Archive of SID

Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 11, Number 2 (May - June)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Farname Inc.

Comparison of Interferon-Gamma Release and Tuberculin Skin Test for Detection of Latent Tuberculosis Infections in Iranian Elderly Patients

Azadeh Mansourzadeh[1], Sahar Honarmand Jahromi[1], Majid Khoshmirsafa[2,3], Reza Falak[2,3]

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Varamin Branch, Tehran, Iran
2. Immunology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

Article Information

Article history:
Received: 2016/07/12
Accepted: 2016/11/19
Available online: 2017/02/01

Article Subject:
Medical Bacteriology

IJMM 2017; 11(2): 17-25

Corresponding author:

Dr. Reza Falak

Immunology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Tel: 0982188622652

Email:
Falak.r@iums.ac.ir

Abstract

Background and Aims: Tuberculin skin test is a common method for diagnosis of latent tuberculosis but it has a high rate of false positivity and false negativity. In Quantiferon test, the interferon gamma secreted by lymphocytes in response to *Mycobacterium tuberculosis* antigens is measured. This study aimed to determine the rate of agreement between quantiferon with skin tuberculin induration in the diagnosis of latent tuberculosis in elderly.

Materials and Methods: This study was carried out in 2015 on 10 elderly patients with confirmed active tuberculosis, 30 elderly patients with latent tuberculosis and 50 elderly individuals without any respiratory symptoms at Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. The secretion of gamma interferon of specific T cells in peripheral blood was measured using Quantiferon test. In addition the tuberculin skin test was performed using standard methods and the skin induration was measured. By drawing the ROC curve, sensitivity, specificity, and under the curve area (AUC) was calculated interferon gamma release and tuberculin test. Results of patients and healthy people were compared with the Kruskal-Wallis test.

Results: The sensitivity and specificity of gamma interferon release test for active tuberculosis in elderly patients was, 100% and 98% respectively (area under the curve 0.99) while the sensitivity and specificity of the tuberculin test was respectively 80% and 94% (area under the curve 0.89). Regarding to elderly patients with latent tuberculosis the sensitivity and specificity of interferon-gamma release test was 73% and 98%, respectively; and the sensitivity and specificity of tuberculin test in these patients was 36% and 94%, respectively.

Conclusions: Quantiferon is more sensitive and specific test for diagnosis of latent tuberculosis and application of this method is more reliable for diagnosis of latent tuberculosis infection in the elderly.

KeyWords: Latent tuberculosis, Quantiferon, Tuberculin skin test

Copyright © 2017 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Mansourzadeh A, Honarmand Jahromi S, Khoshmirsafa M, Falak R. Comparison of Interferon-Gamma Release and Tuberculin Skin Test for Detection of Latent Tuberculosis Infections in Iranian Elderly Patients. Iran J Med Microbiol. 2017; 11 (2):17-25

www.SID.ir

Archive of SID

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران
سال ۱۱ – شماره ۲ – خرداد و تیر ۱۳۹۶
Journal homepage: www.ijmm.ir
Farname Inc.
مقاله پژوهشی

مقایسه آزمون رهاسازی اینترفرون گاما و تست پوستی توبرکولین برای شناسایی عفونت سل نهفته در بیماران سالمند ایرانی

آزاده منصورزاده[۱]، سحر هنرمند جهرمی[۱]، مجید خوش میرصفا[۲و۳]، رضا فلک[۲و۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۲۲
پذیرش:۱۳۹۵/۰۸/۲۹
انتشار آنلاین:۱۳۹۵/۱۱/۱۳
موضوع:
باکتری‌شناسی پزشکی

IJMM 1396; 11(2): 17-25

نویسنده مسئول:
دکتر رضا فلک

مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۸۲۱۸۸۶۲۲۶۵۲

پست الکترونیک:
Falak.r@iums.ac.ir

چکیده

زمینه و اهداف: آزمون پوستی توبرکولین روش رایجی برای تشخیص سل نهفته است، ولی نتایج مثبت و منفی کاذب زیادی دارد. در آزمون کوآنتی‌فرون میزان اینترفرون گامای مترشحه از لنفوسیت‌ها در پاسخ به آنتی‌ژن‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* سنجیده می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین میزان توافق نتایج کوآنتی‌فرون با اندوراسیون پوستی توبرکولین در تشخیص سل نهفته سالمندان انجام شد.

مواد و روش کار: این مطالعه در سال ۱۳۹٤ روی ۳۰ سالمند دارای علائم سل نهفته، ۵۰ سالمند سالم و ۱۰ سالمندی که سل آنها به طور قطعی اثبات‌شده بود در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گردید. میزان اینترفرون گامای مترشحه از لنفوسیت‌های T اختصاصی خون محیطی با آزمون کوآنتی‌فرون سنجیده شد. بعلاوه تست پوستی توبرکولین به روش استاندارد انجام شد و میزان اندوراسیون پوستی اندازه‌گیری شد. با ترسیم منحنی ROC، حساسیت، ویژگی و سطح زیر منحنی (AUC) آزمون‌های رهاسازی اینترفرون گاما و توبرکولین محاسبه شد. نتایج بیماران و افراد سالم با آزمون کروسکال والیس مقایسه گردید.

یافته‌ها: حساسیت و ویژگی آزمون رهاسازی اینترفرون گاما برای سل فعال در بیماران مسن به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۸٪ بود (سطح زیر منحنی ۰/۹۹) در حالی‌که حساسیت و ویژگی آزمون توبرکولین بترتیب ۸۰٪ و ۹٤٪ بود (سطح زیر منحنی ۰/۸۹). در رابطه با افراد مسن مبتلا به سل نهفته، حساسیت و ویژگی آزمون رهاسازی اینترفرون گاما ۷۳٪ و ۹۸٪ و حساسیت و ویژگی آزمون توبرکولین به ترتیب ۳٦٪ و ۹٤٪ بود.

نتیجه‌گیری: آزمون کوانتی‌فرون حساسیت و ویژگی بیشتری برای تشخیص سل نهفته نسبت به آزمون توبرکولین دارد و بکارگیری آن تشخیص سل نهفته را در افراد مسن قابل اطمینان‌تر می‌کند.

کلمات کلیدی: سل نهفته، آزمون کوآنتی‌فرون، آزمون توبرکولین

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

بیماری سل یکی از عوامل مهم مرگ و میر در دنیا به شمار می‌رود. تلاش‌ها و سرمایه‌گذاری سازمان‌های دولتی و غیردولتی در دهه‌های اخیر منجر به کاهش شیوع و مرگ و میر سل شده است (۱). با وجود این، یک‌سوم جمعیت دنیا به عفونت نهفته سل (Latent tuberculosis infection) مبتلا هستند و ممکن است در اثر فعال شدن باکتری یا تضعیف ایمنی این اشخاص به سل فعال مبتلا شوند. یکی از اهداف سازمان بهداشت جهانی جهت حذف بیماری سل تا سال ۲۰۵۰ است که برای نائل آمدن به این هدف ضروریست تا با استفاده از روش‌های نوین تشخیصی و درمانی بتوان سل نهفته را که مخزن اصلی عفونت می‌باشد ریشه‌کن نمود (۲). تاریخچه طبیعی عفونت سل پیچیده بوده و به طور کامل شناخته نشده است. باسیل سل پس از برقراری عفونت اولیه ممکن است به سرعت باعث بیماری شده یا برای دهه‌های طولانی به صورت خاموش باقی بماند. شواهد نشان می‌دهند که تنها در ۵

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017
Proof
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

تا ۱۰ درصد افرادی که سیستم ایمنی سالمی دارند ممکن است سل نهفته پیشرفت نموده و عفونت سل فعال ایجاد نماید (۳).

اغلب تشخیص عفونت نهفته سل در افرادی که شواهد بالینی یا رادیولوژیکی از عفونت فعال ندارند از طریق آزمون پوستی توبرکولین (Tuberculin skin test) صورت می‌گیرد. اساس آزمون توبرکولین مشاهده ازدیاد حساسیت تأخیری جلدی در پاسخ به عصاره خالص شده پروتئینی کشت مایع سل (Purified Protein Derivative) می‌باشد. این ماده حاوی مخلوطی از ده‌ها پروتئین باکتریایی می‌باشد. به‌هرحال، اگرچه آزمون توبرکولین یک روش ارزان و رایج می‌باشد، اما در مواردی به علت واکنش متقاطع آنتی‌ژن PPD در افرادی که قبلاً با BCG واکسینه شده‌اند و یا در معرض مایکوباکتریوم‌های غیرتوبرکلوزیس قرار گرفته‌اند، ویژگی آزمون کاهش یافته و منجر به نتایج کاذب مثبت گردد (۴). بعلاوه، آزمون توبرکولین در افراد مبتلا به نقص اکتسابی سیستم ایمنی، مثلاً در اثر عفونت HIV، یا نقص وراثتی آن، و همچنین در کودکان و افراد مسن حساسیت پایینی دارد و گاهی منجر به نتایج منفی کاذب می‌گردد (۵). تا اوایل دهه گذشته آزمون توبرکولین تنها روش تشخیص سل نهفته بود، اما امروزه به دلیل حساسیت و ویژگی پایین تست پوستی و تحت تأثیر قرار گرفتن آن توسط عوامل مختلف روش‌های اختصاصی‌تری معرفی شده است که اساس همه آن‌ها استفاده از آنتی‌ژن‌های اختصاصی باسیل سل می‌باشد (۶). در سال ۲۰۰۱، تست کوانتی‌فرون (QuantiFERON test) جهت تشخیص عفونت نهفته سل مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) قرار گرفت (۷). اساس این تست اندازه‌گیری کمّی رهاسازی اینترفرون گاما (Interferon-gamma release assay) از لنفوسیت‌های T موجود در خون کامل با روش الیزا می‌باشد و صحت آزمون توسط فیتوهماگلوتینین (PHA) به‌عنوان کنترل مثبت و لوله فاقد آنتی‌ژن به‌عنوان کنترل منفی ارزیابی می‌شود (۶-۸).

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه روش‌های نوین تشخیص سل از قبیل IGRA، در سایر کشورها صورت گرفته است. لیکن با توجه به شیوع بالای سل در ایران و فراوانی گروه‌های در معرض خطر، راه‌اندازی روش‌های تشخیصی و غربال‌گری دقیق‌تر سل در ایران ضروری به نظر می‌رسد. باوجوداین مطالعات محدودی در رابطه با مقایسه روش‌های تشخیصی ایمونولوژیک سل بخصوص IGRA و مقایسه آن با سایر روش‌ها در ایران صورت گرفته است. بعلاوه در بعضی از مطالعات قبلی حساسیت و ویژگی تست‌های تشخیصی گزارش نشده است. هدف پژوهش حاضر ارزیابی آزمون کوانتی‌فرون در تشخیص سل نهفته و مقایسه آن با نتایج آزمون توبرکولین در سالمندان است که به عنوان یکی از گروه‌های مهم در معرض خطر سل می‌باشند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی – تحلیلی سه گروه شامل ۳۰ بیمار سالمند مبتلا به سل نهفته، ۱۰ بیمار مبتلا به عفونت سل فعال که ۲ نفر از آن‌ها به بیماری دیابت نیز مبتلا بودند و همچنین ۵۰ نفر کنترل سالم مراجعه‌کننده به آزمایشگاه تشخیص طبی آرمین در تهران مورد بررسی قرار گرفتند. این مطالعه در سال ۱۳۹۴ در گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. شرکت‌کنندگان سابقه واکسیناسیون با BCG داشته و سن بین ۵۱ تا ۸۵ سال داشتند. معیارهای ورود به مطالعه تشخیص و صحه‌گذاری قبلی توسط پزشک متخصص ریه بر اساس عکس‌های رادیوگرافی ریه و آزمایش‌های تشخیصی اختصاصی نظیر کشت و رنگ‌آمیزی اسید فست یا انجام PCR روی نمونه ترشحات ریه (یا در مواردی سایر مایعات بدن ازجمله ترشحات چشمی) در آزمایشگاه‌های معتبر و تطابق شواهد با علائم بالینی بیماران بود. کلیه بیماران معرفی شده (مبتلا به سل فعال یا نهفته) در محدوده ۲ ماه قبل از نمونه‌برداری تشخیص داده شده بودند و علائم عفونی دیگری ازجمله سایر عفونت‌های تنفسی (و یا عفونت‌های ویروسی مهم سیستمیک ازجمله HIV یا HCV) نداشتند. گروه کنترل نیز از افرادی که شانس ابتلا به عفونت سل پایینی داشتند و دسترسی به آن‌ها آسان بود با معرفی پزشک انتخاب شدند. افراد گروه کنترل سابقه ابتلا به عفونت‌های ریوی (و خارج ریوی) و تماس با بیماران مبتلا به سل را نداشتند. از تمامی افراد موردمطالعه میزان ۳ میلی‌لیتر خون کامل گرفته شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (یک میلی‌لیتر در هر لوله) در لوله‌های کنترل مثبت (حاوی PHA) کنترل منفی (فاقد آنتی‌ژن) و آزمون (حاوی آنتی‌ژن‌های اختصاصی باسیل سل) پلاسمای آن‌ها جداشده و جهت سنجش میزان رهاسازی اینترفرون گاما با روش الیزا تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- نگهداری شد. بعلاوه آزمون پوستی توبرکولین برای هر سه گروه انجام گردید. مطالعه حاضر تحت نظارت و کسب تأییدیه از کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین انجام شد و از تمامی افراد مورد بررسی جهت شرکت در این مطالعه رضایت‌نامه کتبی آگاهانه و داوطلبانه دریافت گردید.

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

آزمون کوانتی‌فرون

آزمون کوانتی‌فرون با استفاده از کیت QuantiFERON®-TB Gold In-Tube Test (Cellestis Limited Victoria, Australia; Cat No: T0590-0301) و بر اساس دستورالعمل موجود در کیت انجام شد. کوانتی‌فرون یک آزمون بر پایه الیزا می‌باشد که مقدار کمّی اینترفرون آزاد شده از لوکوسیت‌های تک‌هسته‌ای را در پاسخ به آنتی‌ژن‌های اختصاصی باسیل سل اندازه‌گیری می‌کند. پس از اخذ خون وریدی، مقدار یک میلی‌لیتر خون تحت شرایط استریل به هرکدام از سه لوله موردنظر به ترتیب زیر منتقل گردید:

۱- لوله فاقد آنتی‌ژن به عنوان کنترل منفی که میزان پایه‌ای تولید اینترفرون گاما را اندازه‌گیری می‌کند.

۲- لوله حاوی فیتوهماگلوتینین که میتوژن لنفوسیت‌های T بوده به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۳- لوله سوم حاوی پپتیدهای اختصاصی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* شامل Early Secretory Antigen Target-6 (ESAT-6) و Culture Filtrate Protein-10 (CFP-10) که به عنوان آنتی‌ژن‌های اختصاصی سل در نظر گرفته می‌شوند بود.

پس از اضافه کردن خون افراد مورد مطالعه به هرکدام از لوله‌های مربوطه، لوله‌ها به مدت ۲۰ ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. درنهایت لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسمای رویی جدا شد و تا زمان انجام آزمون الیزا در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. برای آزمون الیزا، مقدار ۵۰ میکرولیتر پلاسمای رویی و ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ضد اینترفرون گاما کونژوگه با HRP به میکروپلیت‌های ۹۶ تایی کیت منتقل شد و بر اساس دستورالعمل کیت مقدار اینترفرون گاما در کنار استانداردها و کنترل‌ها با دستگاه الیزا ریدر (Sunrise ELISA reader, Tecan Co., Salzburg, Austria) خوانده و محاسبه شد.

آزمون پوستی توبرکولین

در این پژوهش آزمون توبرکولین یا مانتو بر روی تمامی افراد موردمطالعه با استفاده از محلول PPD تجاری (انستیتو واکسن و سرم‌سازی رازی، حصارک کرج، ایران) که هر ۱۰۰ میکرولیتر آن حاوی ۵ واحد بین‌المللی توبرکولین (5 TU) است انجام گردید. این آزمون جلدی ازنظر اصول تلقیح، خواندن نتیجه و تفسیر آزمایش کاملاً استاندارد گردیده و پروتکل استفاده‌شده در این مطالعه نیز روش توصیه‌شده توسط سازمان بهداشت جهانی می‌باشد. تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر محلول PPD به صورت داخل جلدی در ساعد دست با سرنگ انسولین و با زاویه ۱۵ تا ۳۰ درجه صورت گرفت و ۴۸ ساعت (تا حداکثر ۷۲ ساعت) بعد ناحیه تزریق مورد بررسی قرار گرفت و قطر برآمدگی با خط‌کش اندازه‌گیری شد. با توجه به علائم بالینی مشابه بیماران و خصوصیات دیگر (ازجمله عدم داشتن بیماری‌های زمینه‌ای نظیر ایدز و بیماری‌های عفونی مزمن) ملاک تفسیر نتایج قطر اندوراسیون ناحیه تزریق در نظر گرفته شد و اندوراسیون بیش از ۵ میلی‌لیتر به عنوان مثبت و کمتر از آن به عنوان منفی در نظر گرفته شد (۹).

آنالیزهای آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از بسته نرم‌افزار آنالیز آماری (SPSS-21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) استفاده گردید. داده‌های کیفی به صورت تعداد (درصد) و داده‌های کمی به صورت انحراف معیار±میانگین (mean±SD) گزارش شدند. با استفاده از رسم منحنی Receiver Operating Characteristic Curve (ROC)، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و سطح زیر منحنی Area Under Curve (AUC) آزمون‌های رهاسازی اینترفرون گاما و توبرکولین محاسبه شد. برای مقایسه نتایج کمّی آزمون‌کوانتی فرون و توبرکولین بین سه گروه، از آزمون آماری کروسکال والیس و برای تعیین همبستگی بین تست‌های فوق از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد و P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج دموگرافیک

در مطالعه حاضر ۹۰ سالمند موردمطالعه قرار گرفتند که شامل ۲۵ (۲۷/۸) مرد و ۶۵ (۷۲/۲) زن بودند. دامنه سنی افراد بین ۵۱ و ۸۵ سال با میانگین ۶۰/۲۷ (انحراف معیار ۶/۹۹ و میانه ۵۸/۵) بود. جامعه موردمطالعه در سه گروه سالمندان مبتلا به سل فعال (۱۰ نفر)، سالمندان مبتلا به عفونت سل نهفته (۳۰ نفر) و افراد کنترل (۵۰ نفر) قرار داشتند (جدول ۱).

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک جامعه موردمطالعه

	کنترل سالم و بدون علائم (۵۰)	بیماران مبتلا به سل فعال (۱۰)	عفونت نهفته سل (۳۰)
سن (میانگین و انحراف معیار)	۵۲/۹۸±۶/۳۶	۵۸/۶±۶/۴۶	۶۳±۷/۵۵
(میانه سنی) دامنه سنی	۵۱-۸۱ (۵۷)	۵۲-۷۱ (۵۷)	۵۲-۸۵ (۶۲)
جنسیت:			
(٪) مرد	۱۸ (۳۶)	۱۳ (۴۳/۳)	۴ (۴۰)
(٪) زن	۳۲ (۶۴)	۱۷ (۵۶/۷)	۶ (۶۰)

نتایج آزمون پوستی توبرکولین

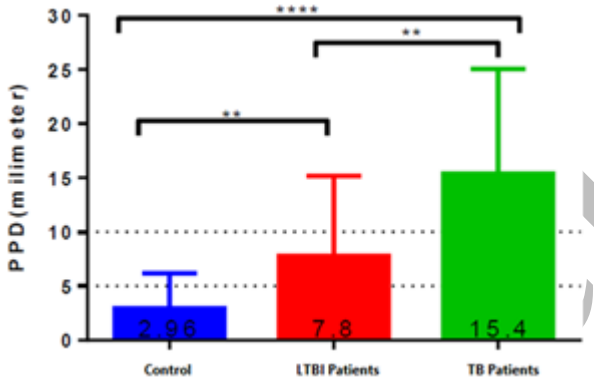
آزمون توبرکولین نشان داد که از میان سالمندان مبتلا به سل فعال، عفونت سل نهفته و گروه کنترل به ترتیب ۸ نفر (۸۰٪)، ۱۱ نفر (۳۶/۷٪) و ۳ نفر (۶٪) پس از تزریق PPD پاسخ مثبت نشان داده بودند. میانگین قطر اندوراسیون (به میلی‌متر) ناشی از تزریق PPD نیز بین گروه‌های مذکور به ترتیب ۴۰/۱۵ (انحراف معیار ۹/۶۴)، ۷/۷۹ (انحراف معیار ۷/۳۸) و ۲/۹۶ (انحراف معیار ۳/۲۳) مشخص گردید. آزمون آماری کروسکال والیس (Kruskal-Wallis H Test) نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین قطر اندوراسیون بین گروه‌های موردمطالعه وجود دارد (P value < ۰/۰۰۱) (شکل ۲). بررسی تفاوت بین گروه‌ها توسط آزمون چندگانه توکی (Post Hoc, Tukey's Test) نیز نشان داد که میانگین قطر اندوراسیون در سالمندان مبتلا به سل فعال به طور معنی‌داری از دو گروه دیگر بیشتر می‌باشد. همچنین قطر اندوراسیون در بیماران مبتلا به سل نهفته از افراد گروه کنترل بیشتر است (P value <۰/۰۰۱). جدول ۲ نتایج حاصل از مقایسه تست‌های توبرکولین و کوانتی‌فرون را نشان می‌دهد.

جدول ۲: نتایج حاصل از مقایسه تست‌های توبرکولین (PPD) و کوانتی‌فرون (IGRA)

	کنترل منفی (۵۰)		سل نهفته (۳۰)		سل فعال (۱۰)	
	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت
IGRA	۴۹	۱	۸	۲۲	۰	۱۰
PPD	۴۷	۳	۱۹	۱۱	۲	۸

نتایج آزمون کوانتی‌فرون

نتایج آزمون کوانتی‌فرون که بر پایه الیزا به دست آمد نشان داد که کلیه سالمندان مبتلا به سل فعال (۱۰۰٪) کوانتی‌فرون مثبت هستند (جدول ۲). از میان سالمندان مبتلا به عفونت سل نهفته و گروه کنترل نیز به ترتیب ۲۲ نفر (۷۳/۳٪) و ۱ نفر (۲٪) کوانتی‌فرون مثبت بودند. مقادیر به‌دست‌آمده از آزمون الیزا نشان داد که میانگین اینترفرون گامای آزادشده (Iu/mL) در بیماران مبتلا به سل فعال، سل نهفته و گروه کنترل به ترتیب ۱۱/۱۸ (انحراف معیار ۵/۱۴)، ۵/۰۹ (انحراف معیار ۵/۷۷) و ۰/۰۷ (انحراف معیار ۰/۰۷۲) می‌باشد که بر اساس آنالیز آماری کروسکال والیس اختلاف میانگین آن‌ها معنی‌دار بود (P ۰/۰۰۱ > value) (شکل ۲) با استفاده از آزمون توکی نشان داده شد که میانگین رهاسازی اینترفرون گاما در سالمندان مبتلا به سل فعال از دو گروه دیگر و همچنین در گروه بیماران مبتلا به سل نهفته از گروه کنترل بیشتر می‌باشد.



شکل ۱: مقایسه نتایج آزمون توبرکولین در بیماران مبتلا به سل فعال و سل نهفته با گروه کنترل

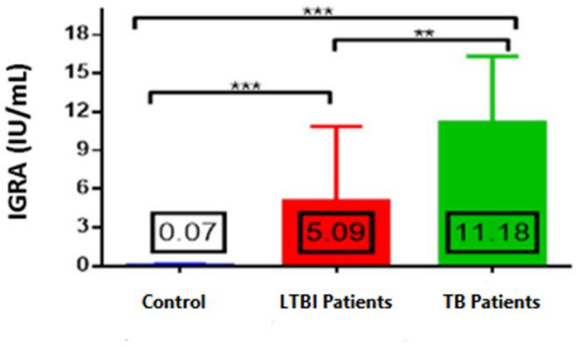
آزمون پیرسون اختلاف فاحشی بین گروه کنترل با بیماران سل نهفته و گروه کنترل با بیماران مبتلا به سل و همچنین بیماران مبتلا به سل با گروه کنترل نشان داد.

در مطالعه حاضر میزان همبستگی نتایج توبرکولین و کوانتی‌فرون محاسبه شد و بر اساس نتایج حاصل از فراوانی مثبت تست‌های مذکور، نتیجه نشان داد که ضریب همبستگی بین آن‌ها ۰/۴۳ بوده و همبستگی مستقیم و مثبتی بین دو تست تشخیصی وجود دارد (P value <۰/۰۰۱).

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: مقایسه نتایج کوانتی‌فرون (IGRA) در جامعه مورد مطالعه

مقایسه نتایج کوانتی فرون در بیماران مبتلا به سل نهفته با گروه کنترل و همچنین بیماران مبتلا به سل فعال با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری بین میانگین گروه‌های فوق نشان داد. به‌طوری‌که میانگین میزان رهاسازی اینترفرون گاما در سالمندان مبتلا به سل فعال بیشتر از گروه مبتلا به سل نهفته بود و میزان آن در هر دو گروه بیشتر از میانگین نتایج گروه کنترل بود.

نتایج شاخص‌های اعتبارسنجی

در مطالعه حاضر شاخص‌های اعتبارسنجی حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری آزمون مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۳). نتایج آماری نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون توبرکولین در سالمندان مبتلا به سل فعال در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۸۰٪ و ۹۴٪ و در افراد مبتلا به سل نهفته در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۳۶٪ و ۹۴٪ می‌باشد. همچنین ارزش اخباری مثبت (PPV) و منفی (NPV) در بیماران مبتلا به سل فعال به ترتیب ۷۲٪ و ۹۵٪ و در بیماران مبتلا به سل نهفته به ترتیب ۷۸٪ و ۷۱٪ به دست آمد. در مورد آزمون کوانتی‌فرون نیز نتایج نشان داد حساسیت و ویژگی این آزمون در سالمندان مبتلا به سل فعال در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۸٪ و در سالمندان مبتلا به سل نهفته در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۷۳٪ و ۹۸٪ بود. بعلاوه ارزش اخباری مثبت و منفی در بیماران مبتلا به سل فعال به ترتیب ۹۰٪ و ۱۰۰٪ و در بیماران مبتلا به سل نهفته به ترتیب ۹۵٪ و ۸۵٪ بود.

جدول ۳: حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای تست‌های کوانتی‌فرون و توبرکولین

نوع آزمون (در مقایسه با گروه کنترل)	حساسیت (فاصله اطمینان ۹۵٪)	ویژگی (فاصله اطمینان ۹۵٪)	ارزش اخباری مثبت (فاصله اطمینان ۹۵٪)	ارزش اخباری منفی (فاصله اطمینان ۹۵٪)
کوانتی‌فرون برای سل فعال	۱۰۰ (۶۹/۱-۱۰۰/۰)	۹۸ (۸۹/۳-۹۹/۹)	۹۰ (۵۸/۷-۹۹/۷)	۱۰۰ (۹۲/۷-۱۰۰/۰)
توبرکولین برای سل فعال	۸۰ (۴۴/۳-۹۷/۴)	۹۴ (۸۳/۴-۹۸/۷)	۷۲ (۳۹/۰-۹۳/۹)	۹۵ (۸۶/۰-۹۹/۵)
کوانتی‌فرون برای سل نهفته	۷۳ (۵۴/۱-۸۷/۷)	۹۸ (۸۹/۳-۹۹/۹)	۹۵ (۷۸/۰-۹۹/۸)	۸۵ (۷۴/۲-۹۳/۷)
توبرکولین برای سل نهفته	۳۶ (۱۹/۹-۵۶/۱)	۹۴ (۸۳/۴-۹۸/۷)	۷۸ (۴۹/۲-۹۵/۳)	۷۱ (۵۸/۷-۸۱/۷)

بحث

در حال حاضر در میان بیماری‌های میکروبی، بیماری سل شایع‌ترین عامل کشنده بالغین در تمام دنیا می‌باشد. بیماری سل هرساله افراد بیشتری را در مقایسه با ایدز و مالاریا به کام مرگ می‌کشاند و روی بار کلی بیماری‌ها و ازجمله شاخص دالی (Disability Adjusted Life Years)، افزایش موارد مقاوم به دارو و همچنین افزایش ابتلای افراد HIV مثبت به سل، تأثیرات قابل‌توجهی دارد (۱۰،۱۱).

راهکار مهم برای کنترل جهانی عفونت سل ایجاد یک روش غربال‌گری منظم و مؤثر در تشخیص موارد با خطر بالا می‌باشد. درمان پیشگیرانه خطر بروز سل فعال در بیماران مبتلا به عفونت را تا بیش از ۹۰ درصد می‌کاهد. از افرادی که با باسیل سل آلوده‌شده‌اند درصد اندکی بیماری را به طور فعال نشان می‌دهند، به‌طوری‌که بیش از ۹۰ درصد آن‌ها بدون علامت هستند. این افراد درواقع به عفونت نهفته (LTBI) مبتلا می‌باشند (۱۲). اگر سیستم ایمنی نتواند با رشد باکتری مقابله کند، باسیل سل در بدن تکثیر یافته و موجب بروز سل فعال خواهد شد. جهت نیل به این هدف یعنی کنترل بیماری سل، شناسایی و درمان عفونت‌های نهفته سل می‌تواند راهکار مفید در کاهش نرخ این بیماری باشد. ازاین‌رو شناسایی و در صورت لزوم درمان موارد عفونت نهفته سل در سالمندان، امری حیاتی در برنامه کنترل بهداشت کشورها، به‌ویژه کشورهای دارای نرخ متوسط تا بالای بیماری سل هستند، خواهد بود (۱۳). این آزمون عمدتاً به روش الیزا و پس از تحریک پرولیفراسیون لنفوسیت‌های T محیطی با آنتی‌ژن اختصاصی انجام می‌شود.

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین نتایج دو تست کوانتی‌فرون و توبرکولین در تشخیص سل فعال و نهفته در بیماران واکسینه شده با BCG به دست آمد، باوجوداین آزمون کوانتی فرون حساسیت و دقت بیشتری داشت. یافته‌ها نشان داد که آزمون کوانتی‌فرون در مقایسه با توبرکولین برای غربال‌گری بیماران مبتلا به سل نهفته مناسب‌تر بوده و نتایج قابل‌اعتمادتری می‌دهد. مطالعات Eum و همکاران نیز نشان داد که سنجش اینترفرون گامای مترشحه در پاسخ به آنتی‌ژن‌های باسیل سل یک روش تشخیص مناسب برای سل نهفته در افراد باسابقه واکسیناسیون BCG می‌باشد (۱۴). به‌هرحال در مطالعه Connell و همکاران و Vaziri و همکاران اختلاف معنی‌داری بین دو آزمون وجود نداشت (۱۶-۱۵). در پژوهش حاضر یکی از سالمندان گروه کنترل نیز ازنظر آزمون کوانتی فرون مثبت بود. چنین حالتی را احتمالاً می‌توان به‌مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم نسبت داد. احتمالاً عواملی همچون مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم‌ها و نیز گذر زمان در این رابطه نقش اساسی دارند، به‌طوری‌که احتمال بروز پاسخ مثبت کاذب برای آزمون کوانتی فرون در رابطه با برخی از مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس نظیر *M. kansasii*، *M. szulgai* و *M. marinum* مطرح می‌باشد (۱۷).

آزمون‌های کوانتی‌فرون و توبرکولین ازنظر حساسیت و ویژگی نیز تفاوت دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی‌فرون در بیماران مبتلا به سل فعال و همچنین بیماران مبتلا به سل نهفته بیشتر از آزمون توبرکولین می‌باشد. همسو با این مطالعه نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی‌فرون بیشتر است. بررسی‌های Detjen و همکاران نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی‌فرون به ترتیب برابر ۹۳ درصد و ۱۰۰ درصد می‌باشد (۱۸). همچنین Harada و همکاران نیز حساسیت و ویژگی آزمون مذکور را به ترتیب ۹۳٪ و ۹۸٪ به دست آورند که بامطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۹). در یک مطالعه متا-آنالیز که توسط Pai و همکاران انجام شد، حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی‌فرون به ترتیب ۷۰٪ و ۹۷٪ به دست آمد (۲۰). همچنین در مطالعه حاضر ارزش اخباری مثبت آزمون کوانتی‌فرون برای سالمندان مبتلا به سل فعال و سالمندان به سل نهفته به ترتیب ۹۰ درصد و ۹۵ درصد به دست آمد. ارزش اخباری مثبت برای آزمون توبرکولین یا PPD نیز برابر ۷۲ درصد و ۷۸ درصد به دست آمد که با مطالعات Detjen و همکاران و مطالعه Lashkardoost و همکاران همخوانی دارد (۱۸،۲۱). همچنین در این پژوهش ارزش اخباری منفی آزمون کوانتی‌فرون بیشتر از توبرکولین بود. درحالی‌که مطالعات Dewan و همکاران مقادیر کمتری نسبت به مطالعه حاضر به دست آوردند (۲۲).

در مطالعه حاضر شیوع عفونت نهفته سل نهفته در گروه موردمطالعه توسط آزمون کوانتی‌فرون برابر ۷۳ درصد به دست آمد. حال‌آنکه این شیوع با آزمون توبرکولین برابر ۳۶ درصد بود و نتایج دو آزمون تفاوت داشت. این تفاوت در برآورد میزان شیوع عفونت نهفته سل می‌تواند دلایلی چون مثبت و منفی کاذب، محل کار بیماران و مایکوباکتریوم‌های محیطی باشد. محل کار افراد در مشاغل پرخطر در این بیماری و همین‌طور حضور مایکوباکتریوم های محیطی و واکسیناسیون می‌تواند دلیل این تفاوت باشد. جالب اینکه در این پژوهش دو نفر از سالمندان مبتلا به سل فعال علی‌رغم مثبت بودن آزمون کوانتی‌فرون، ازنظر آزمون توبرکولین منفی بودند، اما ازآنجایی‌که هر دو بیمار فوق مبتلا به دیابت بودند احتمالاً در اثر این بیماری زمینه‌ای و تضعیف مختصر سیستم ایمنی واکنش منفی کاذب رخداده است. باوجوداین برخی مطالعات نشان داده‌اند که عواملی مثل بالا بودن سن، ابتلا به HIV و بیماری‌های زمینه‌ای نظیر اختلالات کلیوی حساسیت آزمون‌های کوآنتی‌فرون و توبرکولین را کاهش می‌دهد (۲۷-۲۳). همچنین بر طبق مطالعه Choi و همکاران، حساسیت آزمون‌های کوآنتی‌فرون و توبرکولین در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌یابد (۲۸). به‌هرحال در مطالعه حاضر آزمون کوآنتی‌فرون برای هر دو بیمار دیابتی مبتلا به سل فعال مثبت بود. همچنین آزمون همبستگی بین دو تست کوآنتی فرون و توبرکولین در گروه بیماران مبتلا به سل نهفته وجود ارتباط بین این دو تست را نشان داد (فرض استقلال با Pvalue < ۰/۰۰۱ رد می‌شود) درحالی‌که ضریب همبستگی این ارتباط (r = ۰/۴۳) متوسط می‌باشد. این همبستگی نشان می‌دهد که تغییرات محیطی پوست شامل مقدار اندوراسیون تست توبرکولین با فعالیت لنفوسیت‌های T و ترشح سایتوکاین اینترفرون گاما به‌صورت سیستمیک متناسب نمی‌باشد.

از نقاط قوت پژوهش حاضر این است که از گروه‌های مختلف سالمندان برای اهداف طرح استفاده شد. بیماران مبتلا به سل نهفته از سالمندانی انتخاب گردید که توسط پزشک تأییدشده و نتایج رادیولوژی عفونت فعال را نشان می‌دادند. همچنین افراد کنترل نیز از میان سالمندانی انتخاب گردید که هیچ‌گونه علائم سل و اختلالات تنفسی نداشتند. بنابراین

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID

ازآنجایی‌که پژوهش حاضر دو نوع آزمون تشخیصی را به طور هم‌زمان مورد بررسی قرار داده و افرادی را موردمطالعه قرار داده است که نماینده جامعه بیماران مبتلا به سل فعال، سل نهفته و همچنین سالمندان سالم بدون سابقه بیماری ریوی هستند و با نظر به اینکه شاخص‌های اعتبارسنجی را مورد بررسی قرار داده است، حائز اهمیت می‌باشد. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به تعداد کم‌حجم نمونه اشاره نمود که به علت بار مالی انتخاب تعداد بیشتر نمونه‌ها میسر نبود.

روی‌هم‌رفته، نتایج حاصل از مقایسه آزمون‌های کوآنتی‌فرون و توبرکولین نشان می‌دهد که آزمون تشخیصی کوآنتی‌فرون حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به آزمون توبرکولین داشته و نتایج قابل‌اطمینان‌تری را در اختیار محققین و پزشکان قرار می‌دهد. همچنین عوامل مختلف مؤثر در بروز موارد مثبت کاذب مثل سابقه دریافت واکسن یا مواجهه با مایکوباکتریوم‌های محیطی نتایج آزمون کوآنتی‌فرون را مخدوش و مثبت کاذب نمی‌کند، لذا روش کوآنتی‌فرون جهت شناسایی عفونت نهفته سل اختصاصی‌تر از روش توبرکولین بوده و نتایج آن تحت تأثیر واکسیناسیون با BCG قرار نمی‌گیرد و می‌تواند در مناطق اندمیک با اطمینان بیشتری مورداستفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از همکاری‌های خانم معصومه نجفی کارشناس مسئول آزمایشگاه ایمونوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و همین‌طور مدیریت آزمایشگاه پاتوبیولوژی آرمین که امکانات لازم جهت جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام آزمایش‌ها را در اختیار ما قراردادند و پرسنل بخش نمونه‌گیری آزمایشگاه آرمین که با صبر و حوصله در پر کردن فرم‌های بیماران و خون‌گیری از آن‌ها ما را یاری کردند تشکر می‌نماییم. همچنین از حمایت‌های بی‌دریغ مرحوم آقای دکتر محمدرضا حریری که در معرفی بیماران نقش مؤثری داشتند سپاسگزاریم.

تعارض منافع

بین نویسندگان و مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

References

1. Sulis G, Roggi A, Matteelli A, Raviglione MC. Tuberculosis: epidemiology and control. Mediterr J Hematol Infect Dis 2014;6(1):e2014070.
2. Dye C, Williams BG. Eliminating human tuberculosis in the twenty-first century. J R Soc Interface 2008;5(23):653-62.
3. Comstock GW, Livesay VT, Woolpert SF. The prognosis of a positive tuberculin reaction in childhood and adolescence. Am J Epidemiol 1974;99(2):131-8.
4. Wang L, Turner MO, Elwood RK, Schulzer M, FitzGerald JM. A meta-analysis of the effect of Bacille Calmette Guerin vaccination on tuberculin skin test measurements. Thorax 2002;57(9):804-9.
5. Cobelens FG, Egwaga SM, van Ginkel T, Muwinge H, Matee MI, Borgdorff MW. Tuberculin skin testing in patients with HIV infection: limited benefit of reduced cutoff values. Clin Infect Dis 2006;43(5):634-9.
6. Mazurek GH, Villarino ME. Guidelines for Using the QuantiFERON®-TB Test for Diagnosing Latent Mycobacterium tuberculosis Infection. 2003, CDC Recommendations and Reports 52:15-18.
7. Rothel JS and Radford AJ. Comparison of Tuberculosis Tests: Finding Truth or Confirming Prejudice? Clin Infect Dis 2003;36(9):1206-1207
8. Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica 2010; 28(4):245-52.
9. Mazurek G.H, Weis SE, Moonan P K, et al. Prospective Comparison of the Tuberculin Skin Test and 2 Whole-Blood Interferon-γ Release Assays in Persons with Suspected Tuberculosis. Clin Infect Dis 2007;45(7):837-845.
10. Gledovic Z, Vlajinac H, Pekmezovic T, Grujicic-Sipetic S, Grgurevic A, Pesut D. Burden of tuberculosis in Serbia. Am J Infect Control 2006;34(10):676-9.
11. Pawlowski A, Jansson M, Skold M, Rottenberg ME, Kallenius G. Tuberculosis and HIV co-infection. PLoS pathogens 2012;8(2):e1002464.
12. Chapman AL. New tests will improve detection of latent TB. The Practitioner 2011; 255(1745):23-6, 2-3.

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

Final Proof

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 11:19 +0330 on Tuesday November 21st 2017

13. Norton BL, Holland DP. Current management options for latent tuberculosis: a review. Infect Drug Resist 2012;5:163-73.
14. Eum SY, Lee YJ, Kwak HK, Min JH, Hwang SH, Via LE, et al. Evaluation of the diagnostic utility of a whole-blood interferon-gamma assay for determining the risk of exposure to Mycobacterium tuberculosis in Bacille Calmette-Guerin (BCG)-vaccinated individuals. Diagn Microbiol Dis 2008;61(2):181-6.
15. Connell TG, Ritz N, Paxton GA, Buttery JP, Curtis N, Ranganathan SC. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. PloS one 2008;3(7):e2624.
16. Vaziri S, Khazaei S, Neshaboori SM ,Molaei Tavana P, Kanani M, Madani SH. The degree of agreement of quantiferon TB gold test and tuberculin skin test in Nurses. J Gorgan Univ Med Sci 2010: 13(1):37-43.
17. Hermansen TS, Thomsen VO, Lillebaek T, Ravn P. Non-tuberculous mycobacteria and the performance of interferon gamma release assays in Denmark. PloS one 2014;9(4):e93986.
18. Detjen AK, Keil T, Roll S, Hauer B, Mauch H, Wahn U, et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. Clin Infect Dis. 2007;45(3):322-8.
19. Harada N, Higuchi K, Yoshiyama T, Kawabe Y, FujitaA, Sasaki Y, et al. Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for M. tuberculosis infection. The Journal of infection 2008;56(5):348-53.
20. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic review: T-cell-based assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an update. Ann Intern Med 2008;149(3):177-84.
21. Lashkardoost H ZB, Mahmoudi M, Hassanzadeh J, Hamedi A, H T. ssessment of Quanti FERON-TB Gold (In-Tube) Test in Tuberculosis Diagnosis. IJE 2010; 6 (1):26-32.
22. Dewan PK, Grinsdale J, Kawamura LM. Low sensitivity of a whole-blood interferon-gamma release assay for detection of active tuberculosis. Clin Infect Dis 2007;44(1):69-73.
23. Hang NT, Lien LT, Kobayashi N, Shimbo T, Sakurada S, Thuong PH, et al. Analysis of factors lowering sensitivity of interferon-gamma release assay for tuberculosis. PloS one 2011;6(8):e23806.
24. Kim EY, Park MS, Kim YS, Kim SK, Chang J, Kang YA. Risk factors for false-negative results of QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay in non-HIV-infected patients with culture-confirmed tuberculosis. Diagn Microbiol Infect Dis 2011;70(3): 324-9.
25. Kobashi Y, Mouri K, Yagi S, Obase Y, Miyashita N, Okimoto N, et al. Clinical utility of the QuantiFERON TB-2G test for elderly patients with active tuberculosis. Chest 2008;133(5):1196-202.
26. Nakamura H, Tateyama M, Tasato D, Teruya H, Chibana K, Tamaki Y, et al. Active tuberculosis in patients undergoing hemodialysis for end-stage renal disease: a 9-year retrospective analysis in a single center. Internal medicine 2009;48(24):2061-7.
27. Stephan C, Wolf T, Goetsch U, Bellinger O, Nisius G ,Oremek G, et al. Comparing QuantiFERON-tuberculosis gold, T-SPOT tuberculosis and tuberculin skin test in HIV-infected individuals from a low prevalence tuberculosis country. Aids 2008;22(18):2471-9.
28. Choi JC, Jarlsberg LG, Grinsdale JA, Osmond DH, Higashi J, Hopewell PC, et al. Reduced sensitivity of the QuantiFERON® test in diabetic patients with smear-negative tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2015;19(5):582-8 .

Final Proof

www.SID.ir