

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA TÜBERKÜLOZ ENFEKSİYONUNUN TANISINDA
TÜBERKÜLİN CİLT TESTİ İLE QUANTİFERON-TB GOLD
TESTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Doğan YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. M.Fuat GÜRKAN

Diyarbakır 2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; anabilim dalı başkanı Prof.Dr. M.Ali TAŞ'a, Prof.Dr. Kenan HASPOLAT'a, Prof.Dr. M.Celal DEVECİOĞLU'na, Prof. Dr. Aydın ECE'ye, Prof.Dr. Murat SÖKER'e, Prof.Dr.Ahmet YARAMIŞ'a, Doç.Dr. Mehmet BOŞNAK'a, Doç.Dr.Fatma ÇELİK'e, Yrd.Doç.Dr.Sultan ECER MENTEŞ'e, Yrd.Doç.Dr. M.Nuri ÖZBEK'e, Yrd.Doç.Dr.Ayfer GÖZÜ'ye ve Yrd.Doç.Dr. Mustafa TAŞKESEN'e teşekkür ederim.

Tez yöneticim, tezimin her aşamasında büyük katkı ve desteğini gördüğüm değerli hocam Prof.Dr. M.Fuat GÜRKAN'a özellikle teşekkür ederim.

Katkılarından dolayı ayrıca Prof.Dr.M.Yusuf ÇELİK'e, Yrd.Doç.Dr.Tuncer ÖZEKİNCİ'ye, Rezzan SOYSAL'a ve Şermin MENEKŞE'ye teşekkür ederim.

Çalışmaktan büyük zevk aldığım kliniğimizin tüm doktor, hemşire ve personeline ilgi ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm eğitimim boyunca ve hayatımın her aşamasında bana destek olan anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Dr. Doğan YILDIZ

Diyarbakır 2009

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	5
MATERYAL VE METOD	32
BULGULAR	38
TARTIŞMA	49
SONUÇ	56
ÖZET	58
SUMMARY	59
KAYNAKLAR	60

KISALTMALAR

TB:	tüberküloz
ARB:	aside rezistan basil
QTF:	QuantiFERON-TB
QTF-G:	QuantiFERON-TB GOLD
LTBI:	latent tuberculosis infection
BCG:	bacille calmette guerin
γ-IFN:	gamma interferon
TNF-α:	tumor necrosis factor-alfa
TGF-β:	transforming growth factor-beta
ELISA:	enzyme linked immun assay
NTM:	non tüberküloz mikobakteriler
ESAT-6:	early secreted antigen target-6 KD
CFP-10:	culture filtrate protein-10 KD
TCT:	tüberkülin cilt testi
HIV:	human immunodefficiency virus
PPD:	purified protein derivate
NK:	natural killer
RD 1:	region of difference 1

GİRİŞ VE AMAÇ

1980'li yılların başında insan immün yetmezlik virüsü(HIV) enfeksiyonu ile birlikte özellikle endüstrileşmiş ülkelerde yeniden gündemin ilk sıralarına oturan çağımızın vebası tüberküloz ile savaş insanlık tarihi kadar eskidir. Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin tüberküloz basili ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Bu yüzden tüberkülozun erken ve doğru tanısı tüberküloz kontrolünde ve tedavisinde oldukça önemlidir. Tüberküloz tanısında altın standart klinik değerlendirme, balgam incelemesi ve mikobakteriyel kültür pozitifliğidir. Ancak çocukluk çağı tüberkülozu ve ekstrapulmoner tüberkülozun tanısında güçlükler vardır.

Tüberküloz nedeniyle yılda yaklaşık 2 milyon insan ölmektedir.2003 yılında dünyada tahmin edilen tüberkülozlu hasta sayısı 8,8 milyondur. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2006 yılı raporunda 2004 yılında 8,9 milyon yeni olgu olduğu; bunlardan 3,9 milyonunun çevredeki insanları infekte etme riski yüksek olan yayma pozitif hastalar olduğu ve 1,7 milyon insanın hastalık nedeniyle öldüğü belirtilmektedir. Küresel insidans 1990 yılından beri artmaktadır(1).

Ülkemizde nüfusun dörtte birinin tüberkülozla infekte olduğu tahmin ediliyor. 2003 yılında yeni hasta sayısı18555 olarak tespit edilmiştir. 2004 yılında 8.974'ü yayma pozitif olmak üzere 19.944 yeni olgunun tespit edildiği ve enfeksiyona bağlı 3.815 kişinin hayatını kaybettiği saptanmıştır(2).

Tüberküloz olguları ile temas eden sağlıklı kişilerin %5'inde ilk iki yıl içinde aktif TB, %95'inde ise sessiz enfeksiyon yani Latent TB Enfeksiyonu (LTBI) gelişmektedir. Latent TB olgularının %5-10'unda yaşamlarının bir döneminde aktif akciğer tüberkülozu gelişebilir (3).

M.tuberculosis solunum yoluyla bulaşmaktadır. Hasta ile yakın ve uzun süreli temasta bulunanlarda daha yüksek bulaş görülmektedir. Yine aynı şekilde tüberküloz kliniği ve laboratuvarı çalışanları da enfeksiyon için yüksek bulaş riski taşırlar(4).

Tüberküloz tanısında en hızlı ve en ucuz yöntem basilin boyamayla direkt mikroskop ile saptanması, altın standart yöntem ise kültürdür. Kültür ile akciğer tüberkülozlu hastaların %68'i, akciğer dışı tüberkülozlu olguların ise ancak %49'u gösterilebilmektedir. Bu oranlar çocuklarda daha da düşüktür(4,5).

Latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında Tüberkülin Cilt Testi (TCT) kullanılmaktadır. Yüzyıl boyunca latent tüberküloz tanısında TCT'nin alternatifi yoktu. TCT Purified Protein Derivative'ye(PPD) gecikmiş tip kutanöz hipersensitivite cevabını ölçmektedir. TCT'nin en büyük sınırlaması PPD'de birçok antijen karışımının olması ve M.tuberculosis, Bacille Calmette Guerin(BCG), M.bovis ve Non Tüberküloz Mikobakteri(NTM) ile aynı antijenleri taşımasıydı. Pozitif TCT gerçek M.tuberculosis enfeksiyonunu gösterebildiği gibi BCG veya nontüberküloz mikobakterilere bağlı pozitifliği de gösterebilir. Ayrıca immün sistemi baskılanmış kişilerde anerjiye bağlı olarak sensitivite azalabilir. TCT LTBI enfeksiyonun tanısında günümüzde altın standart olma özelliğini korurken, bu testin yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlara yol açma özelliği nedeniyle daha duyarlı ve özgül tanı araçları geliştirme zorunluluğu doğurmuştur.

Ayrıca okuma hataları, okuyucular arasındaki değişiklik, eğitimli personel ihtiyacı, testin okunması için kişinin geri çağırılması gereği gibi nedenlerle de alternatif tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur(6).

LTBI olan bireylerin saptanması bu kişilerin %5 -10'unda aktif tüberküloz gelişmesi riski nedeniyle önemlidir. Bu oran çocukluk yaş grubunda özellikle yenidoğan döneminde %50'lere ulaşmaktadır (7,8).

Ancak yüzyıl boyunca LTBI tanısı için yeni bir yöntem geliştirilememiştir. LTBI' na humoral immün cevap genellikle yetersiz olduğundan, hücresel immün cevap oluşturacak antijenler araştırılmıştır.

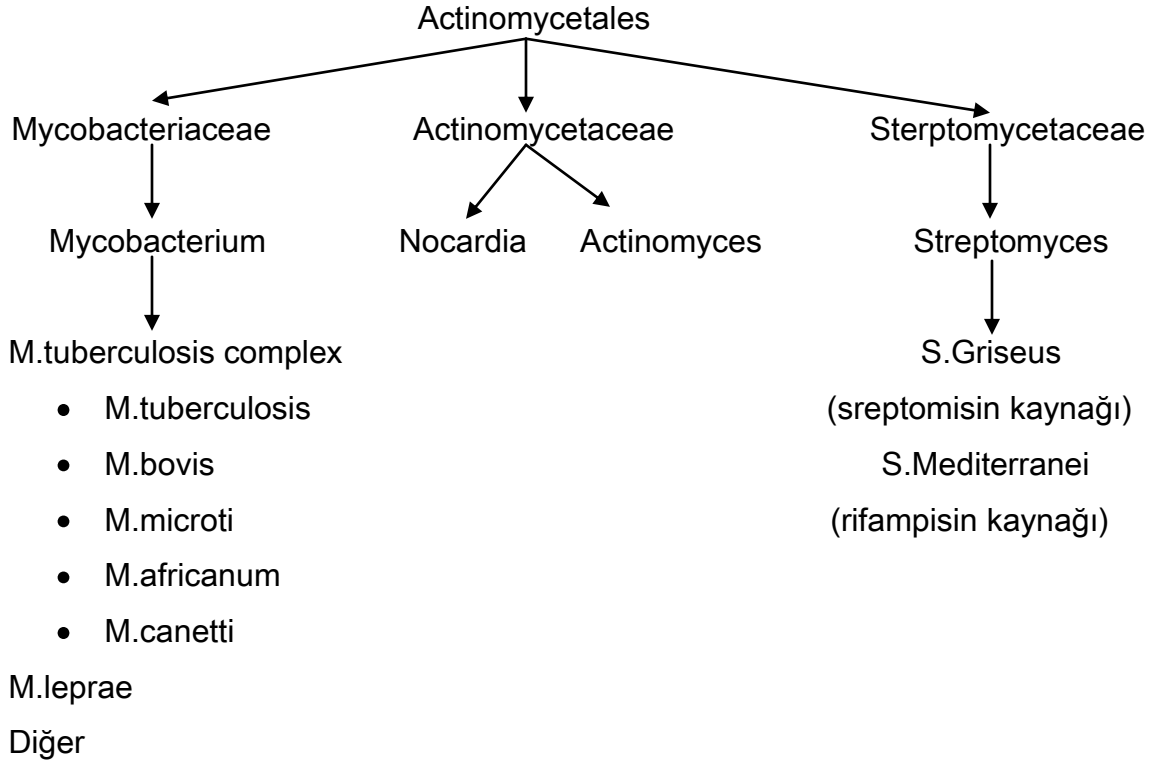
M. tüberkülozis H37RV, M. bovis ve BCG suşlarının genomlarının kıyaslanması ile Region of Difference (RD) adı verilen 16 farklı bölge tanımlanmıştır. M. bovis' de RD1 bölgesi 1921 yılında in vitro kültürlerde kaybolmuştur. Bu bölge BCG aşısı ve çevresel mikobakterilerde bulunmamaktadır (9). M.tuberculosis genomunun RD1 bölgesinde kodlanan Early Secretory Antigenic Target (ESAT) 6 , Culture Filtrate Protein (CFP) 10 ve antijen 7.7 (RV2645) saptanmış (10) olup bu proteinler çevresel mikobakterilerin çoğunda (M.kansasii, M.szulgai, M.marinum hariç) ve BCG suşlarında bulunmaz. Tüberküloz tanısında ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerinin tanımlanması büyük bir gelişmedir. Bu proteinlerin uyarması ile interferon yanıtına neden oldukları için kültür negatif aktif tüberküloz enfeksiyonları ile LTBI' larının saptanmasında umut ışığı olmuştur. Ayrıca BCG aşıları kişilerde aşı etkisinden ve NTM enfeksiyonlarının büyük bir bölümünden ayırtedilebilmesini sağlamaktadır.

2001 yılında M.tuberculosis için daha spesifik olan in vitro testler geliştirilmiştir. 2005 yılında ise aktif tüberküloz hastalığı tanısında da kullanılacak şekilde QuantiFERON-TB Gold (QTF-G) testi kullanıma girmiştir. Bu testlerde spesifik olarak ESAT- 6 , CFP -10 ve TB 7,7 antijenleri kullanılır. 2005 yılında ABD'de tüm sağlık çalışanlarında tarama testi olarak QTF-G testi önerilmiştir(11).

Çocuklarda QTF- G testinin tüberküloz tanısında kullanımı ile ilgili çok fazla çalışma yoktur. Bu çalışmamızda çocuklarda yeni bir tanı aracı olabilecek QTF - G testinin yararının Tüberküloz Cilt Testi (TCT) ve BCG ile aşılama durumlarıyla karşılaştırılarak araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Tüberküloz basili 1882 yılında Robert Koch tarafından bulundu. Bundan dolayı Koch basili de denmiştir. Mycobacterium Yunanca fungus(myces) ve bakterion(küçük bakteri) kelimelerinden türemiştir. İsmi mantar bileşeni mikroorganizmaların sıvı besiyerlerinin yüzeyinde küf benzeri bir şekilde yaygın olarak çoğalmalarından gelir(12).



Şekil 1.Seçilmiş mikobakteriler ve ilişkili türler için taksonomik ağaç.

Mikobakteriler, Mycobacteriaceae familyasına bağlı tek genus olan Mycobacteriumlar içinde yer almaktadır(Şekil 1). Mycobacterium genusu içinde yer alan Mycobacterium tuberculosis complex beş bakteri türü içerir. Bunlar; M.tuberculosis, M.bovis, M.microti, M.africanum, M.canetti'dir. Yüksek oranda G+C (% 62.70) içermeleri ile mikolik asit içeren diğer bakterilere, Nocardia (%60.69), Rhodococcus (%59.69), ve Corynebacterium'lara (%51.59) benzerleler(13).

İnsan M.tuberculosis için tek kaynaktır ve bu mikroorganizma insanlar arasında hastalık yapar. M.bovis insanda hastalık yapar ama oldukça seyrek(%1-3) ve bunların 2/3'ü akciğer dışı organ tüberkülozudur. Atipik mikobakteriler ya da nontüberküloz mikobakteriler insanda nadiren patojendir ama insandan insana bulaşmazlar.

1959'da Runyon, M.tuberculosis ve M.bovis dışında, klinik örneklerden izole edilen diğer mikobakteriler için bir grupta yapmıştır. Bu sınıflamada her grup değişik türleri içermektedir.

Grup I: Sadece ışııkta sarı - portakal rengi pigment oluşturan fotokromojenik mikobakteriler (M. kansasii, M. marinum, M. simiae),

Grup II: Karanlıkta portakal rengi veya kırmızı pigment oluşturan skotokromojenik mikobakteriler (M.scrofoleceum, M.xenopi, M.gordoniae),

Grup III: Nonfotokromojenik, yavaş üreyen, S tipi ve krem rengi kolonileri olan mikobakteriler (M.avium-intracellulare) ,

Grup IV:25 ve 37 °C'de üremeleri için bir haftadan daha az bir süreye gereksinim duyan çabuk üreyen mikobakterileri (M.fortuitum-chelonae kompleks) içermektedir.

Runyon gruplandırmasında; pigmentasyon, koloni morfolojisi ve üreme hızı temel alınmıştır(14).

Yıllar sonra bütün mikobakteri türlerinin Runyon gruplamasına uymadığının farkına varılmış ve bunların dışında birçok yeni tür tanımlanmıştır. Örneğin *M.avium-intracellulare* (MAI)'nin bazı izolatları yüksek oranda pigment oluşturdıkları ve *M.szulgai*'nin 25°C'de fotokromojenik, 37°C' skotokromojenik oldukları farkedilmiştir. Bu farklılıklar nedeniyle artık bütün mikobakterilerin tür düzeyinde tanımlanmaları tavsiye edilmektedir ve Runyon gruplandırılması laboratuvarlarda kullanılmıştır.

Klinik açıdan önemli çeşitli mikobakteri türlerinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavileri farklı olduğu için tüm mikobakterilerin tür adları ile belirtilmeleri gerekmektedir.

Mikobakterilerin genel özellikleri:

M.tuberculosis tipik olarak hafif eğri ya da düz çubuk şeklinde bir mikroptur. İn vitro kültürlerde üretildiğinde birçok bakteriyel patojenden daha küçüktür. Mikobakteriler silindir şeklinde, uçları yuvarlak, 0.3-0.6 µm en ve 1-4 µm boyunda ince basillerdir. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdür. Hücre duvar yapısının büyük bölümünü oluşturan lipidlerin hidrofobik özelliklerinden dolayı bakteriyolojik boyalarla zor boyanırlar. Mikobakteriler gram(+) veya (-) olarak sınıflandırılmaz. Gram boyama tekniği ile nötral görülürler. Lipid içeriği gram(+) bakterilerde %0,5 , gram(-) bakterilerde %3 iken mikobakterilerde %25'tir. Mikobakteriler Ziehl-Nielsen boyası ile boyanır ve mavi zemin üzerinde kırmızı renkte tek tek ya da gruplar halinde çizgiler oluşturmuş olarak izlenir(15).

Mikobakterilerin in vivo ve in vitro büyümesi oksijen varlığına yakından bağlıdır. Bu nedenle oksijen parsiyel basıncının yüksek olduğu organ ve dokularda yerleşmeyi tercih ederler. Wayne(16) bu mikropların insan bedenindeki kronik lezyonlarda canlı kaldıklarını ama oksijenle karşılaşınca çoğalmaya başladıklarını göstermiştir.

Tüberküloz basili çok yavaş ürer; in vivo olarak yeterli oksijen varlığında ortalama 20 saatte bir bölünme ile çoğalır. İn vitro üreme süresi ise besiyerinin niteliğine göre 10-20 saattir. Tüberküloz basili kültürlerde uzun süre saklı kalabilir, buzdolabında ise yıllarca yaşamını sürdürür. Tüberküloz basilinın bu özelliği patojenite açısından çok önemlidir; primer TB enfeksiyonundan sonra makrofajlar içinde yaşamlarını sürdürebilmeleri ve yıllar sonra reaktivasyonla hastalık geliştirebilmeleri bu özelliklerinden kaynaklanır.

Mikobakteriler aside - alkole dirençli boyanma özelliği gösterirler. Bakterinin aside dirençli boyanma özelliği, fiziki bütünlüğü yanında hücre duvarındaki mikolik asit ve lipid bariyer sisteme bağlıdır(13, 17, 18). Ancak bütün aside dirençli mikroplar mikobakteri değildir. *Nocardia*'ların ve *rhodococci*'lerin çoğunluğu, bazı *actinomyces*'ler ve *corynebacteria*'lar ve bir *legionella* türü zayıf bir şekilde aside dirençlidir. Bu boyanma özelliğini paylaştan mikropların bazıları filogenetik olarak mikobakterilerle yakın ilişkilidirler. Birçok *Actinomycetaceae* çevresel, patojenik olmayan mikroorganizmalar iken birkaç *Nocardia* ve *Actinomyces* türleri insanda belirgin hastalık kaynağıdır. *Streptomyces* türleri en güçlü antitüberküloz ilaçlarının bazılarını sağlamıştır, bunlar arasında streptomisini de içeren aminoglikozidler ve rifampisin türevi antibiyotikler önemlidir.

Mikobakteriler sitoplazma, sitoplazmik zar ve bunları çevreleyen lipidlerce zengin bir hücre duvarından oluşmuşlardır. Elektron mikroskop çalışmaları sitoplazmik zarın iki elektron yoğun tabaka ve arada transparan bir bölge görüntüsü ile klasik iki tabakalı sitoplazmik zar görünümüne benzerlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Elektron mikroskop görüntülerinde iki tabakanın simetrik olmadığı, dıştaki tabakanın daha kalın olduğu gözlenmiştir. Elektron sitokimyasal çalışmalara göre; bu kalınlığın karbonhidratlar, fosfatidil inazitol, mannozitler ve lipoarabinomannan moleküllerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sitoplazmik zarın lipid yapısında; kardiolipin, fosfatidiletanolamin ve monofosfoinositollerin bulunduğu gösterilmiştir (18, 19).

M.tuberculosis bilinen bakteriler arasında en kompleks yapılı hücre duvarına sahiptir. Biyokimyasal çalışmalar mikobakteri hücre duvar iskeletinin üç makro molekülden oluştuğunu göstermektedir. Bunlar peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asitlerdir. Hücre duvar yapısının ana iskeletini peptidoglikan oluşturmaktadır. Peptidoglikan yapı mikobakterilerde hücre duvarının en önemli karakteristiği kemotip-IV peptidoglikan yapıdır. Bu yapı bakteriye şeklini verir, hücre duvarına bütünlük ve sertlik kazandırır. Bu yapıya arabinogalaktan molekülleri fosfodiester bağları ile bağlanmakta, ucunda da mikolik asitler yer almaktadır. Mikolik asitler ise değişik lipid, glikolipid ve bazı proteinler ile sonlanmaktadır.

Peptidoglikan tabakanın bitişiğinde arabinoz ve galaktozdan oluşan dallı bir polisakkarit olan arabinogalaktan tabakası bulunur. Arabinogalaktan yapısını oluşturan D-galactofuranoslar ve D-arabinofuranoslar doğada nadir görülür. Arabinogalaktan kuvvetli immunojendir. Hücre duvar kitlesinin %35'ini oluşturur, koruyucu bariyer görevi görür, güçlü hidrofobiktir ve bu özelliği nedeniyle suda eriyen boyalar bakteriye penetre olamaz.

Arabinogalaktanların yan zincirlerindeki uç arabinoz birimlerine mikolik asit diye adlandırılan bir grup zincirli yağ asitleri kovalent bağlarla bağlanırlar. En dış tabaka bir grup heterojen peptidoglikolipidler veya fenolik glikolipitlerden oluşmuştur ve “mikoizidler” olarak adlandırılır (18,19).

Mikobakterilerin pek çok özellikli komponentleri arasında, lipidlerin diğer bakteriler ile kıyaslandığında ayrı bir yeri olduğu görülür.

Lipidler;

- mikolik asit,
- balmumu (Waxes D),
- fosfolipidler,
- trehalozlar (kord faktörü, sülfolipidler, mikolipenik asit),
- glikolipidler,
- lipoglikan,
- lipoproteinler.

Mikolik asitler hücre duvarının kalınlığından ve büyük oranda hücrenin aside dirençli oluşundan sorumludur. Mikolik asitler tüm hücre duvarının kuru ağırlığının %50'sini oluşturur. Mikolik asitler trehalozlar ile bağlandığında "kord faktörü" oluştururlar. Virülans ile ilgili olduğu düşünülen bu faktör hücrelerin birbirine dolanmış demetler oluşturarak paralel zincirler halinde üremelerine neden olur. Ayrıca fagositlerin göçünü engelleyip granülom oluşmasını sağlar, toksik etkisi de vardır(20).

Balmumu (WaxesD) mikobakteri hücre duvarında bulunan bir peptidoglikolipiddir. Mikolik asit moleküllerinin ucunda yer alır. Wax D, muramil dipeptid bileşikleri içinde adjuvan etki göstermektedir. Aynı zamanda interferon yapımını da indüklediği gösterilmiştir(13,19).

Kord faktörü (6,6'-dimikolat- α -D-trehaloz):Virülan tüberküloz basillerinin kord oluşturduğu gözlenmiş ve bunun virulansla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Kord faktörün son derece nadir biyolojik bir bileşik olduğu, trehalose 6,6'dimikolat ve hayvan modellerine seri şekilde enjekte edildiğinde yüksek morbidite yaptığı ve sıklıkla da öldürücü etkiler yaptığı gözlenmiştir(21,22). Adjuvan aktiviteyi de içeren, çok sayıda özelliğe sahiptir. Alternatif kompleman yolunu aktive eder, polimorfonükleer lökosit göçünü önler, granülom oluşumunda rol oynar, antitümör özelliği vardır. Konak hücre mitokondri

membranına tutunarak solunum ve oksidatif fosforilasyonda hasara yol açar (13, 18, 19).

Fosfolipidler fosfatidik asid temel yapısındaki fosfodiasilgliserollerdir. Sitoplazmik membrana bağlıdır. Peptidoglikan ve hücre duvar polisakkaridinin sentezinde rol oynar (13).

Sülfatidler basilin virulansından esas sorumlu neden olarak değerlendirilmiştir. Fagosom aktivasyonunu inhibe ederek, bakterinin intrasellüler yaşamını sürdürmesini sağlar. Ayrıca kord faktör toksisitesini de artırmaktadır(23, 24).

Mikolipenik asit sadece virulan suşlar tarafından oluşturulur. Lökosit göçünü önemli oranda azaltır (18).

Lipoglikanlar lipid taşıyıcısı olarak işlev görerek uzun zincirli yağ asitlerinin sentezine olanak sağlarlar. Lipooligosakkaritler serovarların dominant epitoplarını oluşturur ve önemli yüzey antijenleridir. Fenoglikolipidler tür ve antijenik özelliği verir (18).

Mikobakterilerde hücre duvarındaki proteinler hücre bölünmesinde rol alan enzimler ve duvar polimerlerinin sentezinde yer alırlar. Ayrıca atıkların hücre duvarından geçmesinde rol oynarlar. Diğer işlevleri porları oluşturmak ve antijenik özellik sağlamaktır(18).

Polisakkaritler (arabinogalaktan ve arabinomannan) duyarlı deney hayvanlarında anaflaktik tipte aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olurlar. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında rolleri yoktur. Konak hücre

makrofajlarından TNF salınımını arttıırırlar. Nötrofillerin damardan dokuya geçmesini ve yangısal tepkimenin oluşmasını sağlarlar (13).

Antijenik yapı:

Tüberküloz basilinin sağlam, bütünlüğü bozulmamış hücresi toksik değildir. Yani basilin ekzotoksin ve endotoksini yoktur, hücre dışı enzim de salgılamaz.

M. tuberculosis'in yapısında yer alan protein, lipid ve polisakkaridlerin tümü immünojeniktir. Bunların immünosupresyon, makrofaj aktivasyonu, granülom oluşturma, toksisite, alternatif kompleman yolu aktivasyonu gibi birçok değişik etkileri vardır. Özellikle proteinler immünojen olarak kabul edilirler.

Saflaştırılmış protein derivesi (Purified Protein Derivative: PPD) Old tüberkülinin kollodyen membranlardan süzülmesi ve amonyum sülfatla çöktürülmesi sonucu elde edilmiş, kısmen daha saf bir üründür. Bileşimindeki proteinler daha küçük olduğundan ve daha az karbonhidrat içerdiğinden özgül olmayan reaksiyonlara daha az rastlanmaktadır. Tam olarak saflaştırılmamış olması ve diğer mikobakteri türleri ile oluşan enfeksiyonlarda çapraz reaksiyonlara sık rastlanması gibi olumsuzluklara rağmen PPD önemini hala korumaktadır.

Son yıllarda daha saf antijenlerin elde edilebilmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucu antijen 5 ve antijen 6 elde edilmiştir. 38 Kd antijen, Antijen A60, 88kD antijen ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Saflaştırılmış mikobakteriyel antijenler içinde en ilgi çeken 65 kD antijenidir. Isı şok proteinlerine çok benzer ve yüksek oranda immünojeniktir. Konak dokularda salındığı zaman otoimmün reaksiyonlara ve kazeifikasyon nekrozuna yol açtığı gösterilmiştir. Bu antijene karşı oluşmuş antikorlar ile duyarlı T hücrelerinin varlığı gösterilmiştir (13).

M. Tuberculosis' e Spesifik Antijenlerin Patogenezdaki Roller:

M. tuberculosis kompleksine karşı özgül antijen ilk kez Harboe ve arkadaşları tarafından gösterilen 24 kDa ağırlığındaki MPT64 antijeni olup M. bovis ve M.tuberculosis kültür filtratlarında gösterilmiş fakat BCG örneklerinde gösterilememiştir (25). Bu gözlem daha sonra PCR hibridizasyon yöntemiyle MPT64'u kodlayan genin bulunmasını sağlamış ve bu genin bazı BCG alt suşlarında olmadığı bulunmuştur. İnsanlarda yapılan çalışmalarda MPT64 antijeninin orta derecede lenfosit yanıtına yol açtığı ve TB hastalarında düşük oranda cevap alındığı gözlenmiştir (26).

Yapılan çalışmalarda yüksek doz MPT64 patch testinin hasta ile sağlıklı birey ayırımında %100 spesifite ve %98,1 sensitiviteye sahip olduğu gözlenmiştir(27). Fakat bu antijenin bazı BCG suşlarında da mevcut olması tanısal değeri açısından sorun yaratmaktadır.

Son yıllarda ise daha düşük moleküler ağırlıklı bir antijen olan ESAT-6 kültür filtratlarında izole edilmiştir (28,29). Bu antijeni kodlayan genin M.tuberculosis complex'te bulunduğu, BCG suşlarında bulunmadığı ve M. kansasii, M. marinum, M.szulgai ve M. flavescens haricindeki diğer mikobakteri türlerinde bulunmadığı gösterilmiştir(30,31). Bu çalışmaların devamında ESAT-6 geninin promotor bölgesi belirlenmiş ve diğer bir antijenin (culture filtrate protein 10 kDa, CFP-10) aynı gen ile kodlandığı tespit edilmiştir.

Bu antijenlerin TB tanısında kullanılması söz konusu olduğunda, bu geni taşıyan diğer mikobakteri türleri içinde sadece M. kansasii'nin TB benzeri hastalığa neden olduğu da bilinmektedir. Ancak bu da çok nadir olarak enfeksiyona neden olmaktadır. Danimarka'da yapılan bir çalışmada NTM ile infekte olan hastalardan elde edilen izolatların %0,5'inde M. kansasii bulunmuştur (31).

İn vitro pasajlar sırasında BCG suşunda bazı bölgelerin delesyona uğradığı gözlemlenmiştir (regions of differences (RD)). Bu bölgeler RD1, RD2 ve RD3 olarak adlandırılmış ve ESAT-6, CFP-10 ve MPT64 (yeni antijenler eklenmeye devam etmektedir) için genlerin bu delesyona uğrayan bölgelerde olduğu gözlenmiştir (32). RD1 immünolojik olan ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini kodlamaktadır. RD1 yapısal 9 proteini kodlayan genleri içeren bir bölgedir. Bu proteinler Rv3971 ile Rv3979 arasında adlandırılmıştır (33,34).

RD1 bölgesi patojenik tüm *M. tuberculosis* ve *M. bovis* suşlarında bulunmasına karşın *M. bovis* BCG suşlarının hiçbirinde bulunmamaktadır (35). Bu nedenle bu gen bölgesinin virulansla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

İnterferonlar:

1957 yılında inaktif virüse maruz kalan hücreler tarafından üretilen çözünebilir bir faktörün viral replikasyonu engellediği ve bunu yeni hücrelere taşıyabildiği keşfedilmiştir. Bu nedenle bu faktöre interferon denilmiştir(36). İnterferonlar antiviral, güçlü antiproliferatif ve immün düzenleyici aktivitelere sahiptirler.

İnterferon Tipleri

A) Tip 1 interferonlar [alfa interferon (IFN α) ve beta interferon (IFN β):

Tip 1 interferonların çoğu pH 2'de stabilize olması ile karakterizedirler. Bunlar viral enfeksiyonlarda veya yapay olarak çift sarmal RNA tarafından indüklenirler. α -IFN, temel olarak lökositler tarafından üretilir. β -IFN antijenik açıdan daha farklıdır. Lökositler tarafından da üretilbilmesine rağmen, fibroblastlar dahil olmak üzere lökosit dışı hücreler tarafından da sentezlenen major interferondur (37).

B) Tip 2 İnterferon (IFN γ veya immün interferon):

İmmün reaksiyonlar esnasında antijen veya mitojen tarafından uyarılan T lenfositlerince üretilen 166 aminoasitten olusan bir polipeptittir. Molekül ağırlığı 20.000 ve 25.000 dalton olan iki formu vardır. 12. kromozomda lokalize tek bir genle kodlanır. Ph<2 veya pH>10'da ve 70 derecede 1 saat bekletildiğinde labil olmasıyla tip 1 interferonlardan ayrılır (38,39).

IFN- γ genellikle T4 hücreleri, nadiren de T8 hücreleri tarafından sagılanan bir sitokindir. T lenfositlerin uyarılmasına IFN- γ salınımı eşlik etmektedir (40).

Shimokata ve arkadaşları, tüberküloz pl rezide plevral lenfositlerin PPD ile sit mle edilmesi durumunda gamma interferon yapımından T4 lenfositlerin sorumlu olduğunu göstermiştir(41).

İmmün interferon yapımının düzenlenmesi, IL-2 aracılığı ile T lenfositlerinin birbirleriyle olan ilişkisine dayanır. T lenfosit kaynaklı IL-2, immün interferon yapımında rolü olan fizyolojik bir sinyal olarak düşünülebilir (42).

IFN- γ T hücre olmayan hayvanlarda da önemli miktarlarda saptanmıştır. Bu durumda IFN- γ kaynağının NK(naturel killer) hücreler olduğu düşünülmektedir. Bunula birlikte normal bireylerde de NK hücreler IFN gamma'nın bir kaynağı gibi görünmektedir. Bir çalışmada klonlanmış NK hücrelerinin IFN gamma üretilip  retmediğı incelenmiş ve IL-2'nin olduğu ortamda tüm NK klonlarının IFN gamma ürettiğı saptanmıştır. Ancak IL-2'nin olmadığı ortamda ne hücre gelişimi ne de IFN gamma yapımı gözlenmemiştir. Bu IL-2'nin NK hücrelerinin proliferasyonunu ve IFN gamma üretimini stimüle ettiğini göstermektedir(43).

IFN- γ makrofajların güçlü bir aktivator d r. Makrofajların bakterisidal ve t morosidal kapasitelerini artırır. IFN- γ tüberkülostatik makrofaj kapasitesini de aktive etmektedir. Bunu 1,25-(OH) $_2$ Vitamin D3 yapımını sağlayarak

gerçekleştirmektedir. Ortamda oluşan bu madde lokal olarak makrofajların tüberkülostatik fonksiyonlarını aktive etmektedir.

IFN- γ , makrofaj üzerindeki sınıf II MHC-antijen kompleksinin oluşumunu ve devamlılığını da sağlamaktadır. Böylece antijen, T4 lenfositlerine sunulmakta ve T hücre reseptörlerine bağlanarak, T lenfosit fonksiyonları aktive olmaktadır (44).

İnterferonlar, hücrel ve humoral immüniteyi miktarına, verilme zamanına ve alıcının genetik yapısına bağlı olarak ya güçlendirir ya da baskılar. Genel olarak, antijenik duyarlılaştırmadan önce veya beraber verilirse baskılayıcı bir etki yapar. Buna karşın sonra verilirse hem hücrel, hem de humoral immün yanıtları güçlendirir. İn vivo olarak, IFN- γ immün cevabın geç döneminde üretilir ve sitotoksik T lenfositlerin olgunlaşmasını sağlar ve antikor üretimini artırır (37).

IFN- γ , NK hücrelerin güçlü bir aktivatorü olarak kabul edilmektedir (45). Tüm bu etkilerinden başka IFN- γ , vasküler endotel hücrelerinin bir aktivatorüdür. T4 hücrelerinin adhezyonunu ve lenfositlerin damar dışına çıkmasını kolaylaştırır. Ayrıca tümör nekroze edici faktörün endotel hücreleri üzerindeki birçok etkisini de güçlendirir.

Tüm Tip 1 interferonlar aynı interferon reseptörüne bağlanırken, Tip 2 interferon (IFN- γ) farklı bir reseptöre bağlanır. Bu bağlanmadan sonra interferon – reseptör kompleksleri reseptör tarafından yönlendirilen endositoz ile hücre içine alınır. İnterferon reseptöründen hücrenin geri kalan kısımlarına sinyali ileten biyokimyasal mekanizmalar ise tam belirlenememiştir.

Pediatric Tüberküloz

Çocuklardaki tüberküloz birkaç nedenle özellikle anlamlı olarak kabul edilir. 0-4 yaş arasındaki kişilerde son derece tehlikeli ve potansiyel olarak öldürücü olabilir. Bu nedenle hızlı tanı ve tedavi önemlidir. Santral sinir sistemi etkilenen hastalarda yaşam boyu sakatlık olabilir.

Her pediatric tüberküloz olgusu bir erişkinden sıklıkla da bir ebeveyninden yeni bulaşmayı yansıttığı için, bu olgular çağdaş tüberküloz kontrol programlarının başarısızlığına işaret etmektedirler.

Epidemioloji

Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ) gelişmekte olan ülkelerde her yıl 15 ya  altındaki kişilerde 1.300.000 olgunun ve 450.000 ölümün olduğunu tahmin etmiştir(46). ABD'de çocuklarda 1985 ile 1992 yılları arasında tüberküloz olguları 0-4 ya  grubunda %36,1 ve 5-14 ya  grubunda %34,1 artmıştır(47). Pediatric olgulardaki bu artış erişkinlerde görülen artıştan birkaç yıl sonra ortaya çıkmıştır. Siyah  ocuklarda enfeksiyona yatkınlık daha fazladır.

Ya  infekte olan çocuklarda aktif hastalık gelişme riski açısından son derece önemli rol oynar. 0-4 yaşındaki çocuklarda yüksek risk vardır. 5 ile 10 ya  arasında risk azalmaktadır. Puberteden sonra yeniden artış olması dikkat çekicidir. Puberte ya  gruplarında, kızlarda bir miktar daha yüksek aktif tüberküloz riski vardır(48).

Patogenezi

Erişkinlerde olduğu gibi çocukların çoğunluğu M.tuberculosis bakterisini aktif akciğer hastalığı olan başka bir kişinin saçtığı basilleri havayolu ile inhale ederek alırlar. Nadiren annedeki basillemi ile ilişkili olarak transplasental enfeksiyon olan olgular vardır(49,50). Plasenta ve fetusu infekte etmeye yeterli düzeyde

tüberküloz invazyonu olan kan akımının büyük olasılıkla normal konakçıda primer enfeksiyon sırasında ya da AIDS olan bir kadında tüberkülozun herhangi bir formunda oluşur. Kontamine amniyotik sıvının aspirasyonu ve infekte doğum kanalından geçişin önemi tam bilinmiyor.

Bulaş sonrası enfeksiyon oluşup oluşmaması veya hastalık meydana gelip gelmemesi konağın direnci ile bakteriyel virulans arasındaki dengeye bağlıdır. Aktif tüberkülozlu kişiler çevreye içinde değişik sayılarda basil bulunan damlacık saçarlar. Sağlıklı kişiler tarafından solunan bu damlacıkların büyük olanları burun ve bronş yüzeyindeki silialar tarafından tutulurken, içinde 1- 3 basil bulunan küçük partiküller kolaylıkla alveollere ulaşır ve alveoler makrofajlarca fagosite edilirler. Alveoler makrofajlar basilin akciğere yerleşip yerleşmemesinde belirleyici rol oynar. Enfeksiyonun gelişmesine karşı konak direnci kısmen genetik kontrol altındadır. Sıçanlarda tüberküloz duyarlılığının otozomal dominant bir gen (Bcg geni) tarafından kontrol edildiği ve benzer bir uzantının insanlarda ikinci kromozomun uzun kolunda olduğu ileri sürülmüştür.

Mikobakteri taşıyan fagozom çoğunlukla lizozom ile birleşmez ve fagozomun pH'sı, proton-ATPaz veziküllerinin dışlanması nedeni ile daha fazla asidifiye olmaksızın 6.5 dolayında kalır. Bu mikobakterinin yaşaması için uygun pH'dır. Ayrıca mikobakterinin duvar yapısında yer alan komponentler, bakterinin, kendisini konağın immün saldırısına karşı korunmasında önemli rol oynamaktadır (51). Makrofaj aktivitesi yetersiz kalırsa basil, hücre içinde çoğalmaya başlar. İkiye bölünme süresi uzun olduğundan makrofaj içinde yavaş bir şekilde çoğalan M.tuberculosis akciğerde vazodilatasyon, ödem, polimorf nüveli lökosit ve fibrinöz eksuda ile karakterize erken konak cevabına neden olur.

Konakta basillerin belli bir sayıya ulaşması ve hücrel immün cevabın ortaya çıkmasına kadar 3 - 8 haftalık bir süre geçer. Hücrel immün cevap ile birlikte aktive olan T-lenfositler ve makrofajlar basilleri çevreleyerek, nonspesifik konak cevabının bir göstergesi olan granülatöz inflamasyon gelişimine yol açarlar. CD4 T hücrelerinden salınan IFN α ile lenfokinler, makrofaj ve monositleri aktive eder. Monositlerden köken alan doku makrofajları epiteloid hücrelere, bunlar da birleşerek çok nükleüslü dev hücrelere dönüşür. Aktive makrofajlar fagozom içindeki basilleri superoksit anyon, radikal hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller ile öldürür. Bakteri fagolizozomda işlenerek, MHC class II molekülleri ile birleştikten sonra makrofajın yüzeyine yapışır (52).

Mikobakteriyel hücrel cevapta dominant olan T lenfositlerinin %90'ı α ve β zincirinden oluşan reseptörleri ile antijeni tanıyarak aktif hale geçer. Makrofajlar tarafından fagosite edilen, ancak öldürülemeyen bakteriler MHC class I molekülleri ile birleşip CD8 T lenfositlerine sunulur. Ancak tüberküloz basilleri ile meydana gelen enfeksiyonlarda aktivite CD8 T hücrelerinin rolü kesin olarak anlaşılamamıştır (13). Hücrel immünite ve gecikmiş tip hipersensitivite T hücreleri ile oluşur. Her ikisinde de aynı immünolojik mekanizma söz konusudur. Hücrel immünite enfeksiyon ajanının yok edilmesiyle ilgilidir. Gecikmiş tip hipersensitivite, konak organizmanın enfeksiyona verdiği immünolojik bir cevaptır. Gecikmiş tip hipersensitivite oluştuğunda lenfositlerden açığa çıkan lenfokinler sadece basilleri öldürmekle kalmaz granülomun merkezinde bulunan nekrotik dokularda pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirip, iskemi ve tromboza neden olur. Sonuçta doku yıkımı meydana gelir. Lezyon bölgesindeki aktive makrofajlara ait proteinaz, lipaz, endonükleaz gibi enzimler granülomun ortasında bulunan kazeomu eritir ve likefaksiyona yol açar. Likefiye kazeomun bronşa açılması ile kavitasyon oluşur (13).

Tüberküloz primer veya sekonder olarak iki şekilde ortaya çıkar;

1-Primer tüberküloz: Bireyin tüberküloz bakterileriyle ilk defa enfekte olmasıdır. Solunum yoluyla alınan tüberküloz basilleri genellikle alt loblarda ve plevra altında yerleşirler. İlk yerleşim yerinde toplanmakta olan makrofajlar epiteloid hücrelere dönüşür. Bunlar birleşerek langhans tipi dev hücreleri oluştururlar, etrafları lenfositlerle çevrilir ve granülom meydana gelir. Bu yapıya 'Ghon' odağı denir. Bölgesel lenf bezlerine yayılan basiller burada da aynı granümatöz olaya neden olur. Akciğerdeki primer periferik lezyon ve beraberinde büyümüş lenf bezlerine "Ghon kompleksi veya primer kompleks" denir. Genellikle asemptomatiktir. Bölgesel lenf bezlerindeki basiller kan yoluyla vücuda yayılabilir ve menenjit, miliyer tüberküloz gibi hastalığın ağır şekilleri ortaya çıkabilir (53,54).

2.Sekonder tüberküloz (reenfeksiyon tüberkülozu, erişkin tüberkülozu): Önceden primer enfeksiyon geçirmiş bir kişide tüberkülozun reaktif olmasıyla oluşur. Çoğunlukla erişkinde görülmesi, başlangıç lezyonlarının üst zonlara yerleşmesi, bronş yolu ile yayılması, hiler lenfadenopatinin ve spontan iyileşmenin nadir olmasıyla primer tüberkülozdan ayrılır.

Sekonder tüberküloz 3 şekilde ortaya çıkar;

- **Endojen reenfeksiyon:** Primer enfeksiyon sırasında lenfohematojen yolla akciğerin apikal-subapikal bölgelerine yerleşen (Simon odağı) ve çoğalmadan burada canlılığını sürdüren basillerin hayatın herhangi bir döneminde hücrel immün yanıtta meydana gelen baskılanma nedeniyle aktif hale geçmesi ile meydana gelir.

- **Primer enfeksiyonun ilerlemesi:** Primer tüberküloz iyileşmez ve ilerlemeye devam ederse erişkin tipi tüberküloza dönüşebilir. Nadir bir durumdur.

- **Eksojen reenfeksiyon:** Primer enfeksiyon geçirmiş bir kişinin dışarıdan tekrar tüberküloz bakterilerini almasıyla oluşur (13,53,55).

Tüberküloz hastalığında başlıca iki tipte lezyon oluşur;

1. Eksüdatif tip: Ödem sıvısı, polimorf nüveli lökositler ve daha sonra bakterilerin çevresinde monositlerle karakterize akut iltihabi reaksiyonu içerir. Bu tip özellikle akciğer dokusunda görülür. Tüm eksuda emildiğinde iyileşebilir, doku nekrozu oluşabilir veya prodüktif lezyon gelişebilir. Eksüdatif faz boyunca tüberkülin deri deneyi pozitifdir.

2. Prodüktif tip: Tüberküloz basillerini içeren multinükleer dev hücreler veya Langhans hücrelerinden oluşan geniş bir merkez bölge, genellikle radyal olarak yerleşmiş epitelioid hücrelerden oluşmuş bir bölge, fibroblastlar, lenfositler ve monositlerden oluşmuş periferik bölgeden meydana gelen granüloma oluşur.

Lezyonun bulunduğu yerde periferik fibroz doku gelişir ve merkez bölgesinde kazeöz nekroz oluşur. Bu lezyonlara tüberkül denir. Kazeöz tüberkül bir bronş içine doğru gelişirse içeriğini buraya boşaltır ve kavite oluşur, buna kavite adı verilir. Daha sonra kalsifikasyon ve fibrinleşme ile iyileşebilir (55,56).

İlk enfeksiyon yeri akciğerlerdir fakat basilin yayılması sonucu birçok organ etkilebilir. Bunun görülme ihtimali özellikle primer enfeksiyon anındaki hasta yaşına göre önemli ölçüde değişir.

Bulaşmayı etkileyen faktörler:

Toplumda enfeksiyon yaygınlığı, karşılaşmanın yakınlığı ve yoğunluğu, yaş, cinsiyet, ırk, sosyoekonomik durum ve kişisel yatınlık önemli faktörlerdir.

Yapılan çalışmalarda solunum yoluyla çevreye yayılan ve çapı 100 mikrondan küçük parçacıkların sayısı konuşma ile 0-210, öksürme ile 0-3500, hapşırma ile 4500-1000000 olarak bulunmuştur. Basilin alınmasını izleyen 2-10 haftada bağışıklık sistemi basilin çoğalmasını ve yayılmasını durdurur. Bu dönemde TCT pozitif olur.

Kaynak hasta

- Balgamdaki basil sayısı,
- Balgamın aerosol oluşturması,
- Basilin canlılığı,
- Basilin virulansı,

Ortam

- Havalandırma,
- Ultraviyole,güneş ışığı,
- Kaynağa yakın olma,

Hedef kişi

- Direnç,
- Diyabet,
- Silikozis,
- Uzun süre kortikosteroid kullanımı,
- Yetersiz tedavi,
- 0-4 yaş veya çok ileri yaş,
- Kronik malabsorbsiyon, düşük persentil,
- Transplantasyon,
- HIV, KBY, lenfoma, lösemi,

Çağdaş pediatrik tüberkülozda sözü edilen çeşitli hastalık tipleri aşağıda sunulmuştur:

1. Asemptomatik Primer Akciğer Hastalığı

Tekras Houston'dan son dönemde yayımlanan 110 pediatrik tüberkülozdan 62'sinde semptom yoktu(57). Asemptomatik çocukların çoğunda bulgular doğal seyir içinde spontan düzelir. 12 ay INH verilen çocuklarda 5 yıl içinde sadece %3 oranında hastalık gelişmiştir(21).

2.Komplike Primer Akciğer Tüberkülozu

Bazı çocuklar ilk enfeksiyon ile yeterince baş edemezler. Çeşitli semptom ve bulgular olabilir. Öksürük, ateş, taşipne, hepatomegali, splenomegali, krepitasyonlar, wheezing, kilo kaybı vb. olabilir. En çarpıcı akciğer komplikasyonu peribronşial lenf bezlerinin büyümesi ile büyük hava yolu obstrüksiyonu sonucu oluşur. Distal akciğerin aşırı havalanması ve lenf bezinin erozyonu sonucu lokalize wheezing ve sublober pnömoni oluşur.

3.Progresif Primer Akciğer Tüberkülozu

İlk enfeksiyon odağı gerilemeyebilir ve yoğun lokalize bir pnömoni gelişebilir. Pnömoni olayının içinde santral nekroz ve/veya pnömatoseller, ince duvarlı tansiyon kistleri gelişebilir. Bu hastalarda sıklıkla solunumla ilgili ve sistemik birçok semptom olur. İlaç kullanılmazsa prognoz kötüdür. Bronkoplevral fistül ve kronik ampiyem gelişebilir.

4.Reaktivasyon (Erişkin Tipi) Akciğer Tüberkülozu

Primer basillemi sırasında akciğer apekslerine yerleşen hastalığın gecikmiş ortaya çıkışı hemen daima adölesan dönemde olur. Hastalığın radyografik yerleşimi, kaviteli lezyonlara eğilim ve pozitif balgam yayması olasılığı diğer

tiplerden ayırımında önemlidir. Kavitenin ortaya çıkması hem klinik hem de epidemiyolojik öneme sahiptir; kötü prognozu gösterir ve potansiyel olarak bulaştırıcı, balgam yayması pozitif tüberküloz riski fazla olan kişileri gösterir.

Bu şekildeki hastalığın en sık tuttuğu yerler sağda soldan daha fazla olmak üzere üst lobların posterior/apikal segmentleri ve alt lobların superior segmentleridir. Bu alanların tutulmasının nedeni bu bölgelerdeki lokal oksijen basıncına, azalmış lenfatik akıma ve makrofaj fonksiyon bozukluğuna bağlı olabilir.

5.Plevral Enfüzyonlar

Radyolojik olarak saptanabilen enfüzyonlar 0-4 yaşındaki çocuklarda oldukça seyrekdir. Olguların %10'undan azında görülür. Ancak yeni infekte olan genç adölesanlarda plevral tutulum kabaca %25 oranında görülür(58). Akut ağrılı plörit şeklinde olabileceği gibi sadece akciğer filmi ile saptanabilen asemptomatik sıvı birikimi olabilir.

6. Akciğer Dışı Tüberküloz

Akciğer dışındaki organların tutulumu tüberkülozlu çocuklarda erişkinlere göre nispeten daha yüksek bir yüzde ile oluşur. USPHS 1986 taramasında akciğer dışı tüberküloz 0-14 yaş grubundaki tüberkülozların %25,2'sini ;bütün yaşlardaki tüberkülozun %17,5'ini oluşturmuştur. Bu yaş grubunda menenjit hastalığı sık görülürken, plevral, genitoüriner sistem ve periton tüberkülozu seyrek görülür. 0-4 yaş grubunda tüberküloz menenjitine özel bir yatkınlık vardır(58). Millier tüberküloz da erken yaşlarda daha belirgindir. Akciğer filminde yaygın, darı tohumlarına benzer ince nodüller görülür.

7.HIV Enfeksiyonu Olan Bebek ve Çocuklarda Tüberküloz

AIDS olan erişkinlerde artan akciğer tüberkülozu, buna bağlı olarak çocuklarına yüksek oranlarda tüberküloz basili bulaştırmalarına sebep olur.

Ayrıca konjenital HIV enfeksiyonu olan bebek ve çocuklarda tüberküloz riski artmıştır(59). HIV enfekte çocukların %20'sinde ilaca dirençli tüberküloz basilleri izole edilmiştir(60). Ayrıca bunlarda sistemik akciğer bulgu ve semptomları daha fazladır. Daha fazla tüberkülin anerjisi, tedavi ile daha az klinik iyileşme, tedaviye rağmen akciğer filmlerinde iyileşme olmaması ve daha yüksek oranlarda ölüm görülebilir.

Tanı

Sıklıkla belirgin ayırt edici semptomatik akciğer hastalığı olan ve birlikte balgam yayma ve kültürleri pozitif olan erişkinlerden farklı olarak tüberkülozlu çocuklarda az basil içeren hastalık şekilleri vardır. Bunlar çok daha az olasılıkla pozitif bakteriyolojik bulgular gösterirler.

Çocuklarda tüberküloz saptanınca yakın çevresinde aktif akciğer tüberkülozlu bir erişkin bulunabilir. Kardeşlerinin bulaşıcı tüberküloz şekillerini geliştirme olasılığı azdır(61). Tüberküloz hastalarının erken tanı ve tedavisi bu hastalıktan toplumun korunmasında en etkili yoldur. Bu nedenle tüberküloza yakalandığı düşünülen hastaların tanılarını kanıtlayacak, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve pahalı olmayan laboratuvar yöntemlerinin günlük kullanıma girmesi önemli bir gereksinimdir (62).

Tüberkülin cilt testi

En çok kullanılan standart PPD ile uygulanan Mantoux testidir. Ön kolun ön yüzüne 0,1 cc 5 TU tüberkülin enjekte edilir. Doğru uygulamada deride 6-10mm çapında soluk renkte bir kabarcık oluşur. Test 48-72 saat sonra okunmalıdır. Eritem önemli olmayıp asıl ölçülmesi gereken endürasyon çapıdır(13,17).

Bu testin bütünüyle duyarlı ve seçici olmadığını belirtmek önemlidir. Yalancı pozitiflik ve negatif sonuçlar olabilir. Bu testte geç tip aşırı duyarlılık söz konusudur. Tüberküloz bakterileri ile hiç temas etmemiş kişilerde tüberkülin

deneyleri negatif sonuç verir. Testin pozitif olması enfeksiyonu gösterir ancak tüberküloz tanısı koydurmaz. Hastalığın kontrolünde, ayırıcı tanısında, olguların ortaya çıkarılmasında ve hücrel immünitenin değerlendirilmesinde kullanılır. Ciltte meydana gelen reaksiyonun büyüklüğü ile hastalık derecesi arasında bir korelasyon yoktur(13).

Akciğer filmi

Primer kompleks bulguları lokalize bir parankim infiltrasyonu ve bununla birlikte hiler ya da paratrakeal lenfadenopati şeklinde olabilir. Plevral enfüzyon ve ampiyem nadirdir.

Bakteriyolojik yöntemler

Dünya sağlık örgütünün kararına göre bir hastaya kesin tüberküloz tanısı konabilmesi için uygun şekilde alınan klinik örneğin laboratuvara gönderilmesi, hazırlanan preparatlarda mikobakterilerin görülmesi ve ekim yapılan besiyerlerinde üretilmesi ile mümkün olur(63). Çocuklar için uygulanması zor bir yöntemdir.

Mikobakteriler zorunlu aerob bir bakteridir. Optimal ısı 37 derecedir. pH 6.0-7.6 arasında çoğalabilir.

Radyometrik yöntem(Bactec)

Mikobakteriler şişedeki sıvı besiyerlerinde ürerken palmitik asit kullanırlar ve bundan radyoaktif karbondioksit oluştururlar. Şişedeki radyoaktif gazı saptayan okuyucu üremenin belirlenmesini sağlar. Daha erken yanıt alınır.

Balgam

Balgam eğer alınabilirse yayma ve kültür için gönderilmez. Ancak kaviteli hastalığı olan erişkinlere göre çocukların çoğu yeterli solunum yolu sekresyonu çıkaramaz.

Mide lavajı

Solunum yolu mukusu sürekli olarak bronş silia aktivitesi ile akciğerlerden dışarıya, yukarıya doğru iter. Materyal hipofarinkste biriktikçe refleks olarak yutulur. Böylece gece boyunca midede alt solunum yolu sekresyonu birikmiş olur. Teksas'ta ilk dönemlerdeki akciğer tüberkülozlu çocuklarda mide lavajı ile %39 pozitif kültür elde edilmiştir(57).

Bronkoskopi

Hem tanıda hem de hava yolu obstrüksiyonunun tedavisinde kullanılabilir. Ancak mide lavajından muhtemelen daha düşük bir getirisi vardır(64).

Serolojik yöntemler

Bu yöntemler genellikle sınırlı ve hayal kırıcı olmuştur. Serolojik çalışmalarındaki sorunlar arasında duyarlılığın düşük oluşu ve özgüllüğünün olmayışı vardır. Yalancı negatif sonuçlara bağlı düşük duyarlılık(sensitivite) ve latent enfeksiyonu aktif hastalıktan ayırtetme ya da M.tuberculosis ile oluşan enfeksiyonu çevresel nontüberküloz mikobakterilerinkinden ya da BCG aşısından ayırtedmeyi sağlayamayışına bağlı özgüllüğünün(spesifisite) olmayışı önemlidir(65).

Moleküler biyolojik teknikler

Polimeraz zincir reaksiyonu ya da benzer yöntemlerle mikobakteri genetik maddesinin çoğaltılması büyük öneme sahip olabilir. Özellikle pozitif kültürlerin oldukça nadir görüldüğü tüberküloz menenjitte önemlidir.

Mikobakterilerin boyanma özellikleri ve boyama yöntemleri

Hazırlanmış preparatlarda mikobakterileri görmek için iki tür boyama yöntemi kullanılır. Bazik fuksin (karbol fuksin) boyasının kullanıldığı Ziehl-Neelsen ve Kinyoun boyama yöntemlerinde mikobakteriler mavi zemin üzerinde kırmızı

çomaklar şeklinde görülürken, fluorokrom yönteminde (Auromine O-Rhodamine B) kullanılan filtre sistemine göre sarı - portakal rengi fluoresans verirler (66, 67, 68, 69, 70).

Mikroskobik inceleme, yeni olguların tesbiti, tedaviye cevabın izlenmesi, ilaca dirençli vakaların ortaya konması ve hastaneden çıkarma gibi birçok konuda değerli ipuçları verir.

Tedavi ile önce kültür, sonra yayma negatifleşir. Tedaviye rağmen preparattaki bakteri sayısında azalma olmaması, ilaç direncini düşündürür (13).

Haberci mikobakteriyofaj

Haberci mikobakteriyofaj mikobakterileri infekte edebilen ve basil içerisinde kolayca saptanabilen bir ürün oluşturan virüstür. Tüm mikobakterilerde ya da sadece M.tuberculosis'te çoğalabilen fajlar vardır. Ateş böceğinin ışık üretmesinden sorumlu lusiferaz enzim geninin bu fajlara klonlanması ile haberci fajlar elde edilmiştir. Bu enzim ATP varlığında luseferini oksitler ve bu sırada ışık oluşmasına yol açar. Klinik örneklerde bu faj ile infekte edilen basiller lusiferin eklendiğinde ışık oluşturarak karanlık alanda kolayca görünür duruma gelirler. Bu yöntem dört saat gibi kısa bir sürede tamamlanabilir (62). Lusiferaz testi ile basilin antitüberküloz ilaçlara dirençli olup olmadığı anlaşılabilir.

İmmünolojik tanıda kullanılan testler;

1-Antijen tespiti dayanan testler: Lipoarabinomannan, mikobakterinin hücre duvarında bulunan bir lipopolisakkarittir ve doğal mikobakteri enfeksiyonu sırasında antikor yanıtını indüklediği bilinmektedir.

Antijen olarak kord faktörü kullanan ELİSA testinin, akciğer tüberkülozu tanısında duyarlılığı %66,6-74,1 ve özgüllüğü %95,2-99,0 olarak bulunmuştur (71).

2-Antikor tespitine dayanan testler: Tüberkülozlu hastaların serumunda mikobakteri antijenlerine karşı oluşan antikorlar monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılarak tespit edilebilir. Çevresel mikobakteriler ile çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış pozitif test sonuçları alınabilmektedir.

3-İnterferon gamma (IFN- γ) üretiminin saptanması: Tüberküloz enfeksiyonunu doğru bir şekilde tespit edebilmek için M. tuberculosis'e karşı duyarlılaşmış T lenfositlerinin, in vitro kan testleri ve in vivo deri testleri ile tespit edilmesine dayalı testler geliştirilmiştir. Periferik kandan elde edilen mononükleer hücreler, in vitro şartlarda uyarılır ve duyarlılaşan T lenfositlerinden salınan interferon gama (IFN- γ) üretimi ELİSA veya ELİSPOT ile ölçülür.

PPD yanıtından sonra, kanda IFN- γ tespiti yapan testler (QuantiFERON TB Gold/T-SPOT™-TB testleri) geliştirilmiş ve bunların tüberküloz tanısında yayma ve kültür yerine kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu testlerde; M.tuberculosis, M. avium ve M. bovis'den elde edilen PPD'lerle stimulyasyondan sonra, tam kandaki T lenfositleri tarafından üretilen IFN- γ saptanır.

Plevra tüberkülozunda IFN- γ duyarlılığının %85,7 ve özgülüğünün %97,1 olduğu kültür ve plevra biyopsisi ile doğrulanmıştır. HIV pozitif ve negatif hasta sonuçları da benzerdir. Rekombinant antijenler kullanılarak BCG aşılılarda etkileşim engellenmiştir. İn vivo deri testlerinden PPD'ye alternatif olarak kullanılan ESAT-6 (early secretory antigen target) ve CFP-10 (culture filtrate protein) gibi antijenler de, IFN- γ indüksiyonu amacıyla kullanılmıştır. ESAT-6, özgül bir antijen ve tüberkülozlu hastalarda T lenfositleri tarafından üretilen IFN- γ 'nın güçlü bir indükleyicisidir. M. tuberculosis genomunda RD ile gösterilen farklı bölgeler bulunur, M.bovis genomundaki RD bölgeleri silinmiştir. ESAT-6 antijeni tüberküloz hastalarının T lenfositleri tarafından tanınırken, BCG ile aşıllı veya aşısız sağlıklı kişilerin T lenfositlerince tanınamamaktadır. Tedavi

edilmeyen hastalara göre tedavi edilen tüberkülozlu hastalarda IFN- γ düzeyi artar ve bu durum tüberküloza bağışıklık yanıtını gösterir (72).

Adenozin deaminaz (ADA)

Plevra, periton, perikard ve beyin-omurilik sıvılarında, bu boşluklarda tüberküloz bulunduğu zaman ADA düzeyinin yükselmiş olduğu belirlenmiştir. Tüberküloz menenjit olgularında ADA düzeyinde anlamlı ölçüde artış saptanmıştır(13,62).

Tedavi

Çocuklarda son dönemdeki yayınlarda akciğer ve akciğer dışı hastalığın çoğu şeklinde tedavi boyunca INH ve rifampisin, ayrıca ilk iki ayda pirazinamid eklenmesi ile altı aylık rejimlerin kullanılabileceği belirtilmiştir(73).

Amerikan Toraks Derneği ve Amerikan Pediatri Akademisi bebekler ve çocuklarda milier, menejit ve kemik-eklem hastalığına 12 aylık tedavi önermiştir(74).İlaç direncinin yüksek olduğu bilinen topluluklarda başlangıçta dört ilaç tedavisi uygundur.

Pediyatrik tüberküloz uzmanları çocukların subjektif olarak ilaçların çoğuna erişkinlerden daha tahammüllü olduklarını ve daha az toksik reaksiyon gösterdiklerini vurgulamaktadırlar(75). Ancak periyodik kontroller yapılmalıdır.

Yan etkiler

- INH: Hepatotoksisite, periferel nörit, aşırı duyarlılık,
- Rifampisin: Hepatotoksisite, trombositopeni, kusma,
- Pirazinamid: Hepatotoksisite,
- Streptomisin: Ototoksisite, nefrotoksisite, döküntü,
- Etambutol: Optik nörit, görme keskinliğinde azalma, döküntü,

Tedavide kortikosteroidlerin rolü:

Kortikosteroidlerin tüberküloz menejitin morbidite ve mortalitesini azaltmada yararı gösterilmiştir(76,77). 4-8 hafta süreyle 1-2 mg/kg prednizon kullanılır.

Kortikosteroidler dispne ve yüksek ateş ile birlikte görülen geniş plevral enfüzyonlarda da rahatlama sağlayabilir(78).

Peribronşiyal ya da endobronşiyal tüberküloz lenfadenite bağlı bronş basısını azaltmakta da kortikosteroidlerin yararı olabilir.

Koruyucu kemoterapi

Bebekler ve çocuklar eğer tüberkül basili ile infekte olmuşlarsa hastalık gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. Bu nedenle onlar koruyucu tedavi için öncelikli adaylardır. İnfekte çocukların çoğunluğunun belirlenme yöntemi evde aktif tüberkülozlu ebeveynler ya da diğer erişkinlerin temaslı muayenesidir. Asemptomatik, primer kompleks tüberkülozlu çocuklarda INH koruyucu tedavisinin etkinliği açıkça gösterilmiştir.

Aşı uygulaması

Basil Calmette Guerin(BCG) canlı bir mikobakteri aşısıdır. Son 50 yılda tüberkülozu kontrol etmek amacıyla birkaç milyar insana uygulanmıştır. BCG M.tuberculosis ile çok yakın ilişkisi olan M.bovis'in zayıflatılmış bir suşudur.

Son dönemdeki vaka kontrol çalışmaları yenidoğana verilen BCG'nin 0-4 yaş arasında tüberkülozla infekte olmasını, TB menenjit, millier TB ve kemik TB'u gibi hastalıkların gelişme riskini azalttığını göstermiştir(79,80).

MATERYAL VE METOD

Çalışma Gruplarının Oluşturulması:

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Araştırma Projeleri Komisyonu(DÜAPK) tarafından 07-01-04 no'lu proje ile desteklenmiştir. Bu çalışmaya Mayıs 2007-Mayıs 2008 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Göğüs Kliniği ve Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği'nde yatırılarak takip edilen veya Çocuk Göğüs Hastalıkları Polikliniğine ayaktan başvuran hastalar alındı.

Grupların oluşturulma kriterleri:

1. Hasta grubu için (Grup 1): Akciğer veya akciğer dışı tüberküloz hastalığı olanlar,
2. Ev içi temaslılar için (Grup 2): Ailesindeki yetişkinlerde tüberküloz hastalığı olanlar,
3. Kontrol grubu için (Grup 3): Tüberküloz hastalığı ve temas öyküsü olmayanlar.

MATERYAL

PPD İÇİN:

1. Tuberculin PPD RT 23 SSI (Statemens Serum Institute, Denmark),
2. İnsülin enjektörü,
3. Milimetrik cetvel.

QuantiFERON-TB Gold İÇİN:

Tüpler:

- 1.Nil Control(Grey cap),
- 2.TB Antigen(red cap),
- 3.Mitogen Control(Purple cap).

ELİSA komponentleri:

1. Microplate stripleri,
2. Standart human IFN gama,
3. Green diluent,
4. Konjugasyon konsantratu,
5. Yıkama solüsyonu,
6. Enzim substrat solüsyonu,
7. Enzim stop solüsyonu.

Diğerleri:

1. İnkübatör,
2. Değişik volumlere uygun pipetler,
3. Deiyonize ya da distile su- 2 lt,
4. Microplate yıkayıcısı,
5. Microplate okuyucusu.

METOD

TCT' nin Uygulanması:

PPD çalışmaya alınan çocukların kollarının volar yüzeyine intradermal olarak yapıldı ve test 48–72 saat sonra değerlendirildi. Tüberkülin cilt testi için 5 IU PPD (Tuberculin PPD RT 23 SSI, Statens Serum Institute, Denmark, 5 PPD- S tüberkülin aktivitesinde) kullanıldı. Sonuçlar Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı'nın önerdiği şekilde yorumlandı:

BCG ile aşılanmışlarda:

- 0-5 mm negatif kabul edildi,
- 6-14 mm BCG' ye atfedildi,
- 15 mm ve üzeri pozitif kabul edildi.

BCG ile aşılanmamışlarda:

- 0-5 mm negatif kabul edildi,
- 6-9 mm şüpheli kabul edilerek 1 hafta sonra test tekrarlandı. Sonuçları 6-9 mm arasında olanlar negatif, 10 mm ve üzerindeki değerlerse pozitif kabul edildi.
- 10 mm ve üzeri pozitif kabul edildi.

QuantiFERON-TB Gold (In-Tube Method) Testinin Uygulanışı

QTF-G testi 1. basamak (kan örneklerinin alınması ve inkübasyonu) :

Her hasta için TB Antigen, Nil Control ve Mitogen Control içeren 3 çeşit tüpten oluşan bir set oluşturuldu. Her tüpe 0.8-1.2 ml kan alındı. Kan alındıktan sonra tüpler hızlı bir şekilde 5 saniye kadar çalkalandı. Daha sonra tüpler 37 derecede 16-24 saat inkübatöre yerleştirildi. Inkübasyondan sonra Eppendorf tüplerine alınan plazma ile ELISA basamağı çalışıldı.

QTF-G testi 2. basamak (ELISA): Green Dilüent, Kit Standardı, Plak ve örnekleri dolaptan çıkartılıp 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Konjugat 300 ul distile su ile sulandırıldı ve karıştırıldı. Konjugat dolapta 30 dk bekletildi. Standartı distile su ile sulandırıldı. Çalışma öncesinde örnekler 2 dk karıştırıldı. Işık almayacak şekilde 2 saat oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama solüsyonu, enzim substrat solüsyonu ve stop solüsyonu dolaptan çıkartılıp 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Yıkama solüsyonu ile her kuyu yıkandı. Enzim substrat solüsyonu her kuyuya pipet ile yerleştirildi ve 2 dk karıştırıldı. Işık almayacak şekilde 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. Stop solüsyonu eklendi ve karıştırıldı. 5 dk içinde ELISA cihazı ile 450 nm ana, 620-650 ref filtre ile okundu.

Verilerin QuantiFERON-TB Gold Analysis Software programına girişi yapılarak negatif ve pozitif sonuçlar elde edildi.

QuantiFERON-TB Gold (QTF-G) Testi:

QTF-G testi, spesifik TB antijenleri ile inkübe edilmiş kandan elde edilen plazmadaki γ -IFN düzeyini ölçerek, TB enfeksiyonuna karşı gelişen hücre aracılıklı cevabı in vitro koşullarda saptar.

QTF-G testinde kullanılan TB'a spesifik antijenler ESAT-6 ve CFP-10'dur. Her iki antijen de NTM'lerin çoğunda (M. kansassii, M. szulgai ve M. marinum hariç) ve hiçbir BCG suşunda bulunmamaktadır. Yani QTF-G testi, BCG aşıllılar ve M. kansassii, M. szulgai ile M. marinum hariç diğer NTM'ler ile oluşmuş enfeksiyondan dolayı gelişen TCT'teki yanlış pozitiflikleri ekarte edebilmektedir.

Kişide ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı γ -IFN cevabı testin cut-off değerlerinin üzerine çıkmışsa QTF-G testi pozitif kabul edilir. γ -IFN cevabı testin cut-off değerlerinin altında ise QTF-G testi negatif kabul edilir.

Mitojen (fitohemaglutinin) ile stimüle edilen plazma örneği her temaslı için bir pozitif kontrol teşkil etmektedir. Örneğin TB spesifik antijene pozitif cevap veren ancak mitojen cevabı olmayan temaslının sonucu geçersiz bir sonuç kabul edilmektedir. Çünkü kişi antijene cevap vermese bile mutlaka pozitif kontrole cevap vermelidir. Kan örneğinde ne mitojene ne de TB spesifik antijenlere karşı oluşmuş γ -IFN cevabı yeterli düzeyde saptanmadıysa test sonucu indeterminate 'belirsiz' kabul edilir.

ESAT-6 ve Nil kontrol ile uyarılan plazmalarda ölçülen γ -IFN konsantrasyon farkı (IU/mL) ve/veya CFP-10 ve Nil ile uyarılan plazmalarda ölçülen γ -IFN konsantrasyon farkı (IU/mL) $\geq 0,35$ ise test pozitifdir. Bu fark 0,35'den küçük ise Mitojen ve Nil kontrol ile uyarılan plazmadaki γ -IFN düzeyine (IU/mL) bakılır. Bu düzey $\geq 0,5$ ise test negatiftir. $<0,5$ ise indeterminate 'belirsiz' olarak kabul edilir.

Testte hatalı sonuçlara neden olabilecek teknik durumlar:

1. Heparin dışında başka bir antikoagulan kullanılması
2. Kan örneklerinin uygun olmayan transportu
3. Kan örnekleri alındıktan sonra ag ile inkübasyonuna kadar geçen sürenin 12 saatten fazla olması (mümkün olduğu kadar kısa sürede inkübe edilmelidir. Bu süredeki uzamaların γ -IFN cevabını düşürdüğü [%50'ye varan düşüşler] gösterilmiş.
4. İnkübasyon zamanı ya da sıcaklıklarında hatalar
5. Testte önerilen şekilde uygulanmayan tüm aşamalar

Çalışmamızdaki veriler değerlendirilirken olgularla ilgili QuantiFERON-TB Gold testi sonuçları, TCT sonuçları, BCG ile aşılama durumu ve diğer değişkenler Microsoft Excel 2003 programına girilmiştir. QTF-G ve TCT'ye ilişkin Cohen'in kappa katsayıları hesaplanmış ve yorumlanmıştır. Ayrıca bu testlere ilişkin duyarlılık, sensitivite, spesifisite, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve testin doğruluk oranları hesaplanmıştır. Bu değerleri bulmak amacıyla testlerle ilgili çapraz tablolar hazırlanmıştır. Yapılan istatiksel analizler çift yönlü hipotez ve yanılma olasılığı %5 dikkate alınarak yapılmıştır. İstatiksel değerlendirmeler SPSS software (version 15.0 SPSS Inc., Chicago, ILL.) paket programı ile değerlendirilmiştir.

Cohen'in kappa katsayısı iki değerleyici arasındaki karşılaştırmalı uyuşmanın güvenilirliğini ölçen bir istatistik yöntemidir. Cohen'in kappa ölçüsü bu uyuşmanın bir şans eseri olabileceğini de ele aldığı için basit yüzde orantı olarak bulunan uyuşmadan daha güçlü bir sonuç verdiği kabul edilir. Landis ve Koch (1977) elde edilen kappa (κ) değerlerini yorumlamak için şu tabloyu sunmuşlardır(81,82).

Tablo: Değişik Kappa değerlerinin yorumlanması

κ	Yorum
< 0	Hiç uyuşma olmaması
0.0 — 0.20	Önemsiz uyuşma olması
0.21 — 0.40	Orta derecede uyuşma olması
0.41 — 0.60	Ekseriyetle uyuşma olması
0.61 — 0.80	Önemli derecede uyuşma olması
0.81 — 1.00	Neredeyse mükemmel uyuşma olması

BULGULAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Göğüs Kliniği ve Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde yatarak takip edilen veya Çocuk Göğüs Hastalıkları Polikliniğine ayaktan başvuran 300 çocuktan kan alınıp Dicle Üniversitesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıldı. İlk gün TCT de uygulandı ve 48-72 saat sonra değerlendirildi.

Çalışmamızda 49 çocuğun QuantiFERON-TB Gold testi sonucu indeterminate bulunduğu için bunlar değerlendirmeye alınmamıştır. Çalışmaya 55 hasta, 84 ev içi temas öyküsü olan çocuk ve 112 sağlıklı çocuk olmak üzere toplam 251 kişi dahil edildi.

Grup 1(n=55): Aktif akciğer ve akciğer dışı tüberküloz hastalarından oluşan bu grupta; QuantiFERON-TB Gold testi 51(%92.72) olguda pozitif iken, 4(%7.27) olguda ise negatif sonuç elde edilmiştir(Tablo 1). TCT testi 31(%56.36) olguda pozitif iken, 24(%43.63) olguda negatif sonuç bulunmuştur(Tablo 2).

Tablo 1:Hastalarda QTF-G Testi Sonuçları

		Hastalık		
		Var	Yok	Toplam
QTF-G	Poz.	51	36	87
	Neg.	4	160	164
Toplam		55	196	251

Kappa = .615 p<0.001

Sensitivite(Özgünlük) = %92.72

Spesifisite(Özgüllük) =%81.63

Pozitif prediktif değer = %58.62

Negatif prediktif değer = %97.56

Testin doğruluk oranı = %84.06

QTF-G için hesaplanan kappa katsayısı (0.615) ile pozitif ve negatif değerlerin mükemmel uyum içerisinde oldukları saptanmıştır. Bu uyumun istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur($p<0.001$). Ayrıca QTF-G için sensitivitenin %92.72 ve spesifitenin %81.63 gibi yüksek oranlarda oldukları bulunmuştur.

Tablo 2: Hastalarda TCT Sonuçları

		Hastalık		
		Var	Yok	Toplam
TCT	Poz.	31	77	108
	Neg.	24	119	143
Toplam		55	196	251

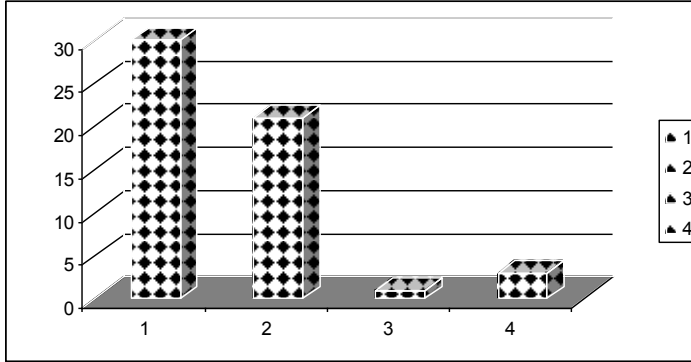
Kappa = .127 $p=.024$
Sensitivite(Özgünlük) = %56.36
Spesifite(Özgüllük) = %60.71
Pozitif prediktif değer = %28.70
Negatif prediktif değer = %83.21
Testin doğruluk oranı = %59.76

TCT için hesaplanan kappa katsayısı (0.127) ile pozitif ve negatif değerlerin zayıf uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca TCT için sensitivite %56.36 ve spesifite %60.71 olarak bulunmuştur. Dolayısı ile hasta grubunda QTF-G testi daha sensitif ve spesifik olarak bulunmuştur.

30(%54.54) hastada hem QTF-G hem de TCT pozitif bulunmuştur. 21(%38.18) hastada QTF-G pozitif iken TCT negatif bulunmuştur. 1(%1.81) hastada QTF-G negatif, TCT pozitif iken 3(%5.45) hastada ise QTF-G ve TCT negatif olarak bulunmuştur(Tablo 3 ve Grafik 1).

Tablo 3:Hastalarda TCT ve QTF-G Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

			QTF-G		
Hastalık			Poz.	Neg.	Toplam
Var	TCT	Poz.	30	1	31
		Neg.	21	3	24
	Toplam		51	4	55
Yok	TCT	Poz.	15	62	77
		Neg.	21	98	119
	Toplam		36	160	196



Grafik 1:Hastalarda QTF-G Testi ve TCT Uyum Grafiği

1:QTF-G(+) TCT(+)

2:QTF-G(+) TCT(-)

3:QTF-G (-) TCT(+)

4:QTF-G (-) TCT(-)

21(%38.18) hastada BCG skarı mevcuttu. 34(61.81) hastada BCG skarı görülmedi. Hastaların 11'inde(%20.00) BCG skarı varken beraberinde TCT de pozitif bulunmuştur. 10(18.18) hastada BCG skarı varken TCT negatif

bulunmuştur. 20(%36.36) hastada BCG skarı görülmezken TCT pozitif saptanmıştır. BCG skarı olmayan 14(%25.45) hastada TCT de negatif saptanmıştır(Tablo 4).

Tablo 4:Hastalarda BCG ile TCT Sonuçlarının Karşılaştırılması

			BCG Skarı		
Hastalık			Var	Yok	Toplam
Var	TCT	Poz.	11	20	31
		Neg.	10	14	24
	Toplam		21	34	55
Yok	TCT	Poz.	43	34	77
		Neg.	75	44	119
	Toplam		118	78	196

Grup 1'deki 18(%32.72) BCG skarı olan hastada QTF-G testinde pozitif sonuç elde edilmiştir. 3(%5.45) BCG skarı olan hastada QTF-G testi negatif tespit edilmiştir. QTF-G testinin pozitif olduğu 33(%60.00) hastada BCG skarı görülmedi(Tablo 5).

Tablo 5:Hastalarda BCG ile QTF-G Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

			BCG Skarı		
Hastalık			Var	Yok	Toplam
Var	QTF-G	Poz.	18	33	51
		Neg.	3	1	4
	Toplam		21	34	55
Yok	QTF-G	Poz.	19	17	36
		Neg.	99	61	160
	Toplam		118	78	196

Grup 2(n=84): Ev içi temas öyküsü olan olguların yer aldığı bu grupta;27(%32.14) olguda QTF-G testi pozitif bulunmuştur. 57(%67.85) olguda ise QTF-G testi negatif tespit edilmiştir(Tablo 6). Ev içi temas öyküsü olan 32(%38.09) olguda TCT pozitif iken, 52(%61.90) olguda ise TCT negatif bulunmuştur(Tablo 7).

Tablo 6:Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda QTF-G Testinin Sonuçları

		Ev İçi Temas		
		Var	Yok	Toplam
QTF-G	Poz.	27	60	87
	Neg.	57	107	164
Toplam		84	167	251

Kappa = -.038 p=.552

Sensitivite: %32.14

Spesifisite: %64.07

QTF-G için hesaplanan kappa katsayısı(-0,038) ile pozitif ve negatif değerler arasında uyumsuzluk saptanmıştır. Bu sonuç anlamsız bulunmuştur(p=0.552). Sensitivite oranı %32.14 ve spesifisite oranı %64.07 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 7:Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda TCT Sonuçları

		Ev İçi Temas		
		Var	Yok	Toplam
TCT	Poz.	32	76	108
	Neg.	52	91	143
Toplam		84	167	251

Kappa = -.069 p =.263

Sensitivite: %38.09

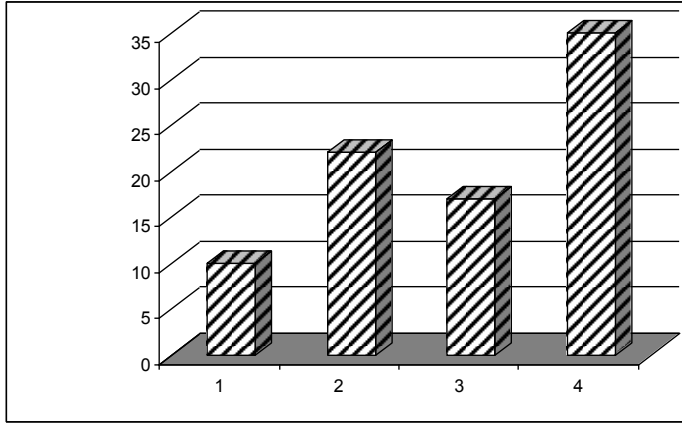
Spesifisite: %54.49

TCT için kapp katsayısı -0,069 olarak bulunmuştur ve pozitif ve negatif değerler arasında uyumsuzluk saptanmıştır. Ancak istatiksel olarak sonuçlar anlamlı bulunmuştur($p=0,263$). Testin sensitivitesi %38.09, spesifisitesi %54.49 olarak bulunmuştur. Grup 2’de QTF-G testinin spesifisite oranı daha yüksek iken, sensitivite oranı daha düşük bulunmuştur.

Ev içi temas öyküsü olan 10(%11.90) olguda TCT ve QTF-G testi birlikte pozitif bulundu. 22(%26.19) olguda TCT pozitif iken QTF-G testi negatif tespit edildi. 17(%20.23) olguda QTF-G testi pozitif iken TCT negatif saptandı. 35(%41.66) olguda her iki test de negatif bulundu(Tablo 8 ve Grafik2).

Tablo 8: Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda TCT ve QTF-G Testinin Karşılaştırılması

Ev İçi Temas	QTF-G		TCT		Toplam
			Poz.	Neg.	
Var	QTF-G	Poz.	10	17	27
		Neg.	22	35	57
	Toplam		32	52	84
Yok	QTF-G	Poz.	35	25	60
		Neg.	41	66	107
	Toplam		76	91	167



Grafik 2:Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda QTF-G Testi ve TCT Uyum Grafiği

1:QTF-G(+) TCT(-)

2:QTF-G (-) TCT(+)

3:QTF-G(+) TCT(-)

4:QTF-G (-) TCT(+)

Ev içi temas öyküsü olan 41(%48.80) olguda BCG skarı mevcuttu. 43(%51.19) olguda ise BCG skarı görülmedi. Grup 2'deki 15(%17.85) olguda BCG skarı varken beraberinde QTF-G testi pozitif bulundu. 26(%30.95) olguda BCG skarı varken QTF-G testi negatif tespit edildi(Tablo 9).

Tablo 9:Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda BCG ile QTF-G Testinin Karşılaştırılması

		BCG Skarı		
Ev İçi Temas	QTF-G	Var	Yok	Toplam
Var	QTF-G Poz.	15	12	27
	Neg.	26	31	57
	Toplam	41	43	84
Yok	QTF-G Poz.	22	38	60
	Neg.	76	31	107
	Toplam	98	69	167

Ev içi temas öyküsü olan 17(%20.23) olguda BCG skarı varken beraberinde TCT pozitif bulundu. 24(%28.57) BCG skarı olan olguda ise TCT negatif bulundu. Bu gruptaki 15(%17.85) BCG skarı olmayan olguda TCT pozitif tespit edildi.(Tablo 10).

Tablo 10: Ev İçi Temas Öyküsü Olan Olgularda BCG ile TCT Sonuçlarının Karşılaştırılması

			BCG Skarı		Toplam
	TCT		Var	Yok	
Ev İçi Temas					
Var	TCT	Poz.	17	15	32
		Neg.	24	28	52
	Toplam		41	43	84
Yok	TCT	Poz.	37	39	76
		Neg.	61	30	91
	Toplam		98	69	167

Grup 3(n=112): Tüberküloz temas öyküsü olmayan sağlıklı çocukların yer aldığı bu grupta; 10(%8.92) olguda QTF-G testi pozitif bulundu. 102(%91.07) olguda ise QTF-G testi negatif tespit edildi(Tablo 11).

QTF-G testi için hesaplanan kappa katsayısı(0.243) ile pozitif ve negatif değerler arasında orta derecede uyum olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir($p<0.001$). Testin sensitivitesi %8.92, spesifisitesi ise %67.85 olarak bulunmuştur.

Tablo 11:Ev İçi Temas Öyküsü & Hastalık & QTF-G Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Hastalık			Ev İçi Temas		Toplam
			Var	Yok	
Yok	QTF-G	Poz.	27	10	37
		Neg.	57	102	159
	Toplam		84	112	196

Kappa= .243 p< .001

Sensitivite: %8.92

Spesifisite: %67.85

Grup 3'teki 45(%40.17) olguda TCT pozitif bulunurken, 67(%59.82) olguda ise TCT negatif bulundu(Tablo 12). TCT için hesaplanan kappa katsayısı(-0.013) ile pozitif ve negatif değerler arasında uyumsuzluk saptanırken, bu sonuç istatistiksel olarak da anlamsız bulunmuştur(p=0.857). Testin sensitivitesi %40.17, spesifisitesi %61.90 olarak tespit edilmiştir.

Grup 3 için QTF-G testinin spesifisite oranı daha yüksek saptanmıştır. Ancak sensitivite oranı belirgin olarak daha düşük saptanmıştır.

Tablo 12: Ev İçi Temas Öyküsü & Hastalık & TCT Sonuçlarının Karşılaştırılması

Hastalık			Ev İçi Temas		Toplam
			Var	Yok	
Yok	TCT	Poz.	32	45	77
		Neg.	52	67	119
	Toplam		84	112	196

Kappa= -.013 p= .857

Sensitivite: %40.17

Spesifisite: %61.90

Tablo 13:TCT &QTF-G & BCG İle Aşılanma Durumlarının Karşılaştırılması

BCG			QTF-G			
			Poz.	Neg.	İndeter- minate	Toplam
Poz.	TCT	Poz.	17	36	10	63
		Neg.	21	65	19	105
	Toplam		38	101	29	168
Neg.	TCT	Poz.	29	25	9	63
		Neg.	20	38	11	69
	Toplam		49	63	20	132

a-BCG ile aşılanmış olanlar(n=139): 17(%12.23) olguda TCT ve QTF-G testi pozitif bulunurken; 21(%15.10) olguda QTF-G testi pozitif, TCT ise negatif saptanmıştır. 36(%25.89) olguda TCT pozitif, QTF-G testi negatif bulunmuştur. 65(%46.76) olguda ise her iki test de negatif bulunmuştur.

b-BCG ile aşılanmamış olanlar(n=112): 29(%25.89) olguda TCT ve QTF-G testi pozitif bulunmuştur. 20(%17.85) olguda QTF-G testi pozitif, TCT ise negatif saptanmıştır. 25(%22.32) olguda TCT pozitif, QTF-G testi ise negatif saptanmıştır. 38(%33.92) olguda ise her iki test de negatif saptanmıştır.

QTF-G testi sonucu indeterminate olarak tespit edilen 49 olgu istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir. Bunlar incelendiğinde;10(%20.40) olguda BCG ve TCT pozitif bulunurken; 19(%38.77) olguda ise BCG pozitif, TCT negatif saptanmıştır. 9 olguda(%18.36) BCG negatif, TCT ise pozitif bulunmuştur. 11(%22.44) olguda ise hem BCG hem de TCT negatif saptanmıştır. Detaylı incelemelerde 49 olgudan 2'sinin akciğer tüberkülozu nedeniyle takip edildiği, 6

olgunun ise ev içi temas öyküsü olduğu tespit edilmiştir. 2 hastadan 1'inde BCG pozitif TCT ise negatif bulunurken; diğer hastada hem BCG hem de TCT negatif saptanmıştır.

TARTIşMA

Dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ü Mycobacterium ile infektidir. Bu nedenle tüberkülozun erken ve doğru tanısı tüberküloz kontrolünde ve tedavisinde oldukça önemlidir. Tüberküloz tanısında altın standart, klinik değerlendirme, balgam incelemesi ve mikobakteriyel kültür pozitifliğidir. Ancak çocukluk çağı tüberküloz ve ekstrapulmoner tüberkülozun tanısında güçlükler vardır.

Tüberkülozun bilinen ilk immünolojik tanı aracı TCT yüzyılı aşkın süredir geçerliliğini korumaktadır. Ancak TCT'nin gerçek sensitivite ve spesifitesinden bahsetmek güçtür (83).

TCT'nin uygulamasında; hastaya iki ziyaret gerektirmesi, uygulama ve yorumlamadaki hatalar ile yorum farklılıkları, BCG aşılması ve non tüberküloz mikobakteri enfeksiyonlarından kaynaklanan yanlış pozitiflikleri gibi dezavantajları nedeniyle tüberküloz enfeksiyonunu saptamada alternatif tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (84,85).

Halen önlenabilir enfeksiyon hastalıkları içinde birinci ölüm nedeni olan tüberkülozun tanısında 2000'li yıllarda yeni gelişmeler kaydedilmiştir. Bu açıdan, ESAT-6 'early secreted antigenic target 6 kD protein' ve CFP-10 'culture filtrate protein'adlı proteinlerin tanımlanması büyük bir gelişmedir (83,86). Bu proteinler Mycobacterium tuberculosis genomunda 'region of difference 1 (RD1)' bölgesinde kodlanmıştır ve BCG ile birçok non tüberküloz mikobakteride bulunmamaktadırlar(M. kansasii, M. szulgai ve M.marinum hariç). Bunun klinik avantajı; gerçek tüberküloz enfeksiyonunu, BCG aşıları kişilerde aşı etkisinden ve non tüberküloz mikobakteri enfeksiyonlarının büyük bir çoğunluğundan ayırt edebilmesidir. Latent tüberküloz enfeksiyonlu kişilerde Mycobacterium

tuberculosis'a spesifik bu gibi antijenlere cevap olarak memory T-hücreleri γ -INF üretirler.

Çalışmamızda kullandığımız QuantiFERON-TB Gold testi tüberküloz basili ile enfekte kişinin kanında ESAT-6 ve CFP-10 antijenleri ile in vitro olarak salgılanan γ -INF'u ELISA yöntemiyle saptama esasına dayanmaktadır.

QTF-G testte ESAT-6 ve CFP-10 antijenleri eklenmeden önce test QuantiFERON-TB adıyla anılmaktaydı. QuantiFERON-TB (QTF)'de ESAT-6 ve CFP-10 yoktu, ancak onların yerine insan (*Mycobacterium tuberculosis*) ve avian (*Mycobacterium avium*) PPD'leri eklenmişti. Ayrıca yine QTF-G testte olduğu gibi Mitojen ve Nil kontroller (pozitif ve negatif kontroller) vardı. Tespit edilen göreceli γ -INF seviyeleri bireyin *Mycobacterium tuberculosis* kompleks organizmaları ile enfekte olup olmadığını göstermekteydi. Avian PPD'ye karşı oluşan reaksiyon ile de, *Mycobacterium avium* complex'e karşı hücresel bağışıklık cevabı olan bireylerin ayırımının yapılmasında yardımcı oluyordu.

RD1- γ IFN'a dayalı testlerde diğer bir yöntem de ELISPOT'tur (enzyme linked immunospot assay). ELISA yöntemiyle uygulanan QTF-G testte ESAT-6 gibi spesifik tüberküloz antijenleri ile CD4 T hücrelerden salgılanan γ -INF seviyeleri tespit edilirken, ELISPOT yöntemi ise ESAT-6'ya spesifik γ -INF salgılayan CD4 T hücrelerin saptanması esasına dayanır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz QTF-G test sonuçlarını hem aynı test ile çalışmalar yapmış araştırmacıların sonuçları ile hem de QuantiFERON-TB(QTF) testi ve ELISPOT yöntemini kullanmış bazı araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırdık.

Brock ve arkadaşları 125 (40 BCG aşılı, 85 BCG aşısız) tüberküloz temaslısını, latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI) açısından QTF-G ve TCT'ni kullanarak değerlendirmişlerdir. LTBI'nu açısından QTF-G ve TCT'nin uyumu iyi bulunmuştur ($\kappa=0,86$, %94) (87).

Katial ve arkadaşlarının çalışmasında 40 kişinin TCT (20 olgunun negatif, 20 olgunun pozitif) ile QTF testi sonuçları değerlendirilmiştir, invivo ve invitro olan bu iki testin uyumu iyi bulunmuştur ($\kappa=0,73$) (88).

Mazurek ve arkadaşları, 1226 kişinin TCT ve QTF testi değerlerini, TB riskine göre dört gruba ayırdıkları bir çalışmada karşılaştırmışlardır. TCT ve γ -INF testinin uyumu iyi (%83,1, $\kappa=0,60$) olarak bulunmuştur. Ancak TCT testi pozitif olanlarda uyum (QTF testinin de pozitif olması) %65 iken, TCT testi negatif olanlarda uyum (QTF testinin de negatif olması) %90 olarak bulunmuştur (89).

Converse ve arkadaşlarının IV ilaç kullanıcıları üzerinde yaptığı 1997 yılına ait bir çalışmada TCT pozitif olan grupta hem HIV-seropozitif ve hem de HIV-seronegatif kişilerde QTF testinin uyumu %89-%100 olarak saptanmıştır. Anergisi olan grupta ölçülen γ -INF seviyesinin, hücre aracılıklı immün cevabı cilt testine göre daha iyi belirlediği gösterilmiştir (90).

Pottumarthy ve arkadaşları tüberküloz riskine göre 455 kişiyi tüberküloz enfeksiyonu açısından risk gruplarına göre üç gruba ayırarak TCT ile QTF testinin uyumunu araştırmıştır. Kappa değeri göçmenlerde (237 kişi) 0,55, aktif TB açısından tetkik edilen hastalarda (91 kişi) 0,65 ve sağlık çalışanlarında (127 kişi) 0,48 saptanmıştı. Buna göre TCT ile QTF testinin uyumu iyi bulunmuştur (91).

Yukarıdaki çalışmalarda elde edilen benzer verilere göre TCT pozitif ve QTF testi negatif olan sonuçlar; NTM ile maruziyet ya da BCG aşılması lehine değerlendirilmiştir. TCT negatif QTF testi pozitif olan sonuçlar ise; QTF testinin cilt testine göre daha sensitif oluşuna bağlanmıştır.

Lee ve ark. (92) prospektif olarak 2 exvivo hücrel interferon (INF-gamma) yanıtına dayanan kan testi ile TDT'ni 87'si aktif tüberkülozlu ve 131'i risk grubunda olmak üzere toplam 218 kişide karşılaştırmışlardır. QFT-G testinin özgüllüğü, T-SPOT™.TB'den daha yüksek olmasına rağmen (%91.6, %84.7), bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.13$). M. tuberculosis enfeksiyonunun tespiti için, INF- gamma ölçen iki testin performansında bazı farklar olmasına rağmen, her ikisi de TDT' ne göre üstün bulunmuşlardır.

Streeton ve arkadaşları, 1998 yılında yayımladıkları 952 kişilik çalışmada, QTF testinin tanı değerini TCT ile karşılaştırarak araştırmışlardır. QTF testin sensitivitesini %90, spesifitesini %98 olarak saptamışlardır. QTF testin latent tüberküloz enfeksiyonunu erken saptamada (BCG aşıllı populasyon da dahil olmak üzere), TCT'ne göre daha yüksek spesifite ve sensitivitesi olduğu sonucuna varmışlardır. Aynı araştırmacılar testi aktif tüberküloz hastalığı olan ve daha önce tedavi edilmiş tüberküloz olgularında uygulamışlar; aktif hastalıkta %83, daha önce tedavi edilmiş olgularda %59 pozitiflik saptamışlar ve bu sonuçlara göre γ -INF düzeyinin tedavinin etkinliğini izlemede faydalı olabileceği olasılığı üzerinde durmuşlardır (83).

Çalışmamızda 84 ev içi temasının QTF-G test sonuçları değerlendirildi ve TCT ile karşılaştırıldı. Bu grupta QTF-G testinin spesifite oranı daha yüksek(%64.07-%54.49), sensitivite oranı daha düşük bulunmuştur(%32.14-%38.09).

INF- γ yanıtına dayalı testler ile aktif tüberkülozlu hastalarda ve latent enfeksiyon riski yüksek olan asemptomatik bireylerdeki M. tuberculosis enfeksiyonunun hızlı tespitine imkan sağladığı, aynı zamanda BCG aşılması ile M. tuberculosis enfeksiyonu ayırımını başarıyla gerçekleştireildiğini göstermektedir. Bu durum, endemik bölgelerde tüberküloz kontrolünü kolaylaştırmaktadır. Zambia’ da yapılan benzer bir çalışmada ; HIV pozitif ve negatif hastalarda LTBI tespitinde ELISPOT testinin duyarlılığı %90–100 arasında bulunmuş ve immünsuprese hastalarda LTBI’ unun tespitinde TDT’ ye göre daha duyarlı ve özgül olduğunu saptamışlardır.

Elimizde LTBI’nu saptayacak altın standart olmamasına rağmen, özellikle BCG aşıllı popülasyonda QTF-G testinin LTBI’nu saptamada TCT’ne göre daha belirleyici olduğunu düşünüyoruz. Testin negatif prediktif değerinin yüksek olması, ülkemizde olduğu gibi BCG aşısının rutin olarak uygulandığı popülasyonlarda, QTF-G testin negatif bulunduğu bireylere gereksiz profilaktik tedavi uygulanmasını engellemiş olacaktır. Sonuçlarımıza göre BCG aşıllı 36 kişide TCT pozitif sonuç verirken, QTF-G testi negatif bulunmuştur. Dolayısıyla bu çocuklar TCT’ne göre gereksiz profilaksi almış olacaktı. Aşıllı olan gruptaki 21 çocukta TCT negatif iken QTF-G testinin pozitif bulunması dikkat çekicidir(Tablo 13).

Doherty TM. ve ark.(93) yaptıkları çalışmada; tüberküloz hastalarıyla teması bulunan, tüberküloza bağlı herhangi bir belirtisi olmayan ve enfeksiyona ilişkin radyolojik veya başka herhangi bir bulgusu olmayan, 24 sağlıklı kişiyi 2 yıl boyunca takip etmişlerdir. Tüberküloz hastalığı geliştiren 7 temasının 6’sı (%86) çalışma başlangıcında ESAT–6’ ya pozitif yanıt vermiş, diğer grupta ise sadece 3 temaslı (%18) pozitif bulunmuştur (Bu 3 temasının 2’si semptomları olan ancak tüberküloz hastası oldukları mikrobiyolojik olarak kanıtlanamayan gruptadır).

Kolsuz ve ark. yaptıkları çalışmada, 223 tüberküloz temaslı bireyin 6 aylık takibi sonucunda bunların 4'ünde (%1,8) tüberküloz hastalığı tespit etmişlerdir. Geri kalan 219 temaslıdan 137'sine (%61,5) profilaktik tedavi verilmiştir. Profilaktik tedavi verilmeyen 82 temaslı 6 ay izlendi. 3. ayda 1 kişide(%1,2), 6. ayda 3 kişide (%4,2) olmak üzere toplam 4 kişide (%4,9) tüberküloz hastalığı saptanmıştır. Profilaksi alan 137 temaslının hiçbirinde aktif hastalık saptanmamış, tüm temaslılar değerlendirildiğinde ise ilk 6 ayda 8 (%3,6) olguda tüberküloz hastalığı bulunmuştur(94).

Johnson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise TCT ve QTF testi cevabının şiddeti arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Spearman korelasyon katsayısı=0,17; p=0,22) (95).

Arslan çalışmasında, profilaktik tedavi vererek takip ettikleri 380 olgunun 6'sında(%1.6) aktif tüberküloz hastalığı gelişmiştir. Tüberküloz hastalığı gelişen bu 6 temaslıdan 2'sinde(%33.3) TCT pozitif iken RD1-ELISPOT testi 5'inde(%83.3) pozitif bulunmuştur(96).

Katıal ve arkadaşları da PPD reaktörlerine karşı oluşan γ -INF yanıtı ile TCT endurasyonu arasında anlamlı korelasyon saptamamışlardır (Spearman korelasyon katsayısı=0,034; p=0,887). Sonuçlar arasında korelasyon kurulamamasının; örneklerin alınmasından inkübasyona kadar geçen zaman, inkübasyon süresi gibi, γ -INF düzeylerini kantitatif olarak etkileyebilecek zamanlama problemlerine bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir (88).

Brock ve arkadaşları hem BCG aşılı (n=40) hem de aşısız (n=85) tüberküloz temaslı olgularda BCG aşısının QTF-G teste etkisini araştırmışlardır. Aşılı olan bireylerde QTF-G testin, daha önceki BCG aşılamasından etkilenmediğini göstermişlerdir(87).

Çalışmamızda 139 BCG aşılı olgunun 101'inde QTF-G testinin negatif, 38'inde ise pozitif olduğu;112 BCG aşısız olgunun 63'ünde QTF-G testinin negatif, 49'unda pozitif olduğu saptandı. BCG aşısı ile QTF-G testi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Bu da ESAT-6 ve CFP-10 gibi tüberküloza spesifik antijenlerin kullanıldığı QTF-G testinin BCG aşılamasından etkilenmediğini göstermektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler sonucunda hasta grubunda QaantiFERON-TB Gold testinin TCT'ye göre anlamlı derecede daha duyarlı ve özgül olduğu saptanmıştır. Hasta grubunda TCT'nin özgüllüğü %60.71, QTF-G testinin özgüllüğü %81.63 olarak bulundu. Aynı grupta TCT'nin duyarlılığı %56.36, QTF-G testinin duyarlılığı ise %92.72 olarak saptanmıştır.

Ev içi temaslılarda QTF-G testinin TCT'ye göre daha özgül olarak bulunmuştur. QTF-G testinin özgüllüğü %64.07, TCT'nin özgüllüğü %54.49 olarak bulunmuştur. QTF-G testinin duyarlılığı %32.14, TCT'nin duyarlılığı ise %38.09 olarak tespit edilmiştir.

Temas öyküsü olmayan grupta da QTF-G testinin TCT'ye göre daha özgül olduğu tespit edilmiştir. QTF-G testinin özgüllüğü %67.85, TCT'nin özgüllüğü %61.90 olarak bulunmuştur. Aynı grupta QTF-G testinin duyarlılığı %8.92, TCT'nin duyarlılığı ise %40.17 olarak bulunmuştur.

SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda TCT ile γ -INF testinin (QuantiFERON-TB Gold) duyarlılık ve özgüllük oranları karşılaştırıldı. Tüm gruplarda QTF-G testi daha özgül bulundu. Grup 1'de QTF-G testi daha duyarlı bulunmuştur. Ayrıca QTF-G testinin BCG ile ortak antijenler taşımadığından, önceki BCG aşılamalarından etkilenmediği de gösterilmiştir. Yani doğru tanı konmasında ve kimlere tedavi verilmesi gerektiğinin saptanmasında QTF-G testinin TCT'den daha faydalı olduğu tespit edilmiştir.

QTF-G testinin maliyetinin yüksekliği, bir laboratuvar ortamı (ELISA cihazı vs.), yetişmiş personel ihtiyacı ve hastadan kan alınmasının gerekliliği gibi zorluklar söz konusudur. Ancak QTF-G testinin TCT'ine göre tek hasta viziti gerektirmesi, invivo değil invitro bir test olduğundan hastaya yabancı madde enjeksiyonuna gerek olmaması, uygulayıcı/gözlemci hatasından etkilenmemesi, yanlış pozitiflik oranının düşük olması, BCG aşılamasından etkilenmemesi ve Booster etkisi gözlenmemesi gibi üstünlükleri vardır (83,87).

TCT ile negatif sonuçların immünsüpresyona bağlı olup olmadığının saptamak mümkün değildir. Ancak γ -INF testlerinde pozitif kontrol eklenen mitojene cevap gözlenmemesi, TCT ile saptanması mümkün olmayan immünsüpresyona bağlı negatifliklerin de açığa çıkmasını sağlar (87).

Avantaj ve dezavantajları kıyaslandığında QuantiFERON-TB Gold testi (Cellestis Ltd., Carnegie, Victoria, Australia) uzun süreden beri kullandığımız tüberkülin cilt testine üstün ve iyi bir alternatif olabilecek gibi görünmektedir.

Buna göre;

1.QTF-G testinin özellikle materyale ulaşmanın zor olduğu, klinik olarak tüberküloz düşünülen ancak direkt mikrobiyolojik yöntemlerle tanı konulamayan çocuklarda yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü nedeniyle tanıda faydalı olabileceği,

2.Yüksek risk gruplarında(immünsuprese vb.) QTF-G testinin de yapılmasının uygun olacağı,

3.Ülkemizde olduğu gibi aşılanmanın rutin olarak yapıldığı ülkelerde QTF-G testinin TCT ile birlikte ve/veya TCT'nin doğrulanması amacıyla uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ü Mycobacterium ile infektidir. Bu nedenle tüberkülozun erken ve doğru tanısı tüberküloz kontrolünde ve tedavisinde oldukça önemlidir. LTBI' luların yaklaşık %10'unda hayatlarının bir döneminde aktif tüberküloz hastalığı gelişmektedir. Bu oran çocukluk yaş grubunda daha yüksektir. Ancak çocukluk çağı tüberküloz ve ekstrapulmoner tüberkülozun tanısında güçlükler vardır.

TCT testi yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlara yol açabilmektedir. Duyarlılığı, özgüllüğü ve yorumlanması halen tartışmalı olan TCT'den daha iyi olabilecek ve BCG aşılamaından daha az etkilecek yeni tanı yöntemleri için yapılan çalışmalar umut vericidir.

Çalışmamızda M.tuberculosis RD1 gen bölgesinden elde edilen ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı salgılanan IFN gamma düzeyini ELISA yöntemiyle ölçen QuantiFERON-TB Gold(Cellestis Ltd., Carnegie, Victoria, Australia) testi kullanılmıştır.

300 çocuktan kan alındı. Çalışmamızda tüberküloz enfeksiyonu tanısında, QTF-G testinin TCT' ne göre daha duyarlı (%92.72, %56.36) ve özgül (%81.63, %60.71) olduğu saptandı. Tüm gruplarda QTF-G testi daha özgül bulundu. Ayrıca QTF-G testinin BCG ile ortak antijenler taşımadığından, önceki BCG aşılamalarından etkilenmediği de gösterilmiştir. Yani doğru tanı konmasında ve kimlere tedavi verilmesi gerektiğinin saptanmasında QTF-G testinin TCT'den daha faydalı olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; ülkemizde olduğu gibi aşılanmanın rutin olarak yapıldığı ülkelerde, TCT ile birlikte ve/veya TCT' nin doğrulanması amacıyla uygulanabileceği; yüksek risk gruplarında TCT ile BCG arasındaki pozitif uyumun yüksek olması nedeniyle, QTF-G testinin yapılmasının uygun olacağı; klinik olarak tüberküloz düşünülen ancak direkt mikrobiyolojik yöntemlerle (Direkt mikroskopi, kültür) tanı konulamayan çocuklarda yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü nedeniyle tanıda faydalanılabileceği düşünülmüştür.

SUMMARY

Approximately 1/3 of world population is infected by mycobacterium organism. Earlier and accurate diagnosis is vital in the control and therapy of tuberculosis infection. Active tuberculosis disease may develop in %10 of patients with LTBI(Latent Tuberculosis Infection) in any period of their lifetime. Ratio of active tuberculosis development is higher in childhood period. Diagnosis of tuberculosis and extrapulmoner tuberculosis give rise to some diffuculties and may cause confusion in childhood period.

False negative and positive results may come into view in TST (Tuberculine Skin Test). There are some hopeful studies to offer more suitable diagnosis methods that has no controversial events as TST about its sensitivity, specifity and interpretation and that would not effect from BCG vaccination.

QuantiFERON-TB Gold (Cellestis Ltd., Carnegie, Victoria, Australia) test measuring IFN gamma levels secreted against to ESAT-6 ve CFP-10 antigens of RD1 gene zone of M.tuberculosis by ELISA method is used in our study.

Blood samples were collected from 300 children. Our study revealed out that QTF-G test is more sensitive (%92.72, %56.36) and spesific(%81.63, %60.71) than TST in the diagnosis of tubersulosis infection. QTF-G test was more spesific in whole groups. No common antigens are present between QTF-G test and BCG, that is way results of QTF-G test are not effected by BCG vaccination. QTF-G test is more suitable to establish accurate diagnosis and initiate therapy.

In conclusion, it would be proper to utilize QTF-G test together with TST and/or to confirm TST in countries that BCG vaccination is routinely applicated as it is current in our country because TST and BCG has positive interaction in patients with higher risk and QTF-G test, due to its high sensitivity and specifity, also would be more practical for children patients that has high suspicion of tuberculosis infection but may not confirmed by direct microbiological methods (Direct microscopy, culture).

KAYNAKLAR

1. http://www.who.int/tb/publications/globalreport/2006/pdf/full_report_correctedversion.pdf
2. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2006/pdf/eur.pdf
3. American Thoracic Society, 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.
4. Yağcı A. ESAT-6/CFP-10 Bazlı Elispot Tekniğinin Tüberküloz Tanısındaki Yeri, IV. Tüberküloz Sempozyumu 08.12.2005 Malatya Sempozyum Kitabı S: 91-97.
5. Health Protection Agency. Tuberculosis www.hpa.org.uk/infections/topics_az/menu.htm. Date last updated: December 2005. Date last accessed February. 24. 2006
6. Pai M. Alternatives to the tuberculin skin test: Interferon- γ assays in the diagnosis of Mycobacterium Tuberculosis infection. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2005;3: 151-158.
7. 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.
8. Mandalakas AM, Starke JR. Current concept of childhood tuberculosis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005;16:93-104.
9. Behr M., Wilson M., Gill W., Salomon H., et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole genome DNA microarray. *Science* 1999, 284: 1520-1523.
10. Andersen P., Munk ME., Pollock JM., Doherty TM. Specific immun-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000; 356: 1099-1104.
11. Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Setting, 2005
12. Iseman MD. Klinisyenler İçin Tüberküloz Kılavuzu. 2002;2: 21-49.
13. Kıyan M. Mycobacteriaceae. Ustaçelebi S, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji.

Ankara: Günes Kitabevi, 1999: 419–437.

14. Gümüşlü F, Ceyhan Ğ, Kocagöz T, Sönmez N. Tüberküloz laboratuvar rehberi. Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı, 1998: 1–20.

15. Barış İ. Son Bilgiler Işığında Tüberküloz. İnfeksiyon Bülteni, 1996; 23-9.

16. Drucker E, Alcabes P, Bosworth W, Sckell B. Childhood tuberculosis in the Bronx, New York. Lancet 1994; 343: 1482-1485.

17. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji, özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları. Mycobacteriaceae. Ğzmir: Barış Yayınları, 1994: 343–379.

18. Gedikoğlu S. Mycobacterium tuberculosis'in hücre yapısı. İnfeksiyon Derg 1997; 11(4: Ek yayın): 13–17.

19. Kocabaş A. Mikobakterilerin yapısal ve antijenik özellikleri. Kocabaş A ed. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Ankara: Emel Matbaası, 1991: 47.

20. 21. yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun. 2003: 34-47.

21. Mount FW, Ferebee SH. Preventive effects of isoniazid in the treatment of primary tuberculosis in children. N Engl J Med 196 1, 265: 713-721.

22. Rieder HL, Snider DE, Cauthen GM. Extrapulmonary tuberculosis in the United States. Am Rev Respir Dis 1990; 141: 347-351.

23. Aşçıoğlu SA, Hayran M. Tüberküloz. İnfeksiyon Bülteni 1996; 1(1): 5–8.

24. Anğ Ö, Erturan Z. Tüberkülozun dönüşü ve direnç sorunu. Anğ Ö, Uzun M, eds. Tüberküloz tanı, direnç, tedavi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 26, 1996: 17–25.

25. Li H, Ulstrup JC, Jonassen TO, Melby K, Nagai S, Harboe M. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of Mycobacterium bovis BCG. Infect Immun. 1993 May; 61 (5): 1730–4.

26. Mustafa AS, Amoudy HA, Wiker HG, Abal AT, Ravn P, Oftung F, Andersen P. Comparison of antigen-specific T-cell responses of tuberculosis patients using complex or single antigens of Mycobacterium tuberculosis. Scand J Immunol. 1998 Nov; 48(5): 535–43.

27. Nakamura RM, Velmonte MA, Kawajiri K, Ang CF, Frias RA, Mendoza MT, Montoya JC, Honda I, Haga S, Toida I. MPB64 mycobacterial antigen: a new skin test reagent through patch method for rapid diagnosis of active tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 1998 Jul;2(7): 541–6.
28. Andersen P, Andersen AB, Sorensen AL, Nagai S. Recall of long-lived immunity to *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *J Immunol.* 1995 Apr 1;154 (7): 3359–72.
29. Sorensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen AB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995 May;63(5):1710–7.
30. Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, Rosenkrands I, Andersen P. Evidence for occurrence of the ESAT–6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1996 Jan;64(1):16–22.
31. Non-tuberculosis mycobacteria. 1995–1996 EPINEWS 1997; Week 50, <http://www.ssi.dk/dk/epinyt/1997/uge50.htm>
32. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol.* 1996 Mar;178(5):1274– 82.
33. Skjot RL, Oettinger T, Rosenkrands I, Ravn P, Brock I, Jacobsen S, Andersen P. Comparative evaluation of low-molecular-mass proteins from *Mycobacterium tuberculosis* identifies members of the ESAT–6 family as immunodominant T-cell antigens. *Infect Immun.* 2000 Jan;68(1):214–20.
34. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, Garnier T, Gutierrez C, Hewinson G, Kremer K, Parsons LM, Pym AS, Samper S, van Soolingen D, Cole ST. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Mar 19;99(6):3684–9.

35. Lewis KN, Liao R, Guinn KM, Hickey MJ, Smith S, Behr MA, Sherman DR. Deletion of RD1 from Mycobacterium tuberculosis mimics bacille Calmette-Guerin attenuation. J Infect Dis. 2003 Jan 1;187(1):117–23.
36. Michael D. Iseman. Klinisyenler için Tüberküloz Kılavuzu. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002; 63–96
37. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, editors. Basic and Clinical Immunology. Seventh Edition. A Lange Medical Book. 1991;78–100.
38. Moore M, Dawson MM. Interferons. In: Dale MM, Fareman JC, editors. Textbook Immunopharmacology. Second Edition. Blackwell Scientific Publications. 1989:324-35.
39. Paul EW. Fundamental Immunology. Second Edition. New York: Raven Press Ltd., 1989. 622-623.
40. Shimokata K, Kawachi H, Kishimoto H, Maeda F, Ito Y. Local cellular immunity in tuberculosis pleurisy. Am Rev Respir Dis 1982;126: 822–824.
41. Shimokata K, Kawachi H, Kishimoto H, Maeda F, Ito Y. Local cellular immunity in tuberculosis pleurisy. Am Rev Respir Dis 1982;126:622-623.
42. Farrar WL, Johnson HM, Ferrar JJ. Regulation of the production of immune interferon and cytotoxic T-lymphocytes by interleukin-2. J Immunol 1981; 126:1120-1125.
43. Tsudo M, Uchiyama T, Uchino H. Expression of Tac Antigen on activated normal human B cells. J Exp Med 1984;160:612-617.
44. Mısırlıgil Z. Tüberküloz immünolojisi. Kocabas A, editor. Tüberküloz kliniği ve kontrolü. Adana:Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991:73-78.
45. Djeu JY, Heinbaugh JA, Holden HT, Herberman RB. Augmentation of Mouse naturel killer cell activity by interferon and interferon inducers. J Immunol 1979;122:175

- 46.Kochi A. The global tuberculosis situation and new control strategy of the WHO. *Tuberc Lung Dis* 1991;72:1-4
- 47.Centers for Disease Control and Prevention. Tuberculosis morbidity: United States, 1992. *MMWR* 1993;42:696-704.
- 48.McKenna MT, McCray E, Onorato I. The epidemiology of tuberculosis among foreign-born persons in the United States:1986-93. *N Engl J Med* 1995;332:1071-1076.
- 49.Foo AL, Tan KK, Chay OM. Congenital tuberculosis. *Tuberc Lung Dis* 1993;74:59-61.
- 50.Lee LH, LeVea CM, Graman PS. Congenital tuberculosis in a neonatal intensive care unit: case report, epidemiological investigation, and management of exposures. *Clin Infect Dis* 1998;27:474-477.
51. Kılıçturgay K. Tüberkülozda immünopatogenez. *İnfeksiyon Derg* 1997; 11 (4: Ek yayın): 7–10
52. Samuelson J. Infectious Diseases. Cotran RS, Kumar V, Collins T, eds. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia, 1999: 349–351.
53. Bayındır Ü. Solunum Sistemi Hastalıkları. Öbek A, ed. *İç Hastalıkları*, 3.baskı. Atlas Ofset, 1988: 427.
54. Balcı K. Göğüs hastalıkları: Plevra hastalıkları. 3. Baskı. Konya: Atlas Kitabevi,1993: 495–525.
55. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. *Medical Microbiology*. 20th eds. Connecticut: Prentice-Hall International Inc, 1995: 263.
56. Murray PR, Drew WC, Kobayashi GS, Thompson JH. *Medical Microbiology*. Wolfe Medical Publication Ltd, Mosby Company, 1990: 218.
- 57.Starke JR, Taylor-Watts KT. Tuberculosis in the pediatric population of Houston, Texas. *Pediatrics* 1989;84:28-35.
- 58.Berman S, Kibel MA, Fourie PB, Strebel PM. Childhood tuberculosis and tuberculous meningitis. *Tuberc Lung Dis* 1992;73:349-355.

59. Braun MM, Cauthen G. Relationship of the HIV epidemic to pediatric tuberculosis and BCG immunization. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:220-227.
60. Gutman LT, Moye J, Zimmer B, Tian C. Tuberculosis in HIV-exposed or-infected United States children. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:963-968.
61. Vallejo JG, Ong LT, Starke JR. Clinical features, diagnosis, and treatment of tuberculosis in infants. *Pediatrics* 1994;94:1-7.
62. Kocagöz T. Yeni laboratuvar yöntemleri ile tüberküloz tanısı. *enfeksiyon Derg* 1997;11(4:Ek yayın): 29-33.
63. Kasımoğlu Ö. Tüberküloz tanısında yeni gelişmeler. Anđ Ö, Uzun M eds. Tüberküloz tanı, direnç, tedavi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:26, 1996: 11–15.
64. de Blic J, Azevedo I, Burren CP, LeBourgeois M, Lallemand D, Scheinmann P. The value of flexible bronchoscopy in childhood pulmonary tuberculosis. *Chest* 1991;100:688-692.
65. Delacourt C, Gobin J, Gaillard J-L, Deblic J, Veron M, Scheinmann P. Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children. *Chest* 1993;104:393-398.
66. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Mycobacteria. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1997:703.
67. Roberts GD, Koneman EW, Kim YK. *Mycobacterium*. In: Hausler Wj, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. *Manuel of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991: 304–332
68. Keleşoğlu N. Tüberküloz tanısında bakteriyolojik yöntemler. Kocabas A ed. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Ankara: Emel Matbaası, 1991: 211–217.
69. Witebsky FG, Conville PS. The laboratory diagnosis of Mycobacterial diseases. *Infect Dis Clin North Amer* 1993; 7 (2): 359.
70. Bilgehan H. Klinik mikrobiyolojik tanı: Mycobacteriumlar. 2.Baskı. İzmir: Barış yayınları, 1995: 567–584.

71. Khomenko AG, Bayensky AV, Chernousova LN, Kulikovskaya NV, Demianenk NV, Litvinov VI. Serodiagnosis of tuberculosis: detection of mycobacterial antibodies and antigens. *Tuber Lung Dis.* 1996 Dec;77(6):510–5.
72. Charpin D, Herbault H. Value of ELISA using A60 antigen in diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Am Rev Resp Dis*, 1990, 142: 380–4.
73. Starke JR. Childhood tuberculosis. *Chest* 1993;104:329-330.
74. American Thoracic Society. Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1359-1374.
75. American Academy of Pediatrics. Chemotherapy of tuberculosis. *Pediatrics* 1992;89:161-165.
76. O'Toole RD, Thorton GF, Mukherjee MK, Nath RL. Dexamethasone in tuberculous meningitis. *Ann Intern Med* 1969;70:39-48.
77. Shaw PP, Wang SM, Tung SG, et al. Clinical analysis of 445 adult cases of tuberculous meningitis. *Chin J Tuberc Respir Dis* 1984;3:131,132.
78. Smith MHD, Matsamotis N. Treatment of tuberculous pleural effusions with particular reference to adrenal corticosteroids. *Pediatrics* 1958;22:1074-1087.
79. Packe GE, Innes JA. Protective effect of BCG vaccination in infant Asians: a case control study. *Arch Dis Child* 1988;63:277-281.
80. Houston S, Fanning A, Soskolne C, Fraser N. The effectiveness of BCG vaccination against tuberculosis: a case controlled study in Treaty Indians, Alberta, Canada. *Am J Epidemiol* 1990;131:340-348.
81. Landis, J. R. ve Koch, G. G. (1977) "The measurement of observer agreement for categorical
82. Sim, J. and Wright, C. C. (2005) "The Kappa Statistic in Reliability Studies: Use, Interpretation, and Sample Size Requirements" in *Physical Therapy*. Vol. 85, pp. 257--268

83. Streeton JA., et al. Sensitivity and Specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;26:443-450.
84. Barnes PF. Diagnosing Latent Tuberculosis Infection: Turning Glitter to Gold. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 5-6.
85. Huebner RE. Schein MF., Buss JB. Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis*. 1993 Dec;17(6):968-75.
86. Hirsch CS. et al. Depressed T cell gamma interferon responses in pulmonary tuberculosis: analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy. *J Infect Dis* 1999;180:2069-2073.
87. Brock I, Weldingh Karin, Lillebaek T. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:65-69.
88. Katial RK, Hershey Joyce, Purohit-Seth Tejashiri. Cell-mediated Immune Response to Tuberculosis Antigens: Comparison of Skin Testing and Measurement of IN Vitro Gamma Interferon Production in Whole-Blood Culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:339-345.
89. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL. Comparison of a Whole-Blood Interferon gamma assay with Tuberculin Skin Testing for Detecting Latent Mycobacterium Tuberculosis Infection. *JAMA* 2001;286:1740-1747.
90. Converse PJ, Jones SL, Astemborski J. Comparison of a tuberculin interferon-gamma assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of HIV infection. *J Infect Dis* 1997;176(1):144-50.
91. Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, Wells VC. Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. *J Clin Microbiol*. 1999;37:3229-3232.
92. Lee JY, Choi HJ, Park IN, et al. Comparison of two commercial interferon-gamma assays for diagnosing Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur Respir J*. 2006 Jul;28(1):24-30.

- 93.124-Doherty TM, Demissie A, et al. Immune responses to the Mycobacterium tuberculosis-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients. J Clin Microbiol. 2002 Feb;40 (2):704-6.
94. Kolsuz M, Küçükkebabçı C, Demircan N, Uçgun Ğ, Metintas M, Erginel S. Akciğer tüberkülozu olgularının yakın temaslılarının 6 aylık izlem sonuçları. Toraks Dergisi 2003;4:127-32.
- 95.Johnson PDR, Stuart RL, Grayson ML. Tuberculin-Purified Protein Derivative-,MPT-64, and ESAT-6- stimulated gamma interferon responses in medical students before and after Mycobacterium bovis BCG vaccination and the patients with tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol. 1999;6:934-937.
- 96.Dr.Zeliha Arslan Tüberküloz Hastası İle Temaslı Çocuklarda, INH Profilaksisinin Elispot Yöntemi İle Değerlendirilmesi Uzmanlık Tezi İstanbul 2005