

PLEVRA TÜBERKÜLOZU TANISINDA İNTERFERON GAMA SALINIM TESTLERİ

INTERFERON-GAMMA RELEASE ASSAYS FOR DIAGNOSING TUBERCULOUS PLEURITIS

Öğr. Gör. Dr. Nuri Tutar

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

e-posta: drnuritutar@gmail.com

doi:10.5152/pb.2012.08

Özet

Plevra tüberkülozu (PT), lenf nodu tüberkülozundan sonra aktif *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonunun en sık ikinci ekstrapulmoner tutulum yeridir. Fakat PT'yi diğer lenfositik plevra efüzyonlarından ayırmak kolay değildir. Plevra biopsisi ve biopsi materyalinin kültürü, tanıyı doğrulamak için en iyi yöntem olarak görülmektedir. Günümüzde, gelişen teknolojiler ile PT tanısının daha non-invaziv testlerle konulabilmesi araştırılmaktadır. Bu testlerden biri de antijen spesifik T hücre yanıtını ölçen T hücre IFN- γ salınım testidir (İGST). T-SPOT.TB, Quanti-FERON-TB Gold (QFT-G) ve Quanti-FERON-TB Gold in Tube (QFT-GIT) testleri günümüzde İGST olarak kullanılmaktadır. Farklı çalışmalarda bu testlerin sensitivite ve spesifitesi çok değişkendir. Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz, plevral sıvı ve kan örneklerinde İGST'nin tahmin edildiği kadar yüksek başarıya sahip olmadığını göstermiştir. Günümüzdeki veriler, İGST'nin aktif PT tanısını koyma veya hastalığı dışlama için kullanılmasını desteklememektedir.

Anahtar kelimeler: Plevra tüberkülozu, IFN- γ salınım testi, İGST

Abstract

Pleural tuberculosis (pTB) is the second most common extrapulmonary manifestation of active *Mycobacterium tuberculosis* infection after the lymph nodes. However, differentiating pTB from many other causes of lymphocytic pleural effusion is often challenging. Biopsy of pleural tissue and culture of biopsy material are widely held to be the best methods of confirming this diagnosis. Currently, it is possible to diagnose pTB using non-invasive tests with emerging technologies. One example of these tests, the T-cell interferon- γ release assay (IGRA), evaluates antigen-specific T cell responses. The T-SPOT.TB, Quanti-FERON-TB Gold (QFT-G) and Quanti-FERON-TB Gold in Tube (QFT-GIT) tests are currently used IGRA. The sensitivity and specificity of these tests has been highly variable in different studies. A recent meta-analysis indicated that the overall accuracy of IGRA on both pleural fluid and blood were not as high as expected in patients with pTB. The current data do not support the use of IGRA for the diagnosis or exclusion of tuberculous pleurisy

Key words: Pleural tuberculosis, IFN- γ release assay, IGRA

Tüberküloz günümüzde morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Dünya çapında tek enfeksiyöz ajan ile ölüme en sık neden olan hastalıktır (1). Plevra tüberkülozu (PT) ise lenf nodu tüberkülozundan sonra aktif *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonunun en sık ikinci ekstrapulmoner tutulum yeridir. Fakat PT'yi diğer lenfositik plevra sıvılarından ayırmak kolay değildir. PT tanısında kullanılan plevral sıvının Ziehl Nielsen ile boyanmasının pozitifliği %5'in altındadır (2, 3). Plevra

sıvı kültürü sensitivitesi %24-58 arasındadır ve geç tanı vermektedir (3). Plevra biopsisi ve biopsi materyalinin kültürü, tanıyı doğrulamak için en iyi yöntem olarak görülmektedir (4). Fakat plevra biopsisi invaziv ve komplikasyonları olan bir işlemdir. 1980'lerde kullanılmaya başlanan bir diğer test ise plevral sıvı adenozin deaminaz (ADA) ölçümüdür. Plevral sıvı ADA seviyesinin ölçümünün PT tanısında toplam sensitivitesi %92 ve spesifitesi %89 olarak bulunmuştur (5). ADA testinden

sonra ise plevral sıvı serbest (stimüle edilmemiş) interferon gama (IFN- γ) seviyesini ölçen test kullanılmaya başlanmış ve yapılan meta-analizde testin total sensitivitesi %89, spesifitesi %97 olarak bulunmuştur (6).

Son yıllarda tüberküloz immünopatolojisindeki gelişmeler sağlanmıştır. Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) aşısı suşlarında ve tüberküloz dışı mikobakterilerin (TDM) çoğunda (*Mycobacterium kansasii*, *M. marinum* ve *M. szulgai* dışında) olmayan, sadece *M. tuberculosis* genomunda olan, farklılık bölgesi-1 (Region of Difference-1) (RD-1) tanımlanmıştır (7). “Early Secretory Antigenic Target-6” (ESAT-6) ve “Culture Filtrate Protein-10” (CFP-10) bu DNA bölgesinde kodlanan iki proteindir. Peptid-4 diye de adlandırılan TB7.7 antijen ise RD 11 gen bölgesinde kodlanan ve benzer şekilde BCG suşlarında ve çevresel TDM’lerde bulunmayan, *M. tuberculosis* için özgül diğer bir antijendir. Bu antijenler, *M. tuberculosis* enfeksiyonuna sahip kişilerde T helper tip 1 hücrelerinin güçlü hedefleridir. Buradan yola çıkılarak, antijenlere karşı IFN- γ salgılanması ile sonuçlanan T hücre yanıtının *M. tuberculosis* enfeksiyonu için spesifik belirteç olabileceği düşünülmüş ve son yıllarda antijen spesifik T hücre yanıtını ölçen T hücre IFN- γ salınım testleri (İGST) kullanıma girmiştir.

T-SPOT.TB, Quanti-FERON-TB Gold (QFT-G) ve Quanti-FERON-TB Gold in Tube (QFT-GIT) testleri günümüzde İGST olarak kullanılmaktadır. İGST ilk olarak latent enfeksiyon tanısı için üretilmiş ve daha önce *M. tuberculosis* basiline maruz kalan hastalarda dolaşan hafıza T hücrelerinin mikobakteriyel antijenlerle tekrar uyarıldığında IFN- γ üretimi ilkesine dayanarak geliştirilmiştir (8). BCG aşısından etkilenmeyen bu testler, aktif tüberküloz tanısında periferik kandaki T hücrelerini ve ekstrapulmoner tüberküloz tanısında hastalık olan alandaki T hücrelerini ölçerek, bu hastalıkların tanısında kullanılması araştırılmaktadır.

T-SPOT.TB Testi

Bu test antijen spesifik T hücrelerinin “enzyme-linked immunospot assay” (ELISPOT) yöntemi ile belirlenmesi esasına dayanır. *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonuna sahip bireylerin T hücreleri ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı *in vivo* olarak duyarlılık kazanmaktadır. ELISPOT testinde, periferik kan veya plevral efüzyon mononükleer hücreleri, *in vitro* ortamda bu antijenlerle bir gece inkübe edilmektedir. Böylece spesifik antijenlerle tekrar karşılaşan T hücreleri IFN- γ salgılamaktadırlar. Ertesi sabah koyu spot veren IFN- γ salgılayan T hücreleri büyütücü lens ya da otomatik okuyucuyla sayılıp test değerlendirilmektedir (9, 10).

QFT-G ve QFT-GIT Testleri

Bu testlerde antijenlerle uyarılan T hücrelerinin salgıladığı IFN- γ seviyesinin “enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) yöntemi ile belirlenmesi esasına dayanır. QFT-G testinde tam kan veya plevral mayı, ESAT-6 ve CFP-10 ile inkübe edildikten sonra T hücrelerinin salgıladığı IFN- γ konsantrasyonu ölçülmektedir. QFT-GIT testinde ise bu iki aktive edici antijene ek olarak TB 7.7 de kullanılmakta ve aynı şekilde T hücrelerinin salgıladığı IFN- γ konsantrasyonu ölçülmektedir (10, 11).

Plevra Tüberkülozu Tanısında İGST

Son zamanlarda PT tanısında İGST başarısını araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bir meta-analizde bu çalışmalar değerlendirilmiş ve plevral sıvı örneklerinde total sensitivite %75, spesifite %82 olarak bulunurken kan örneklerinde total sensitivite %80, spesifite %72 olarak bulunmuştur (12).

İGST sensitivitesi kültürle doğrulanmış akciğer tüberkülozu hastalarında yaklaşık %80 olup yeterince başarılı değildir (13, 14). Ayrıca latent tüberküloz enfeksiyonu ile aktif tüberküloz hastalığını güvenilir bir şekilde ayırt edememektedir. Tüberküloz tanısı esnasında İGST sensitivitesinin yeterince yüksek olmaması azalmış hücrel immüniteye veya tüberküloz spesifik T hücrelerinin aktif hastalık olan alana taşınması bağlı olabilir (15). Bu nedenle PT hastalarında plevral sıvı İGST ile periferik kan örneği İGST karşılaştırılmıştır. Plevral sıvı T hücre yanıtı birçok çalışmada periferik kan T hücre yanıtına göre daha yüksek bulunmuştur (16-19). Ariga ve ark. aktif PT hastalarında ESAT-6 ve CFP-10 antijenleri ile aktive ettikleri plevral sıvı IFN- γ cevabı ile periferik kan IFN- γ cevabını ve plevral sıvı ADA seviyelerini karşılaştırmışlardır (16). Antijenlere plevral sıvı IFN- γ cevabı, hem periferik kan IFN- γ cevabı hem de plevral sıvı ADA seviyesine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Fakat yapılan meta-analizde İGST’nin plevral mayı veya kan örneklerinde yapılmasının, PT tanı başarısında fark oluşturmadığı gösterilmiştir (12).

Lee ve ark. PT tanısında plevral mayı ve kan İGST ile yaptıkları çalışmada plevral mayı PPV %85.7, NPV %94.7; kan PPV %87.5, NPV %82.6 olarak bulmuşlardır (9). Fakat farklı çalışmalarda sonuç aralıkları çok farklı olduğundan, yapılan meta-analizde İGST’nin plevral mayı için PPV %85, NPV %70; kan örneklerinde ise PPV %78, NPV %74 olarak bulunmuştur (12). Bu sonuçlar göstermektedir ki PT tanısında plevral mayı İGST kullanıldığında hastaların %15’inin yanlış pozitif tanı aldığı ve hastaların %30’unun gerçekte PT olmasına rağmen tanı alamadığı görülmektedir.

ELİSPOT ve ELİSA testleri, spesifik antijenle stimüle edildikten sonra T helper ve IFN- γ ölçümüne dayanır. Zhou ve ark. (12) plevral sıvı ELİSPOT testinin sensitivitesini ELİSA testine göre daha yüksek bulmuşlardır. Fakat ELİSA testinin spesifite, NPV ve PPV, ELİSPOT testine göre daha yüksek saptanmıştır. Bu nedenle ELİSPOT testi ELİSA testine göre PT tanısında daha üstün olmadığı gösterilmiştir.

Antijenle stimüle edilmemiş plevral mayi IFN- γ düzeyi ile antijen spesifik T hücre İGST'lerin tanı başarısı karşılaştırılmıştır (20). Plevral sıvı antijen spesifik T hücre İGST'leri olarak ESAT-6 ve CFP-10 (T-SPOP.TB, QFT-GIT), "purified protein derivative" (PPD) ve "heparin binding haemagglutinin" (HBHA) kullanılmıştır. PT tanısında antijenle uyarılmamış plevral mayi IFN- γ düzeyi ölçümü sonucu, sensitivite %97, spesifite %100, PPV %100 ve NPV %94 olarak saptanmış ve diğer dört İGST'ye göre çok daha başarılı olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak, PT tanısında plevral sıvı ADA ve antijenle uyarılmamış IFN- γ düzeyini ölçen testler varlığında, İGST'ler pahalı, teknik olarak karışık ve diğer testler kadar başarılı değildir. Günümüzdeki veriler, İGST'lerin aktif PT tanısını koyma veya hastalığı dışlama için kullanılmasını desteklememektedir.

Kaynaklar

1. Elzinga G, Raviglione MC, Maher D. Scale up:meeting targets in global tuberculosis control. *Lancet* 2004;363:814-9. [\[CrossRef\]](#)
2. Escudero Bueno C, Garcia Clemente M, Cuesta Castro B, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. Study of 414 patients. *Arch. Intern.Med* 1990;150:1190-4. [\[CrossRef\]](#)
3. Porcel JM. Tuberculous pleural effusion. *Lung* 2009;187:263-70. [\[CrossRef\]](#)
4. Trajman A, Pai M, Dheda K, et al. Novel tests for diagnosing tuberculous pleural effusion: what works and what does not? *Eur. Respir J* 2008;31:1098-106. [\[CrossRef\]](#)
5. Greco S, Girardi E, Masciangelo R, et al. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a metaanalysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:777-86.
6. Jiang J, Shi HZ, Liang QL, et al. Diagnostic value of interferon-gamma in tuberculous pleurisy: a metaanalysis. *Chest* 2007;131: 1133-41. [\[CrossRef\]](#)
7. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, et al. Molecular analysis of genetic differences between Mycobacterium bovis BCG and virulent M. bovis. *J Bacteriol* 1996;178:1274-82.
8. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect. Dis* 2004;4:761-76. [\[CrossRef\]](#)
9. Lee LN, Chou CH, Wang JY, et al. Enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:173-9. [\[CrossRef\]](#)
10. Taşbakan MS, Sayiner A. Tüberküloz hastalığı ve infeksiyonunda interferon gama testlerinin yeri. *İnfeksiyon dergisi* 2008;22:179-84.
11. Chegou NN, Walzl G, Bolliger CT, et al. Evaluation of adapted whole-blood interferon-gamma release assays for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Respiration* 2008;76:131-8. [\[CrossRef\]](#)
12. Zhou Q, Chen YQ, Qin SM, et al. Diagnostic accuracy of T-cell interferon- γ release assays in tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Respirology* 2011;16:473-80. [\[CrossRef\]](#)
13. 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.
14. Pai M, Menzies D. Interferon-gamma release assays: what is their role in the diagnosis of active tuberculosis? *Clin Infect Dis* 2007;44:74-7. [\[CrossRef\]](#)
15. Joshi R, Pai M. Can pleural tuberculosis be diagnosed using interferon-gamma release assays? *Respiration* 2008;76:128-30. [\[CrossRef\]](#)
16. Ariga H, Kawabe Y, Nagai H, et al. Diagnosis of active tuberculous serositis by antigen-specific interferon-response of cavity fluid cells. *Clin Infect Dis* 2007;45:1559-67. [\[CrossRef\]](#)
17. Baba K, Sørnes S, Hoosen AA, et al. Evaluation of immune responses in HIV infected patients with pleural tuberculosis by the Quantiferon TB-Gold interferon-gamma assay. *BMC Infect Dis* 2008;8:35. [\[CrossRef\]](#)
18. Losi M, Bossink A, Codecasa L, et al. Use of a T-cell interferon- release assay for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Eur Respir J* 2007;30:1173-9. [\[CrossRef\]](#)
19. Wilkinson KA, Wilkinson RJ, Pathan A, et al. Ex vivo characterization of early secretory antigenic target 6-specific T cells at sites of active disease in pleural tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;40:184-7. [\[CrossRef\]](#)
20. Dheda K, van Zyl-Smit RN, Sechi LA, et al. Utility of quantitative T-cell responses versus unstimulated interferon- γ for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 2009;34:1118-26. [\[CrossRef\]](#)