

PLEVRAL TÜBERKÜLOZ TANISINDA İNTERFERON GAMMA'NIN TANISAL DEĞERİ

THE DIAGNOSTIC VALUE OF INTERFERON GAMMA IN THE DIAGNOSIS OF PLEURAL TUBERCULOSIS

Gürsel ÇOK¹

Candan ÇİÇEK²

Mustafa Hikmet ÖZHAN¹

Altınay BİLGİÇ²

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

¹ Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

² Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz plörezisi, interferon gamma, malign plörezi

Keywords: Tuberculous pleurisy, interferon gamma, malignant pleurisy

Geliş: 11 Kasım 2006

Kabul: 02 Aralık 2006

ÖZET

Aşı kökeni olarak kullanılan *Mycobacterium bovis* BCG konjenital veya kazanılmış bağışıklık yetmezliği olan bireylerde yaygın İnterferon gamma T lenfositlerden salınan bir lenfokindir ve makrofajların mikobakterilere karşı bakterisidal etkilerini artırdığı bilinmektedir. Plevral sıvı interferon gamma düzeylerinin tüberküloz plörezisi tanısındaki yerini araştırmak amacıyla prospektif bir çalışma planlanmıştır. Çalışmaya 14'ü tüberküloz plörezisi olmak üzere toplam 35 hasta alınmıştır. Tüberküloz plörezili hastaların tamamının tanısı histopatolojik olarak doğrulanmıştır. İnterferon gamma düzeyleri plevra sıvısında QuantiFERON-TB(QFT) kiti ile ölçülmüştür. Tüberküloz plörezili grupta ortalama yaş 37.4 (± 18.3) olup hastaların 4'ü kadın 10'u erkek idi. Diğer grupta bulunan 21 hastanın 14'ü malign plörezi, dördü parapnömonik plörezi ve üçü transuda vasıflı plörezi idi. Bu grupta, ortalama yaş 59.1 (± 14.9) olarak belirlendi ve 11 kadın 10 erkek hasta vardı. Tüberküloz plörezili hastaların dokuzunda interferon gamma pozitif, beşinde ise negatif saptandı diğer grupta ise 21 hastada negatif saptandı. Tüberküloz plörezisinde interferon gamma pozitifliğinin duyarlılığı % 64.3, özgüllüğü % 100, pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri ise % 80.7 olarak belirlendi. Çalışmada hasta sayıları yeterli olmamakla birlikte interferon gamma düzeyi ölçümlerinin tüberküloz plörezisi tanısına katkıda bulunabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

Interferon gamma, known by its effects which enhance the bactericidal activity of macrophages on mycobacteria, is a lymphokine released from the T lymphocytes. The purpose of this prospective study was to test the role of interferon gamma levels in the diagnosis of tuberculous pleurisy. A total of 35 patients 14 of whom had tuberculous pleurisy were enrolled in the study. Diagnoses of the patients with tuberculous pleurisy were all confirmed by histopathology. Levels of interferon gamma were measured by using the QuantiFERON-TB(QFT) kit. Mean age in the tuberculous pleurisy group involving 4 females and 10 males was 37.4 (± 18.3). The other group involving 21 patients included 14 patients with malignant pleurisy, 4 patients with parapneumonic pleurisy, and 3 patients with pleurisy transudate in character. This group consisted of 11 females and 10 males, the mean age being 59.1 (± 14.9). Interferon gamma was detected to be positive in 9 of the patients with tuberculous pleurisy, and negative in the remaining 5 patients while the other group had 21 patients with negative results. In patients with tuberculous pleurisy, the sensitivity and specificity of gamma interferon positiveness were detected as being 64.3% and 100 %, respectively. The positive predictive value of the test positivity was 100 %, and the negative predictive value was 80.7 % as well. Despite the inadequate number of patients enrolled in this study, it was concluded that measurement of interferon gamma levels may well contribute to the diagnosis of tuberculous pleurisy.

GİRİŞ

Tüberküloz plörezisi, plevral efüzyonların en önemli nedenlerinden biridir. Ekstrapulmoner tüberküloz formları içerisinde % 23-29 oranıyla tüberküloz lenfadenitinden sonra ikinci sırada gelmektedir (1-3). Tüberküloz plözisinin kesin tanısı plevra sıvısında basilin gösterilmesi veya plevra biyopsisinde granülomların veya basillerin saptanmasıyla konmaktadır. Ancak plevral sıvıda basilin gösterilmesi güçtür ve invazif olan biyopsi yöntemiyle bile tanı oranları % 80'i geçmemektedir (4, 5).

Tüberküloz plözisinde plevra sıvısında lenfositlerin artması nedeniyle son yıllarda tüberküloz plözisi tanısında plevra sıvısında artmış T lenfositlerden salınan lenfokinlerin kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu lenfokinlerden en çok üzerinde durulanı aktive olmuş CD4+ T lenfositlerden salınan interferon gamma'dır (6). Tüberküloz plözili hastaların plevra sıvılarında interferon gamma düzeylerinin yüksekliğinin tanıya katkıda bulunabileceği gösterilmiş olmakla birlikte (6-9), malign plözezi, paraprnömonik efüzyon ve oto-immun hastalıklara bağlı plözilerde de yüksek olabileceği bilinmektedir.

Plevral sıvı interferon gamma düzeylerinin tüberküloz plözisi tanısındaki yerini araştırmak amacıyla prospektif bir çalışma planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar

Çalışmaya Kasım 2002 ile Haziran 2004 tarihleri arasında klinikte incelenen plevral efüzyonlu 35 hasta alınmıştır. Hastalar 2 gruba ayrılmıştır.

Grup 1: Tüberküloz plözisi grubu: Plevra biyopsisi ile tüberküloz plözisi tanısı alan 14 hasta bu gruba dahil edilmiştir. Bu hastaların hepsinde biyopsi preparatlarında kazeifikasyon nekrozu gösteren granülatöz plörit saptanmış ve basil boyaları pozitif bulunmuştur. Daha önceden tüberküloz tedavisi başlanmamış olan hastaların ilk yapılan torasentezle elde edilen plevra sıvıları değerlendirilmeye alınmıştır.

Grup 2: Plevral sıvı sitolojisi veya biyopsisi ile malign plözezi tanısı alan 14 hasta, klinik ve biyokimyasal inceleme sonucu paraprnömonik plözezi tanısı alan dört hasta ve transuda vasıflı plözezi tanısı alan üç hastanın bulunduğu toplam 21 hasta bu gruba alınmıştır.

İnterferon gamma ölçümü

Hastaların tümünden 5 ml plevra sıvısı örneği heparinli tüplere alındı ve QuantiFERON-TB (QuantiFERON-TB,

Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Avusturya) testinde uygulanmak üzere aynı gün içinde 12 saat limiti aşılmadan kullanıldı. Plevra sıvısı örneği V tabanlı plaklara 1'er ml olacak şekilde dört kuyucuğa dağıtıldı. Test içeriğinde bulunan antijenler [M. tuberculosis'den elde edilen PPD, M. avium'dan elde edilen PPD, fitohemaglütinin (mitojen olarak kullanılan testin pozitif kontrolü) ve tuz (negatif kontrol veya nil kontrol)] sırasıyla her kuyucuğa birer damla damlatıldı. Örnek test antijenleri ile 16 ila 24 saat arasında 37° C'de inkübe edildi. Her dört çukurdan ayrı ayrı toplanan örneğe üretici firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemi uygulandı ve tüberküloza özgü invitro hücresel immün yanıtı gösteren interferon gamma miktarı araştırıldı. Optik dansitometrede 450 nm dalga boyunda sayısal olarak elde edilen sonuçlar QFT yazılım programına "exel" dosyası ile yerleştirilerek "International Units" cinsinden okundu.

ELISA gibi antijen temelli testlerde örnekte bulunan antijen/antikör fazlalığı nedeniyle veya çapraz reaksiyona neden olan diğer proteinler ile yalancı olumlu veya olumsuz sonuçlar alınabilmektedir. Bu nedenle örnek belli bir oranda sulandırılarak çalışıldığında antijen/antikör fazlalığının önüne geçilmekte ve eğer örnek yabancı protein içerdiği için yalancı pozitif sonuç elde edilirse sulandırmadan sonra miktar olarak azaldığı için non-spesifik bağlanma olmamakta ve sonuç negatifleşmektedir. Bundan hareketle sonucu pozitif çıkan hastaların plevra sıvıları 1:1 oranında sulandırılarak aynı yöntemle tekrar incelendi.

İstatistiksel analiz için SPSS 10.0 programı kullanıldı. Duyarlılık, özgüllük, negatif prediktif değer ve pozitif prediktif değer hesaplamaları Grup 1'deki tüberküloz plözili hastalar için yapıldı. İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Fischer'in exact testi kullanıldı.

BULGULAR

Grup 1'de yer alan tüberküloz plözili 14 hastanın ortalama yaşının 37.4 (± 18.3) olduğu ve 10'unu erkek, dördünü kadın hastaların oluşturduğu belirlenmiştir.

Grup 2'deki 21 hastanın ortalama yaşı 59.1 (± 14.9) olarak belirlenmiş ve 11 kadın, 10 erkek hasta olduğu görülmüştür. Demografik veriler Tablo 1'de yer almaktadır. Grup 2'de yer alan hastaların yaş ortalamasının daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p > 0.05$). Bu grupta yer alan malign plözili hastaların tamamının küçük hücreli dışı akciğer karsinomuna bağlı plevra metastazı olan hastalardan oluştuğu, transuda vasıflı plözezi olarak değerlendirilen üç hastanın ikisinin konjestif kalp yetmezliğine,

birinin ise kronik böbrek yetmezliğine bağlı plörezi olduğu saptanmıştır.

İlk yapılan test sonucunda tüberküloz plörezisi grubundaki 14 hastanın beşinde interferon gamma pozitif, dokuz hastada ise negatif bulunmuştur. Grup 2'deki hastalara bakıldığında ise 21 hastanın üçünün pozitif olduğu, 18 hastada ise sonucun negatif olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.226$).

Daha sonra aynı plevral sıvılar 1:1 oranında sulandırılarak TB grubuna dahil örneklerin tümü ve diğer grupta pozitif bulunan üç örnek tekrar incelenmiştir. Tüberküloz grubunda ilk yapılan testte beş örnek pozitif, dört örnek okunamayacak kadar büyük bir değer olduğu için "indeterminate" (geçersiz sonuç) ve beş örnek de negatif bulunmuştur. Plevral sıvı 1:1 oranında sulandırıldıktan sonra "indeterminate" olan sonuçlar pozitif (prezon olayı-antijen fazla), negatif olan beş örnek yine negatif bulunmuştur. Malign plörezi grubunda ise ilk testte pozitif bulunan üç örnek 1:1 sulandırılarak çalışıldıktan sonra çapraz reaksiyonun giderilmesine bağlı olarak negatif bulunmuştur.

Sonuç olarak sulandırma işlemi sonrasında tüberküloz plörezisi grubunda dokuz hastanın pozitif, beş hastanın negatif sonuç verdiği, Grup 2'de ise 21 hastanın tamamının sonuçlarının negatif olduğu saptanmış ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.001$).

Tablo 1. Plevral sıvıda interferon gamma pozitiflik oranları

	Grup 1 (Tüberküloz Plörezisi)		Grup 2		p
	Pozitif (n)	Negatif (n)	Pozitif (n)	Negatif (n)	
Sulandırma Öncesi	5	9	3	18	0.226
Sulandırmadan Sonra	9	5	0	21	<0.001

Bu sonuçlar dikkate alındığında tüberküloz plörezisinde interferon gamma pozitifliğinin duyarlılığı % 64.3, özgüllüğü % 100, pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri ise % 80.7 olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Ekstrapulmoner tüberküloz formları içerisinde ikinci sıklıkta görülen tüberküloz plörezisinde plevral sıvıda direkt basil aranması, kültür ve biyopsiye rağmen tanı oranları % 80'i geçememektedir (4, 5). Plevra sıvısının direkt bakısında basil görülme olasılığı % 0-1 düzeyindedir (4, 5). Plevra sıvısının tüberküloz kültürü daha duyarlı bir yöntem olmakla birlikte, 2-6 hafta kadar süre gerektirmektedir. İnvazif bir yöntem olan plevra biyopsisinin ise histopatolojik incelemesiyle kültürünün birlikte yapılmasıyla bile hastaların yaklaşık % 20'sine tanı konamamaktadır (4, 5, 10). Bu nedenle de alternatif tanı yöntemi arayışları devam etmektedir. Aktive T lenfositlerden salgılanan interferon gamma da bunlardan biridir.

Tüberküloz plörezisi tanısında interferon gamma kullanımını ilk kez 1988 yılında Ribera ve ark. (11) tarafından gündeme getirilmiş ve özgüllüğü yüksek, ancak pahalı bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda % 100'e ulaşan duyarlılık ve özgüllük düzeyleri bildirilmiştir (12, 13).

Çalışmada tüberküloz plörezisi tanısı plevra biyopsisiyle ispatlanmış olan hastalar alındığı için hasta sayısı yetersiz kalmış olmakla birlikte interferon gamma'nın duyarlılığı % 64.3, özgüllüğü % 100, pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri % 80.7 olarak bulunmuştur. Ayrıca gruplar arasında da anlamlı fark olduğu görülmüştür. Valdes ve ark.(14)'nın 405 olguyu içeren çalışmalarında interferon gamma'nın duyarlılığı % 94.2, özgüllüğü ise % 91.8 bulunmuş ve tüberküloz plörezisi tanısında yararlı olabileceği bildirilmiştir. Kim ve ark. (15) 39 tüberküloz plörezisi ve 31 malign plörezili hasta üzerinde yapılan çalışmalarında tüberküloz plörezililerde interferon gamma, adenozin deaminaz (ADA), TNF-alfa ve IL2 düzeylerini yüksek bulmuşlar ve tüberküloz plörezisi tanısında en iyi ayırımın interferon gamma ve ADA düzeylerinin birlikte kullanımıyla yapılabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada ise hastaların tümünde ADA düzeyi ölçülemediği için ADA sonuçlarına değinilmemiştir.

Türkiye'de ilk kez 1994 yılında Karalezli ve ark. (16) 35 tüberküloz plörezili hastada interferon gamma'nın duyarlılığını % 70, özgüllüğünü ise % 94 olarak bildirmişler, daha sonra 1997'de Aktoğu ve ark. (17) eşik değerini 3

IU/ml olarak aldıklarında duyarlılığın % 100'e, özgüllüğün ise % 84'e çıktığını göstermişlerdir. Poyraz ve ark. (18) 15 tüberküloz plörezisi ve 20 malign plörezili hastayı karşılaştırmışlar ve tüberküloz plörezisinde interferon gamma'nın duyarlılığını % 87, özgüllüğünü % 95, pozitif prediktif değerini % 93, negatif prediktif değerini % 90 olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada duyarlılık ve özgüllük açısından ADA ve interferon gamma arasında fark olmadığı da belirtilmiştir (18). İnterferon gamma'nın kantitatif olarak ölçüldüğü bu çalışmalarda tüberküloz plörezili hastalardaki ortalama interferon gamma düzeylerinin malign plörezilere göre anlamlı olarak yüksek olduğu da belirtilmektedir.

Akarca ve ark. (19) tüberküloz plörezili 32 hastada testin duyarlılığını % 100, özgüllüğünü ise % 94.7 olarak bildirmişlerdir. Villena ve ark. 388 (20) hastayı içeren çalışmalarında plevral sıvı interferon gamma düzeyi ölçümünün tüberküloz plörezisi tanısında önemli bir belirleyici olduğunu, hatta HIV pozitif olan dokuz hastada bile plevral sıvıda interferon gamma'nın yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçtan hareketle de immün sistemi baskılanan hastalarda da testin kullanılabilceği bildirilmiştir.

Köktürk ve ark. (21) tüberküloz plörezisinde plevral sıvı interferon gamma düzeyiyle birlikte plevral sıvı/serum interferon gamma oranının değerlendirilmesi durumunda tanı oranının % 100 olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada serumda interferon gamma bakılmadığı için bu konu-

da yorum yapılmamıştır, ancak ilgili çalışma bu oranlanın değerlendirildiği ilk çalışma olması ve tüberküloz plörezilerinin tamamına tanı konabildiğinin gösterilmiş olması nedeniyle dikkati çekmektedir.

Bu çalışmada bulgularda açıklanan nedenlerle örnekler 1:1 oranında sulandırılmış ve TB grubunda, antijen fazlalığı (prezon olayı) nedeniyle daha önceden "indeterminate" bulunan dört örnek pozitif bulunmuştur. Malign plörezili grupta ise daha önceden olası çapraz reaksiyon nedeniyle pozitif bulunan üç örnek negatif bulunmuştur. Sulandırma işlemi sonrasında testin özgüllüğünün ve pozitif prediktif değerinin % 100'e ulaştığı görülmüştür. Bu sonuçlardan hareketle testin pozitif sonuç verdiği hastalara güvenle tüberküloz plörezisi tanısı konabileceği düşünülmektedir. Literatürde interferon gamma ölçümünde ELISA'nın kullanıldığı çalışmalara bakıldığında sulandırma işleminin uygulandığı bir çalışma bulunmamıştır. Bu testin uygulanmasında sulandırma işlemi diğer araştırmacılar tarafından yeni bir açılım olarak denenebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada hasta sayıları yeterli olmakla birlikte, rutin yöntemlerle tanı konulmayan hastalarda tüberküloz plörezisi tanısında plevral sıvıda interferon gamma ölçümünün yararlı bir yöntem olduğu ve özellikle ELISA'nın kullanılması durumunda örneklerin sulandırıldıktan sonra çalışılmasının testin özgüllük ve pozitif prediktif değerini artırabileceği görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. **World Health Organisation.** Global Tuberculosis Control. WHO Report 2001. Switzerland WHO/ CDC/TB/2001. 287.
2. **Catena E, De Simone G, Caramori G, Ciaccia A.** Extrapulmonary tuberculosis. *In: Wilson R, ed. Tuberculosis.* Sheffield: ERS Journals Ltd, 1997: 175-94.
3. **Mehta JB, Dutt A, Harvill L, et al.** Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis. *Chest* 1991; 99: 1134-8.
4. **Wai W, Yeung CH, Yuk-Lins, et al.** Diagnosis of tuberculous pleural effusion by the detection of tuberculo estearic acid in pleural aspirates. *Chest* 1991; 100: 1261-3.
5. **Escudero-Bueno C, Garcia-Clemente M, Cuesta-Castro B, et al.** Cytologic and bacteriologic analyzes of fluid and pleural biopsy with cop's needle. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1190-94.
6. **Wongtim S, Silachamroon U, Ruxrungtham K, et al.** Interferon gamma for diagnosing tuberculous pleural effusions. *Thorax* 1999; 54: 921-4.
7. **Light RW.** Useful tests on the pleural fluid in the management of patients with pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med* 1999; 5: 245-9.
8. **Ferrer J.** Pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1997; 10: 942-7.
9. **Rohrbach MS.** T-lymphocytes and pleural tuberculosis. *Chest* 1986; 89: 473-4.
10. **Barbas C, Cukier A, de Cavalho C, et al.** The relationship between pleural fluid findings and development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. *Chest* 1991; 100:1264-7.
11. **Ribera E, Ocana I, Martinez-Vazquez JM, et al.** High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. *Chest* 1988; 93: 308-11.
12. **Papandreu L, Lymberis C, Manetou A, et al.** Diagnostic value of interferon gamma in the differential diagnosis of pleural effusions. *Eur Respir J* 1993; 6: 505.

13. **Aoki Y, Katoh O, Nakanishi Y, et al.** A comparison study of IFN gamma, ADA and CA 125 as the diagnostic parameters in tuberculous pleuritis. *Respir Med* **1994**; 88: 139-43.
14. **Valdes L, San Jose E, Alvarez D, et al.** Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme and interferon gamma. *Chest* **1993**; 103: 458-65.
15. **Kim YC, Park KO, Bom HS, et al.** Combining ADA, protein and IFN-gamma best allows discrimination between tuberculous and malignant pleural effusion. *Korean J Intern Med* **1997**; 12: 225-31.
16. **Karalezli A, Gündođdu C, Samurkaşoğlu B ve ark.** Tüberküloz plörezide tanısında gamma interferonun rolü "adenozin deaminaz ile karşılaştırılması". *Solunum Hastalıkları* **1994**; 5: 233-41.
17. **Aktoğu S, Yorgancıoğlu A, Topçuođlu R.** Tüberküloz plörezide gamma interferonun tanısal değeri. *Tüberküloz ve Toraks* **1997**; 45: 178-81.
18. **Poyraz B, Kaya A, Çiledađ A, et al.** Diagnostic significance of gamma-interferon in tuberculous pleurisy. *Tüberküloz ve Toraks* **2004**; 52: 211-7.
19. **Akarca T, Çirak K, Tatar D ve ark.** Tüberküloz plörezilerinde plevral sıvı gama-interferon düzeylerinin tanısal değeri. *Solunum* **2002**; 4: 240-4.
20. **Villena V, Lopez Encuentra A, Echave Sustecta J, et al.** Interferon-gamma in 388 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis. *Eur Respir J* **1996**; 9: 2635-9.
21. **Köktürk O, Ekim N, Fırat H, Nadirler F.** Tüberküloz plörezilerinde plevra sıvısı/serum gamma interferon oranının tanısal değeri. *Toraks Dergisi* **2000**; 1: 30-4.

İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Gürsel ÇOK
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı
35100 Bornova, İZMİR
e-posta: gursel.cok@ege.edu.tr