

Tüberküloz Tanısında IGRA Testleri ve Yeni Nesil Uygulamalar

Dr.Esin Çetin Aktaş
İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar DETAE,
İmmünoloji AD

Sunum Planı

- *Mycobacterium Tuberculosis* enfeksiyon spektrumu ve T hücre alt grupları
- Tüberkülin Deri Testi
- IFN- γ Salınım Testleri
- IP-10 Salınım Testleri
- Flow Sitometrik Uygulamalar

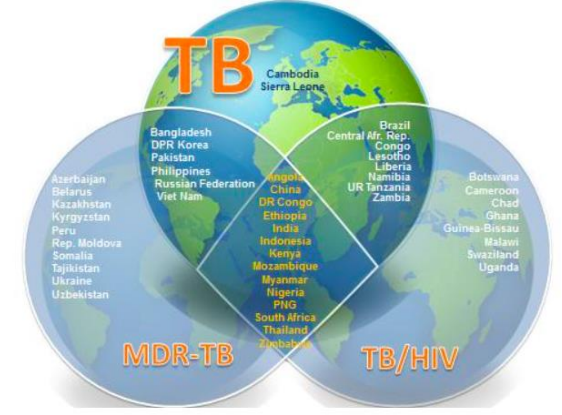
MTB Enfeksiyonu

- *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)

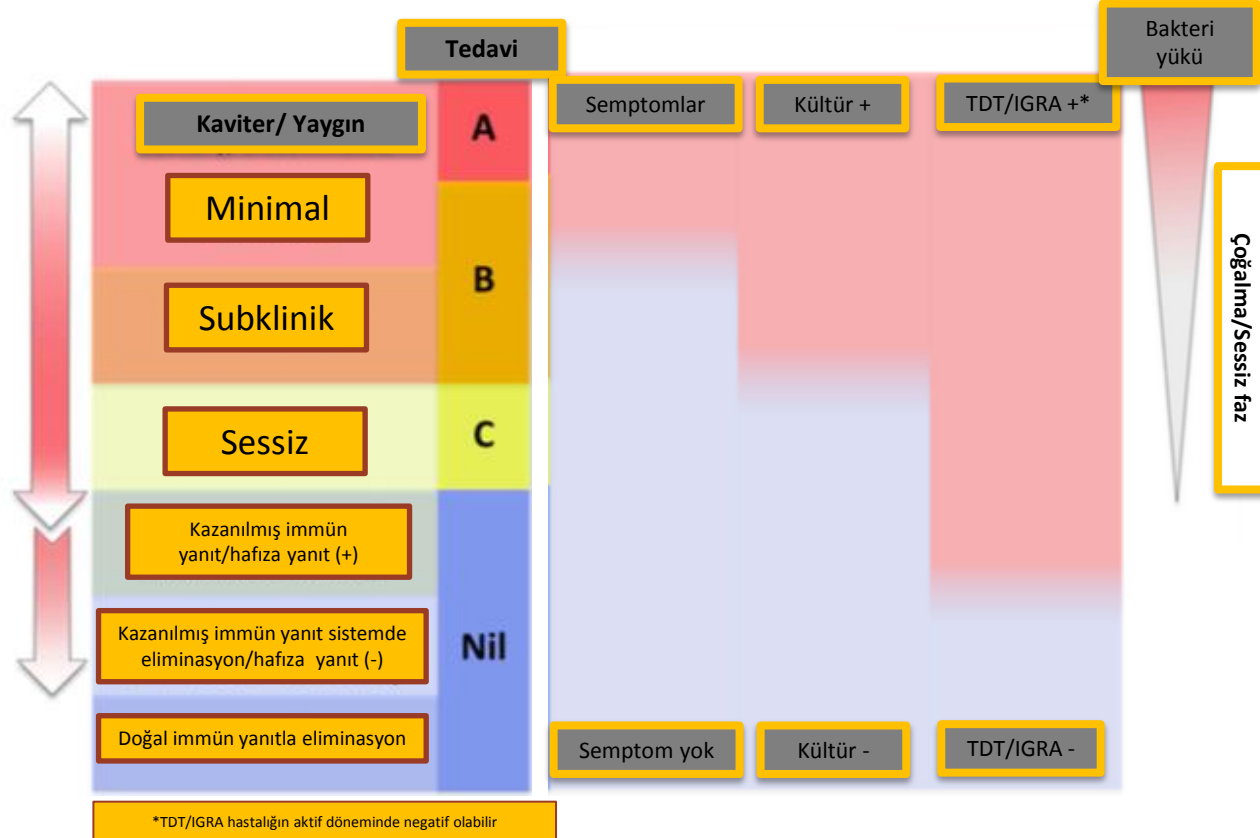
önemli bir enfeksiyöz ajan

- WHO 2016 raporunda

Yılda 1.8 milyon ölüm(400.000 kişi HIV enfekte) ve 10.4 milyon yeni tanı



Mycobacterium Tuberculosis Enfeksiyon Spektrumu

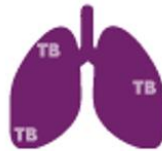


Latent TB / Pulmoner TB Hastalığı

Dünya nüfusunun 3'te biri LTBI

Latent TB Enfeksiyonu

- Pozitive TDT veya IGRA sonucu
- Göğüs filmi normal
- Semptomlar normal
- Kültür ve yayma negatif



Latent TB Infection



TB Disease

Pulmoner TB Hastalığı

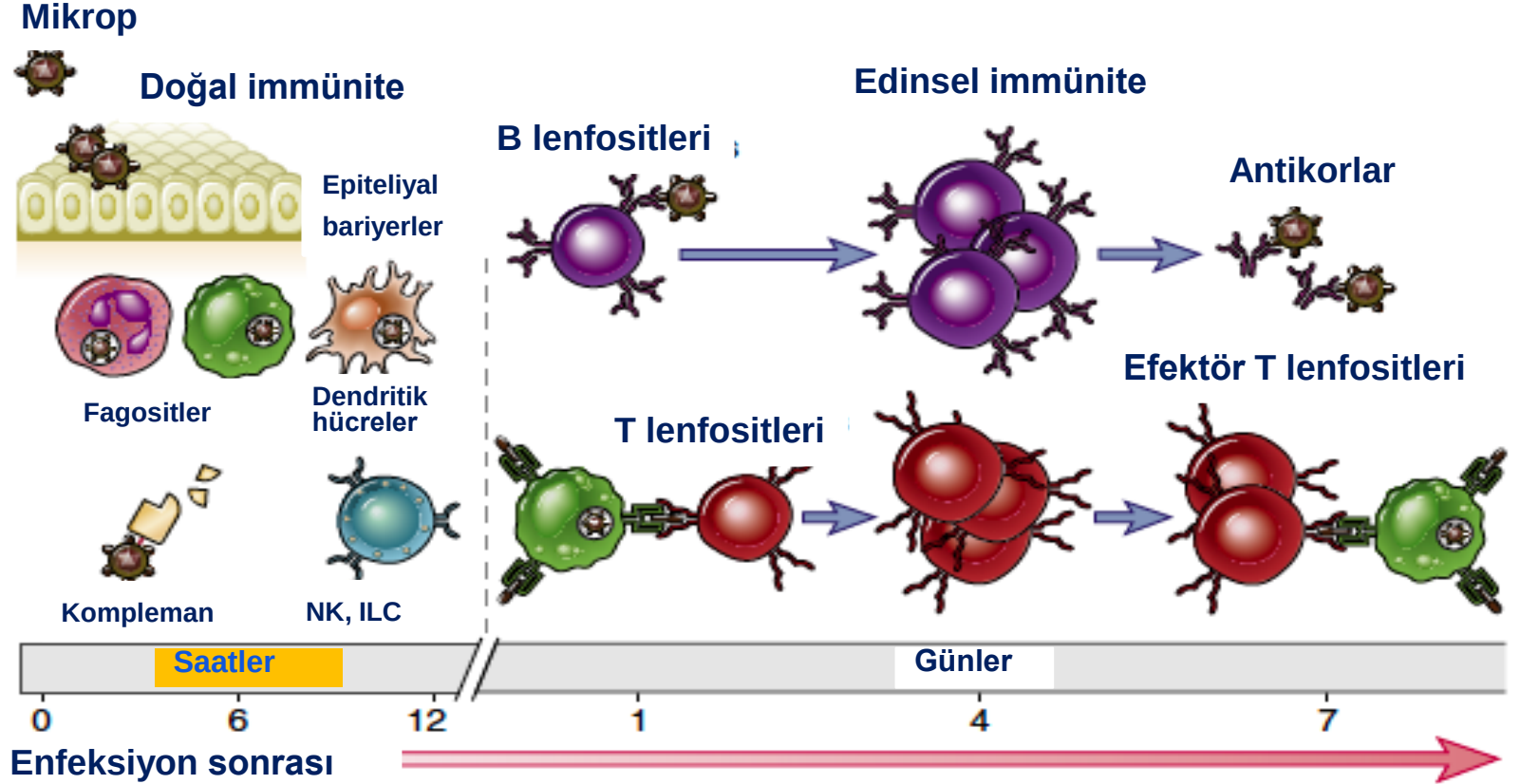
- TST veya IGRA is genellikle pozitif
- Göğüs filmi anormal
- TB bulguları
- Pozitif test sonuçları

Aktif TB Hastalığı Geliştirme Riskleri

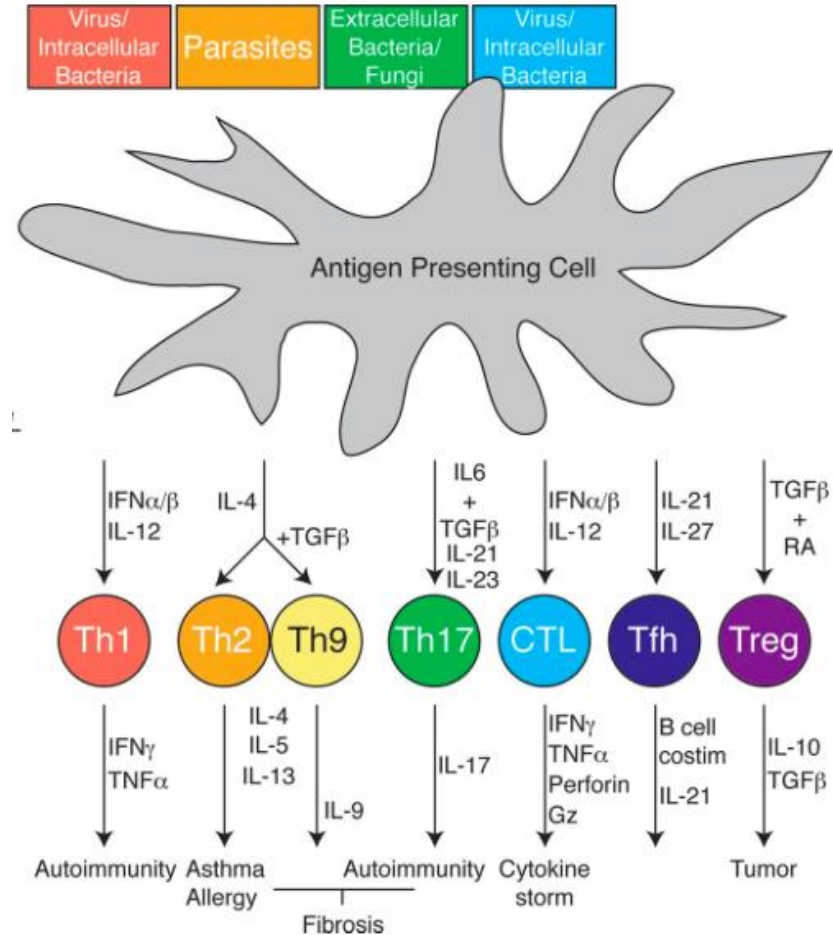
AIDS	100-170 kat
HIV enfeksiyonu	50-110
Solid organ transplantasyonu	20-74
Silikozis	30
Yeni TB enfeksiyonu (<2 yaş)	15
Kronik böbrek yetmezliği	10-25
Anti-TNF-alfa tedavi uygulamaları	1.7-9
4 yaşından küçük çocuklar	2,2-5
Glukokortikoid tedavisi	4.9
Normal sağlıklı bireyler	1
Diabetes mellitus	2-3.6

Polverino E, et al..ERJ Open Res (2016) 11:pii: 00049.
Lobue P, et al. Respirology (2010) 15:603.

Doğal ve Edinsel İmmün Yanıt



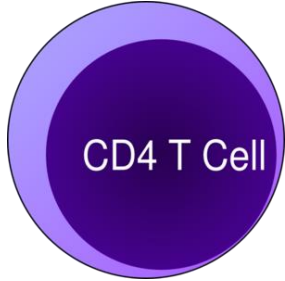
T hücre Alt Grupları



Nathan D, et al. Adv Phy Edu(2013) 37:273.

T Hücre Alt Grupları

Antimikobakteriyal immünitede



- CD4⁺ Th1 hücre alt grubu → IFN-γ
 - Makrofaj aktivasyonu
 - *Mtb* öldürülmesi

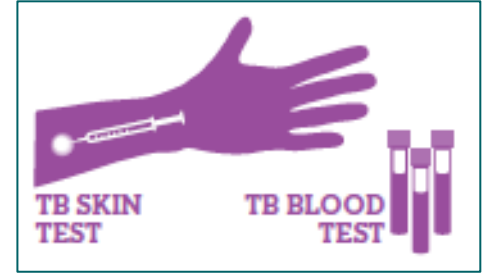


- CD8⁺ sitotoksik T hücre alt grubu → IFN-γ ve solubil faktörler →
 - Makrofaj aktivasyonu *Mtb* çoğalmasının sınırlanması
 - Enfekte hücrelerin direkt öldürülmesi
 - Hücre içi *Mtb* lizisi
- LTBI ve aktif TB hastalarında
 - IFN-γ salgılayan ESAT-6/CFP-10 spesifik CD8⁺ T hücre
 - Aktif dönemde LTBI'ye göre daha sık

M. tuberculosis Enfeksiyon Testleri

M. Tuberculosis Enfeksiyon Tanı Testleri

- Mantoux tuberkülin deri testi (TDT)
- Interferon-gamma salınım testleri(IGRA)
- LTBI veya TB hastalığı arasındaki ayırım (-)
- LTBI tanısı
- *Hasta bireylerde M. tuberculosis* complex enfeksiyon tanısı
 - Pozitif sonuç TB hastalık teşhisini destekler,
- Rutin testlerle (Göğüs filmi, balgam yayma, bakteri üreme testleri) değerlendirilmeli



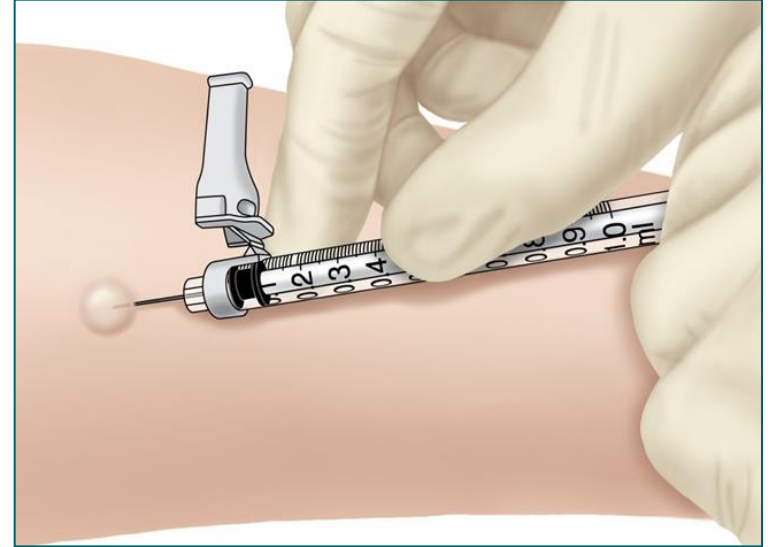
Tüberkülin Deri Testi

Mantoux Tuberkülin Deri Testi

- Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu
- TDT
 - Mtb temaslı bireylerin tespiti
 - TB semptomları (+) kişilerin araştırılması
- Sınırlılıkları
 - PPD'ye karşı gelişen hücresel immünitede
 - çevresel, nonmikobakteriyal ve BCG aşılması
 - Spesifitesi düşük

Tüberkülin Deri Testi

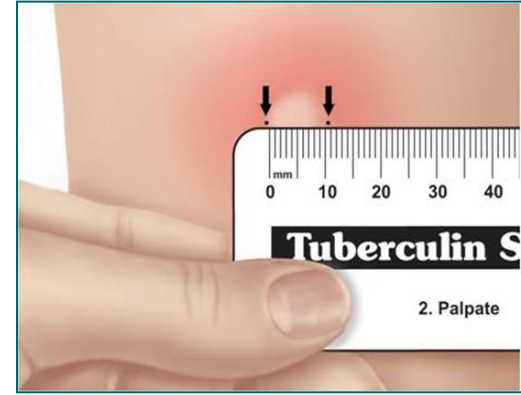
- 0.1 ml 5 TU PPD sol önkolun 2/3 üst iç kısmına deri içi uygulama
- 48- 72 saatte değerlendirilmesi önerilmektedir.



TST Yorumlanması

BCG (+)

- 0-5 mm Negatif
- 6- 14 mm BCG pozitifliği
- 15 mm ve üzeri Pozitif, infeksiyon (+)



BCG (-)

- 0-5 mm Negatif
- 6- 9 mm Şüpheli reaksiyon; **1 hafta sonra** test tekrarı, 6-9 mm negatif
>10 mm Booster fenomeni
- 10 mm ve üzeri Pozitif

- İmmünyetmezlik olgularında ≥ 5 mm Pozitif

TST Testinde Yalancı Negatiflik Nedenleri

Test Edilen Kişiyeye Ait Faktörler:

- Enfeksiyonlar, canlı virüs aşılıarı
- Metabolik bozukluklar ve proteinlerin düşüklüğü
- Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (Hodgkin hastalığı, lenfoma, kronik lösemi, sarkoidoz)
- İlaçlar (kortikosteroidler ve diğere birçok bağışıklığı baskılayıcı ilaç)
- Yas ve streş (yeni doğanlar, “azalmış” duyarlılığı olan yaşlı hastalar)

Kullanılan Tüberküline Ait Faktörler:

- Uygunsuz depolama ve sulandırma
- Kimyasal denatürasyon ve kontaminasyon•
- Çok az antijen veya cilt altına enjekte etmek
- Cilt altına enjeksiyon ve diğere cilt testlerine çok yakın enjeksiyon

Okuma ve Kayıt ile İlgili Faktörler:

- Deneyimsiz okuyucu
- Kayıt hataları

Tüberkülin Cilt Testinde Yanlış Pozitif Reaksiyon

- *Bacille Calmette Guerin* aşılama ve NTM enfeksiyonu
- Booster etkisi
- Hatalı yorumlar

Yeni Nesil TDT Testleri

PPD yerine spesifik antijenlerin kullanımı

- C-Tb test ve Diaskintest (ESAT-6&CFP-10)
- ESAT-6-deri testi



LTB enfeksiyon takibi

PPD bazlı testlere göre spesifiteyi arttırmak

Aktif/LTB enfeksiyonu ayırım yeteneği düşük

Sensitivitesi immünyetmezlikli bireylerde düşük

C-Tb ve TDT indürasyon genişlikleri benzer olduğu ve BCG aşısından etkilenmediği

C-Tb test pozitifliği arttıkça temaslı bireylerde enfeksiyon riskinin arttığı

IFN- γ Salınım Testleri

İnterferon- γ Salınım Testleri (IGRA)

- *M. tuberculosis* enfeksiyon ve LTBI tanısında
- *In vitro* T hücre stimülasyonu
 - ESAT-6 (6 kDa)
 - CFP-10 (10 kDa)
 - *In vitro* T hücre stimülasyonu
- TB7.7

Mycobacterial genom RD1 bölgesi
Nontüberküloz *M. kansasii*, *M. szulgai*, and *M. marinum* hariç

Interferon- γ Salınım Testleri

- FDA onaylı testler
 - QuantiFERON[®] -TB Gold-in-tube test (QFT-GIT)
 - QuantiFERON[®] -TB Gold-Plus-in-tube test (QFT-Plus)
 - T.SPOT[®] .TB test (T-Spot)



- Kanda antijenlere yanıt olarak antijen spesifik T hücreler tarafından interferon-gamma (IFN- γ) salınımı
- *Stimülasyonsuz, M. tuberculosis* antijen ve mitojen ile periferik kanın karıştırılması
- Antijen spesifik IFN- γ salınımının ölçülmesi

QuantiFERON® -TB Gold-in-tube test (QFT-GIT)

QuantiFERON® -TB Gold-Plus-in-tube test (QFT-Plus)

Antigens
QFT-GIT
Nil Tüpü

QFT-GIT
TB Antijen
Tüpü

QFT-GIT
Mitojen
Tüpü



ESAT-6, CFP-10, and TB7.7 (Rv2654c)

Epitoplar esas olarak CD4⁺ T hücre stimülasyonu
yoluyla IFN- γ salınımı

QFT-Plus
Nil Tüpü

QFT-Plus
TB1 Antijen
Tüpü

QFT-Plus
TB2 Antijen
Tüpü

QFT-GIT
Mitojen
Tüpü



ESAT-6/CFP-10 peptidleri

TB1 peptid kokteyli >CD4⁺ T hücre stimülasyonu
TB2 peptid kokteyli >CD4⁺&CD8⁺ T hücre
stimülasyonu yoluyla IFN- γ salınımı

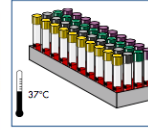
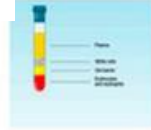
1. Antijen Sunumu (ESAT-6, CFP-10 peptidleri)



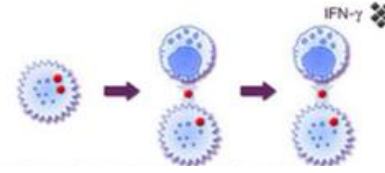
APC tarafından antijenle karşılaşma
ve antijenin işlenmesi



İnkübasyon



2. Antijen spesifik sitokin üretimi (IFN- γ)



Antijen sunumu ve antijen spesifik T hücreleri tarafından
IFN- γ salınımı

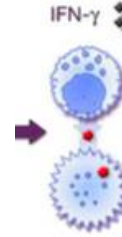
3. Sitokin Tayini

PBMC ELISPOT

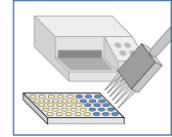
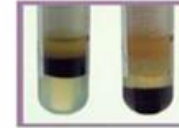


Antijen TB
spesifik ise
sadece TB
spesifik T
hücreleri aktive
olur ve IFN- γ
salgılar

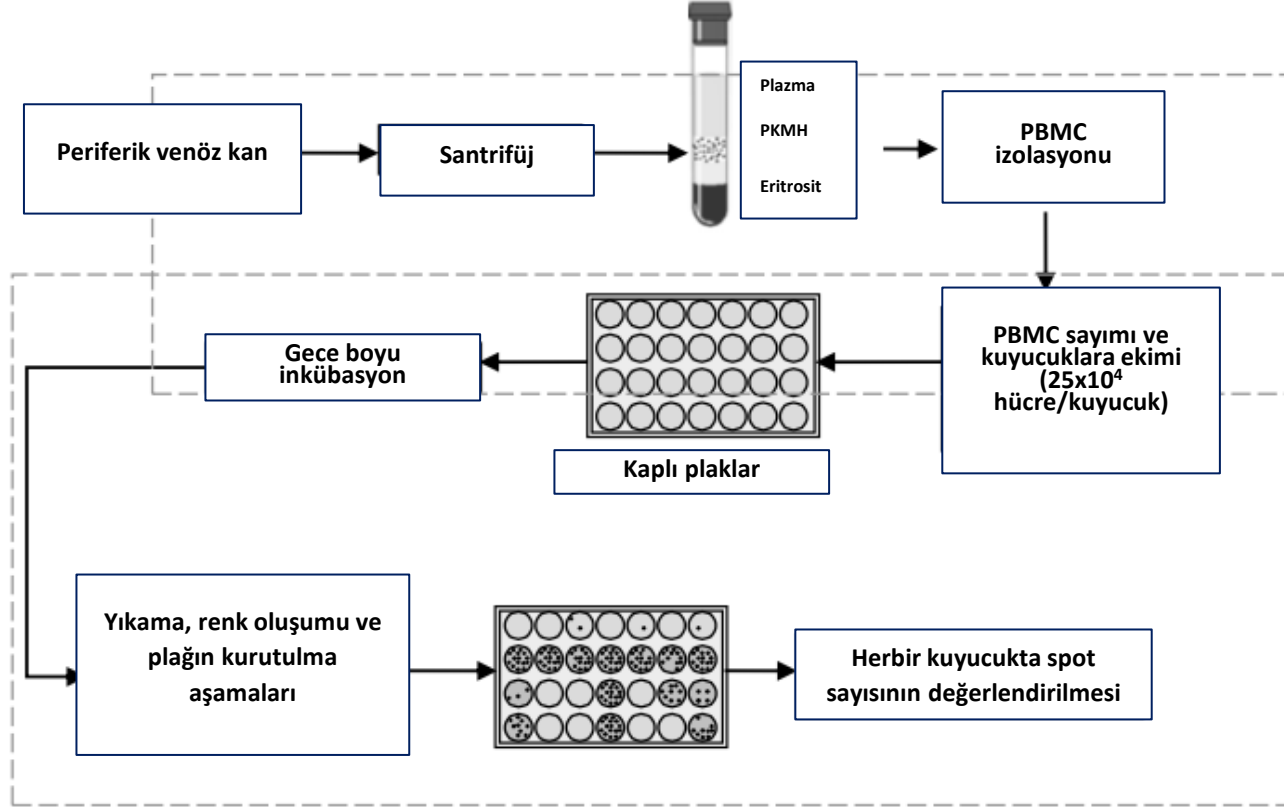
TB-spesifik
peptid
antijenler



Plazma ELISA



T-SPOT TB Testi



IGRA Test Sonuçlarının Yorumlanması

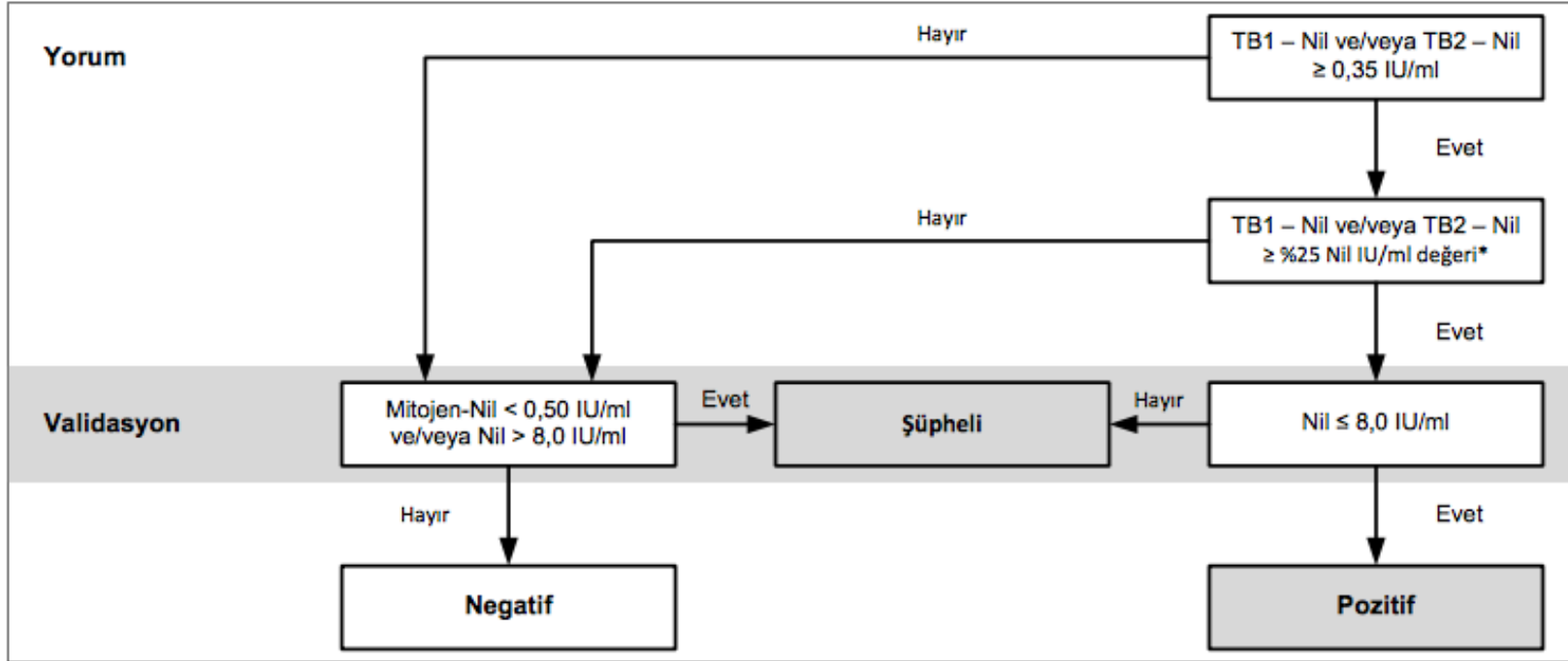
IGRA Test

Rapor

- | | |
|------------|---|
| ■ QFT-Plus | Pozitif, negatif, şüpheli |
| ■ T-Spot | Pozitif, negatif, şüpheli, sınır seviyesi |

IGRA Test Sonuçlarının Yorumlanması

- QFT-Plus Testi



• T-SPOT-TB

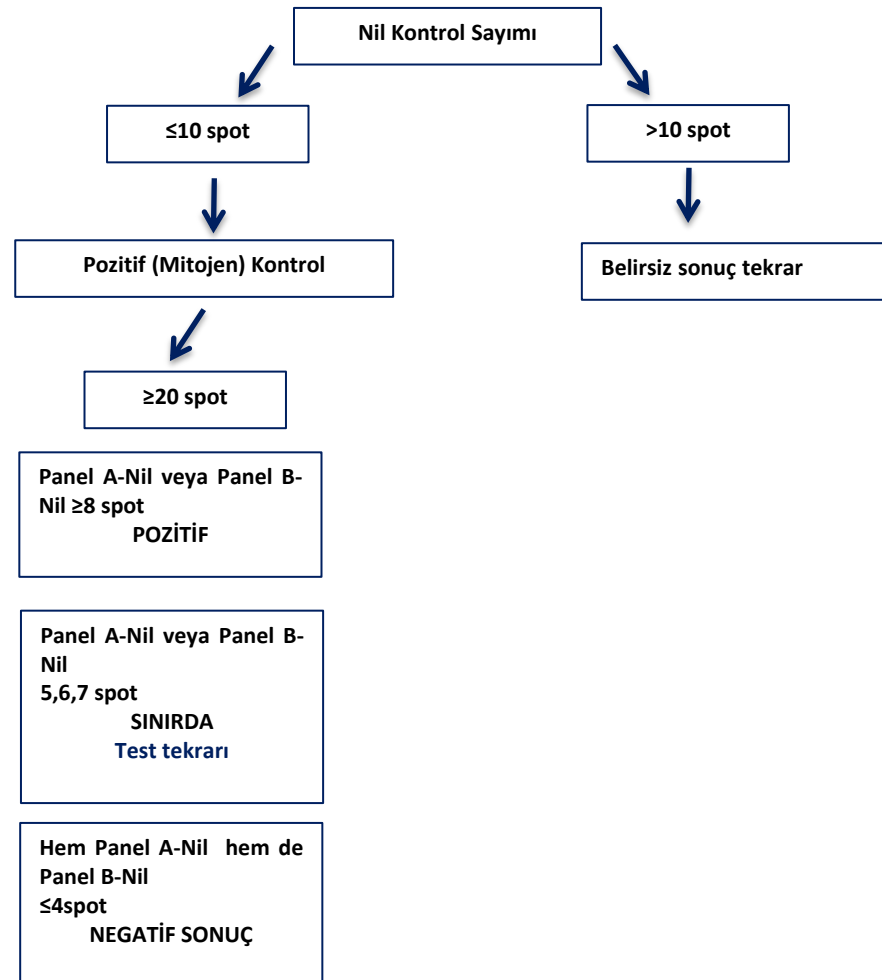
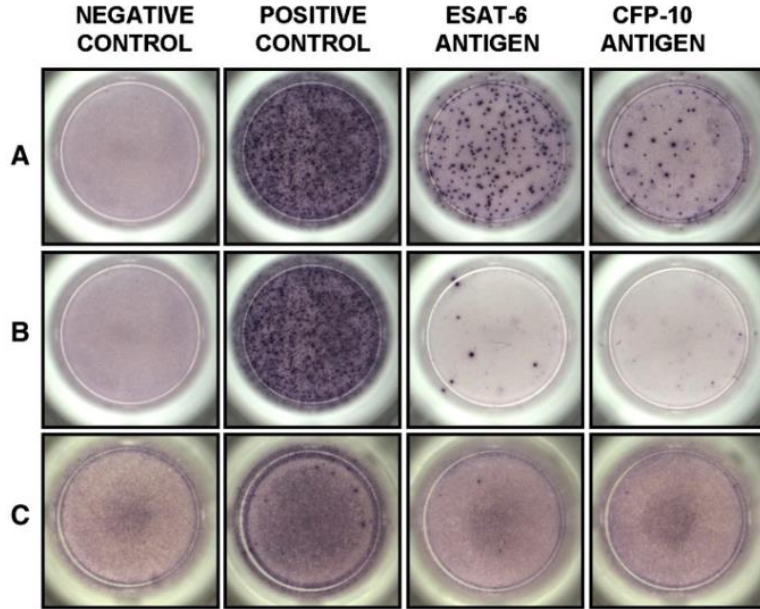
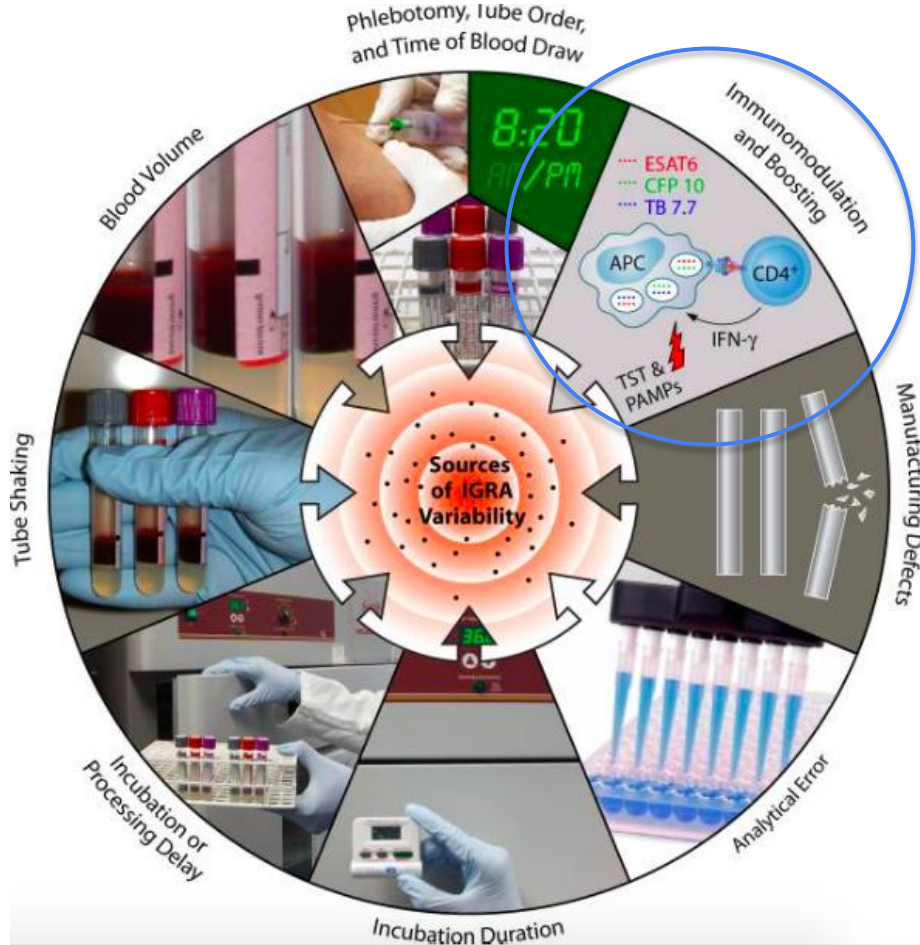


Table 3: *Negative Interpretation: Both (Panel A-Nil) and (Panel B-Nil) ≤ 4 spots*

Nil Control Well Count	Both Panel A and Panel B has the following number of spots	Result Interpretation
0	≤ 4	Negative
1	≤ 5	Negative
2	≤ 6	Negative
3	≤ 7	Negative
4	≤ 8	Negative
5	≤ 9	Negative
6	≤ 10	Negative
7	≤ 11	Negative
8	≤ 12	Negative
9	≤ 13	Negative
10	≤ 14	Negative
>10 spots	n/a	Invalid**

IGRA Test Sonuçlarını Etkileyen Faktörler



PAMP

- LPS ve peptidoglikan

Doğal immün yanıtın hücrelerinde eksprese edilen TLR ve patojen tanıma (PRR) reseptörlerince tanınır

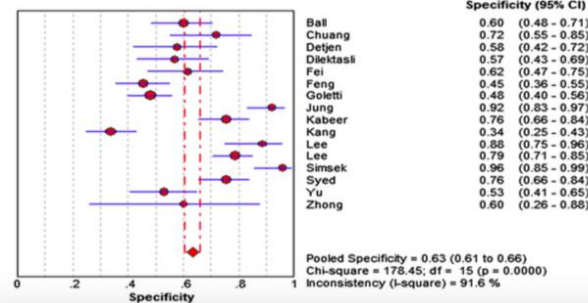
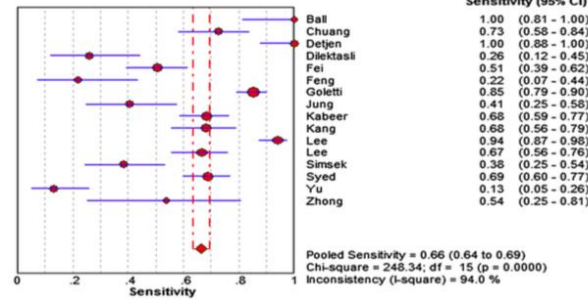
- TLR agonistlerinin kullanımı ile Ag spesifik yanıtın modülasyonu
- PAMP kaynakları
 - Endojen mikrobiyota
 - Ekzojen kontaminasyon

Pai M, et al. Clin Microbiol Rev (2014) 27:3.
Gaur RL, et al. PLoS One(2012) 7:e48027.

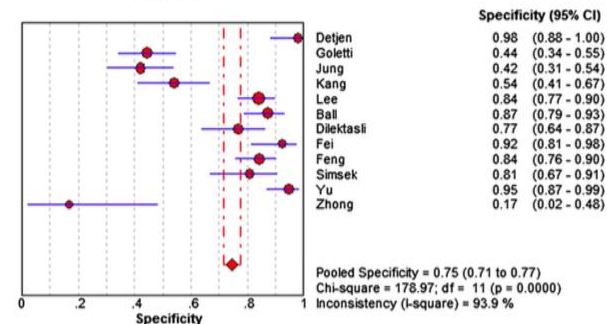
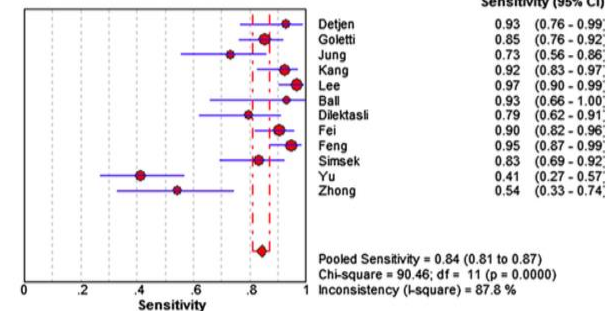
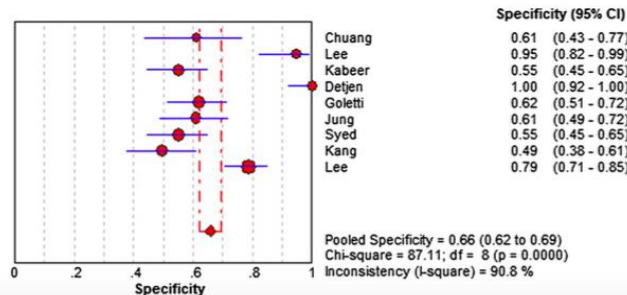
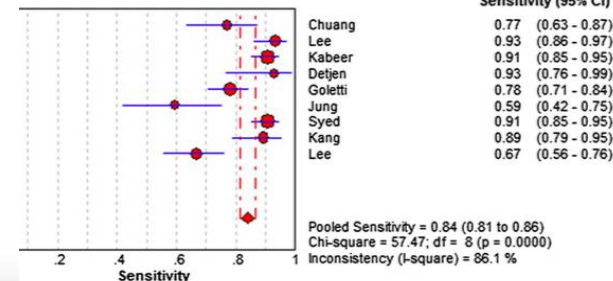
Spesifite ve Sensitivite

TSPOT-TB Testi

TDT Testi



QFT-IT Testi



Spesifite ve sensitivite verileri IGRA-TDT

Düşük TB riskli bireylerde

Spesifite değeri > %99

Sensitivite değeri > %92

Aktif TB (HIV+)

Ortak havuzdaki spesifite değeri	T-SPOT.TB %61	-----	QFT %52
sensitivite değeri	T-SPOT.TB %76	-----	QFT %60

Çocuklarda IGRA testlerinin kullanımı?

Mikrobiyolojik test için örnek vermede zorluk

Yüksek oranda TB geliştirme riski

TST ve IGRA test sonuçları benzer doğrulukta
QFT daha spesifik

Testin yüksek spesifitesinin önemi?

Spesifite oranının yüksek olması ve TDT'ye göre üstünlük sağlaması

Yanlış LTBI tedavi ve hastalık takip yüzdesinin azaltılması

Pai M, et al. Clin Microbiol Rev (2016) 27:3.
Mandalakas AM, et al. Int J Tuberc Lung Dis (2016) 15:1018.
Fan L, et al. Fems Immunol Med Microbiol (2012) 65:456.
Machingaidze S, et al. Pediatr Infect Dis (2011) 30:694.

False-negative interferon- γ release assay results in active tuberculosis: a TBNET study

Veerle de Visser¹, Giovanni Sotgiu², Christoph Lange^{3,4,5}, Martine G. Aabye^{6,7}, Marleen Bakker⁸, Filippo Bartalesi⁹, Kristian Brat¹⁰, Cynthia B.E. Chee¹¹, Keertan Dheda¹², Jose Dominguez¹³, Fusun Eyuboglu¹⁴, Maha Ghanem¹⁵, Delia Goletti¹⁶, Asli Gorek Dilektasli¹⁷, Lorenzo Guglielmetti¹⁸, Won-Jung Koh¹⁹, Irene Latorre¹³, Monica Losi²⁰, Monica Polanova²¹, Pernille Ravn²², Felix C. Ringshausen²³, Rudolf Rumetshofer²⁴, Maria Luiza de Souza-Galvao²⁵, Steven Thijssen¹, Graham Bothamley²⁶ and Aik Bossink¹, for the TBNET¹

Eur Respir J 2015; 45: 279–283 | DOI: 10.1183/09031936.00120214 |

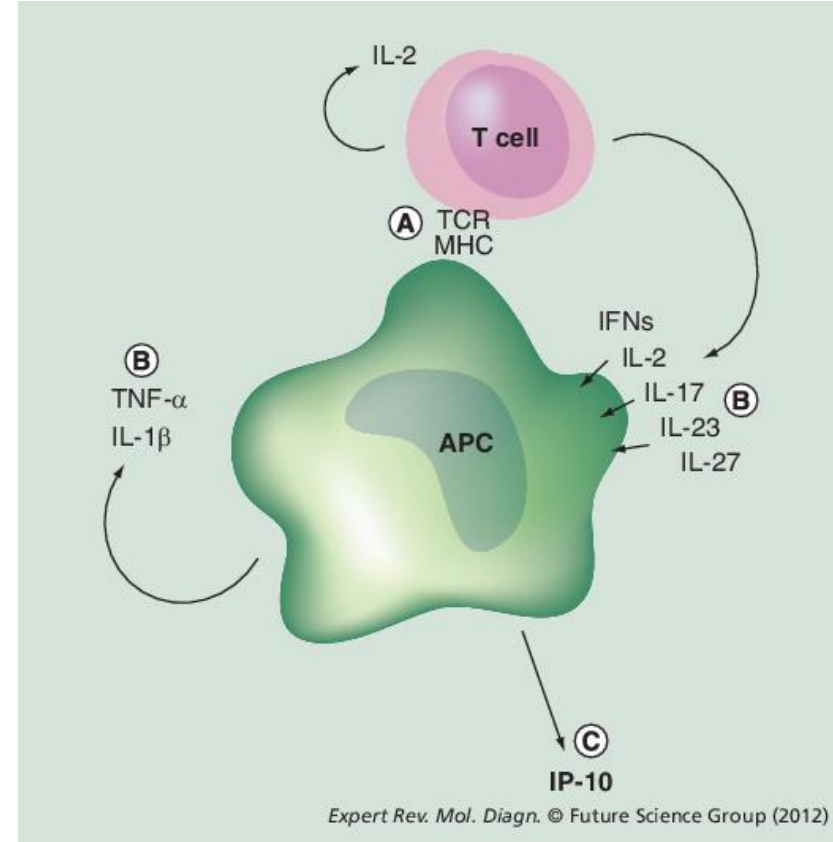
MHC sınıf 2 allellerinde genetik çeşitlilik
((HLA)-DRB1*0701)
ESAT-6&CFP-10 antijen bağlanmasında
değişkenlik



IP-10 Salınım Testleri

IP-10 (Interferon- γ -induced protein 10)

- IP-10 (CXCL-10) küçük 7.2 kD proinflamatuvar kemokin
- Monosit/makrofaj (bakteri, virüs enfekte) salgılanır
- Enflamasyon alanlarına CD4⁺, CD8⁺ T hücre, NK ve NKT hücre göçü
- Ag yanıt sinyali ELISA yönteminde daha güçlü ve yüksek konsantrasyonlarda salınımı
 - Yüksek oranda salgılanır
 - Molekül büyüklüğü küçük



Temassız sağlıklı bireylerde yapılan IP-10 spesifite sonuçları

Study (year)	Country	Study subjects	Results
<i>Healthy controls</i>			
Ruhwald <i>et al.</i> (2008)	Denmark	86 high-school students with no history of exposure to TB	No positive results by either test
Kabeer <i>et al.</i> (2010)	India	50 healthy controls with no close family contact with TB and a negative TST and QFT-IT result	No positive results by either test, but inclusion criteria was a QFT-IT negative result
Ruhwald <i>et al.</i> (2011)	Denmark and Italy	101 healthy students with no history of exposure to TB, or prior TB disease or treatment	Similar negativity rate between IP-10 test (95%) and QFT-IT (99%)
Frahm <i>et al.</i> (2011)	USA	26 healthy controls with a negative TST and QFT-IT result	96% IP-10 test negative and 100% QFT-IT negative, but inclusion criteria was a QFT-IT negative result
Kabeer <i>et al.</i> (2010)	India	100 controls with no symptoms indicative of TB and no history of a close family contact with TB, but from high endemic setting	More negative results by the QFT-IT (52%) than by the IP-10 test (48%)

Aktif TB'li bireylerde yapılan IP-10 spesifite sonuçları

Study (year)	Country	Study subjects	Results
Ruhwald <i>et al.</i> (2008)	Switzerland and Denmark	80 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (74%) and QFT-IT (81%) Increased when combining tests (88%)
Aabye <i>et al.</i> (2010)	Tanzania	92 confirmed TB patients	Similar positivity rates between the IP-10 test (75%) and the QFT-IT (74%). Increased when combining tests (86%)
Kabeer <i>et al.</i> (2010)	India	175 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (91%) and QFT-IT (87%) and increased when combining tests (93%)
Kabeer <i>et al.</i> (2011)	India	17 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (94%) and QFT-IT (100%) Combination of tests not reported
Ruhwald <i>et al.</i> (2011)	Italy, Spain, Greece, Denmark, Sweden, Finland (nine centers)	168 confirmed TB patients	Equal positivity rate between IP-10 test (79%) and QFT-IT (79%) Increased when combining tests compared with either test alone (87%)
QFT-IT: QuantiFERON®-TB Gold In tube; TB: Tuberculosis.			

Çocuk hastalarda IP-10 performans sonuçları

Study (year)	Country	Study subjects	Results
Ruhwald <i>et al.</i> (2008)	Switzerland and Denmark	80 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (74%) and QFT-IT (81%) Increased when combining tests (88%)
Aabye <i>et al.</i> (2010)	Tanzania	92 confirmed TB patients	Similar positivity rates between the IP-10 test (75%) and the QFT-IT (74%). Increased when combining tests (86%)
Kabeer <i>et al.</i> (2010)	India	175 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (91%) and QFT-IT (87%) and increased when combining tests (93%)
Kabeer <i>et al.</i> (2011)	India	17 confirmed TB patients	Similar positivity rate between IP-10 test (94%) and QFT-IT (100%) Combination of tests not reported
Ruhwald <i>et al.</i> (2011)	Italy, Spain, Greece, Denmark, Sweden, Finland (nine centers)	168 confirmed TB patients	Equal positivity rate between IP-10 test (79%) and QFT-IT (79%) Increased when combining tests compared with either test alone (87%)
QFT-IT: QuantiFERON®-TB Gold In tube; TB: Tuberculosis.			

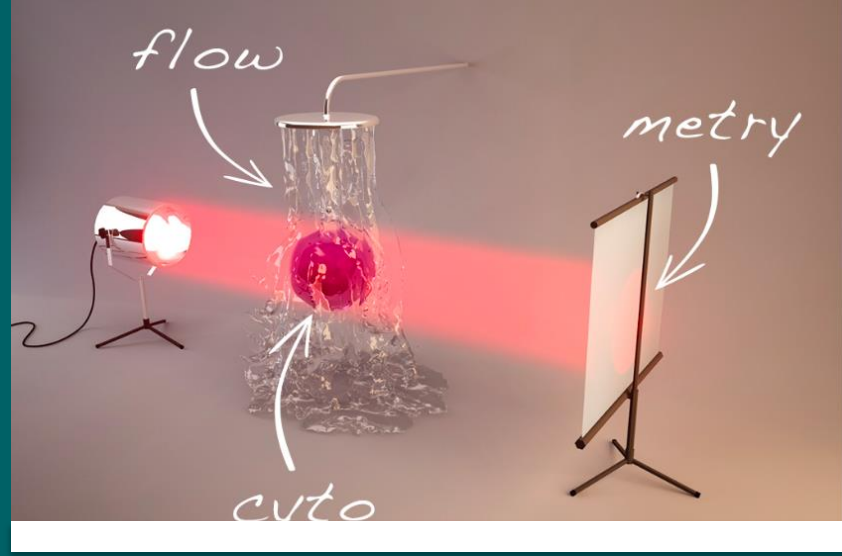
Aktif TB veya TB temaslı immünyetmezlikli hastalarda IP-10 performansı

Study (year)	Country	Study subjects	Results
<i>HIV-positive patients</i>			
Goletti <i>et al.</i> (2010)	India	28 confirmed TB with HIV coinfection (39% with CD4 cell count <200 cells/ μ l)	Borderline more positive by the IP-10 test (86%) than QFT-IT (61%). Negative trend of decreasing positivity rate with decreasing CD4 cells count for the QFT-IT, but not for the IP-10 test
Aabye <i>et al.</i> (2010)	Tanzania	65 confirmed TB patients with HIV coinfection (median CD4 cell count: 272 cells/ μ l)	Lower positivity rate in HIV-infected than uninfected individuals. Equal positivity rate of the IP-10 test (63%) and the QFT-IT (63%). Increased when combining tests (71%) compared with either test alone. Negative trend of decreasing positivity rate with decreasing CD4 cell count for the QFT-IT, but not for the IP-10 test
Kabeer <i>et al.</i> (2010)	India	50 confirmed TB patients with HIV coinfection (median CD4 cell count 86 cells/ μ l)	More IP-10 test positive (86%) than QFT-IT positive (70%)
Kabeer <i>et al.</i> (2011)	India	170 HIV-infected individuals with no signs of or history of TB infection (22% with CD4 cell count <200 cells/ μ l)	More IP-10 test positive (45%) than QFT-IT positive (38%). Increased when combining tests (48%) compared with the QFT, but not with the IP-10 test
<i>Patients receiving immunosuppressive treatment</i>			
Chen <i>et al.</i> (2011)	Taiwan	56 TB patients, 24 TST-positive using QFT	IP-10 responses were higher in TST positive and in patients with active TB compared with patients with negative TST

IP-10 Test Limitasyonları

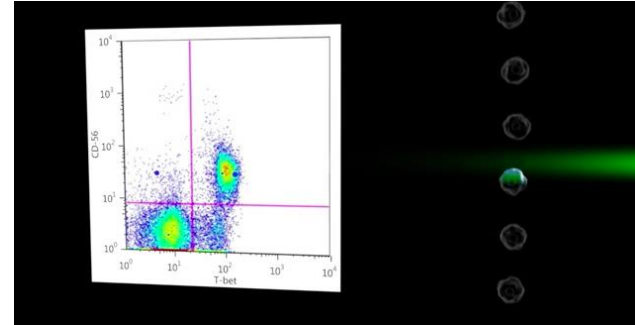
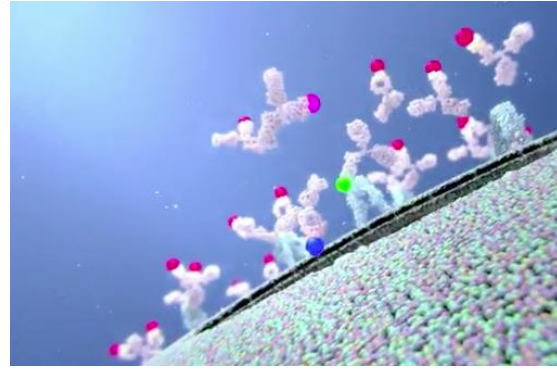
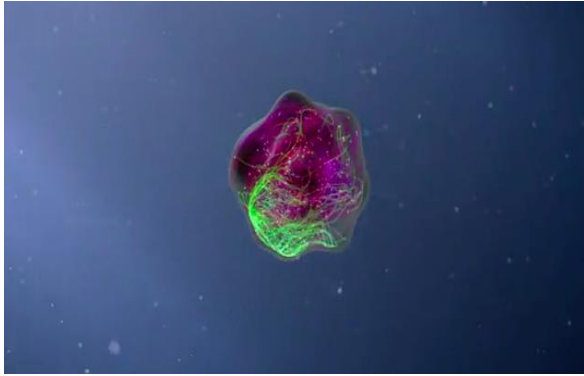
- LTB enfeksiyonunda altın standart bulunmaması ve IGRA/TDT test karşılaştırmaları
- Uygun pozitif kontrol????
- Spesifik olarak RD-1 spesifik peptid, MTB sonikatları, CMV, HIV peptidleriyle stimülasyon pozitifliği
- Stimulasyonsuz şartlarda IP-10 düzeyleri enfeksiyonlarda artış gösterir
- Cutt-off değeri????

IP-10 assay	Assay range ¹ (pg/ml)	Studies using this assay	Dilution factor ¹	Cutoff (pg/ml)	Validation study (year)
Luminex® human IP-10 kit (Biosource/ Invitrogen, UK)	5–18,000 ¹	[17,20,22,52,53,55,64]	x4, x2, x8, x10	673 pg/ml (455 pg/ml also suggested) Ruhwald <i>et al.</i> (2008) [52]	Ruhwald <i>et al.</i> (2011) [53]; Aabye <i>et al.</i> (2010) [55]; Frahm <i>et al.</i> (2011) [20]; Ruhwald <i>et al.</i> (2008) [64]
ELISA DuoSet® (R&D systems, MN, USA)	5–500	[21,50,51,56,78,121]	x10, x5, x2	698 pg/ml Goletti <i>et al.</i> (2010) [56]	
ELISA IP-10 construction kit (Antigenix America, NY, USA)	Unknown	[61,120]	x2	3128 pg/ml Yassin <i>et al.</i> (2011) [61]	
Luminex LincoPlex®, (Linco Research, MO, USA)	3.1–10,000 ¹	[19,25,63]	x4, x2	732 pg/ml ¹ Lighter <i>et al.</i> (2009) [63]	
ELISA OptEIA™, (BD Biosystems, NJ, USA)	5–500	[10,54,70,73]	x20	300 pg/ml Kabeer <i>et al.</i> (2010) [73]; Kabeer <i>et al.</i> (2009) [70]	Kabeer <i>et al.</i> (2011) [10]



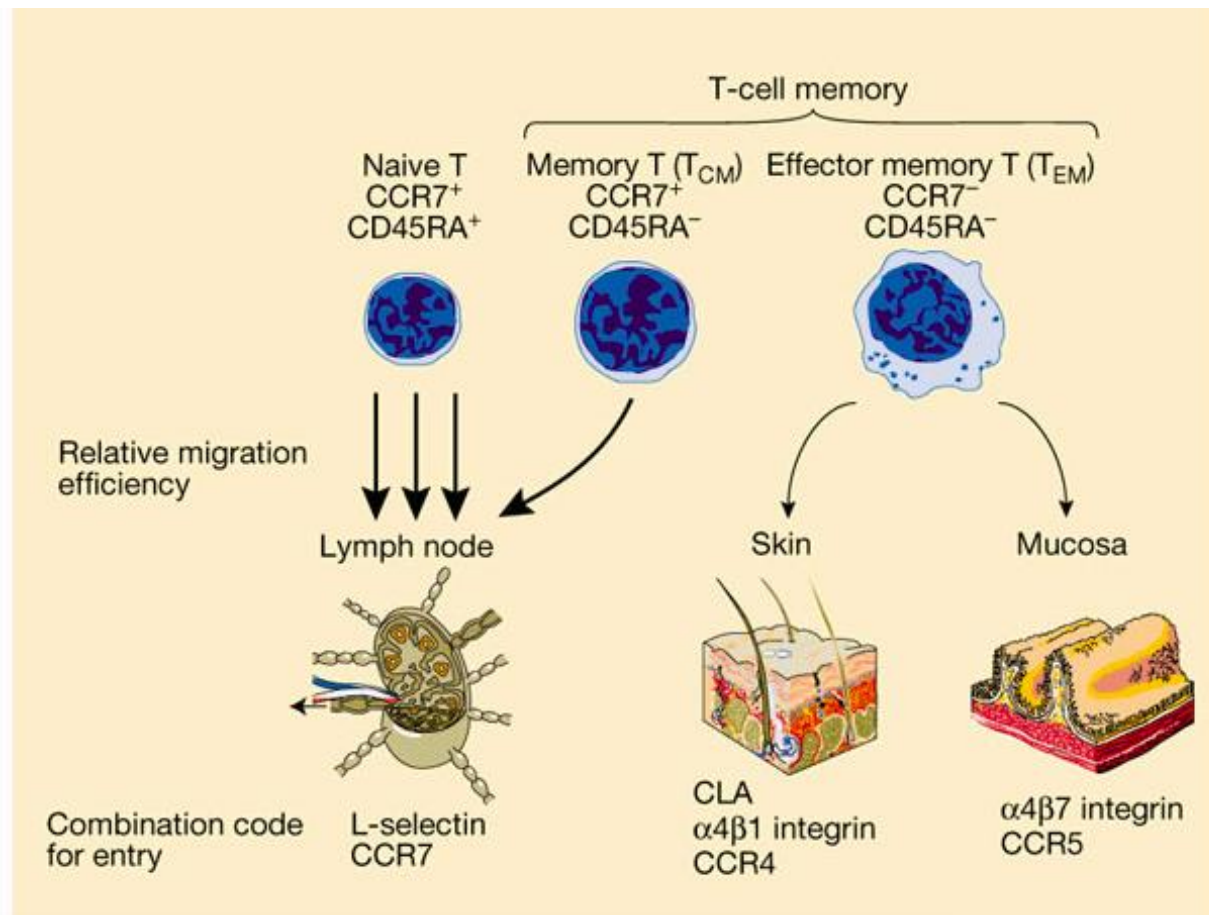
Flow Sitometrik Uygulamalar

Flow Sitometri Uygulamaları

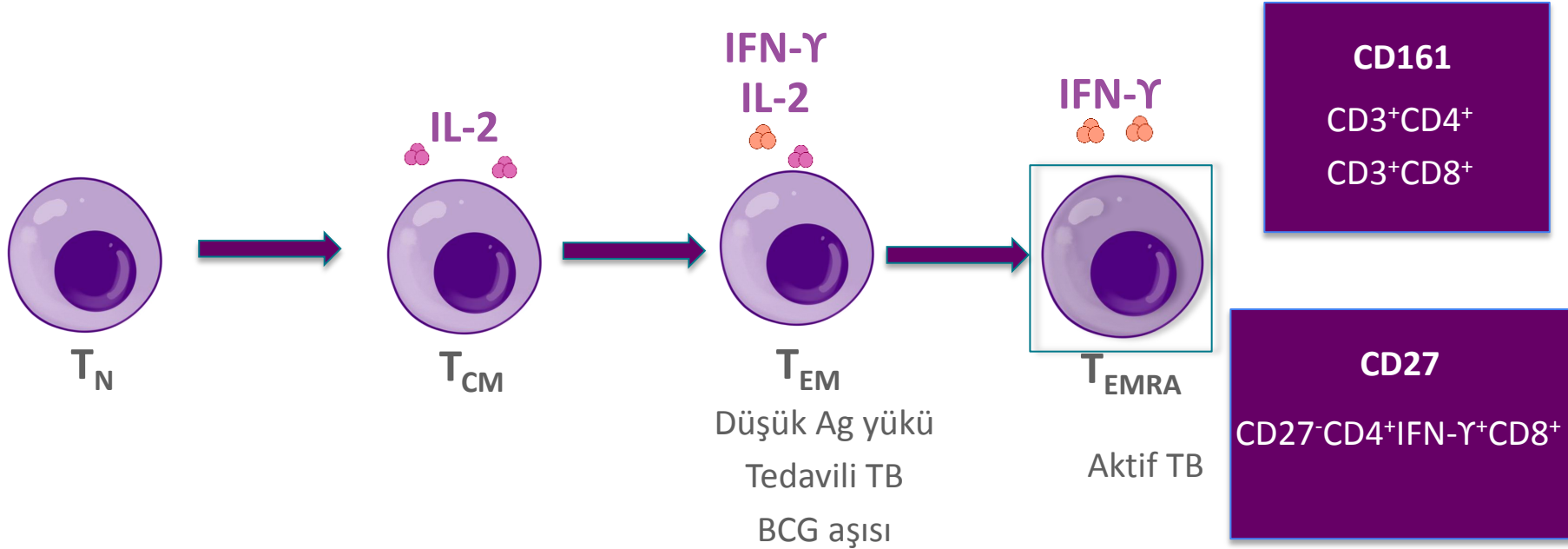


Flow Sitometrik Uygulamalar

- Hücresel bazda MTB'ye karşı immün yanıt
- Sitokin üretiminden sorumlu efektör hücre alt gruplarının çok parametrelili analizi
- MTB Ag spesifik lenfosit alt grup tayini
- Immunsupresyondan ve BCG/NTM çapraz reaktivite göstermez



T Hücre Farklılaşma Belirteçlerin Flow Sitometrik Analizi



Yang Q, et al.Sci.Reports (2015) 5:17918.

Caccamo N ,et al.Eur j Immunol (2010) 40:2211.

Polifonksiyonel T Hücreleri

Ag spesifik T hücreleri geniş sitokin profiline sahiptir

Aktif TB

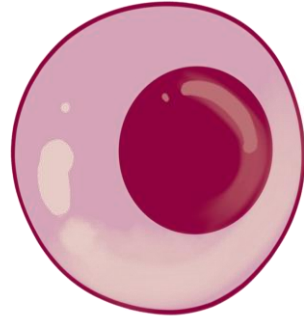


TNF- α +IFN- γ +

TNF- α +IL-2+IFN- γ +

CD4⁺ T hücre

ATB''ye göre LTBI'da
Periferik kanda
CD4⁺TNF- α ⁺
yüksek



IL-10+TGF- β +

T_{reg}

CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺

LTBI'ye göre aktif TB'de
Periferik kan ve BAL'da
yüksek oranda
saptanmış ve tedavi
sonrası azalmış

Harari A et al. Nature Med (2011) 17:372.
Sutherland JS, et al. Eur j Immunol (2009) 39:723.

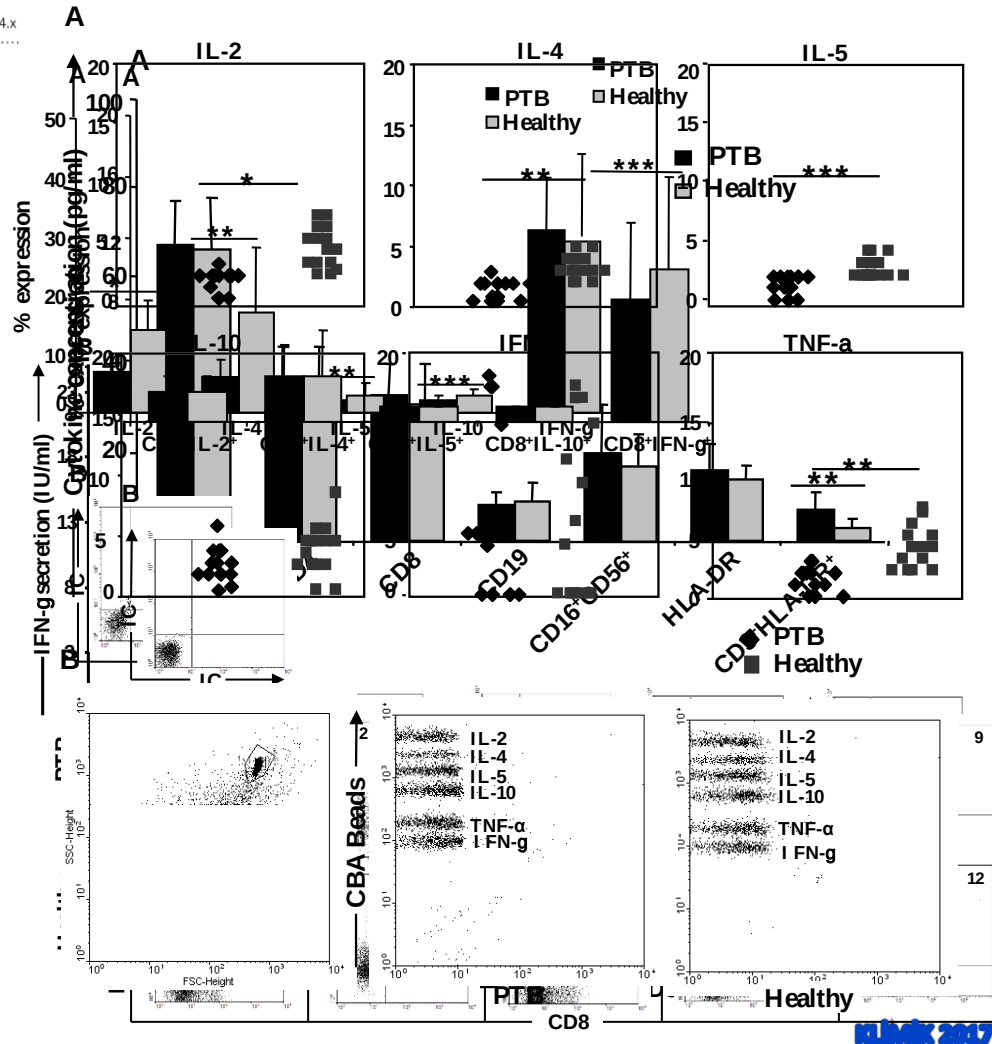
Aktif TB'de Flow Sitometrik Biyobelirteçler

Population studied	Population validated	Biomarker	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
36	31	% PPD-reactive CD27 ⁻ IFN- γ ⁺ CD4 ⁺ T-cells > 48	100	100	100	100
40	—	% ESAT-6/CFP-10-reactive IFN- γ ⁺ CD4 ⁺ T-cells > 0.01	94.1	36.4		
52	50	% PPD-reactive IFN- γ ⁺ IL-2 ⁺ CD4 ⁺ T-cells < 56	70	100		
42	—	% PPD-specific IFN- γ ⁺ CD4 ⁺ T-cells $\geq$ 0.5	89	80		
48	101	% ESAT-6/CFP-10-reactive single-positive TNF- α CD4 ⁺ T-cells > 37.4	67	92	80	92.4
31	—	% ESAT-6-reactive CD69 ⁺ CD4 ⁺ T-cells producing at least one of the following cytokines: IL-2/IL-4/IL-10/IFN- γ and/or CD40L ⁺ $\geq$ 0.01	100	88		

Flow sitometri ve IGRA testleri

- **TB enfeksiyonunun farklı evrelerinde**
- Spesifik immün yanıtı ayrıntılı analizi
- Antijen spesifik T hücrelerinde çoklu sitokin salınımının analizi
- İmmunsupresyondan ve BCG aşısından etkilenmez
- LTBI/aktif TB ayırımı

E. Aktas*, F. Ciftci†, S. Bilgic*, O. Sezer‡, E. Bozkanat†, O. Deniz§, U. Citici† & G. Deniz*

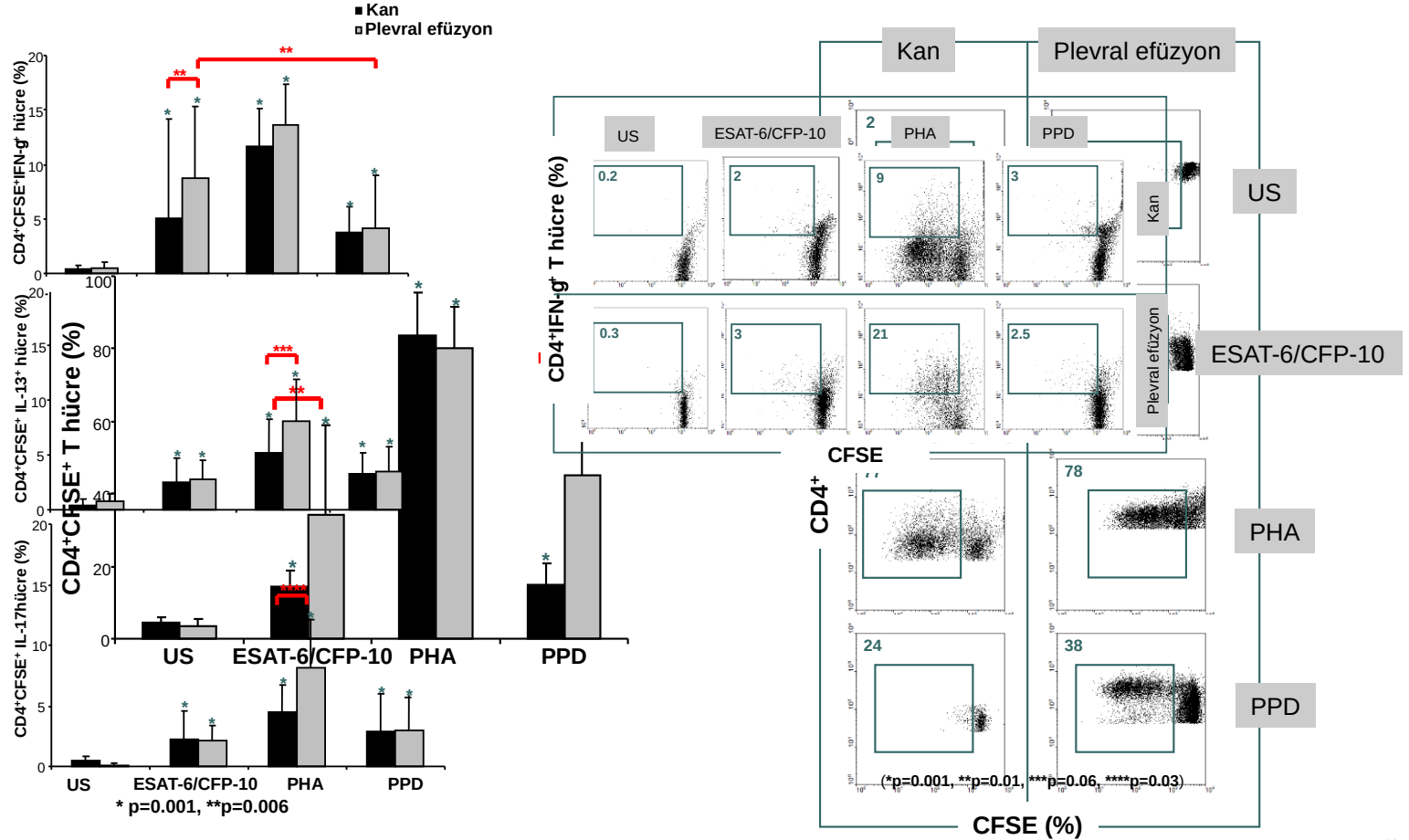


Akciğer Tüberkülozu Plevral Efüzyon ve Kanda ESAT-6/CFP-10 Stimülasyonun CD4⁺ T Hücrelerinin Sitokin Salınımları ve Proliferasyon Oranları Üzerine Etkisi

Çalışma grubu

- ATB grubu (n=39, yaş ortalaması 22 ± 4 , 37E/2K)
- HIV(-), yayma (+)
- Plevral efüzyon(+/-) (n=15, 12E/2K)
- **PKMH Kültürü ve Stimülasyon**
 - CFSE⁺ ve CFSE⁻ PKMH
 - US, ESAT-6+CFP-10,PHA ve PPD
 - 6 gün kültür aşaması
- **Kan ve plevral PKMH proliferatif yanıtın belirlenmesi**
- **CD4⁺ T lenfosit İntrasitoplazmik Sitokin Salınımının Belirlenmesi**
 - US, ESAT-6+CFP-10, PHA ve PPD
 - CD4⁺ T hücrelerinde IFN- γ , IL-13 ve IL-17

Kan ve plevral efüzyonda CD4⁺ T hücrelerinin antijen spesifik Kan ve plevral efüzyonda CD4⁺ T hücre proliferasyonu

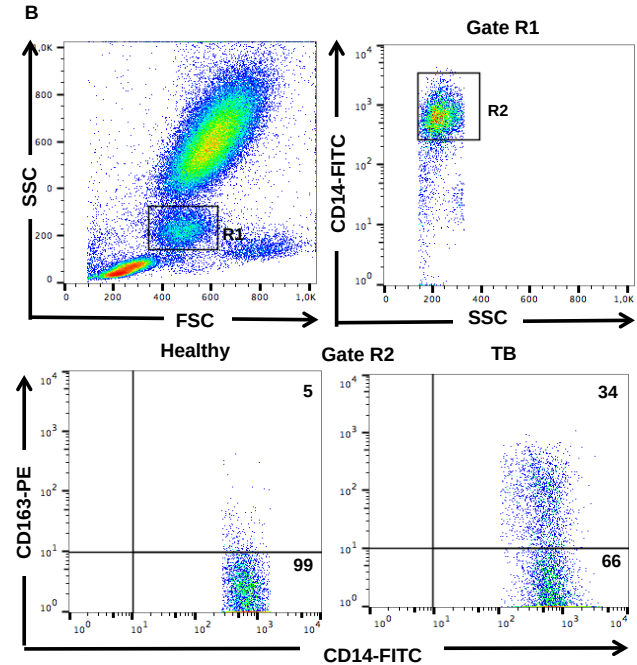
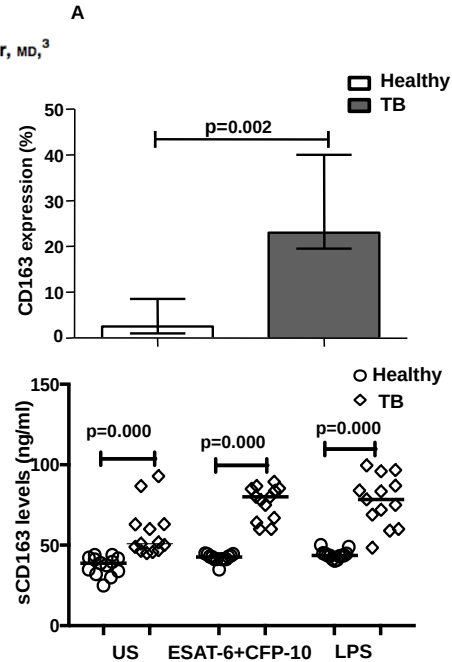


CD163 Levels, Pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Secretion of Monocytes in Children With Pulmonary Tuberculosis

Esin Aktas Cetin, PhD,^{1*} Leyla Pur Ozyigit, MD,² Yusuf Metin Gelmez, PhD,¹ Erkan Cakir, MD,³ Ahmet Hakan Gedik, MD,³ and Gunnur Deniz, PhD¹

Summary. Objectives: Childhood tuberculosis (TB) comprises an important part of the world's TB burden. Monocytes set up the early phase of infection because of innate immune responses. Understanding the changes in monocyte subsets during multisystem infectious diseases may be important for the development of novel diagnostic and therapeutic strategies. The aim of this study was to evaluate the monocyte phenotype together with the cytokine secretion profiles of children with pulmonary tuberculosis. Study Design: Thirteen patients with pulmonary TB were enrolled as study group, and 14 healthy subjects as control group. Surface expressions of CD16, CD14, CD62L, CD163, CCR2, and HLA-DR of monocytes were analyzed by flow cytometry. The presence of IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-12, IL-23, and soluble form of CD163 (sCD163) in the antigen- and LPS-stimulated whole blood culture supernatants were detected using ELISA and Luminex. Results: Higher percentages of CD14⁺CD16⁺ and CD14⁺CD16⁺ monocyte subsets, and CCR2, CD62L and CD163 expression on circulating monocytes in children with pulmonary tuberculosis were obtained. Diminished levels of ESAT-6/CFP-10-induced IL-10 and increased levels of TB-antigen and LPS-stimulated sCD163 were found in childhood with pulmonary TB. Conclusions: High expression of CD14⁺CD16⁺, CD14⁺CD16⁺, CD14⁺CCR2⁺, and CD14⁺CD62L⁺ cells in childhood TB, and monocyte-derived cytokines reflected both pro- and anti-inflammatory profiles. Higher sCD163 and CD14⁺CD163⁺ monocytes might help physicians in the differential diagnosis of pulmonary TB in children. *Pediatr Pulmonol.* 2016; 9999:1–10. © 2016 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: CD163; childhood tuberculosis; soluble CD163; monocytes.





TEŞEKKÜRLER