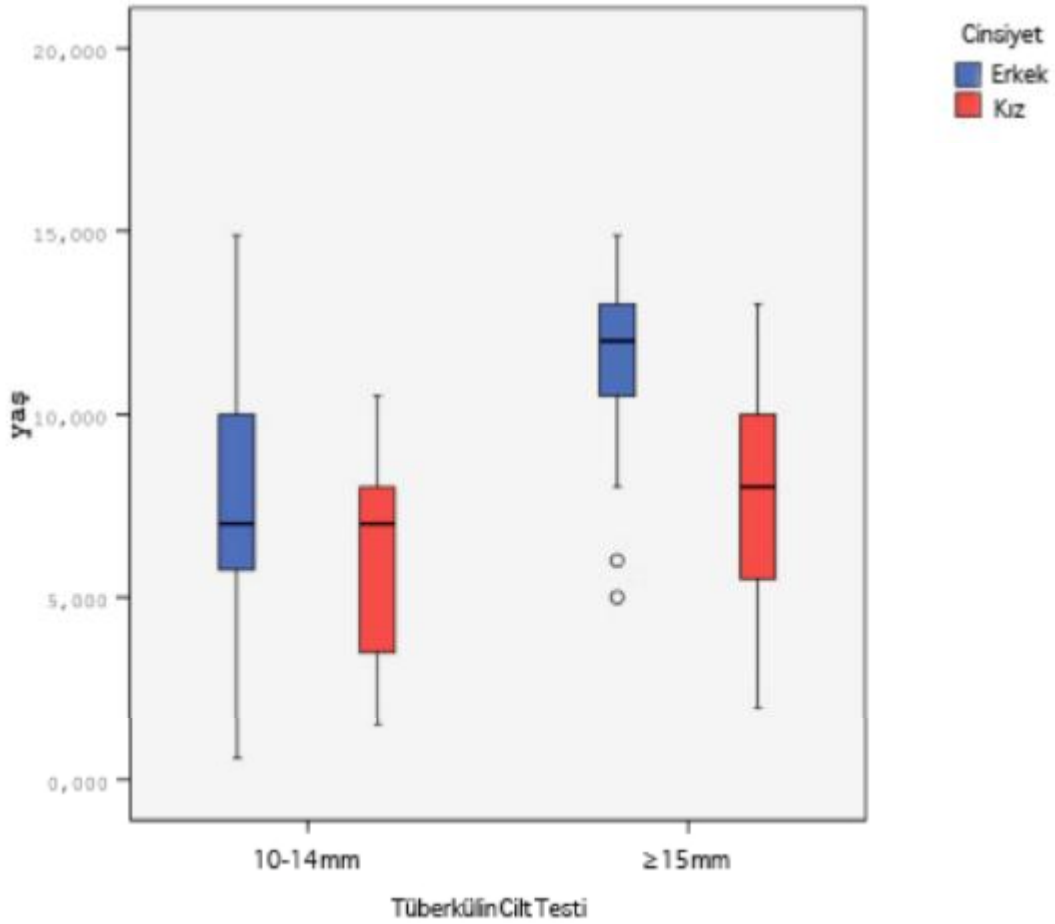
QuantiFERON-TB-Gold In Tube testi negatif olanların median yaşı 9 yıl (min 1.5- max 15 yıl), pozitif olanların median yaşı 4 yıl (min 7 ay- max 10 yıl) bulundu. (Şekil 3)

Şekil 3. QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının yaşa ve cinsiyete göre dağılımı



Tüberkulin cilt testi değeri 10-14 mm olanların median yaşı 7 yıl (min 7 ay -max 15 yıl), TCT ≥ 15 mm olanların median yaşı 10 yıl (min 2- max 15 yıl) olarak değerlendirildi. (Şekil 4)

Şekil 4. Tüberkulin cilt testi sonuçlarının yaşı ve cinsiyete göre dağılımı



Tüberkulin cilt testi uygulaması sonucunda, 21 hastanın (% 39) TCT değeri 10-14 mm arasında, 33 hastanın (% 61) TCT değeri ≥ 15 mm olarak ölçüldü. Hastaların 37'sinde (% 68.5) bir BCG aşılaması, 17'sinde (% 31.5) iki BCG aşılaması olduğu saptandı (Tablo 5). BCG aşı sayısı bir ve iki olanlar arasında TCT'nin 15 mm üzerinde görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (Pearson ki-kare: 2.46, p:0.117)

Tablo 5. BCG aşı sayısı ve Tübekülün Cilt Testi sonuçlarının karşılaştırılması

TCT							
		10-14 mm		≥15 mm		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
BCG aşı sayısı	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

Pearson ki-kare: 2.46, p:0.117

Çalışmada bir BCG aşılması olan 34 hastanın (%91.9) QFT-Gold IT testi negatif , 3 hastanın (%8.1) pozitif saptandı. İki BCG aşılması olan 16 hastanın (%94.1) QFT-Gold IT testi negatif, 1 hastanın (%5.9) ise QFT-Gold IT testi pozitif bulundu (Tablo 6). 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)

Tablo 6. BCG aşı sayısı ve QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının karşılaştırılması

		QFT-Gold IT				Toplam	
		Negatif		Pozitif			
		(< 0,35 IU/mL)		(≥ 0,35 IU/mL)		n	%
BCG aşı sayısı	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

Fisher'in kesin testi, p: 1.000

Hastaların 4 tanesinde (%7.4) QFT-Gold IT testi pozitif bulundu. Tüberkülin cilt testi ≥ 15 mm olan 33 hastanın 2'si (%6) QFT-Gold IT testi pozitif, TCT 10-14 mm olan 21 hastanın 2'si (%9.5) QFT-Gold IT testi pozitif saptandı. Tüberkülin cilt testi ≥ 15 mm olan 33 hastadan 31'i (% 94) QFT-Gold IT testi negatif saptandı (Fisher'in kesin testi, p: 0.64) (Tablo 7).

Çalışmada ki TCT pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılık değerlendirildi. Yapılan analizler sonucunda tutarlılık % 38.9, kapa değeri ise 0.03 (p değeri: 0.63) olarak bulundu. Tüberkülin cilt testi pozitifliği ile QFT-Gold IT testi pozitifliği arasındaki tutarlılığın çok zayıf olduğu sonucuna varıldı.

Tablo 7. QuantiFERON-TB-Gold In Tube testi ve tüberkülin cilt testi sonuçlarının karşılaştırılması

		TCT					
		≥ 15 mm		10-14 mm		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
QFT-gold IT	Pozitif ($\geq 0,35$ 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
Fisher'in kesin testi, p: 0.64							

Çalışmada 5 hastanın ev içi TB teması olduğu öğrenildi. Tüberküloz teması olan 5 hastanın bir tanesinde QFT-Gold IT testi pozitif saptandı (%20). Tüberküloz teması olan hastaların %80'inde QFT-Gold IT testinin negatif olduğu görüldü. Öyküde TB teması olmayan 49 hastanın 3 tanesinde QFT-Gold IT testi ise pozitif saptandı (%6.1) (Tablo 8). Hastaların tüberküloz temasının olması ile QFT-Gold IT testinin pozitifliği arasında anlamlı ilişki saptanmadı. (Fisher'in kesin testi, p:0.33)

Tablo 8. Tüberküloz Teması ile QuantiFERON-TB-Gold In Tube Testi sonuçlarının değerlendirilmesi

		QFT-Gold IT				Toplam	
		Negatif ($< 0,35$ IU/mL)		Pozitif ($\geq 0,35$ IU/mL)			
		n	%	n	%	n	%
Tüberküloz teması	Var	4	80	1	20	5	100
	Yok	46	93,9	3	6,1	49	100
Toplam		50	92,6	4	7,4	54	100
Fisher'in kesin testi, p:0.33							

Tüberküloz teması açısından değerlendirilen 5 hastada TB teması olduğu öğrenilmiştir. Tüberküloz teması olan 5 hastadan birinde (%20), TB teması olmayan 49 hastanın 32'sinde (%65.3) TCT ≥ 15 mm saptandı. Tüberküloz teması olan hastaların %80'inde, TB teması olmayanların %34.7'sinde TCT 10-14 mm arasında bulundu (Tablo 9). Tüberkülin cilt testi değeri 10-14 mm olan ve ≥ 15 mm olan hastalar TB teması açısından değerlendirildiğinde, TB teması ile TCT değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı. (Fisher'in kesin testi, p:0.07)

Tablo 9. Tüberküloz Teması ile Tüberkülin Cilt Testi sonuçlarının değerlendirilmesi

		TCT				Toplam	
		10-14 mm		≥ 15 mm			
		n	%	n	%	n	%
Tüberküloz teması	Var	4	80	1	20	5	100
	Yok	17	34,7	32	65,3	49	100
Toplam		21	39	33	61	54	100
Fisher'in kesin testi, p:0.07							

Tüm hastaların LTBI açısından değerlendirilmesi sonucunda hastaların % 64.8'ine izoniazid profilaksisi başlandı. İzoniazid profilaksisi başlanan hastaların %91.4'ünde QFT-Gold IT testi negatif olarak sonuçlandı.

Çalışmada izoniazid profilaksisi alan hastalardan bir hastada (%2.86) izlemde tedaviye bağlı komplikasyon gelişmiş, karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik nedeni ile tedavisine ara verilmek zorunda kalınmıştır. Profilaksi tedavisi alan diğer hastalarda tedavi sırasında tedaviye ara vermeyi gerektirecek bir komplikasyon gelişmemiştir.

6.TARTIŞMA

Dünya nüfusunun üçte birinden fazlasını enfekte eden *M. tuberculosis* her yıl 450,000'den fazla çocuğun ölümüne neden olmaktadır. Özellikle küçük çocuklar erişkinlere göre immatür bağışıklık sistemleri nedeni ile ciddi hastalık geliştirme açısından daha büyük risk altındadır. Bu nedenle aktif TB riskini azaltmak için LTBI olan çocukları erken tanımlayıp tedavi etmek çok önemlidir.

Çocuklarda LTBI tanısını koymak oldukça zordur ve yüz yıldan fazladır TCT'ne dayalı olarak değerlendirilir. Tüberküloz kontrolünde en büyük güçlük tanı koymak, prognozu öngörmek ve LTBI olan kişilere aktif hastalık gelişmeden önce koruyucu tedavi vermektir. Aktif TB tanısında kültür ön planda iken LTBI tanısında TCT kullanılmaktadır ancak çocuklarda kültür pozitiflikleri fazla olmadığından hastalık tanısında da TCT önemlidir. Tüberkülin cilt testi, LTBI saptanmasında kullanılan standart yöntem olmasına karşılık altın standart olarak değerlendirilemez. BCG aşılması yapılan toplumlarda spesifitesi, immun yetmezlikli hastalarda sensitivitesi düşük olan bu testi okuyan kişilerin ölçüm farklılığı, eğitimli personel ihtiyacı, hastaların 72 saat sonra tekrar görülmesi gerekliliği, diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyonu TCT'nin olumsuz yanlarıdır. Tüberkülin cilt testi birçok durumda yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar verdiği için duyarlılık ve özgüllüğü yüksek düzeyde değildir, tanısız değeri sınırlıdır. En önemli dezavantaj BCG ile aşılama durumunda yanlış pozitifliklerin olması ve kullanılan antijenin TB basiline özgü olmamasıdır.

Tüberkülin cilt testinin dezavantajları nedeni ile LTBI tanısı için daha duyarlı ve daha özgül sonuçlar elde etmeye yönelik testlerin araştırılmasına yönelinmiştir. Bu amaçla geliştirilen QFT-Gold IT testinde BCG aşı suşunda ve çoğu NTM'de bulunmayan (*M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* hariç) ancak *M. tuberculosis*'te mevcut olan ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7 özgül antijenleri kullanılır ve bu antijenler duyarlanmış olan T hücrelerinden

IFN- γ salınımını uyarır. Bu nedenle *M. Tuberculosis* için oldukça yüksek oranda özgüdür.^{7,52} Tüberküloz enfeksiyonu için duyarlı olan IFN- γ salınımına dayalı bu test tüberküloz ile enfekte olup aktif tüberküloz gelişme riski olan kişilere tanı koymaya yardımcı olarak yanlış pozitif sonuçları önler, gereksiz tedavileri ve yan etkileri azaltabilir.¹² Interferon-gama salınımına dayalı testler ile yapılan bazı çalışmalarda TCT'ye göre üstün oldukları bulunmuştur.^{54,55} Çocuklarla yapılan çalışmalarda son zamanlarda artış olması ile beraber bazı yazarlar bu testlerin özellikle küçük yaşta ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda duyarlılığının azaldığının altını çizmektedirler.^{56,57}

Ülkemizde BCG aşılması rutin aşı programında bulunmaktadır. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı tarafından aşılama durumuna göre TCT değerlendirme kriterleri belirlenmiştir, ancak BCG aşılmasının yanlış pozitif TCT oluşturması nedeni ile LTBI tanısı için tek başına TCT pozitifliğinin güvenilirliği düşüktür. Bu çalışmaya alınan hastaların %68.5'inde bir, %31.5'inde iki BCG aşılması bulunmuştur. İki BCG aşılması bulunan hastaların da %76.5'inde TCT 15 mm ve üzerinde bir oranla daha yüksek saptanmıştır.

Çalışmamızda ki BCG aşılması ile QFT-Gold IT ilişkisine bakıldığında bir BCG aşılması olan hastaların %91.9'da QFT-Gold IT testi negatif, %8.1'de pozitif saptanmıştır. İki BCG aşılması olanların da %94.1'de QFT -Gold IT testi negatif, %5.9'unda pozitif saptanmıştır. Bu sonuçlar da QFT-Gold IT testinin BCG aşılmasından beklendiği gibi etkilenmediğini göstermiştir. Japonya'dan 216 BCG aşısı yapılmış bireyle yapılan bir çalışmada TCT'nin spesifitesi %35 iken, IFN- γ testininki %98 bulunmuştur.⁵⁸ Kang ve arkadaşları da 99 BCG aşılı kişiyle yaptıkları çalışmada IFN- γ testinin pozitiflik oranını %4, TCT'ninkini ise %51 olarak bulmuşlardır.⁵⁹ Tüberküloz hastasıyla temas öyküsü bulunan ve yarısı BCG aşılı 309 kişiyle yapılan bir çalışmada da IFN- γ testlerinin aşılamaadan etkilenmediği gösterilmiştir.⁶⁰

Soysal ve arkadaşlarının 414 aktif akciğer TB'li hasta ile son 6 aylık dönemde ev içi teması olan 979 çocukta yaptıkları temaslı çalışmasında BCG aşı skar varlığının TB enfeksiyonu olasılığını %24 oranında azalttığı ve ikinci aşının enfeksiyon için ek bir koruma sağlamadığını ilk kez göstermişlerdir.⁶¹ Soysal ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada TB temas öyküsü olmayan sağlıklı 209 çocukta TCT ile T SPOT-TB testi karşılaştırılmış ve temas öyküsü olmayan sağlıklı ve BCG aşılı çocuklarda TCT'nin LTBI tanısında yüksek oranda yalancı pozitif sonuç verdiğini göstermişlerdir.⁶² Lighter ve arkadaşlarının 207 çocuk hastada TCT ve QFT-Gold IT testinin karşılaştırıldığı çalışmalarında 74 hastada BCG aşılması saptanmıştır.⁶³ Tüberkülin cilt testi ve QFT-Gold IT testleri arasındaki uyum (%91)

en fazla BCG aşılması olmayan ve TCT ≥ 15 mm olan hastalarda bulunmuştur. BCG aşılması olmayan çocukların TCT değerindeki ölçümün artması ile QFT-Gold IT değerlerindeki artış arasında doğru orantı olduğu görülmüş ve *M. Tuberculosis* maruziyeti ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. BCG aşılması olan çocuklarda QFT-Gold IT pozitiflik oranı ile TCT endürasyon artışı arasında ilişki saptanmamıştır.⁶³

QuantiFERON-TB Gold In Tube testi TCT'e göre, *M.tuberculosis* maruziyetini indirekt olarak daha spesifik gösteren, BCG aşılması ve diğer mikobakteriyel enfeksiyonlar ile çapraz reaksiyonu daha az olan bir testtir. Hastanın yalnızca bir kez gelmesini gerektirmesi ve deri endürasyonunun ölçüm farklılıkları gibi kişisel faktörlerin bulunmaması nedeniyle, in-vitro testin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir.^{7,9,12} Bağışıklık sistemini baskılayan tedavi ya da tıbbi durumlar ise IFN- γ yanıtını azaltabilir. Enfeksiyonun durumu (örneğin hücresel bağışıklık yanıtı oluşmadan önce alınmış olması gibi), hastanın bağışıklık sistemi ile ilgili durumu, örneklerin yanlış alınması, testin hatalı çalışılması veya diğer immunolojik değişkenler nedeniyle hatalı negatif sonuçlar elde edilebilir. *M. kansasii*, *M. szulgai*, *M. marinum* gibi diğer TB dışı mikobakteri enfeksiyonu olan hastalarda, bu bakterilerde de ESAT 6, CFP 10, TB 7.7 antijenlerini kodlayan genleri içerdikleri için bu antijenler ile tepki verebilir ve pozitif sonuçlara sebep olabilirler. Pozitif test sonucu enfeksiyon hakkında karar vermede kullanılan tek veri olmamalıdır. Test uygulanmasındaki yanlışlıklar da hatalı pozitif sonuca neden olabilir. Pozitif test sonucu sonrasında aktif tüberküloz için klinik ve mikrobiyolojik tanısal değerlendirme mutlaka yapılmalıdır.

Bu çalışmada 54 hastanın 4 tanesinde (%7.4) QFT-Gold IT testi pozitif bulundu. TCT ≥ 15 mm olan 33 hastanın 2'si (%6) QFT-Gold IT testi pozitif, TCT 10-14 mm olan 21 hastanın 2'si (%9.5) QFT-Gold IT testi pozitif saptandı. QuantiFERON-TB-Gold In Tube testinin 28 hastalık plaklarda toplanılıp çalışılması gerektiğinden QFT-Gold IT test sonucu beklenmeden LTBI olarak değerlendirilen hastalara profilaktik tedavi başlandı. İsoniazid profilaksisi başlanan hastaların %91.4'ünde QFT-Gold IT testi negatif olarak sonuçlandı.

TCT 10-14 mm olan 21 hastanın ikisinde TCT 14 mm ile sınır değerde saptandı, ev içi birinci derece akrabanın aktif TB nedeni ile tedavi altında olması nedeni ile profilaktik tedavi başlandı. Bu hastalardan birinde QFT-Gold IT testi pozitif olarak sonuçlandı. QFT-Gold IT testi pozitif 4 olgudan diğer 2'sinde ise TCT ≥ 15 mm olup LTBI enfeksiyonu olarak değerlendirilip profilaksi başlanmıştı. TCT değeri 10 mm olan, aile içi TB teması olmayan ve LTBI olarak değerlendirilmeyen 7 aylık bir olguda QFT-Gold IT testi pozitif olarak sonuçlandı. Bu hastada QFT-Gold IT testinde IFN $\gamma \geq 0,35$ IU/mL olması gereken pozitiflik

yanıtı >10 IU/mL olarak yüksek düzeyde saptandı. Klinik, radyolojik ve laboratuvar bulguları ile LTBI veya aktif TB düşünülmeyen bu hastanın değerlendirilmesinde olduğu gibi pozitif test sonucu da enfeksiyon hakkında karar vermede kullanılan tek veri olmamalıdır. Ölçülen IFN- γ düzeyi 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 tüberküloz için klinik ve mikrobiyolojik tanısal değerlendirme yapılmalıdır. ESAT-6, CFP 10 ve TB 7.7 içeren *M. kansasii*, *M.szulgai* veya *M.marinum* kaynaklı bir enfeksiyon sonucu da test sonucu pozitif olabilir.

Lighter ve arkadaşlarının çalışmasında yakın zamanda aktif TB hastası ile teması olan 8 hastanın IFN- γ değeri ortalamasının 31,4 IU/mL olduğu görülmüştür. Bu hastalardan yakın zamanda teması olanların, eski temas şüphesi olan hastalara göre daha yüksek düzeyde IFN- γ değerleri (>10 IU/mL) gösterdiği saptanmıştır.⁶³ Sağlıklı, TB endemik bölgeden, BCG aşıllı, akciğer grafisinde eski granulomları düşündüren kalsifikasyonları olan 5 hastanın QFT-Gold IT sonuçları negatif olarak bulunmuştur.⁶³ Benzer çalışmalarda da enfeksiyon başlangıcından sonra geçen zaman arttıkça, özellikle 2 yaşın altındaki hastalarda IFN- γ salınımına dayalı testlerin duyarlılığının azaldığı gösterilmiştir.^{64,65} Yapılan bazı çalışmalarda da çocukların yaşı arttıkça pozitif mitojen kontrol yanıtında da artış olduğu bulunmuştur.^{66, 57}

Kore'den yapılan TCT ve QFT-Gold IT testinin karşılaştırıldığı ve 227 çocuğun alındığı, ≥ 5 mm TCT değerinin pozitif kabul edildiği bir çalışmada, bir BCG aşıllı, TB teması olmayan, 65 hastada TCT pozitif saptanmıştır. Bu hastaların %64.6'sında TCT ≥ 10 mm, %35.4'ünde TCT ≥ 5 mm - <10 mm arasında değerlendirilmiştir. Hastaların sadece %1.5'inde QFT-Gold IT testi pozitif bulunmuştur.⁶⁶ Bu da diğer yapılan çalışmalarda saptanmış olan QFT-Gold IT testinin %98.5 olarak saptanan spesifitesi ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir ve QFT-Gold IT testinin BCG aşılmasından etkilenmediğini göstermektedir.^{66,67,68} Bu çalışma ile BCG aşıllı kişilerde sadece TCT sonucu ile LTBI tedavisi başlamanın uygun olmadığı, daha spesifik olan QFT-Gold IT testi ile pozitif olan hastaların LTBI açısından değerlendirilmesinin daha uygun olacağı ve yanlış pozitif TCT ilişkili medikal harcamaların azalabileceği belirtilmiştir.⁶⁶

Almanya'da yapılmış 1033 kişiyi kapsayan bir çalışmada, hastaların %15.4'ünde TCT pozitif, QFT-Gold IT testi uyumsuz olarak negatif saptanmıştır. Bu durumun BCG aşılmasının rutin aşı programında olmadığı, sadece risk gruplarına uygulandığı Almanya'da BCG aşılmasına veya NTM enfeksiyonlarına bağlı olabileceği düşünülmüştür.⁶⁹ Tüberkülin

cilt testi pozitif, QFT-Gold IT testi uyumsuz olarak negatif saptanan hastaların %85.1'inde BCG aşılması veya TB endemik bölgeden göç öyküsü olduğu saptanmıştır.⁶⁹ Bu çalışmada BCG aşılması olmayan ve NTM maruziyeti olmayan genç hastalara bakıldığında TCT ve QFT-Gold IT testleri arasındaki uyum %95 olarak saptanmıştır.

QFT-Gold IT testinin eşik değeri 0,35 IU/mL olarak erişkinler için Japonya'da belirlenmiştir.⁷⁰ Bu eşik değer özellikle okul çağı çocukları ve erişkinlerden daha az IFN- γ üreten çok küçük çocuklar için gözden geçirilmelidir. Lighter ve arkadaşlarının çalışmasında 2 yaş altındaki hastaların 1/3'ünde TCT pozitif ve QFT-Gold IT negatif saptanmış, mitojen fitohemaglutinine yanıt olarak salınan IFN- γ miktarının yaş ile ilişkili olduğu bulunmuştur.⁶³ Ayrıca BCG aşılması sonrası ilk 2 yılda aşya bağlı TCT pozitiflik oranı genelde daha yüksektir.⁷¹ Connell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da küçük çocuklarda fitohemaglutinine yanıt olarak IFN- γ miktarının daha düşük olduğu bulunmuştur.⁷²

QuantiFERON-TB-Gold In Tube testinde 24 saat inkübasyon zamanı ile efektör T hücrelerden salınan IFN- γ miktarı ölçülmektedir. Tüberkülin cilt testinde ise 48-72 saat gibi daha uzun bir inkübasyon süresi olup efektör ve hafıza hücrelerinin her ikisinin de cilt reksiyonun oluşmasında payı bulunmaktadır. Bu nedenle IFN- γ salınımına dayalı testlerde inkübasyon süresinin arttırılmasının bu testlerin duyarlılığını ve TCT ile uyumunu arttırabileceği düşünülmektedir.^{73,74} QuantiFERON-TB-Gold In Tube testinde üçüncü tüp olan mitojen tüp pozitif kontrol olarak kullanılır ve opsiyoneldir. Çalışmada mitojen tüp ile kişinin bağışıklık sistemi ile ilgili şüphe durumunda, kan alma ve inkübasyon işlemlerinin kontrolü için sonuçların daha anlamlı olması açısından üçüncü tüp olan mitojen tüp de tercih edilmiştir.

Bu çalışmada ev içi TB teması olan 5 hastanın 1 tanesinde QFT-Gold IT testi pozitif saptandı (%20), bu hastanın TCT değeri 14 mm ile sınır değerde ölçüldü. Tüberküloz teması olan hastaların %80'inde QFT-Gold IT testinin negatif olduğu görüldü. Tüberküloz teması olmayan 49 hastanın 3 tanesinde ise QFT-gold IT testi pozitif saptandı (%6.1). Tüberküloz teması olan 5 hastadan 1'inde (%20), TB teması olmayan 49 hastanın 32'sinde (%65.3) TCT ≥ 15 mm saptandı. Tüberküloz teması olan hastaların %80'inde, TB teması olmayanların %34.7'sinde TCT 10-14 mm arasında bulundu. Sonuç olarak çalışmada ki hastaların TB teması ile QFT-Gold IT testi ve TCT değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Bu durum özellikle ülkemiz şartlarında epidemiyolojik verilerin hastalar tarafından sağlıklı verilememesi nedeni ile temas öyküsünün sağlıklı elde edilememesine bağlandı.

Dogra ve arkadaşları TB hastalığı şüphesi olan veya TB hastası ile teması olan 105 çocukta TCT ile QuantiFERON-TB Gold (QFT-Gold) testini hastalık prevalansının yüksek

olduğu Hindistan'da karşılaştırmışlardır. Tüberkülin cilt testi ve QFT-Gold testi ile olgularda infeksiyon prevalansı benzer olarak tespit edilmiştir. 105 çocuğun 10'unda (%9.5) TCT pozitif olarak bulunurken QFT-Gold testi çocukların 11'inde (%10.5) pozitif olarak bulunmuştur. Her iki test arasındaki uyum BCG aşı skarı olmayan çocuklarda %100 olarak bulunurken BCG aşı skarı olan çocuklarda %94 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada araştırmacılar infeksiyon prevalansının yüksek olduğu bir ülkede çocuklarda TCT ile QFT-Gold testinin benzer sonuçlar verdiğini ve BCG aşılmasının her iki test duyarlılığı üzerine etki etmediğini belirtmişlerdir.⁷⁵

Fransa'da 51 çocuğun dahil edildiği TB tanısı amacı ile yapılan QFT-Gold IT testinin kullanıldığı bir çalışmada hastaların %42'si BCG aşı olup, %83'ünde TB teması saptanmıştır. Hastaların %84'ü TCT ile değerlendirilmiş, TCT endurasyonu ≥ 10 mm şüpheli, ≥ 15 mm pozitif kabul edilen hastalardan %33'ünde TCT pozitif saptanmıştır. Fransa 2007 yılında rutin BCG aşılması durdurulmuş bir ülkedir. TCT pozitif olan 15 hastanın sadece 5'inde QFT-Gold IT testi pozitif, 10'da negatif saptanmıştır.⁷⁶ QFT-Gold IT negatif olan 10 hastanın 8'inin BCG aşı olması nedeni ile aşı ile çapraz reaksiyon veya NTM'e bağlı yanlış pozitif TCT olarak değerlendirilmiştir.⁷⁷ Aynı çalışmada 13 LTBI kabul edilmiş hastanın %62'si BCG aşı olup, TCT %70'inde pozitif saptanmış ve QFT-Gold IT sadece %15 hastada pozitif bulunmuştur.⁷⁶

Latent tüberküloz enfeksiyonu açısından değerlendirilen ve izoniazid profilaksisi başlanan hastaların %91.4'ünde QFT-Gold IT testi negatif olarak sonuçlandı. Bu hastaların toksik etkileri olan izoniazid tedavisini gereksiz aldığı düşünülebilir bu nedenle ülkemizde olduğu gibi BCG aşısının rutin olarak uygulandığı ve TCT'nin yanlış pozitifliğinin görüldüğü popülasyonlarda, IFN- γ ölçümüne dayalı testlerin negatif bulunduğu bireylere gereksiz profilaktik tedavi uygulanması engellenebilir. Bununla beraber çalışmamızdaki izoniazid profilaksisi başlanan hastalardan sadece bir hastada (%2.86) hepatotoksisite saptanmış ve tedaviye ara verilmiştir. Diğer hastalarda tedavi yan etkisi görülmemiştir. Hastaların 1,5 yıllık izleminde hiçbir hastada aktif TB hastalığı saptanmamıştır. Higuçki ve arkadaşları TB'li olgu ile teması olan lise öğrencilerinde TCT ile QFT-Gold testinin kullanılmasını karşılaştırdıkları bir çalışmada 349 lise öğrencisi test edilmiş ve TCT pozitif olan 88 hastanın sadece 4'ünde QFT-Gold testinin pozitif olduğunu saptamışlardır. Profilaktik tedaviyi sadece QFT-Gold testi pozitif olan 4 hastaya vermişler ve TCT pozitif olup QFT-Gold testi negatif olan temaslı öğrencilere profilaktik tedavi vermemişlerdir. Bu olguların 3,5 yıllık izlem döneminde hiçbirinin aktif TB hastalığı geliştirmedini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada

temaslı incelemesinde TCT yerine QFT-Gold testinin kullanılması ya da pozitif TCT'nin QFT-Gold testi ile onaylanması gerektiğini öne sürmüşlerdir.⁷⁸

Tüberkülozun endemik olmadığı ülkelerden yapılan çalışmalarda IFN- γ salınımına dayalı testlerin sensitivite ve spesivitesinin yüksek olduğu bildirilmektedir.^{79,80,81} Latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında TB'nin endemik olduğu, BCG aşılmasının rutin aşı takviminde olduğu Gambia'da ev içi teması olan 285 çocukla yapılan bir çalışmada LTBI tanısında T SPOT-TB, QFT-Gold IT ve TCT'nin kullanımlarının etkinliği karşılaştırılmıştır.⁸² TCT endurasyonunun ≥ 10 mm olmasının pozitif kabul edildiği çalışmada her üç testten TB maruziyetine en fazla yanıt verenin TCT olduğu gösterilmiş ve hiçbir testin önceki BCG aşılmasından etkilenmediği saptanmıştır. Ayrıca her iki IFN- γ salınımına dayalı testin TB maruziyetini göstermede performansları karşılaştırıldığında, TCT ve T SPOT-TB kombinasyonunun daha etkin olduğu görülmüştür.⁸²

Grare ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada aktif TB olarak değerlendirilen hastaların %43'ünde QFT-Gold IT ve beraberinde TCT pozitifliği saptanmıştır. Bu hastaların kalan %57'sinde TCT negatif ve QFT-gold IT testi negatif veya belirsiz olarak sonuçlanmıştır. Bu hastaların TB maruziyetinden sonraki 1 veya 3 ay arasında farklı süreler sonrasında QFT-Gold IT testi ile değerlendirilmiş olmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir.⁷⁶ Herrmann ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da takip eden IFN- γ değerlerinin ölçümü ile LTBI veya aktif TB olarak tanı alan hastaların küratif ve koruyucu tedavisinin etkinliğinin monitörize edilebileceği söylenmektedir.⁸³ Başka bir çalışmada QFT-Gold IT testinin sonucunun izlemde sadece iki durumda değişebileceği; bunların testin negatiften pozitifte değişmesi veya takipte yapılan iki test arasındaki süre en az 1 ay ise testte de en az %30 artış olabileceği şeklinde söylenmektedir.⁸⁴

Ülkemiz gibi sağlık sisteminde çok büyük ekonomik paylar ayrılamiyan ülkeler için maliyet etkinlik açısından bakıldığında testin uygulanabilirliğinin değerlendirilmesi gerekir. Tüberkülin cilt testinin en büyük avantajı düşük maliyet ve laboratuvar alt yapı gerektirmemesidir. TCT'nin invaziv bir işlem olması, eğitimli personel ihtiyacı ve tekrarlayan visit gerekliliği, olumsuz yanlarıdır. QFT-gold IT testinde de personel tarafından uygun koşullarda intravenöz kan alınması, ve testin çalışabilmesi için uygun laboratuvar koşulları gerekmektedir. Tüberkülin cilt testi ile maliyet açısından bakıldığında QFT-Gold IT testi ekonomik olmamakla beraber, örneklerin toplu çalışılması gerektiğinden TCT'den daha geç sonuçlanabilmekte, bu durumda tedavi başlanması gereken hastalarda gecikmelere neden olabilmektedir.

Yeni geliştirilen IFN- γ salınımına dayalı testler hakkında TCT kadar yeterli sayıda çalışma ve tecrübe mevcut değildir. Bu alanda yapılacak olan yeni çalışmalar ile bu testlerin kullanımının yaygınlaşacağı ve gelecekte *M.tuberculosis*'e özgül yeni antijenlerin sayısının artması ile LTBI ile hastalık ayırımı yapacak yeni tanı metodlarının geliştirilebileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

1. QuantiFERON-TB Gold In Tube testinin, olgulardan bir BCG aşılması olanlarda %91,9 oranında negatif, iki BCG aşılması olanlarda %94,1 oranında negatif saptanması testin BCG aşılama sayısından etkilenmediğini göstermiştir.

2. Tüberkülin cilt testi'nin BCG aşıllı çocuklarda yanlış pozitiflik oranı yüksektir. Tüberkülin cilt testi endürasyon ölçümü ≥ 15 mm bulunan hastaların %94'ünde QFT-Gold IT testinin negatif bulunması ile QFT-Gold IT testinin LTBI tanısında kullanımının gereksiz yere profilaktik tedavi ve olası toksik etkileri önleyebileceği düşünülmüştür.

3. BCG aşılmasına bağlı olarak değerlendirilen 10-14 mm'lik endürasyonu olan olgularda %9.5 oranında QuantiFERON-TB Gold In Tube test pozitifliği, bu olgularda profilaksi endikasyonunun tek başına tüberkülin cilt testi ile ayırt edilememiş olduğunu göstermiştir.

4. QuantiFERON-TB Gold In Tube testinin eğitimli personel, uygun laboratuvar koşulları gerektirmesi; örneklerin toplu çalışılması nedeniyle sonuçların uzun süre içinde verilebilmesi; hasta başı maliyetinin TCT ile karşılaştırıldığında çok yüksek olması nedeniyle ülkemiz gibi gelişmekte olan bölgelerde LTBI tanısında TCT'nin önemini korumakta olduğu düşünülmüştür.

5. QuantiFERON-TB Gold In Tube testi, henüz rutin olarak kullanımı kısıtlı olsa da, ayrıntılı epidemiyolojik ve klinik inceleme ile birlikte değerlendirilen tüberkülin cilt testi için tamamlayıcı olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing: WHO Report 2008. Geneva, Switzerland:WHO.
2. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. T. C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı. 2003.
3. Steward GR, Robertson BD, Young DB. Tuberculosis: a problem with persistence. *Nat Rev Microbiol* 2003;1:97-105.
4. Styblo K. Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. *Adv Tuberc Res* 1980;20:1-63.
5. James RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002;347:1860-66.
6. Huebner RE, Schein MF, Bass JB. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993;282: 677-86.
7. Andersen P, Munk ME, Pollack JM, et al. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000;356:1099-104.
8. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1376-95.
9. Barnes PF. Diagnosing latent tuberculosis infection: turning glitter to gold. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:5-6.
10. Lein AD, Von Reyn CF. In vitro cellular and cytokine responses to mycobacterial antigens: application to diagnosis of tuberculosis infection and assesment of response to mycobacterial vaccines. *Am J Med Sci* 1997;313:364-71.
11. 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;63:1710-17.
12. Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon- γ assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004;4:761-76.
13. Dye C, Scheele S, Dolin P, et al. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *JAMA* 1999;282:677-86.
14. World Health Organization. WHO Tuberculosis Programme: Framework for Effective Tuberculosis Control 1994.WHO/TB/94.179

15. Cantwell MF, Snider DE Jr, Cauthen GM, et al. Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1992. *JAMA* 1994;272:535-39.
16. Davies PD. Tuberculosis and migration. *Eur Respir Mon* 1997;4:68-87.
17. World Health Organization. Global Tuberculosis Control: Epidemiology, Strategy, Financing: WHO Report 2009. WHO/HTM/TB/2009.411
18. Kocabaş A. "Akciğer tüberkülozu". Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (ed): *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Kitabı*. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1. Baskı, 2002:538-91.
19. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Türkiye'de Verem Savaşı, 2009 Raporu.
20. Gaby E.P, Barbara A. Brown-Elliott, and Richard J. Wallace, JR. *Mycobacterium: General Characteristics, Isolation, and Staining Procedures.*: Bacteriology. In: Murray PR, Jorgensen JH, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Eighth edition. Washington DC, American Society for Microbiology Press; 2003:532-59.
21. Kıyan M. Mycobacteriaceae. Ustacelebi S, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1999: 419 - 37
22. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji, özel bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları. Mycobacteriaceae. 1994: 343-79
23. Gedikoğlu S. Mycobacterium tuberculosis'in hücre yapısı. *Enfeksiyon Derg* 1997;11:13-17
24. Kocabaş A. Mikobakterilerin yapısal ve antijenik özellikleri. Kocabaş A ed. *Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü*. Ankara: 1991: 47
25. Behr MA, Warren SA, Salamon H, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from patients smear-negative for acid-fast bacilli. *Lancet* 1999;353:444-49
26. Haas DW. "Mycobacterium tuberculosis" Mandell GL, Bennett JF, Dolin R (eds): In *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone, Philadelphia, 5th edition, 2000: 2576-2607
27. Hopewell PC, Bloom BR. Tuberculosis and other mycobacterial diseases. In: Murray S F, Nadel SA. Editors. *Textbook of Respiratory Medicine*. Philadelphia. W.B. Saunders, 1994; 1094-160.
28. Zellweger SP. Pathogenesis and transmission of tuberculosis In: Wilson R. Editor. *Tuberculosis*. European Respiratory Monograph 1997;4:1-13.

29. Doffinger R, Patel SY, Kumararatne DS. Host genetic factors and mycobacterial infections: lessons from single gene disorders affecting innate and active immunity. *Microbes Infect*. 2006;8:1141-50.
30. Vordelmeier HM. T-cell recognition of mycobacterial antigens. *Eur Respir J* 1995;8:657-67.
31. Munk ME, Emoto M. Functions of T-cell subsets and cytokines in mycobacterial infections. *Eur Respir J* 1995;8:688-675
32. Sözer K. *Tüberküloz. Akciğer Hastalıkları*. İstanbul. 1987; 87-124
33. Scheinmann P, Refaburt L, Delacourt C, Bourgeois M. Paediatric Tuberculosis. In: Wilson R. Editor. *Tuberculosis. European Respiratory Monography* 1997;4:144-74.
34. Medical Research Council. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life. *Bull WHO* 1972; 46:371-85
35. 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.
36. Mandalakas AM, Starke JR. Current concept of childhood tuberculosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16:93-104.
37. Centers for Disease Control and Prevention screening for tuberculosis infection in high-risk populations. *MMWR* 1995;44:1-42.
38. Khan EA, Starke JR. Diagnosis of tuberculosis in children: increased need for better methods. *Emerging Infect Dis* 1995;4:115-123.
39. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases. Screening for tuberculosis in infants and children. *Pediatrics* 1994;93:131-34.
40. Iseman MD. *Klinisyenler için Tüberküloz Kılavuzu. (Pediatrik Tüberküloz)*. Çeviren: Ş. Özkara. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2002:253-69.
41. Leung AN, Muller NL, Pineda PR, et al. Primary tuberculosis in childhood: radiographic manifestations. *Radiology* 1992;182:87-91.
42. Shata AMA, Carter JBS, Parry CM, et al. Sputum induction for the diagnosis of tuberculosis. *Arch Dis Child* 1996;74: 535-37.
43. Ferebee SH. Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. A general review. *Bibl Tuberc* 1970;26:28-106.
44. Yew WW, Leung CC. Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 541-6.

- 45 . American Academy of Pediatrics: Pediatric tuberculosis collaborative group. Targeted tuberculin skin testing and treatment of latent tuberculosis infection in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114:1175-201.
46. Sbarbaro JA. Skin test antigens: An evaluation whose time has come. *Am Rev Respir Dis* 1978;118:1-5.
47. Sokal JE. Measurement of delayed skin-test responses. *N Engl J Med* 1975;293:501-2
48. A Joint Statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:221-47.
49. Nelson LJ, Schneider E, Wells CD, et al. Epidemiology of childhood tuberculosis in the United States, 1993-2001: The need for continued vigilance. *Pediatrics* 2004;114:333-41
50. American Academy of Pediatrics (Tuberculosis) In: Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, eds. *Red Book: 2009 Report of Committee on Infectious Disease* 28.th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2009:686-87
51. Lalvani A. Spotting latent infection: The path to better tuberculosis control. *Thorax* 2003; 58: 916-8.
52. Cole ST, Brosch R, Parkhill J. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 1998; 393:537-44.
53. Iseman MD. *Klinisyenler İçin Tuberkuloz Kılavuzu. (Tüberkülozun koruyucu tedavisi). Çeviren: Ş. Özkara. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2002;199-252*
54. Chun JK, Kim CK, Kim HS, et al. The role of whole blood interferon- γ assay for the detection of latent tuberculosis infection in Bacille Calmette–Guérin vaccinated children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;62:389–94.
55. 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;367:1328–1334.
56. Arend SM, Thijsen SF, Leyten EM, et al. Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175:618–27.
57. Connell TG, Curtis N, Ranganathan SC, et al. Performance of a whole blood interferon gamma assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. *Thorax* 2006;61:616–20.

58. 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.
59. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 2005; 293:2756-61
60. Diel R, Nienhaus A, Lange C, et al. 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.
61. Soysal A, Millington KA, Bakir M, et al. Effect of BCG vaccination on risk of Mycobacterium tuberculosis infection in children with household tuberculosis contact: a prospective community-based study. *Lancet* 2005;366:1443-51.
62. Soysal A, Turel O, Toprak D, ve ark. Tüberküloz temas öyküsü olmayan sağlıklı çocuklarda latent tüberküloz infeksiyonu tanısının RD1-ELISPOT yöntemi ile doğrulanması. 50. Milli Pediatri Kongresi Program Kitabı, 8-12 Kasım 2006, Antalya, Türkiye.
63. Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, et al. Latent Tuberculosis Diagnosis in Children by Using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test. *Pediatrics*. 2009;123(1):30-7.
64. Arend S. A supsize contact investigation with comparison of two IGRA. Presented at the First Global Symposium on Interferon- γ Releasing Assays; February 21–22,2007; Vancouver, Canada.
65. Mori T, Harada N, Higuchi K. Waning of the specific interferon- γ response after years of tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2007;11(9):1021–25.
66. Chun JK, Kim CK, Kim HS, 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.
67. Lee SS, Liu YC, Huang TS, et al. Comparison of the interferon-gamma release assay and the tuberculin skin test for contact investigation of tuberculosis in BCG-vaccinated health care workers. *Scand J Infect Dis*. 2008;40:373–80
68. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med*. 2007;146:340–54

69. Nienhaus A, Schablon A, Diel R. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent TB infection analysis of discordant results, when compared to the tuberculin skin test. 2008;16;3(7):e2665
70. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon- γ based assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170(1):59–64
71. Farhat M, Greenway C, Pai M, et al. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and nontuberculous mycobacteria. Int J Tuberc Lung Dis. 2006;10(11):1192–204
72. Connell TB, Curtis N, Ranganathan SC, et al. Performance of a whole blood interferon- γ assay for detecting latent infection with *Mycobacterium tuberculosis* in children. Thorax. 2006;61(7):616–20.
73. Cehovin A, Cliff JM, Hill PC, et al. Extended culture enhances sensitivity of interferon assay for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. Clin Vaccine Immunol. 2007;14(6):796–98.
74. Leyten EM, Arend SM, Prins C, et al. Discrepancy between *Mycobacterium tuberculosis* specific interferon- γ release assays using short versus prolonged in vitro incubation. Clin Vaccine Immunol. 2007;14(7): 880–85.
75. Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, et al. Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. J Infect. 2007 Mar;54(3):267-76
76. Grare M, Derelle J, Dailloux M, et al. QuantiFERON-TB Gold In-Tube as help for the diagnosis of tuberculosis in a French pediatric hospital. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010;66(4):366-72.
77. Connell TG, Ritz N, Paxton GA, et al. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB in children. 2008;9;3(7): e2624
78. Higuchi K, Harada N, Mori T, et al. Use of QuantiFERON((R))-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. Respirology. 2007;1:88-92.
79. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. Ann Intern Med. 2008;149:177–84.
80. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. Ann Intern Med. 2007;146:340 –54.

81. Arend SM, Thijsen SF, Leyten EM, et al. Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175:618–27.
82. Adetifa IM, Ota MO, Jeffries DJ, et al. Commercial Interferon Gamma Release Assays Compared to the Tuberculin Skin Test for Diagnosis of Latent Mycobacterium tuberculosis Infection in Childhood Contacts in the Gambia. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29(5):439-43.
83. Herrmann JL, Belloy M, Porcher R, et al. Temporal dynamics of interferon gamma responses in children evaluated for tuberculosis. 2009;4(1):e4130
84. Veerapathran A, Joshi R, Goswami K, et al. T-cell assays for tuberculosis infection: deriving cut-offs for conversions using reproducibility data. 2008; 26(3):e1850