

ارزیابی توافق بین سنجش تولید کایتترفرون گاما و تست پوستی توبرکولین در تشخیص عفونت نهفته توبرکلوزیس

ابراهیم علیجانی¹، علی اکبر پور فتح اله^{2*}، سهیلا اژدری³، بتول شریفی مود⁴، احمد زواران حسینی²، وحید خاضع شاهگلی⁵

1- دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، گروه ایمنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

2- استاد، گروه ایمنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

3- دانشیار، بخش ایمنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

4- استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، بیمارستان بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

5- کارشناس بخش ایمنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 91/6/28 تاریخ پذیرش: 91/10/6

چکیده

زمینه و هدف: بیش از یک سوم جمعیت جهان آلوده به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس هستند که با توجه به اهمیت بیماری سل، شناسایی این افراد دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. تست پوستی توبرکولین و سنجش تولید اینترفرون گاما از جمله روش‌های کاربردی در شناسایی عفونت نهفته سلی می‌باشند. در این مطالعه، توافق بین این دو آزمون در تشخیص عفونت نهفته سلی در شهر زاهدان، با شیوع نسبتاً بالا از بیماری سل، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی-تحلیلی روی 75 نفر شامل 21 نفر از کارکنان بیمارستان بوعلی شهر زاهدان و 54 نفر از افراد خانواده بیماران مسلول، انجام شد. آزمایش سنجش اینترفرون گاما و تست پوستی توبرکولین برای هریک از این افراد انجام گردید.

یافته‌ها: از 75 فرد شرکت کننده در این مطالعه، 26 نفر سنجش اینترفرون گاما آنها مثبت شد، از 63 نفری که نتیجه آزمون پوستی توبرکولین آنها قرائت شد (12 نفر جهت خواندن تست مراجعه نکردند)، 60/31 درصد دارای تورم بیش از 10 میلی‌متر بودند. 32/25 درصد افراد هر دو تست پوستی و سنجش اینترفرون گاما آنان مثبت بود، در 34/92 درصد از افراد هر دو آزمون منفی گردید. توافق بین این دو آزمون، 66/67 درصد به دست آمد ($p=0/001$ ، $0/17-0/567$ ، $k=0/36$ ، 95% confidence interval [CI]).

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دادند که توافق به دست آمده بین این دو تست، ضعیف می‌باشد.

واژگان کلیدی: سل، عفونت نهفته سل، سنجش تولید اینترفرون گاما، تست توبرکولین

*نویسنده مسئول: تهران، بزرگراه جلال آل احمد دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی گروه ایمنولوژی

Email: pourfa@modares.ac.ir

مقدمه

بیماری سل که به وسیله مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ایجاد می‌گردد، شایع‌ترین علت مرگ ناشی از بیماری‌های عفونی تک عاملی در دنیا است و از نظر بار جهانی بیماری، در رتبه هشتم قرار دارد و پیش‌بینی می‌شود که این بیماری تا سال 2020 به رتبه بالاتری صعود نماید. علی‌رغم پیشرفت‌های چشم‌گیر علم در عرصه پزشکی و توسعه درمان‌های دارویی، بیماری سل حدود 14 میلیون نفر را در جهان درگیر کرده است و 1/3 میلیون مورد مرگ ناشی از این بیماری در افراد HIV منفی در سال 2009 گزارش شده است (0/38 میلیون مورد در افراد HIV مثبت)(1). در واقع هنوز چالش‌ها و موانع زیادی برای کنترل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و بیماری سل وجود دارد؛ این موانع شامل دوره درمانی طولانی مدت، مقاومت‌های دارویی، فقدان یک واکسن مناسب و موثر، کمبود اطلاعات ما از چگونگی ایجاد و شروع عفونت و پیشرفت بیماری و به ویژه عفونت با ویروس HIV می‌باشد. از سوی دیگر، مطابق با گزارش سازمان جهانی بهداشت، حدود یک سوم جمعیت جهان آلوده به باکتری سل می‌باشند(2). از افرادی که با باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس آلوده شده‌اند، تنها درصد اندکی از آنان بیماری سل را به طور فعال نشان می‌دهند و بیش از 90 درصد آنها بدون علامت هستند. این افراد در واقع به عفونت نهفته TB یعنی LTBI (Latent Tuberculosis Infection) مبتلا می‌باشند. این تعداد زیاد از افرادی که دارای عفونت نهفته سل هستند، خود مانعی بزرگ در راستای دستیابی به امر کنترل جهانی سل می‌باشد(2، 3). جهت نیل به اهداف کنترل بیماری سل، شناسایی و درمان افرادی که به عفونت نهفته TB آلوده هستند می‌تواند از جمله راهکارهای مفید در کاهش نرخ این بیماری باشد. از این رو شناسایی و در صورت لزوم درمان موارد عفونت نهفته TB، امری حیاتی در برنامه کنترل و بهداشتی کشورها، به ویژه کشورهایی که دارای نرخ متوسط یا بالای بیماری سل هستند، خواهد بود(4).

تا کنون روش‌های مختلفی جهت شناسایی و تشخیص عفونت نهفته TB معرفی شده‌اند که مهم‌ترین آنها شامل تست پوستی توبرکولین -Tuberculin Skin Test- (TST) و آزمون‌های برپایه سنجش تولید اینترفرون گاما (IFN-gamma release assay) بوده است که از آن میان می‌توان به آزمون‌های T-SPOT، QFT (QuantiFERON-TB Gold) و ELISPOT اشاره نمود. هر یک از این تست‌ها به روشی خاص به بررسی وضعیت سیستم ایمنی فرد نسبت به باکتری سل می‌پردازند و دارای مزایا و معایبی نیز هستند(5).

TST نسبت به سایر روش‌ها از قدمت بیشتری برخوردار است و هم اکنون نیز در بسیاری از کشورها به عنوان یک تست روتین جهت ارزیابی وضعیت سیستم ایمنی فرد در برابر باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کاربرد دارد(6). این تست با وجود این که ارزان است و به آسانی قابل انجام است، دارای محدودیت‌های فراوانی نیز هست، به طوری که به دلیل تغییرپذیری در تفسیر نتایج و نیز موارد منفی و مثبت کاذب آن، به عنوان یک تست استاندارد طلایی (Gold Standard)، مورد شک و تردید می‌باشد. به خصوص یکی از مشکلات این تست، عدم مراجعه افرادی است که تست برای آنها انجام شده است و می‌بایست نتیجه تست آنها قرائت شود. علاوه بر این، تفسیر نتایج TST در افرادی که با BCG (Bacille Calmette-Guerin) واکسینه شده‌اند یا در معرض مایکوباکتریوم‌های محیطی (غیر توبرکلوزیس) قرار گرفته‌اند، به دلیل ایجاد واکنش متقاطع پاسخ‌های سیستم ایمنی در برابر آنتی ژن PPD (purified protein derivative) که منجر به بروز موارد مثبت کاذب می‌گردد، پیچیده خواهد بود؛ هم‌چنین این تست در افرادی که مبتلا به HIV هستند به طور کاذب منفی می‌گردد(7، 8).

یکی از روش‌های نوین بر پایه سنجش اینترفرون گاما جهت شناسایی LTBI که اختصاصی‌تر از روش TST است و نتایج آن تحت تاثیر واکسن BCG قرار نمی‌گیرد و می‌تواند در مناطق اندمیک مورد استفاده باشد، روش

Quantiferon-TB Gold in Tube می‌باشد که در سال 2005 نیز به تصویب سازمان غذا و داروی آمریکا تحت عنوان روشی برای تشخیص عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس رسیده است (9). اساس این تست بررسی تولید سایتوکاین اینترفرون گاما توسط سلول‌های T افرادی است که نسبت به آنتی ژن‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس دارای خاطره هستند. این سلول‌ها در مواجهه با آنتی ژن‌های اختصاصی مایکوباکتیوم توبرکلوزیس شامل ESAT-6 (Early Secretory Antigen-6)، CFP-10 (Culture Filtrate Protein-10) و TB7.7 (Rv2654) که در این آزمایش به کار می‌روند، اینترفرون گاما تولید می‌نمایند (10). از آنجایی که این پروتئین‌ها در واکسن BCG وجود ندارند و نیز در مایکوباکتریوم‌های محیطی و شایع بجز مایکوباکتریوم کانزاسی (*M. kansasii*)، مایکوباکتریوم زولگایی (*M. szulgai*) و مایکوباکتریوم مارینوم (*M. marinum*) تولید نمی‌شوند؛ این روش بسیار اختصاصی‌تر از TST در شناسایی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس خواهد بود. در مطالعاتی که آزمون‌های QFT و TST مورد مقایسه قرار گرفته‌اند، نشان داده شده است که تست QFT از حساسیت و ویژگی بالاتری در شناسایی بیماران مبتلا به TB فعال و نیز افرادی که مبتلا به عفونت نهفته TB هستند، برخوردار می‌باشد (12، 13)، هم‌چنین طبق توصیه مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (Centers for Disease Control and Prevention-CDC)، در تمام مواردی که آزمون TST به کار می‌رود، QFT نیز کاربرد دارد (7).

طبق آمار سازمان جهانی بهداشت در سال 2009، از جمعیت 74 میلیون نفری ایران، 9763 مورد جدید سل ثبت شده است. نرخ بروز بیماری سل ریوی خلط مثبت در ایران، 13 نفر در هر 100 هزار نفر در سال می‌باشد، حال آن که نرخ مورد انتظار بیماری سل 22 نفر به ازای هر 100 هزار نفر می‌باشد (در خاور میانه 180 نفر به ازای هر 100 هزار نفر جمعیت) (1، 14). استان سیستان و بلوچستان ایران بالاترین نرخ بروز شیوع سل را دارا می‌باشد، به طوری که در این

استان نرخ بروز بیماری سل 48/5 نفر در 100000 نفر جمعیت بوده است (3). از این رو با توجه به اندمیک بودن بیماری سل در کشور ایران و به خصوص در استان سیستان و بلوچستان و این که شناسایی و در صورت لزوم درمان افراد مبتلا به LTBI از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد و می‌تواند در کاهش نرخ ابتلا به بیماری سل موثر باشد، بررسی میزان توافق این دو تست در این منطقه، طرح ریزی و انجام شد. بررسی میزان توافق دو تست QFT-in tube و test و TST در تشخیص عفونت نهفته سل در افراد با خطر بالا صورت گرفت؛ بدین منظور کارمندان امور بهداشتی و درمانی بیمارستان عفونی شهر زاهدان در استان سیستان و بلوچستان ایران و نیز خانواده بیماران مبتلا به سل فعال به عنوان افرادی که در معرض تماس بالا با عامل سل می‌باشند، در این مطالعه وارد شدند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی 75 نفر مورد آزمایش قرار گرفتند. افراد متشکل از دو گروه بودند، گروه اول 21 نفر شامل کارمندان آزمایشگاهی و بخش عفونی بیمارستان بوعلی شهر زاهدان بود که با توجه به مراجعه بیماران مبتلا به سل به این مرکز، در معرض مواجهه با باکتری عامل سل بوده‌اند و گروه دیگر شامل 54 نفر، که از افراد خانواده بیماران مسلول، شکل گرفت. همگی افراد توسط پزشک متخصص عفونی مورد بررسی قرار گرفتند. هیچ یک از افراد شرکت کننده سابقه‌ای از بیماری سل، مصرف داروهای کورتیکواستروئیدی و مهار کننده ایمنی نداشتند. این افراد پس از تکمیل فرم رضایت جهت خون‌گیری و پرسش‌نامه تنظیم شده، با رعایت موارد مطرح درصوبه شماره 5221755 کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه تربیت مدرس، در مطالعه شرکت داده شدند.

جهت انجام تست TST، 0/1 میلی‌لیتر PPD Vaccine and serum Res. Institute I.R. Iran;) equivalent to about five- tuberculin units of (PPD solution) برابر با 5 واحد بین‌المللی، به صورت داخل پوستی به بازوی افراد در محل مناسب تزریق شد و

میلی‌لیتر، به عنوان عفونت نهفته TB در نظر گرفته شد (7)،
(13).

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه 17 تجزیه و تحلیل شدند. توافق یا agreement بین QFT-in tube و TST با استفاده از ضریب همبستگی کاپا (آماره کاپا) اندازه‌گیری شد. مقادیر کاپای کمتر از 0/4 همبستگی ضعیف، مقادیر بین 0/4 و 0/75 همبستگی خوب و مقادیر کاپای بالاتر از 0/75 همبستگی قوی را بیان می‌نمایند (16). از آنجایی که معیار استاندارد برای تشخیص LTBI وجود ندارد، ارزیابی حساسیت و ویژگی آزمون‌های TST و QFT-in tube test دارای ایراد خواهد بود؛ لذا در این بررسی محاسبه نشده‌اند. همچنین جهت بررسی اثرات سن و جنس بر نتایج آزمون‌های TST و QFT از آنالیز logistic regression استفاده شد و از طریق تخمین odds ratio (OR) تاثیر این عوامل مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

برای تمام افراد (75 نفر)، هر دو آزمون QFT و TST انجام شد. 26 نفر (34/66 درصد) تست QFT مثبت و 49 نفر (65/34 درصد) تست QFT منفی داشتند. در این بررسی 35 مرد (46/67 درصد) با متوسط سن $34/8 \pm 16/47$ سال و 40 زن (53/33 درصد) با متوسط سن $27/02 \pm 15/23$ سال، شرکت داشتند (با محدوده سنی 6 تا 75 سال). از تعداد 75 نفر فرد شرکت کننده در این بررسی، 21 نفر (28 درصد) جزء کارمندان بیمارستانی بودند (متشکل از 16 مرد (76/19 درصد) و 5 زن (23/81 درصد) و 54 نفر (72 درصد) از افراد خانواده بیماران مسلول، شامل 19 مرد (35/18 درصد) و 35 زن (64/82 درصد) تشکیل شده بودند (جدول 1).

پس از 72 ساعت در محل تزریق قطر برآمدگی (سفتی) با خط کش میلی متری اندازه‌گیری گردید. مطابق استانداردهای جهانی برای افراد کمتر از 6 سال، موارد بالای 6 میلی‌متر و افراد بالای 6 سال مقادیر مساوی یا بالاتر از 10 میلی‌متر، مثبت در نظر گرفته شد (6).

تولید اینترفرون گاما در پاسخ به آنتی ژن‌های ESAT-6، CFP-10 و (Rv2654) TB7.7 به وسیله آزمایش QFT-in tube بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده (شرکت cellestis کشور استرالیا، کد: 05900301) مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در دو مرحله انجام شد. در مرحله نخست انکوباسیون خون تام با آنتی ژن‌های نام برده شده صورت گرفت و در مرحله دوم، اندازه‌گیری تولید اینترفرون گاما در پلاسما جمع‌آوری شده با آزمایش الیزا انجام پذیرفت. خون وریدی درون 3 لوله هپارینه به حجم 1 میلی‌لیتر جمع‌آوری شد. یک لوله که فقط هپارینه است، به عنوان لوله کنترل منفی به کار رفت، لوله دیگر که به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید حاوی میتوزن سلول T، فیتوهاگلوتینین (Phytohaemagglutinin-PHA)، بود و لوله سوم نیز که دارای آنتی ژن‌های ESAT-6، CFP-10 و TB7.7 (Rv2654) می‌باشد به عنوان لوله اصلی جهت بررسی وضعیت ایمنی و خاطره ایمنولوژیکی فرد نسبت به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده گردید (15). پس از ریختن خون، لوله‌ها به مدت 16 تا 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پلاسماهای به دست آمده به دنبال سانتریفیوژ لوله‌ها، جهت اندازه‌گیری غلظت اینترفرون گاما به روش الیزا مورد بررسی قرار گرفتند. با انجام آزمایش الیزا مطابق دستورالعمل کیت QFT-in tube (Celtestis Ltd) غلظت اینترفرون گاما تولید شده اندازه‌گیری و نتایج حاصله توسط نرم افزار QFT مورد آنالیز قرار گرفتند. مطابق با دستورالعمل کیت، سطح اینترفرون گاما برابر یا بیشتر از 0/35 واحد بین المللی بر

ژن‌های اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، 34/66 درصد افراد، آزمون QFT-in tube آنها مثبت شد که میانگین میزان تولید اینترفرون گاما آنها برابر با 4/99 واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر بود. 32/25 درصد افراد هر دو تست TST و QFT آنان مثبت بود، حال آن که 34/92 درصد از افراد (از 63 نفر) هم تست TST و هم آزمون QFT آنان منفی شده بود (جدول 2 و 3).

جدول 2. مقایسه نتایج آزمایش QFT-in tube و تست پوستی توبرکولین (TST) بر اساس جنسیت

آزمایش	درصد کل	
	درصد مردان	درصد زنان
QFT-in tube(+)	53/85	34/66
TST(+)	52/64	47/36
TST(+) و QFT(+)	60	31/74
TST(-) و QFT(+)	66/67	4/76
TST(+) و QFT(-)	44/45	28/57
TST(-) و QFT(-)	36/36	34/92
	63/64	63/64

QFT: تست TST، quantiferon. تست پوستی توبرکولین

جدول 1. اطلاعات مربوط به جنس و سن افراد شرکت کننده در مطالعه

ویژگی‌ها	تعداد (درصد)	
	کارمندان تعداد = 21 نفر	خانواده بیماران تعداد = 54 نفر
جنس	مرد 16 (76)	19 (35)
	زن 5 (24)	35 (65)
متوسط سن افراد بر حسب سال	43/71	25/53
سن افراد	25 ≥	0
	26-30	0
بر حسب سال	31-35	2 (9)
	36-40	5 (24)
	40 <	14 (67)
		11 (20)

از 75 فردی که آزمون TST برای آنها انجام شد، 12 نفر جهت قرائت نتیجه آزمایش مراجعه نکردند (16 درصد) و از 63 نفری که نتیجه آزمون TST آنها قرائت شد، 60/31 درصد دارای تورم بیش از 10 میلی‌متر بودند (با میانگین تورم 17/79 میلی‌متر) که مطابق با پروتکل اجرایی در ایران مثبت تلقی می‌شدند. پس از خون‌گیری از تمامی 75 نفر و انجام آزمون الایزا جهت برآورد میزان تولید اینترفرون گاما از سلول‌های خونی آنان در مواجهه با آنتی

جدول 3. ارتباط بین نتایج آزمایش‌ها و سن و جنس افراد در دو گروه مورد مطالعه

ویژگی‌ها	کارمندان (تعداد= 21 نفر)				خانواده مسلولان (تعداد= 42 نفر)			
	TST (+)	QFT (-)	QFT (+)	TST (-)	TST (+)	QFT (-)	QFT (+)	TST (-)
آزمایش	15 (71/4)	14 (66/7)	7 (33/3)	6 (28/6)	23 (54/8)	35 (64/8)	19 (35/2)	19 (45/2)
تعداد افراد (درصد)	15 (71/4)	14 (66/7)	7 (33/3)	6 (28/6)	23 (54/8)	35 (64/8)	19 (35/2)	19 (45/2)
متوسط سن بر حسب سال	46/33	42/78	45/85	37/5	28	24/22	27/94	21/15
جنس، تعداد	11 (73/3)	10 (71/4)	6 (85/7)	4 (66/6)	8 (34/8)	11 (31/4)	8 (42/1)	6 (31/6)
اد(درصد)	4 (26/7)	4 (28/6)	1 (14/3)	2 (33/4)	15 (65/2)	24 (68/6)	11 (57/9)	13 (68/4)

QFT: تست TST، quantiferon. تست پوستی توبرکولین

تست در افرادی که با خطر بالای ابتلاء به بیماری سل روبرو هستند، در استان سیستان و بلوچستان ایران، ضعیف می‌باشد. هم‌چنین بررسی انجام شده جهت تعیین ارتباط پارامترهایی چون سن و جنس، به عنوان فاکتورهای احتمالی خطر بر نتایج حاصله از آزمون‌های TST و QFT، نشان داد که فاکتور جنس روی نتایج آزمون‌های TST و QFT

با انجام محاسبات آماری توافق کلی بین این دو تست 66/67 درصد به دست آمد (p=0/001، 0/17-0/567، confidence interval [CI], 95%, k=0/36)؛ که با در نظر گرفتن مبنای تعریف شده (ضریب توافق بیشتر از 0/75، توافق عالی، بین 0/4 و 0/75 توافق نسبتاً خوب تا خوب و کمتر از 0/4 توافق ضعیف)، توافق به دست آمده بین این دو

کننده به دو گروه سنی 1-39 سال با OR برابر با 0/29 و 80-40 سال با OR برابر با 3/41، ارتباط معنی‌داری از نظر آماری بین نتایج مثبت TST و فاکتور سن دیده می‌شود (جدول 4).

تاثیری ندارد ($p=0/3$). از سوی دیگر در بررسی نقش و تاثیر فاکتور سن روی نتایج حاصله در این آزمون‌ها نشان داده شد، در حالی که این فاکتور روی نتایج مثبت آزمایش QFT تاثیری ندارد ($p=0/6$)، با گروه‌بندی افراد شرکت

جدول 4. ارتباط سن و جنس، بعنوان فاکتورهای احتمالی خطر بر نتایج حاصله از آزمونها

متغیر	TST			QFT		
	p	95 % CI	OR	p	95 % CI	OR
جنس						
مرد	0/326	0/216-1/669	0/600	0/364	0/247-1/672	0/643
زن	0/326	0/599-4/634	1/667	0/364	0/598-4/048	1/556
سن						
1-39 سال	0/020*	0/102-0/841	0/292	0/628	0/270-1/835	0/704
40-80 سال	0/020*	1/189-9/833	3/419	0/628	0/545-3/705	1/420

QFT: تست TST، quantiferon، تست پوستی توپرکولین، OR(odds ratio)، CI(confidence interval)، *: معنی‌دار

با نتایج به دست آمده از مطالعات صورت گرفته توسط بروک (5) در دانمارک، اور (26) در انگلستان، پای (32) در هندوستان و نیز آوارز (25) در اسپانیا (توافق بالا، 97 درصد، بین دو تست در نتایج منفی) در تضاد می‌باشد.

در مطالعه ما شیوع LTBI توسط آزمون QFT-in tube 32 درصد به دست آمد، حال آن که این شیوع توسط تست TST، 60/31 درصد برآورد گردیده است. این تفاوت در برآورد میزان شیوع LTBI، می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد، که از آن جمله می‌توان به عواملی که احتمالاً در مثبت کاذب شدن نتایج TST و یا منفی کاذب شدن نتایج آزمون QFT تاثیر گذارند، اشاره نمود. به طور مثال در مطالعات قبلی صورت گرفته، عواملی چون سن افراد، محل کار افراد، میزان مواجهه افراد با بیماران مسلول و یا باکتری‌های مایکوباکتریایی، واکسیناسیون با BCG و شیوع عفونت‌های مایکوباکتریایی؛ ذکر گردیده‌اند (25). از جمله عواملی که می‌تواند باعث این اختلاف گردد شیوع مایکوباکتریوم‌های غیر توپرکلوزی می‌باشد، عفونت با این مایکوباکتریوم‌ها معمولاً باعث مثبت کاذب شدن تست TST می‌گردد به طوری که ما با سفتی 5 تا 14 میلی‌متری مواجه خواهیم بود (33، 34)، اما چنانچه در آنالیز نتایج تست TST، حد مرز (cut off) را 15 میلی‌متر در نظر بگیریم، در این صورت میزان شیوع LTBI برآورد شده توسط تست TST، 38 درصد می‌گردد که به مقدار شیوع محاسبه شده

بحث

علی‌رغم پیشرفت‌های فراوان در زمینه‌های مختلف علمی و به خصوص امور بهداشتی و درمانی، بیماری سل شایع‌ترین علت مرگ، ناشی از بیماری‌های عفونی در دنیا می‌باشد (3). از سوی دیگر سازمان جهانی بهداشت تخمین می‌زند که حدود یک سوم جمعیت جهان در حال حاضر به باکتری عامل سل آلوده اند (2). از این رو جهت نیل به اهداف کنترل سل، لازم است فعالیت‌هایی چون شناسایی به موقع و درمان موثر بیماران و هم‌چنین شناسایی افرادی که به سل نهفته مبتلا هستند، در استراتژی‌های کنترل سل در هر کشوری گنجانده شود.

بررسی کارایی دو تست TST و QFT و تعیین میزان توافق بین این دو تست در شناسایی عفونت نهفته سلی در کشورهای مختلفی نظیر هندوستان (17، 18)، ژاپن (19)، ایتالیا (20)، هلند (21)، آمریکا (22)، دانمارک (10)، استرالیا (23)، آفریقا (24)، اسپانیا (25)، انگلستان (26)، کره (12)، گامبیا (27) و نیز در ایران (28-30) انجام شده است. در پاره‌ای از مطالعات انجام شده توافق بین این دو آزمون قوی (26، 5) و در دیگر بررسی‌های به عمل آمده این توافق ضعیف و یا نسبتاً خوب گزارش گردیده است (12، 30). از این نظر یافته ما به گزارش کانگ از کره (12)، آوارز (25) از اسپانیا (توافق پایین، 59 درصد، بین دو تست در نتایج مثبت)، کونل از استرالیا (31) و یا دیگر مطالعه صورت گرفته در ایران (30) شباهت دارد، اما

گرفته در آفریقای جنوبی نشان داد که افراد با واکنش بیش از 15 میلی متر PPD، 33 درصد آزمایش QFT آنها منفی خواهد بود (37). هم چنین در مطالعه انجام شده توسط پای نیز در 11 درصد افراد با PPD مثبت، QFT منفی بوده است (32)، که به یافته ما نزدیک می باشد.

آنالیزهای صورت گرفته جهت تعیین ارتباط پارامترهایی چون سن و جنس بر نتایج حاصله از آزمون های TST و QFT، نشان دادند که فاکتور جنس روی نتایج آزمون های TST و QFT تاثیری ندارد. هم چنین بررسی تاثیر فاکتور سن روی نتایج حاصله در این آزمون ها نشان داد، در حالی که این فاکتور روی نتایج مثبت آزمایش QFT تاثیری ندارد، ارتباط معنی داری از نظر آماری بین نتایج مثبت TST و فاکتور جنس در گروه بندی افراد شرکت کننده به دو گروه سنی 1-39 سال و 40-80 سال، دیده می شود (جدول 4). همان گونه که این نتایج نشان می دهند، ظاهراً در محدوده سنی 1-39 سال با OR برابر با 0/29 مقاومتی در ابتلا به TB نهفته وجود دارد، حال آن که در سنین بالای 40 سال، این افزایش سن به عنوان یک فاکتور خطر جهت ابتلا به LTBI (به میزان 3/41 برابر) مطرح می باشد؛ که البته این نتایج با آزمون QFT مورد تایید قرار نمی گیرند. این یافته ها با اطلاعات به دست آمده در بررسی هایی چون مطالعه آلوارز (25) و کانگ (12) مشابهت دارد. آلوارز و همکاران نشان دادند که فاکتور جنس در نتایج حاصله از آزمون های TST و QFT تاثیری ندارد، حال آن که فاکتور افزایش سن به عنوان یک عامل خطر با نتایج حاصله از آزمون QFT (و نه TST) در ارتباط می باشد [OR=1/08 (1/02-1/16)] و این در حالی است که در بررسی صورت گرفته توسط کانگ، نتایج حاصل از آزمون های TST و QFT، تحت تاثیر فاکتورهای سن و جنس نبودند (12، 25).

در ایران نیز مطالعاتی از این دست انجام شده است که می توان به مطالعه کریمی نیا (28)، وزیری (30) و داور پناه (29) اشاره نمود. کریمی نیا و همکاران با بررسی مراجعه کنندگان به انستیتو پاستور ایران، نشان دادند که در مناطق با

توسط آزمون QFT (32 درصد) نزدیک می گردد اما در این حالت نیز توافق بین دو تست ضعیف و برابر با 69/84 درصد به دست آمد (CI] 0/118-0/593[، 95%، $k=0/355$)؛ از این رو این فرض که بین عفونت های مایکوباکتریوم توپرکلوزیس و مایکوباکتریوم های غیر توپرکلوزی احتمال واکنش متقاطع وجود دارد، ضعیف خواهد بود که این یافته مطابق با نتیجه به دست آمده در مطالعه کانگ (12) نیز می باشد.

از دیگر چالش های به دست آمده در این بررسی، حالت های QFT مثبت، TST منفی (4/7 درصد) و TST مثبت، QFT منفی (28/57 درصد) می باشد. در رابطه با حالت اول یعنی QFT مثبت، TST منفی (4/7 درصد) مطابق با مطالعات انجام شده (18، 25، 35)، ظاهراً شاخصه هایی چون مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم ها و نیز گذر زمان در این رابطه نقش دارند، چرا که پاسخ های گذرا و موقتی در آزمون QFT شایع هستند (11) و از سوی دیگر، احتمال منفی کاذب شدن تست TST نیز مطرح می باشد. احتمال مطرح دیگر اینست که برخی از نتایج مثبت QFT، کاذب هستند، همان طور که ذکر شد احتمال مثبت کاذب شدن آزمون QFT در رابطه با برخی از مایکوباکتریوم های غیر توپرکلوزیس نظیر M.kansaii، M.szulgai و M.marinum مطرح می باشد. چالش مطرح دیگر حالت TST مثبت، QFT منفی (28/57 درصد) است. از جمله موارد قابل ذکر جهت توضیح این حالت، می توان به نتایج مثبت کاذب در تست TST اشاره نمود. همان گونه که ذکر آن رفت، تاثیر واکسیناسیون با BCG، عفونت با مایکوباکتریوم های غیر توپرکلوزیس؛ و شاخصه هایی چون سن و میزان مواجهه با مایکوباکتریوم ها از جمله مواردی هستند که می توانند در این رابطه تاثیر گذار باشند (12، 25، 36، 32). هر چند با در نظر گرفتن حد مرز 15 میلی متر، در این مطالعه و بررسی انجام شده توسط کانگ (12) توافق بین دو آزمون بالا نرفت. در مطالعات دیگری نیز عدم توافق بین نتایج QFT و TST به ویژه در مورد حالت های TST مثبت و QFT منفی، مطرح شده است (12، 26). بررسی صورت

برنامه‌های رایج واکسیناسیون افراد، شیوع مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس، تفاوت‌های موجود از نظر ژنتیکی به خصوص تاثیر ژن‌های HLA در کمیت و کیفیت پاسخ‌های ایمنی افراد و مسایل متعدد دیگر، از عوامل تاثیر گذار در چنین بررسی‌هایی خواهند بود.

از آنجایی که استان سیستان و بلوچستان با توجه به همجواری آن با دو کشور همسایه شرقی یعنی پاکستان و افغانستان در معرض شیوع بالای بیماری سل می‌باشد و بر اساس آخرین آمار منتشره از وزارت بهداشت و درمان کشور (سال 2009)، میزان بروز بیماری سل 48/5 در 100/000 جمعیت بوده است (3)؛ از این رو بهبود روش‌هایی که در تشخیص و شناسایی بیماری سل و به خصوص افراد مبتلا به سل نهفته از کارایی بیشتری برخوردار باشند، می‌تواند در بهبود پروتکل‌های تشخیصی و درمانی در چنین مناطق اندمیک و پرخطری موثر و مفید باشد. هر چند در این بررسی توافق بین این دو تست ضعیف بود، اما آزمون QFT با توجه به بررسی پاسخ دهی سلول‌های ایمنی به آنتی‌ژن‌های اختصاصی TB ظاهراً از حساسیت و ویژگی بهتری نسبت به تست TST برخوردار است و کمتر تحت تاثیر واکسیناسیون BCG و دیگر مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس قرار می‌گیرد و بر خلاف تست TST از موارد مثبت کاذب کمتری برخوردار است؛ از سوی دیگر انجام تست QFT دارای معایبی چند از جمله گران‌تر بودن، عدم دسترسی آسان به انجام آن و هم‌چنین نیاز به ابزار و ادواتی گران چون دستگاه الیزاریدر (ELISA reader) می‌باشد که باعث ارجحیت تست TST در بسیاری از موارد خواهد بود. از این رو با توجه به مواردی که ذکر گردید، پیشنهاد می‌گردد که در شناسایی افرادی که احتمالاً به LTBI مبتلا هستند، به خصوص در مناطقی که بیماری سل شیوع متوسط و بالایی دارد، از هر دو آزمون TST و QFT استفاده شود تا شناسایی این افراد با دقت بیشتری انجام گردد و در صورت لزوم پروتکل‌های درمانی مناسب جهت کاهش موارد سل نهفته در خصوص این افراد به کار گرفته شود. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به کم بودن حجم

بروز بالای سل، در جمعیت دریافت‌کننده واکسن BCG، تست QFT می‌تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی قابل قبول برای تشخیص سل نهفته مورد استفاده قرار گیرد (28). مطالعه داور پناه و همکاران در بررسی کارایی دو تست QFT و TST روی بیماران مبتلا به HIV صورت گرفت. آنان با بررسی 176 فرد مبتلا به ایدز، توافق بین این دو آزمون را در نتایج منفی 39/9 درصد و در نتایج مثبت 8/1 درصد گزارش نمودند. توافق کلی به دست آمده را نیز 50 درصد ذکر کردند، که توافق ضعیفی محسوب می‌گردد (29). اما وزیری و همکاران هیچ گونه ارتباط معنی‌داری را از نظر سن، جنس، علایم بالینی، سابقه واکسیناسیون BCG، یافته‌های رادیوگرافیک قفسه سینه و نتایج اسمیر خلط در افراد تحت بررسی که پرستاران شاغل در بیمارستان بودند، بین دو تست QFT و TST پیدا نکردند و بیان نمودند که این دو تست در افتراق و تشخیص سل نهفته، ارجحیتی بر هم ندارند (30). این گزارش و هم‌چنین مطالعه صورت گرفته توسط کونل (31)، کانگ (12) و آلوارز (25) با یافته‌های ما مشابهت‌های فراوانی را نشان می‌دهند. در این گزارش‌ها در مورد حالت‌های TST مثبت و QFT منفی، در تشخیص عفونت نهفته سل، چالش وجود دارد و ضرورت انجام مجدد تست‌ها پس از گذشت چند سال بعد مطرح شده است و یا این که مطابق با توصیه The National Institute for Health and Clinical Excellence of the United Kingdom جهت تایید تمامی موارد مثبت و یا مشکوک TST، باید آزمون QFT نیز انجام شود (25، 38).

اگرچه در مطالعات متعددی، بر ویژگی و حساسیت بالاتر تست QFT نسبت به TST اشاره شده است، اما توافق و یا عدم توافق بین این دو آزمون در تمامی بررسی‌های صورت گرفته یکسان و مشابه نبوده است. بالطبع اختلاف در درصد شیوع بیماری سل در مناطق مختلف جهان، تفاوت در شیوه‌های زندگی و امور بهداشتی و درمانی کشورهای مختلف، میزان آگاهی افراد در مواجهه با بیماران مسلول، برنامه‌های درمانی و پیش‌گیرانه متفاوت در کشورهای گوناگون، میزان ارتباط و مواجهه افراد با بیماران مبتلا به سل و باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس،

transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care settings, 2005: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention. 2005; 54:1-141.

5. Brock I, Welding K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. American journal of respiratory and critical care medicine. 2004;170(1):65-9.

6. Moran-Mendoza O, Marion S, Elwood K, Patrick D, FitzGerald J. Tuberculin skin test size and risk of tuberculosis development: a large population-based study in contacts. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2007;11(9):1014-20.

7. Mazurek GH, Jereb J, LoBue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. MMWR recomm rep. 2005;54(RR-15).

8. Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon- γ assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. The Lancet infectious diseases. 2004;4(12):761-76.

9. Cohn DL, O'Brien RJ, Geiter LJ, Gordin F, Hershfield E, Horsburgh C. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2000;4(9):1-61.

10. Brock I, Munk M, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2001;5(5):462-7.

11. Perry S, Sanchez L, Yang S, Agarwal Z, Hurst P, Parsonnet J. Reproducibility of QuantiFERON-TB gold in-tube assay. Clinical and Vaccine Immunology. 2008;15(3):425-32.

12. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, Cho B, Han SK, Shim Y-S, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon γ assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA: the journal

نمونه‌های مورد بررسی اشاره کرد که پیشنهاد می‌گردد در مطاعات آتی در صورت امکان از حجم نمونه بیشتری استفاده گردد، دیگر آن که یکی از محدودیت‌های ایجاد شده در رابطه با عدم مراجعه افرادی است که تست پوستی توپروکولین برای آنها انجام شده است که این امر باعث از دست رفتن تعدادی از نمونه‌ها می‌گردد.

نتیجه گیری

با بررسی 75 نفر از افرادی که با بیماران مبتلا به سل و باکتری مایکوباکتریوم توپروکلوزیس در تماس بوده‌اند، مشخص شد که توافق بین دو تست QFT و TST در شناسایی افراد مبتلا LTBI ضعیف (66/67) می‌باشد (k=0/36, 95%, [CI] 0/17-0/567 p=0/001).

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پروژه پایان نامه مصوب در دانشگاه تربیت مدرس ایران به شماره ثبت 528856 بود. نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از تمامی کارکنان بیمارستان و آزمایشگاه بوعلی زاهدان، بیماران مبتلا به سل و خانواده‌های آنان که صمیمانه در این طرح شرکت کردند و همچنین کارمندان بخش ایمنولوژی انستیتو پاستور ایران تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Organization WH. Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report 2010. Geneva: WHO. 2010.
2. Cooper AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. Annual review of immunology. 2009;27:393-422.
3. Metanat M, Sharifi-Mood B, Alavi-Naini R, Aminianfar M. The epidemiology of tuberculosis in recent years: Reviewing the status in south-eastern Iran. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2012;13(9):1-7.
4. Jensen PA, Lambert LA, Iademarco MF, Ridzon R. Guidelines for preventing the

- of the American Medical Association. 2005;293(22):2756-61.
13. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific Detection of Tuberculosis Infection An Interferon- γ -based Assay Using New Antigens. American journal of respiratory and critical care medicine. 2004;170(1):59-64.
 14. cdc.hbi.ir [homepage on the internet]. Iran, ministry of health and medical education. [cited March 2011]. Available from: <http://www.cdc.hbi.ir/>
 15. Borgström E, Andersen P, Andersson L, Julander I, Källenius G, Mæurer M, et al. Detection of proliferative responses to ESAT-6 and CFP-10 by FASCIA assay for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection. Journal of immunological methods. 2011;370(1):55-64.
 16. Sim J, Wright CC. The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements. Physical therapy. 2005;85(3):257-68.
 17. Dogra S, Narang P, Mendiratta DK, Chaturvedi P, Reingold AL, Colford JM, et al. Comparison of a whole blood interferon assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. Journal of Infection. 2007;54(3):267-76.
 18. Pai M, Menzies D. The New IGRA and the Old TST Making Good Use of Disagreement. American journal of respiratory and critical care medicine. 2007;175(6):529-31.
 19. Kobashi Y, Obase Y, Fukuda M, Yoshida K, Miyashita N, Fujii M, et al. Usefulness of QuantiFERON TB-2G, a diagnostic method for latent tuberculosis infection, in a contact investigation of health care workers. Internal Medicine. 2007;46(18):1543-9.
 20. Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with Mycobacterium tuberculosis: a prospective study. The Lancet. 2006;367(9519):1328-34.
 21. Arend SM, Engelhard AC, Groot G, De Boer K, Andersen P, Ottenhoff TH, et al. Tuberculin skin testing compared with T-cell responses to Mycobacterium tuberculosis-specific and nonspecific antigens for detection of latent infection in persons with recent tuberculosis contact. Clinical and diagnostic laboratory immunology. 2001;8(6):1089-96.
 22. Porsa E, Cheng L, Seale MM, Delclos GL, Ma X, Reich R, et al. Comparison of a new ESAT-6/CFP-10 peptide-based gamma interferon assay and a tuberculin skin test for tuberculosis screening in a moderate-risk population. Clinical and Vaccine Immunology. 2006;13(1):53-8.
 23. Vinton P, Mhrshahi S, Johnson P, Jenkin GA, Jolley D. Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test and Tuberculin Skin Test for Identification of Latent Mycobacterium tuberculosis Infection in Healthcare Staff and Association Between Positive Test Results and Known Risk Factors for Infection. infection control and hospital epidemiology. 2009;30(3):215-21.
 24. Barth RE, Mudrikova T, Hoepelman AI. Interferon-gamma release assays (IGRAs) in high-endemic settings: could they play a role in optimizing global TB diagnostics?: Evaluating the possibilities of using IGRAs to diagnose active TB in a rural African setting. International Journal of Infectious Diseases. 2008;12(6):e1-e6.
 25. Álvarez-León EE, Elizabeth Espinosa-Vega M, Molina-Cabrillana JM, Pérez-Arellano JL, Caminero JA. Screening for Tuberculosis Infection in Spanish Healthcare Workers: Comparison of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test with the Tuberculin Skin Test. Screening. 2009;30(9):876-83.
 26. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. The Lancet. 2003;361(9364):1168-73.
 27. Adetifa IM, Lugos MD, Hammond A, Jeffries D, Donkor S, Adegbola RA, et al. Comparison of two interferon gamma release assays in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection and disease in The Gambia. BMC infectious diseases. 2007;7(1):122-3.
 28. Kariminia A, Sharifnia Z, Aghakhani A, Banifazl M, Eslamifar A, Hazrati M, et al. Comparison of QuantiFERON TB-G-test to

- TST for detecting latent tuberculosis infection in a high-incidence area containing BCG-vaccinated population. *Journal of evaluation in clinical practice*. 2009;15(1):148-51.
29. Davarpanah M, Rasti M, Mehrabani D, Allahyari S, Neirami R, Saberi-Firoozi M. Association between PPD and QuantiFERON Gold TB Test in TB Infection and Disease among HIV-Infected Individuals in Southern Iran. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2009;11(1):71-5.
30. Vaziri S, Khazaei S, Neishaboori S, Kanani M, Madani S. The degree of agreement of quantiferon TB gold test and tuberculin skin test in nurses. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2011;13(1):37-43.
31. 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):e2624-5.
32. Pai M, Gokhale K, Joshi R, Dogra S, Kalantri S, Mendiratta DK, et al. Mycobacterium tuberculosis infection in health care workers in rural India. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 2005;293(22):2746-55.
33. Bahrmand AR, Samar HMG, Khalilzadeh L, Bakayev VV, Yaghli M, Babaei MH. Detection and identification of non-tuberculous mycobacterial infections in 6,472 tuberculosis suspected patients. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1996;28(3):275-8.
34. Von Reyn C, Horsburgh C, Olivier K, Barnes P, Waddell R, Warren C, et al. Skin test reactions to Mycobacterium tuberculosis purified protein derivative and Mycobacterium avium sensitin among health care workers and medical students in the United States. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2001;5(12):1122-8.
35. Veerapathran A, Joshi R, Goswami K, Dogra S, Moodie EE, Reddy M, et al. T-cell assays for tuberculosis infection: deriving cut-offs for conversions using reproducibility data. *PloS one*. 2008;3(3):e1850-1.
36. Pollock NR, Campos-Neto A, Kashino S, Napolitano D, Behar SM, Shin D, et al. Discordant QuantiFERON-TB Gold test results among US healthcare workers with increased risk of latent tuberculosis infection: a problem or solution? *infection control and hospital epidemiology*. 2008;29(9):878-86.
37. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet*. 2001;357(9273):2017-21.
38. London RCoPo, editor. *Tuberculosis: clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control 2006*: Royal College of Physicians.