Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2013; 16(71): 59-70

Agreement of IFN-gamma release assay and skin test in diagnosis of latent tuberculosis infection

Alijani E(MSc)[1], Pourfathollah AA(PhD)[1*], Ajdary S(PhD)[3], Sharifi-Mood B(PhD)[3], Zavaran-Hosseini A(PhD)[1], Khaze-Shahgoli V[4]

1- Department of Immunology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
3- Research Center for Infectious Diseases and tropical Medicine, Boo-Ali Hospital, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran
4- Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 18 Sep 2012, Accepted: 26 Dec 2012

Abstract

Background: Considering the fact that more than one third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis* bacteria, identifying individuals with latent tuberculosis infection (LTBI) is vital for controlling TB. Tuberculin skin test (TST) and IFN-gamma release assays are practical methods used for screening people with LTBI. Due to the insufficiency of data on endemic tuberculosis region and the need for evaluation of these methods in a high-risk population, this study was performed in Zahedan.

***Materials and Methods*:** This descriptive study was carried out on 75 individuals, including 21 health care workers (HCWs) as well as 54 family members of patients with active TB. IFN-γ release assay and TST were also carried out on the participants.

Results: Of the 75 participants, 26 had positive IFN-γ release assay results and 49 persons showed negative results. TST was also performed and 12 participants did not show up for taking the results. Among the remaining 63 participants, 60.31% had more than 10 mm indurations. The results in 32.25% of the participants were positive for both IFN-gamma release assay and skin test, whereas 34.92% of the participantspresented negativetestrresultsfor both IFN-gamma release assay and skin test. The agreement between these two tests was 66.67 % (P=0.001, K=0.36, 95% Confidence Interval).

Conclusion: The results showed a weak agreement between the two tests.

***Keywords*:** Interferon-gamma release assay, latent tuberculosis infection, tuberculin test, tuberculosis

*Corresponding author:
Address: Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: pourfa@modares.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 16، شماره 2 (شماره پیاپی 71)، اردیبهشت 1392، 70-59

ارزیابی توافق بین سنجش تولید کاینترفرون گاما و تست پوستی توبرکولین در تشخیص عفونت نهفتهٔ توبرکلوزیس

ابراهیم علیجانی[1]، علی اکبر پور فتح اله[2*]، سهیلا اژدری[3]، بتول شریفی مود[4]، احمد زواران حسینی[2]، وحید خاضع شاهگلی[5]

1- دانشجوی دکتری ایمنی شناسی ، گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
2 – استاد ، گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
3- دانشیار، بخش ایمونولوژی، انستیتو پاستور ایران ، تهران، ایران
4 – استاد، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، بیمارستان بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان ، زاهدان، ایران
5 – کارشناس بخش ایمونولوژی، 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 نوبرکولین 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 نسبتا 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 خانوادهٔ 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 نتیجهٔ 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 0/567-0/17 confidence interval [CI], 95%, k=0/36).

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

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

***نویسندهٔ مسئول:** تهران، بزرگراه جلال آل احمد دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی گروه ایمونولوژی
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 رتبهٔ هشتم قرار دارد و پیش‌بینی می‌شود که این بیماری تا سال 2020 به رتبهٔ 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 نهفتهٔ 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 نهفتهٔ TB آلوده هستند می‌تواند از جمله راهکارهای مفید در کاهش نرخ این بیماری باشد. از این‌رو شناسایی و در صورت لزوم درمان موارد عفونت نهفته TB ، امری حیاتی در برنامهٔ کنترلی 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 نهفتهٔ 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 مایکوباکتویوم 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، 11). 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 نهفتهٔ TB هستند، برخوردار می‌باشد(12، 13)، هم‌چنین طبق توصیهٔ 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 این‌رو 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 test و TST در تشخیص عفونت نهفتهٔ 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 خانوادهٔ 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 مراجعهٔ بیماران مبتلا به سل به این مرکز، در معرض مواجه با باکتری عامل سل بوده‌اند و گروه دیگر شامل 54 نفر، که از افراد خانوادهٔ 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 پرسش‌نامهٔ تنظیم شده، با رعایت موارد مطرح درمصوبه 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 بین المللی، به صورت داخل پوستی به بازوی افراد در محل مناسب تزریق شد و

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 وسیلهٔ 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 مرحلهٔ نخست انکوباسیون خون تام با آنتی ژن‌های نام برده شده صورت گرفت و در مرحلهٔ دوم، اندازه‌گیری تولید اینترفرون گاما در پلاسمای جمع‌آوری شده با آزمایش الایزا انجام پذیرفت. خون وریدی درون 3 لولهٔ 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 میتوژن سلول T، فیتوهماگلوتینین (Phytohaemayglutinin-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 ایمونولوژیکی فرد نسبت به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده گردید(15). پس از ریختن خون، لوله‌ها به مدت 16تا24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پلاسماهای به دست آمده به دنبال سانتریفیوژ لوله‌ها، جهت اندازه‌گیری غلظت اینترفرون گاما به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفتند. با انجام آزمایش الایزا مطابق دستورالعمل کیت QFT-in tube test (Cellestis 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 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 از0/4همبستگی ضعیف، مقادیر بین 0/4 و 0/75 همبستگی خوب و مقادیر کاپای بالاتر از0/75 همبستگی قوی را بیان می نمایند(16). از آنجایی که معیار استانداردی 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.

یافته ها

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 16/47±34/8 سال و 40 زن (53/33 درصد) با متوسط سن 15/23±27/02 سال، شرکت داشتند(با محدودهٔ 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 خانوادهٔ بیماران مسلول، شامل 19 مرد (35/18 درصد) و 35 زن (64/82 درصد) تشکیل شده بودند(جدول 1).

جدول1 . اطلاعات مربوط به جنس و سن افراد شرکت کننده در مطالعه

ویژگی‌ها		تعداد (درصد) کارمندان تعداد = 21 نفر	تعداد (درصد) خانواده بیماران مسلول تعداد = 54 نفر
جنس	مرد	(76) 16	(35) 19
	زن	(24) 5	(65) 35
متوسط سن افراد بر حسب سال		43/71	25/53
سن افراد بر حسب سال	25 ≥	0	(65) 35
	26-30	0	(5) 3
	31-35	(9) 2	(5) 3
	36-40	(24) 5	(4) 2
	40 <	(67) 14	(20) 11

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 نتیجهٔ 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 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 بین المللی 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(جدول2 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(+)	34/66	53/85	46/15
TST(+)	65/34	52/64	47/36
TST(+) وQFT(+)	31/74	60	40
TST(-) و QFT(+)	4/76	66/67	33/33
TST(+) و QFT(-)	28/57	44/45	55/55
TST(-) و QFT(-)	34/92	36/36	63/64

QFT: تست quantiferon ،TST: تست پوستی توبرکولین

جدول3. ارتباط بین نتایج آزمایش‌ها و سن و جنس افراد در دو گروه مورد مطالعه

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

QFT: تست quantiferon ،TST: تست پوستی توبرکولین

با انجام محاسبات آماری توافق کلی بین این دو تست 66/67 درصد به دست آمد(0/17-0/567 p=0/001 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 نسبتا خوب تا خوب و کمتر از 0/4 توافق ضعیف)، توافق به دست آمده بین این دو 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

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 کننده به دو گروه سنی 39-1 سال با OR برابر با 0/29و 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).

جدول4. ارتباط سن و جنس ، بعنوان فاکتورهای احتمالی خطر بر نتایج حاصله از آزمونها

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

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

بحث

علی رغم 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 این‌رو 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 یافتهٔ ما به گزارش کانگ از کره(12)، آلوارز(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 با نتایج به دست آمده از مطالعات صورت گرفته توسط بروک(5) در دانمارک، اور(26) در انگلستان، پای(32) در هندوستان و نیز آلوارز(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، 32درصد 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 توبرکلوزی می‌باشد، عفونت با این مایکوباکتریوم‌ها معمولا 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

توسط آزمون QFT (32 درصد) نزدیک می‌گردد اما در این حالت نیز توافق بین دو تست ضعیف و برابر با 69/84 درصد به دست آمد (0/593-0/118 [CI], 95% , k=0/355)؛ از این‌رو این فرض که بین عفونت‌های مایکوباکتریوم توبوکلوزیس و مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزی احتمال واکنش متقاطع وجود دارد، ضعیف خواهد بود که این یافته مطابق با نتیجه به دست آمده در مطالعه کانگ(12) نیز می‌باشد.

از دیگر چالش‌های به دست آمده در این بررسی، حالت‌های QFT مثبت، TST منفی (4/7 درصد) و TST مثبت ،QFT منفی (28/57 درصد) می‌باشد. در رابطه با حالت اول یعنی QFT مثبت، TST منفی (4/7 درصد) مطابق با مطالعات انجام شده(18، 25، 35)، ظاهرا شاخصه‌هایی چون مواجهه اخیر با مایکوباکتریوم‌ها و نیز گذر زمان در این رابطه نقش دارند، چراکه پاسخ‌های گذرا و موقتی در آزمون QFT شایع هستند(11) و از سوی دیگر، احتمال منفی کاذب شدن تست TST نیز مطرح می‌باشد. 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 مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس نظیر M.kansasii ، M.szulgai و M.marinum مطرح می‌باشد. چالش مطرح دیگر حالت TST مثبت ،QFT منفی (28/57 درصد) است. از جمله موارد قابل ذکر جهت توضیح این حالت، می‌توان به نتایج مثبت کاذب در تست TST اشاره نمود. همان گونه که ذکر آن رفت، تاثیر واکسیناسیون با BCG، عفونت با مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیس؛ و شاخصه‌هایی چون سن و میزان مواجهه با مایکوباکتریوم‌ها از جمله مواردی هستند که می‌توانند در این رابطه تاثیر گذار باشند(12، 25، 32،36). هرچند با در نظر گرفتن حد مرز 15 میلی‌متر، 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 حالت‌های TST مثبت و QFT منفی، مطرح شده است(12، 26). بررسی صورت گرفته در آفریقای جنوبی نشان داد که افراد با واکنش بیش از 15 میلی‌متر PPD ، 33 درصد آزمایش QFT آنها منفی خواهد بود(37). هم‌چنین در مطالعه انجام شده توسط پای نیز در 11 درصد افراد با PPD مثبت، QFT منفی بوده است(32)، که به یافته ما نزدیک می‌باشد.

آنالیزهای صورت گرفته جهت تعیین ارتباط پارامترهایی چون سن و جنس بر نتایج حاصله از آزمون‌های TST و QFT، نشان دادند که فاکتور جنس روی نتایج آزمون‌های TST و QFT تاثیری ندارد. هم‌چنین بررسی تاثیر فاکتور سن روی نتایج حاصله در این آزمون‌ها نشان داد، در حالی که این فاکتور روی نتایج مثبت آزمایش QFT تاثیری ندارد، ارتباط معنی‌داری از نظر آماری بین نتایج مثبت TST و فاکتور جنس در گروه‌بندی افراد شرکت کننده به دو گروه سنی 39-1 سال و 80-40 سال، دیده می‌شود(جدول4). همان گونه که این نتایج نشان می‌دهند، ظاهرا در محدوده سنی 39-1 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 می‌باشد؛ که البته این نتایج با آزمون QFT مورد تایید قرار نمی‌گیرند. این یافته‌ها با اطلاعات به دست آمده در بررسی‌هایی چون مطالعه آلوارز(25) و کانگ(12) مشابهت دارد. آلوارزو همکاران نشان دادند که فاکتور جنس در نتایج حاصله از آزمون‌های 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 می‌باشد [(1/02-1/16) OR[=1/08؛ و این در حالی است که در بررسی صورت گرفته توسط کانگ، نتایج حاصل از آزمون‌های TST و QFT ، تحت تاثیر فاکتورهای سن و جنس نبودند(12، 25).

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

بروز بالای سل، در جمعیت دریافت کنندهٔ 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 رادیو گرافیک قفسهٔ 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 موجهه افراد با بیماران مبتلا به سل و باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، 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 این‌رو 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 ظاهرا 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 الایزاریدر (ELISA reader) می‌باشد که باعث ارجحیت تست TST در بسیاری از موارد خواهد بود. از این‌رو با توجه به مواردی که ذکر گردید، پیشنهاد می‌گردد که در شناسایی افرادی که احتمالا 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 می توان به کم بودن حجم

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 توبرکولین برای آنها انجام شده است که این امر باعث از دست رفتن تعدادی از نمونه ها می‌گردد.

نتیجه گیری

با بررسی 75 نفر از افرادی که با بیماران مبتلا به سل و باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس 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 نامهٔ 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 ایمونولوژی 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 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, Weldingh 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

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, Maeurer 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, Mihrshahi 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.