



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

Azadeh Mansourzadeh<sup>1</sup>, Sahar Honarmand Jahromi<sup>1</sup>, Majid Khoshmirsafa<sup>2,3</sup>, **Reza Falak<sup>2,3</sup>**

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

### 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



Farname Inc.

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

آزاده منصورزاده<sup>۱</sup>، سحر هنرمند جهرمی<sup>۱</sup>، مجید خوش میرصفا<sup>۲</sup>، رضا فلک<sup>۳</sup>

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

### چکیده

### اطلاعات مقاله

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

**مواد و روش کار:** این مطالعه در سال ۱۳۹۴ روی ۳۰ سالمند دارای علائم سل نهفته، ۵۰ سالمند سالم و ۱۰ سالمندی که سل آنها به طور قطعی اثبات شده بود در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گردید. میزان اینترفرون گامای مترشحه از لنفوسیت‌های T اختصاصی خون محیطی با آزمون کوآنتی-فرون 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 حالی که حساسیت و ویژگی آزمون توبرکولین به ترتیب ۸۰٪ و ۹۴٪ 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 ۳۶٪ و ۹۴٪ بود.

**نتیجه‌گیری:** آزمون کوآنتی-فرون 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 کوآنتی-فرون، آزمون توبرکولین

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

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

### مقدمه

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

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، یک سوم 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

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 ایمنولوژی 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 صحت‌گذاری 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 از جمله 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 از جمله سایر عفونت‌های تنفسی (و یا عفونت‌های ویروسی مهم سیستمیک از جمله 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 مورد مطالعه 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 جدا شده 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.

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 کمی رهاسازی اینترفرون گاما (Interferon-gamma release assay) از لنفوسیت‌های T موجود در خون کامل با روش الیزا می‌باشد و صحت آزمون توسط فیتوهماگلوٹینین (PHA) به‌عنوان کنترل مثبت و لوله فاقد آنتی‌ژن به‌عنوان کنترل منفی ارزیابی می‌شود (۸-۶).

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 ایمنولوژیک سل بخصوص IGRA و مقایسه آن با سایر روش‌ها در ایران صورت گرفته است.

## آزمون کوانتی فرون

آزمون کوانتی فرون با استفاده از کیت QuantiFERON®-TB Gold In-Tube Test (Cellestis Limited Victoria, Australia; Cat No: T0590-0301) بر اساس دستورالعمل موجود در کیت انجام شد. کوانتی فرون یک آزمون بر پایه الیزا می باشد که مقدار کمی اینترفرون آزاد شده از لوکوسیت های تک هسته ای را در پاسخ به آنتی ژن های اختصاصی باسیل سل اندازه گیری می کند. پس از اخذ خون وریدی، مقدار یک میلی لیتر خون تحت شرایط استریل به هر کدام از سه لوله مورد نظر به ترتیب زیر منتقل گردید:

- ۱- لوله فاقد آنتی ژن به عنوان کنترل منفی که میزان پایه ای تولید اینترفرون گاما را اندازه گیری می کند.
- ۲- لوله حاوی فیتوهماگلوتینین که میتوز لنفوسیت های T بوده به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار می گیرد.
- ۳- لوله سوم حاوی پپتیدهای اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شامل (ESAT-6) Early Secretory Antigen Target-6 و (CFP-10) Culture Filtrate Protein-10 که به عنوان آنتی ژن های اختصاصی سل در نظر گرفته می شوند بود.

پس از اضافه کردن خون افراد مورد مطالعه به هر کدام از لوله های مربوطه، لوله ها به مدت ۲۰ ساعت در بن ماری ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. در نهایت لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما رویی جدا شد و تا زمان انجام آزمون الیزا در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. برای آزمون الیزا، مقدار ۵۰ میکرولیتر پلاسما رویی و ۵۰ میکرولیتر از آنتی بادی ضد اینترفرون گاما کونژوگه با HRP به میکروپلیت های ۹۶ تایی کیت منتقل شد و بر اساس دستورالعمل کیت مقدار اینترفرون گاما در کنار استانداردها و کنترل ها 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 مورد مطالعه با استفاده از محلول PPD تجاری (انستیتو واکسن و سرم سازی رازی، حصارک کرج، ایران) که هر ۱۰۰ میکرولیتر آن حاوی ۵ واحد بین المللی توبرکولین (5 TU) است

انجام گردید. این آزمون جلدی از نظر اصول تلقیح، خواندن نتیجه و تفسیر آزمایش کاملاً استاندارد گردیده و پروتکل استفاده شده در این مطالعه نیز روش توصیه شده توسط سازمان بهداشت جهانی می باشد. تزریق ۰/۱ میلی لیتر 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 خط کش اندازه گیری شد. با توجه به علائم بالینی مشابه بیماران و خصوصیات دیگر (از جمله عدم داشتن بیماری های زمینه ای نظیر ایدز و بیماری های عفونی مزمن) ملاک تفسیر نتایج قطر اندوراسیون ناحیه تزریق در نظر گرفته شد و اندوراسیون بیش از ۵ میلی لیتر به عنوان مثبت و کمتر از آن به عنوان منفی در نظر گرفته شد (۹).

## آنالیزهای آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از بسته نرم افزار آنالیز آماری (SPSS-21, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) استفاده گردید. داده های کیفی به صورت تعداد (درصد) و داده های 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 (AUC) Area Under Curve) آزمون های رهاسازی اینترفرون گاما و توبرکولین محاسبه شد. برای مقایسه نتایج کمی آزمون کوانتی فرون و توبرکولین بین سه گروه، از آزمون آماری کروسکال والیس و برای تعیین همبستگی بین تست های فوق از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد و P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

## نتایج دموگرافیک

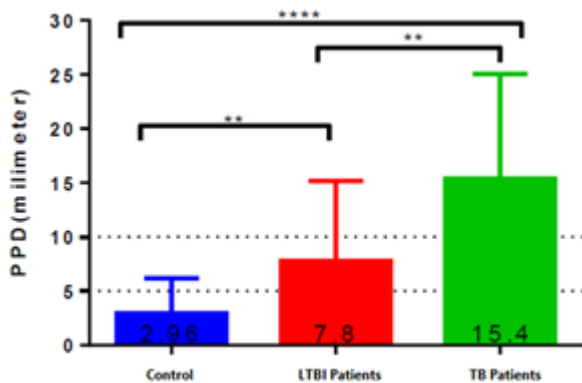
در مطالعه حاضر ۹۰ سالمند مورد مطالعه قرار گرفتند که شامل ۲۵ (۲۷/۸) مرد و ۶۵ (۷۲/۲) زن بودند. دامنه سنی افراد بین ۵۱ و ۸۵ سال با میانگین ۶۰/۲۷ (انحراف معیار ۶/۹۹ و میانه ۵۸/۵) بود. جامعه مورد مطالعه در سه گروه سالمندان مبتلا به سل فعال (۱۰ نفر)، سالمندان مبتلا به عفونت سل نهفته (۳۰ نفر) و افراد کنترل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

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک جامعه مورد مطالعه

	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
(میانگین 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 مورد مطالعه وجود دارد ( $P \text{ value} < 0/001$ ) (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 ( $P \text{ value} < 0/001$ ). جدول ۲ نتایج حاصل از مقایسه تست‌های توبرکولین و کوانتی‌فرون را نشان می‌دهد.



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 ( $P \text{ value} < 0/001$ ).

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

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

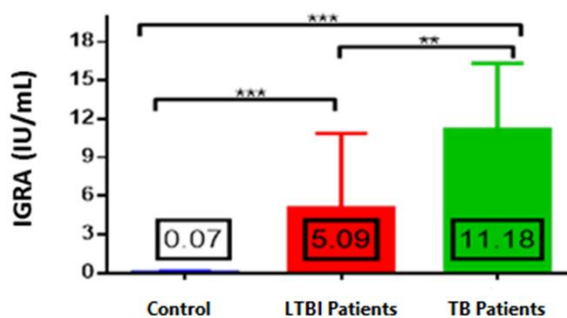
نتایج آزمون کوانتی‌فرون

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٪)



## 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 کوانتی فرون 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. علاوه بر 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.



شکل ۲: مقایسه نتایج کوانتی فرون (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 معنی داری بین میانگین گروه‌های فوق نشان داد. به طوری که 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.

## جدول ۳: حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای تست‌های کوانتی فرون 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٪)
کوانتی فرون 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)
کوانتی فرون 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)

می‌کاهد. از افرادی که با باسیل سل آلوده شده‌اند درصد اندکی بیماری را به طور فعال نشان می‌دهند، به طوری که بیش از ۹۰ درصد آن‌ها بدون علامت هستند. این افراد در واقع 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. از این رو شناسایی و درمان لزوم درمان موارد عفونت نهفته سل در سالمندان، امری حیاتی در برنامه کنترل بهداشت کشورها، به ویژه 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.

## بحث

در حال حاضر در میان بیماری‌های میکروبی، بیماری سل شایع‌ترین عامل کشنده بالغین در تمام دنیا می‌باشد. بیماری سل هر ساله افراد بیشتری را در مقایسه با ایدز و مالاریا به کام مرگ می‌کشد و روی بار کلی بیماری‌ها و از جمله شاخص دالی (Disability Adjusted Life Years)، افزایش موارد مقاوم به دارو و همچنین افزایش ابتلای افراد HIV مثبت به سل، تأثیرات قابل توجهی 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

این پژوهش ارزش اخباری منفی آزمون کوانتی فرون بیشتر از توبرکولین بود. درحالی که مطالعات Dewan و همکاران مقادیر کمتری نسبت به مطالعه حاضر به دست آوردند (۲۲).

در مطالعه حاضر شیوع عفونت نهفته سل نهفته در گروه مورد مطالعه توسط آزمون کوانتی فرون برابر ۷۳ درصد به دست آمد. حال آنکه این شیوع با آزمون توبرکولین برابر ۳۶ درصد بود و نتایج دو آزمون تفاوت داشت. این تفاوت در برآورد میزان شیوع عفونت نهفته سل می تواند دلایلی چون مثبت و منفی کاذب، محل کار بیماران و مایکوباکتریوم های محیطی باشد. محل کار افراد در مشاغل پرخطر در این بیماری و همین طور حضور مایکوباکتریوم های محیطی و واکسیناسیون می تواند دلیل این تفاوت باشد. جالب اینکه در این پژوهش دو نفر از سالمندان مبتلا به سل فعال علی رغم مثبت بودن آزمون کوانتی فرون، از نظر آزمون توبرکولین منفی بودند، اما از آنجایی که هر دو بیمار فوق مبتلا به دیابت بودند احتمالاً در اثر این بیماری زمینه ای و تضعیف مختصر سیستم ایمنی واکنش منفی کاذب رخ داده است. باوجود این برخی مطالعات نشان داده اند که عواملی مثل بالا بودن سن، ابتلا به HIV و بیماری های زمینه ای نظیر اختلالات کلیوی حساسیت آزمون های کوانتی فرون و توبرکولین را کاهش می دهد (۲۳-۲۷). همچنین بر طبق مطالعه Choi و همکاران، حساسیت آزمون های کوانتی فرون و توبرکولین در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می یابد (۲۸). بهر حال در مطالعه حاضر آزمون کوانتی فرون برای هر دو بیمار دیابتی مبتلا به سل فعال مثبت بود. همچنین آزمون همبستگی بین دو تست کوانتی فرون و توبرکولین در گروه بیماران مبتلا به سل نهفته وجود ارتباط بین این دو تست را نشان داد (فرض استقلال با  $Pvalue < 0.001$  رد می شود) درحالی که ضریب همبستگی این ارتباط ( $r = 0.43$ ) متوسط می باشد. این همبستگی نشان می دهد که تغییرات محیطی پوست شامل مقدار اندوراسیون تست توبرکولین با فعالیت لنفوسیت های T و ترشح سایتوکاین اینترفرون گاما به صورت سیستمیک متناسب نمی باشد.

از نقاط قوت پژوهش حاضر این است که از گروه های مختلف سالمندان برای اهداف طرح استفاده شد. بیماران مبتلا به سل نهفته از سالمندانی انتخاب گردید که توسط پزشک تأیید شده و نتایج رادیولوژی عفونت فعال را نشان می دادند. همچنین افراد کنترل نیز از میان سالمندانی انتخاب گردید که هیچ گونه علائم سل و اختلالات تنفسی نداشتند. بنابراین

در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین نتایج دو تست کوانتی فرون و توبرکولین در تشخیص سل فعال و نهفته در بیماران واکسینه شده با BCG به دست آمد، باوجود این آزمون کوانتی فرون حساسیت و دقت بیشتری داشت. یافته ها نشان داد که آزمون کوانتی فرون در مقایسه با توبرکولین برای غربالگری بیماران مبتلا به سل نهفته مناسب تر بوده و نتایج قابل اعتمادتری می دهد. مطالعات Eum و همکاران نیز نشان داد که سنجش اینترفرون گاما مترشحه در پاسخ به آنتی ژن های باسیل سل یک روش تشخیص مناسب برای سل نهفته در افراد با سابقه واکسیناسیون BCG می باشد (۱۴). بهر حال در مطالعه Connell و همکاران و Vaziri و همکاران اختلاف معنی داری بین دو آزمون وجود نداشت (۱۵-۱۶). در پژوهش حاضر یکی از سالمندان گروه کنترل نیز از نظر آزمون کوانتی فرون مثبت بود. چنین حالتی را احتمالاً می توان به مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم نسبت داد. احتمالاً عواملی همچون مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم ها و نیز گذر زمان در این رابطه نقش اساسی دارند، به طوری که احتمال بروز پاسخ مثبت کاذب برای آزمون کوانتی فرون در رابطه با برخی از مایکوباکتریوم های غیر توبرکلوزیس نظیر *M. kansasii*، *M. marinum* و *M. szulgai* مطرح می باشد (۱۷).

آزمون های کوانتی فرون و توبرکولین از نظر حساسیت و ویژگی نیز تفاوت دارند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی فرون در بیماران مبتلا به سل فعال و همچنین بیماران مبتلا به سل نهفته بیشتر از آزمون توبرکولین می باشد. همسو با این مطالعه نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی فرون بیشتر است. بررسی های Detjen و همکاران نشان داد که حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی فرون به ترتیب برابر ۹۳ درصد و ۱۰۰ درصد می باشد (۱۸). همچنین Harada و همکاران نیز حساسیت و ویژگی آزمون مذکور را به ترتیب ۹۳٪ و ۹۸٪ به دست آوردند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۹). در یک مطالعه متا-آنالیز که توسط Pai و همکاران انجام شد، حساسیت و ویژگی آزمون کوانتی فرون به ترتیب ۷۰٪ و ۹۷٪ به دست آمد (۲۰). همچنین در مطالعه حاضر ارزش اخباری مثبت آزمون کوانتی فرون 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

تحت تأثیر واکسیناسیون با BCG قرار نمی‌گیرد و می‌تواند در مناطق اندمیک با اطمینان بیشتری مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری‌های خانم معصومه نجفی کارشناس مسئول آزمایشگاه ایمنوشیمی 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 قرار دادند 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 میکروبیولوژی پزشکی ایران هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

از آنجایی که پژوهش حاضر دو نوع آزمون تشخیصی را به طور هم‌زمان مورد بررسی قرار داده و افرادی را مورد مطالعه 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 کم حجم نمونه اشاره نمود که به علت بار مالی انتخاب تعداد بیشتر نمونه‌ها میسر نبود.

روی هم‌رفته، نتایج حاصل از مقایسه آزمون‌های کوانتی‌فرون و توبرکولین نشان می‌دهد که آزمون تشخیصی کوانتی‌فرون 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 کوانتی‌فرون را مخدوش و مثبت کاذب نمی‌کند، لذا روش کوانتی‌فرون جهت شناسایی عفونت نهفته سل اختصاصی‌تر از روش توبرکولین بوده و نتایج آن

### References

- Sulis G, Roggi A, Matteelli A, Raviglione MC. Tuberculosis: epidemiology and control. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2014;6(1):e2014070.
- Dye C, Williams BG. Eliminating human tuberculosis in the twenty-first century. *J R Soc Interface* 2008;5(23):653-62.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Rothel JS and Radford AJ. Comparison of Tuberculosis Tests: Finding Truth or Confirming Prejudice? *Clin Infect Dis* 2003;36(9):1206-1207
- Lalvani A, Pareek M. Interferon gamma release assays: principles and practice. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica* 2010; 28(4):245-52.
- Mazurek G.H, Weis SE, Moonan P K, et al. Prospective Comparison of the Tuberculin Skin Test and 2 Whole-Blood Interferon- $\gamma$  Release Assays in Persons with Suspected Tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2007;45(7):837-845.
- 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.
- Pawlowski A, Jansson M, Skold M, Rottenberg ME, Kallenius G. Tuberculosis and HIV co-infection. *PLoS pathogens* 2012;8(2):e1002464.
- Chapman AL. New tests will improve detection of latent TB. *The Practitioner* 2011; 255(1745):23-6, 2-3.



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, Fujita A, 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, Hamed A, H T. Assessment of QuantiFERON-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.