



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYABETİK HASTALARDA LATENT TÜBERKÜLOZUN QUANTİFERON GOLD TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI

HALİL İBRAHİM ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL

Gaziantep

2017



GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİYABETİK HASTALARDA LATENT TÜBERKÜLOZUN
QUANTİFERON GOLD TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI**

HALİL İBRAHİM ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL

Gaziantep

2017

T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DIYABETİK HASTALARDA LATENT TÜBERKÜLOZUN
QUANTİFERON GOLD TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI**

HALİL İBRAHİM ÖZTÜRK

Tez Savunma Tarihi: 10.01.2017

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKCIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof.Dr.Tekin KARSLIGİL

Prof.Dr.Ayşen BAYRAM.....

Prof.Dr.Yasemin ZER.....

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

10.01.2017

Halil İbrahim ÖZTÜRK

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca desteğini ve yardımını esirgemeyen başta tez danışman hocam Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL'e eğitim sürecimde deneyimlerini ve bilgi birikimleri ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Ayşen BAYRAM 'a, Prof. Dr. Yasemin ZER'e, Doç.Dr. Fahriye Ekşi'ye, Prof.Dr. Mesut ÖZKAYA 'ya, teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Türkan ÖZTÜRK'e babam Mehmet ÖZTÜRK', eşim Yeliz ÖZTÜRK'e Kızım Elif ÖZTÜRK'e tez arkadaşım Yakup TUNCER' e yardımlarından dolayı Hayati AÇIKGÖZ'e teşekkür ederim.

10.01.2017

HALİL İBRAHİM ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ÖZET	1
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Tarihçe	6
2.1.1. Dünyada Tüberkülozun Tarihi	6
2.1.2. Türkiye’de Tüberküloz Tarihi.....	7
2.2. Tüberkülozun Epidemiyolojisi	8
2.2. Tüberkülozun Mikrobiyoloji	10
2.3.1. Hücre Duvarı.....	11
2.4. Tüberkülozun Patogenezi	13
2.4.1. Evre I - Bulaşma-Başlangıç Evresi (1. hafta).....	13
2.4.2. Evre II - Enfeksiyon, çoğalma ve yayılma (2-3 hafta).....	14
2.4.3. Evre III: Hücre Aracılı İmmün Yanıt ve Geç Tip Aşırı Duyarlılığın Gelişimi (3–9 hafta).	15
2.4.4. Evre IV: Hücre Aracılı İmmün ve Geç Tip Aşırı Duyarlılık (GTA) Yanıtları Arasındaki Karşılıklı Etkileşim	16
2.4.5. Evre V - Likefaksiyon ve Hızlı Basil Çoğalması, Yeniden Bulaşma	17
2.5. Tüberküloz İmmünolojisi	18
2.5.1. İmmünopatogenezi	18
2.5.2. Doğal Savunma	19
2.7. Tüberkülozda Tanı Yöntemleri	20
2.7.2. Boyama Metodları.....	21
2.7.2.1. Ziehl-Neelsen yöntemi.....	21
2.7.2.2. Kinyoun soğuk yöntem.....	22
2.7.2.3. Auramin-florokrom boyama	23
2.7.3. Kültür	24
2.7.4. İdentifikasyon.....	27
2.7.5.2. Antikor Tespitine Dayanan Testler.....	29

2.7.5.3. İnterferon Gamma (IFN- γ) Üretiminin Ölçülmesi	30
2.7.5.4. Elispot Testi	31
2.7.5.5. Quantiferon-TB Gold Testi	32
2.7.6. Tüberkülin Deri Testi (TDT)	34
2.7.7. Moleküler Biyolojik Yöntemler	36
2.7.7.1. Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri	36
2.7.7.2 Restriction Fragment Length Polimorfizm (RFLP)	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Hasta Seçimi	38
3.3. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	47
7. ÖZGEÇMİŞ	60
6. KAYNAKLAR	53
7.ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMALAR

AC:	Akciğer
ARB:	Aside dirençli basil
BCG:	Bacille Calmette Guerin
CDC:	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
DSO:	Dünya Sağlık Örgütü
ELISPOT:	Enzyme linked immünoSpot
EPT:	Ekstrapulmoner tüberküloz
ESAT-6:	Early Secreted Antigenic Target 6kDa protein
EZN:	Ehrlich-Ziehl-Neelsen
IGRA:	İnterferon gamma releasing assay
IL-2	İnterlökin-2
INF-γ:	İnterferon gama
INH (H)	İsoniazid
LTBE:	Latent tüberküloz enfeksiyonu
MOTT:	Mycobacteria other than tuberculosis
MTC:	M.tuberculosis complex
NTM:	Nontüberküloz mikobakteri
PPD:	Pürified Protein Derivative(Saflaştırılmış protein türevi)
TB:	Tüberküloz
TDt:	Tüberkülin deri testi
TNF:	Tümör nekrotizan faktör
VSD:	Verem Savaş Dispanseri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Tahmini TB insidansının en yüksek olduğu ilk on ülke	8
Şekil 2.2. Küresel tüberküloz mortalitesi tahmini oranları	9
Şekil 2.3. Mikobakterilerin taksonomik ağacı	11
Şekil 2.4. Mikobakteri hücre duvar yapısı	12
Şekil 2.5. Tüberküloz patogeneğinde alveoler makrofaj ve lenfosit fonksiyonları.	15
Şekil 2.6. TB enfeksiyonu ve hastalığının gelişimi	16
Şekil 2.7. TB tanı yöntemleri.....	21
Şekil 2.8. ARB mikroskopik görünümü.....	22
Şekil 2.9. Mikobakteriler koyu siyah zeminde sarı görüntüsü.....	24
Şekil 2.10. Katı besiyerinin akış şeması	26
Şekil 2.11. Sıvı besiyerinin akış şeması	26
Şekil 2.14. Tüberkulin deri testinin uygulanışı ve olumsuzlukları	36
Şekil 3.1. Quantiferon testinde kan örneğinin inkübasyonu	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 DSÖ bölgelerine göre TB vaka bulma hızları ve tedavi başarıları.....	9
Tablo 2.2. DSÖ Avrupa bölgesinde tedavi başarıları ortalaması	9
Tablo 2.3 Tüberküloz bulaşını etkileyen faktörler	14
Tablo 2.4 Tüberküloz immünopatogenezinde rol alan başlıca hücre tipleri.....	18
Tablo 2.5 Akciğer tüberkülozundaki semptomlar	20
Tablo 2.6 Mikobakterilerin üremeleri için kullanılan farklı kültür ortamları.....	25
Tablo 2.7 <i>M.tuberculosis</i> kompleks tanısında kullanılan fenotipik testler	28
Tablo 2.8 Antikor tespit temeline dayanan ticari testler	30
Tablo 2.9 TDT yanlış negatiflik nedenleri	35
Tablo 4.1 Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı.....	42
Tablo 4.2 Cinsiyete göre sonuçların karşılaştırılması	42
Tablo 4.3 Yaşa göre sonuçların karşılaştırılması	43
Tablo 4.4 Kontrol grubunun pozitiflikleri	43
Tablo 4.5 Tip 1 Diyabetli hasta grubunun pozitiflikleri	44
Tablo 4.6 Tip 2 Diyabetli hasta grubunun pozitiflikleri	45
Tablo 4.7 Gruplara göre Quantiferon sonuçlarının karşılaştırılması	46

ÖZET

Diyabetik Hastalarda Latent Tüberkülozun Quantiferon Gold Testi ile Araştırılması

Halil İbrahim Öztürk
Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışman: Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL

OCAK 2017,60 sayfa

Tüberküloz (TB), insanlık tarihi boyunca, enfeksiyon hastalıkları içinde her zaman önemli bir yere sahip olup son yıllarda yeni TB olgularının sayısı hızla artmaktadır. Bu artışta Latent tüberküloz (LTB) olgularının da önemli bir yeri bulunmaktadır. LTB enfeksiyonu olan bireylerdeki en önemli risk, hayatlarının bir döneminde aktif TB enfeksiyonu gelişmesidir. TB enfeksiyonunun hastalığa ilerleme riski konağa ait risk faktörlerine göre değişmektedir. Bu risk normal popülasyonda %5-10 arasındadır ve aktif hastalık ve gelişme riski enfeksiyonun edinilmesinden sonraki ilk 2 yıl içinde maksimum düzeydedir. Bu yüzden gelişmiş ülkelerde TB kontrol stratejilerinin en önemli basamaklarından biri de enfekte olan kişilerin belirlenmesi ve bunların tedavi edilmesidir. Bu da LTB enfeksiyonu olan bireylerin doğru tanı ve tedavisini önemli kılmaktadır. Enfekte olduktan sonra hastalanma riskini arttıran en önemli neden kişinin immünsüpresyonudur. Diabetes Mellitus (DM) hastalığı toplumda yaygın olarak bulunan ve immün sistemi baskılayan önemli hastalıklardan biridir. Bu nedenle çalışmada, diyabetli hastalarda latent *Mycobacterium tuberculosis* prevalansının Quantiferon- TB Gold yöntemiyle saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada, endokrinoloji polikliniğinde tanısı konmuş veya tedavi alan Tip 1 ve Tip 2 DM hastaları ve toplumdan randomize olarak oluşturulan kontrol grubu olmak üzere üç grup kendi arasında karşılaştırılmıştır. Her gruptan 25'er kişi olmak üzere toplam 75 kişiden kan alınarak çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda, Tip 1 DM hastalarda 5 (%20), Tip 2 DM grubunda 10 (%40) ve kontrol grubunda 6 (%24) olmak üzere 75 kişinin 21'inde (%28) pozitiflik saptanmıştır. Gruplar arasında ve grupların kontrol grubu ile yapılan istatistiksel değerlendirmesinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Cinsiyet olarak bakıldığında erkeklerde daha fazla görülmekle birlikte anlamlı farklılık bulunmamıştır. Yaş grupları arasında da anlamlı farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak LTB enfeksiyonunu, özellikle immünsüprese kişilerde daha sık saptandığı ve bu nedenle diyabetli kişilerde latent tüberkülozun araştırılması gerekliliği görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, Latent tüberküloz, Quantiferon TB-Gold testi

ABSTRACT

Investigation of Latent tuberculosis with Quantiferon gold test in Diabetic Patients

Halil İbrahim Öztürk

Gaziantep University Graduate School of Health Sciences

Supervisor: Prof. Tekin KARSLIGİL MD, PhD.

Department of Medical Microbiology

January 2017

Tuberculosis (TB) has always been an important place within infectious diseases throughout human history and the number of new TB cases has increased rapidly in recent years. Latent tuberculosis (LTB) has an important role in this increase. The most important risk in individuals with LTB is the development of active TB infection at one period in their lives. The risk of progression to TB disease varies depends on the risk factors of the host. This risk is 5-10% in the normal population and active disease and development risk is at the maximal level within the first 2 years after the acquisition of infection. Therefore, one of the most important steps in TB control strategies in developed countries is the identification and treatment of infected individuals. This makes accurate diagnosis and treatment of individuals with LTB infection important. The most important reason that increases the risk of disease after infection is the immunosuppression of the individual. Diabetes Mellitus (DM) disease is one of the major diseases that are common in the society and suppress the immune system. For this reason, in the study, it was aimed to determine the prevalence of latent *Mycobacterium tuberculosis* in patients with diabetes by Quantiferon-TB Gold method.

In the study, three groups were compared among themselves, including Type 1 and Type 2 DM patients who were diagnosed or treated in the endocrinology outpatient clinic and control group randomly selected from the community. Blood samples of a total of 75 individuals, 25 of whom were from each group were studied. As a result of this study, 21 (28%) of 75 patients were found to be positive, including 5 (20%) in Type 1 DM patients, 10 (40%) in Type 2 DM group and 6 (24%) in control group. No statistically significant difference was found between the groups. As for gender, however it was seen in men more, no significant difference was found. No statistically significant difference was found between age groups.

In conclusion, the presence of LTB infection especially in immunosuppressive patients is likely to be a risk for infection, and therefore it is necessary to investigate latent tuberculosis in diabetic patients.

Keywords: Diabetes, Latent Tuberculosis, Qantiferon TB-Gold Test

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz (TB), insanlık tarihi boyunca, enfeksiyöz hastalıklar içinde her zaman önemli bir yere sahip olmuştur. Son yıllarda giderek artan küresel çabalara rağmen yeni TB hastaları hızla artmaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ü *M.tuberculosis* ile enfektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) “Küresel Tüberküloz 2015 Raporu”na göre Dünya genelinde tüberküloz insidans, prevalans ve mortalite hızları düşmektedir. Bununla birlikte küresel TB yükü halen çok yüksektir. 2014 yılında 9.6 milyon yeni vaka ve 1.5 milyon kişinin TB’den öldüğü raporlarla kayda geçmiştir (1).

Hastalık insidansı Avrupa ülkelerinin çoğunda yüzbinde 20’den az iken, Hindistan, Bangladeş, Çin gibi ülkelerde yüzbinde 100 hatta yüzbinde 200’ün üstündedir (2). Tüberküloz hastasının erken teşhisi ve düzenli tedaviye başlanması, sadece hastalığın iyileştirilmesini değil, aynı zamanda enfeksiyonun toplumdaki diğer bireylere de bulaşmasını önlemektedir. Ülkemiz verilerine göre 2014 yılında toplam 13.378 tüberkülozlu hasta bulunmaktadır. Bunların 7.728’i (%58) erkek, 5.528’i(%42) kadındır.

Tüberküloz hastalığı *Mycobacteriüm tuberculosis* basili tarafından oluşturulur (2). TB basilleri insan vücuduna çok farklı bölgelerden (solunum, sindirim, deri, konjonktiva gibi) girebilir ancak en önemli bulaş yolu inhalasyondur (1). Vücuda giren TB basili başlangıçta çoğalabilir, fakat gelişen immün yanıtla enfeksiyon kontrol altına alınır. Primer enfeksiyon olarak tanımlanan bu durum, hiçbir klinik belirti oluşturmamasına karşın tüberkülin deri testinin (TDT) pozitifleşmesine neden olur. Bu süreçte az sayıda basil, metabolizmalarını durdurarak canlılıklarını koruyabilirler ve bu durum latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE) olarak tanımlanır (3).

Son zamanlarda kanserlerin, allerjik ve otoimmün hastalıkların tedavisi ve transplant reddinin önlenmesi için immün sistemi baskılayan tedaviler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yeni yaklaşımlar terapotik etkilerinin yanında toksisite, malignite ve enfeksiyon riski gibi durumları da beraberinde getirmiştir. İmmünsüpressif ilaçların kronik kullanımları sırasında LTB enfeksiyonunun aktifleşmesi gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Bu nedenle, immünsüpresör ve immünmodülatör ilaçların

uygulanmasından önce veya uygulaması sırasında hastaların latent enfeksiyon yönünden değerlendirilmesi oldukça önem arz etmektedir (4).

Diyabetik hastalar enfeksiyonlara daha yatkın olmakla birlikte aynı zamanda da enfeksiyon hastalıklarını daha ağır geçirmektedirler. Savunma sistemleri baskılanmış olan diyabetik hastalarda sıkça görülen enfeksiyonların başında TB gelmektedir. Amerikan Göğüs Derneği ve ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), diyabetli hastalardaki tüberkülozu ayrı bir kategoride sınıflamışlardır. Bazı ülkelerde PPD pozitif olan diyabetlilere izoniazid ile kemoprofilaksi uygulaması yapılmaktadır (5). LTBE belirlenmesi ve tedavisi, TB eliminasyon stratejisinin en önemli bileşenidir. Kronik hastalarda LTBE enfeksiyonunun aktif tüberküloza dönüşme riski genel popülasyona göre daha yüksektir. Kortikosteroid ve sitotoksik ajanlar gibi kronik hastalar ve HIV diyabet, kanser, kronik böbrek yetmezliği gibi bazı hastalıklar, immün sistemi baskılayarak hastanın TB'a yakalanma riskini artırmaktadır (6).

İmmünsüpresyon durumlarında tüberkülozun klinik ve radyolojik bulgularının atipik olmasından kaynaklanan tanı problemleri ve koruyucu ilaç tedavisinin netleşmemesi yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (7). Diyabetik hastalarda tüberküloz enfeksiyonunun normal popülasyona göre 2-4 kat fazla olduğu bildirilmiştir (8).

TB, sinsi bir hastalık olduğundan şikâyetler genelde hafif başlar ve yavaş ilerler. Hastalar, şikâyetlerini başka nedenlere bağlayabildiğinden doktora geç başvurmakta ve bu nedenle hastalığın seyri ilerlemekte ve bulaştırıcılık sürmektedir. Genellikle üç hafta ve daha uzun süren öksürük TB hastalığı için önemli bir belirtidir. Bunun yanında, ateş, gece terlemesi, kilo kaybı, halsizlik ve iştahsızlık, balgam çıkarma, kan tükürme, göğüs ağrısı ve nefes darlığı bulunabilmektedir. Vücudun diğer organlarını tutan TB hastalığının belirtileri ise etkilenen bölgeye göre değişiklik göstermektedir. *M.tuberculosis* ile enfekte olan kişilerin belirlenmesinde TDT' den yararlanılmaktadır (9). TDT Latent tüberküloz tanısında yardımcı bir test olmasına karşın hatalı sonuçlar da vermektedir. Örneğin TDT de pozitif reaksiyonlar, kişide *M. tuberculosis* dışında diğer çevresel miko bakterilere maruz kalınca da oluşmaktadır. Ayrıca, kronik hastalıklarda ve özellikle HIV hastalığının seyri sırasında immün sistem çok zayıf hale gelmekte, TDT'de kişinin tüberküloza yakalanıp yakalanmadığını belirleyecek bir reaksiyon görülmemektedir (10). Bu nedenlerle TDT'nin sensitivitesi ve spesifitesi

oldukça düşüktür. BCG aşılmasının yaygın olarak uygulandığı ülkelerde TDT aşılama dan etkilenir. Ayrıca tüberküline ait faktörler ve uygulama yöntemi, farklı okuma ve kayıt ile ilişkili faktörler nedeniyle yanlış sonuçlar verebilmektedir. Dolayısıyla *M. tuberculosis* ile BCG aşılama sı ve çevresel mikobakteriler arasında ayırım yapacak, hatta LTBE ile aktif hastalığı ayırt edecek bir teste ihtiyaç vardır. CDC LTBE tanısında Quantiferon testinin kullanımını önermektedir. Quantiferon testi periferik kanda oluşan interferon gama (IFN- γ) düzeyini ölçmektedir. İmmün süpresif tedavi gören hastalarda LTBE'nun saptanması oldukça önemlidir. Pozitif bulunan kişilere korunma amacıyla profilaktik INH tedavisi uygulanmaktadır (11). İlaç yükü, uzun süreli profilaktik tedavi uygulanması ve tedavi izlemindeki zorluklar, ilacın yan etkileri ve maliyet göz önüne alındığında LTB enfeksiyonun doğru teşhisi oldukça büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin endokrinoloji polikliniğine başvuran Tip 1 ve Tip 2 Diabetus Melitus'lu (DM) hastalarda ve sağlıklı bireylerde Quantiferon TB Gold testi ile LTB araştırılmıştır. LTB tanısında Quantiferon testinin tanı değeri irdelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

2.1.1. Dünyada Tüberkülozun Tarihi

İnsanların mikobakterilerle tanışması M.Ö. 8000 yıllarına kadar dayanmaktadır. Toplu yaşama geçiş ve hayvanların evcilleştirilmesiyle birlikte tüberküloz (TB) hastalığı da gelişmiştir. Bu döneme ait Almanya’da bulunan insan iskeletlerinde (M.Ö. 5000) asido rezistan basil (ARB) bulunmuştur. M.Ö. 3500-3000 yıllarına ait Mısır mumyaları ve Ürdün’de bulunan insan iskeletlerinde de TB (Pott hastalığı ve Psoas apseleri) bulguları görülmüştür. Mısır’da Nil nehri yakınlarındaki bir mezarda görülen ve M.Ö. 1500 yıllarına ait belgede, scrofula (Lenf bezi tüberkülozu) görüldüğü kayıtlara geçmiştir. M.Ö.1000 yılında yaşamış olan Rahip Nesperehan’un mumyasında belirgin gibbosite ve psoas apsisi tanımlanmış ve onun *M.tuberculosis* ile hastalandığını bildirmektedir. M.Ö. 700 yıllarında ölen, vertebraında gibbositesi olan ve Hacienda Aqua Salada’da gömülen Peru’lu bir çocuğun mumyasının sonradan yapılan araştırmasında (PCR ile) *M.tuberculosis* saptanmıştır (9).

M.Ö. 460-375 yıllarında yaşayan Hipokrates ‘Phitisie’i genellikle TB anlamında kullanmıştır. Bu kelime elden ayaktan düşmek anlamında kullanılmaktadır. Hipokrat yazılarında TB’un klinik özelliklerini tanımlamıştır. Hastalığın 18-35 yaşları arasındaki insanlarda daha sık görüldüğünü ve tedavide verilebilecek yiyecekleri yazmıştır (12).

15. ve 17. yy Rönesans döneminde anatomik çalışmalara izin verilmesi, hastalıkların nedenlerinin anlaşılmasında ve araştırılmasında büyük katkısı olmuştur. Andres Vesalius’un çalışmalarında TB’lu hastaların otopsilerinde kaviter lezyonlarının bulunduğu bildirilmiştir. 1680 yılında Silvius çalışmalarını yayınladığı ‘‘Opera Medica’’ isimli kitabında Phtisis’i diğer akciğer hastalıklarından ayırt etmiştir. Milier tüberküloz 1702 yılında Mangetus ilk kez tanımlamıştır.

18. yy başlarında oluşan ve 19. yy’da zirveye ulaşan sanayi devrimi, kötü ve yetersiz beslenme, yoksulluk ve kalabalık şehir şartlarında yaşayan insanlarda TB salgınlığının çoğalmasına neden olmuştur. 1800’ler Avrupa da şehir yerleşiminin en yoğun olduğu, nüfusun % 70’inin TB’a yakalandığı yıllardır. Fransız hekim Dr. Rene-Theophile

Hyacinthe Laennec 1819 yılında stetoskobu bularak klinik hekimlikte büyük çığır açmıştır. Akciğer oskültasyonu yaparak klinik bulguları patolojik verilerle bağdaştırmaya çalışmıştır.

Robert Koch 1882’de TB basilini ilk keşfeden kişidir (13). Koch 1884’de klinik örneklerden basili izole etmiştir. Daha sonra saf kültürünü üretmiş, deneysel olarak hayvanlarda hastalık oluşturmuş ve enfekte hayvanlardan bakteriyi yeniden üreterek ‘Koch postülası’nı ileri srmştir. *Bacterium tberclosis* adı ile anılan bakteri, koloni morfolojisi ve yavaş üreme özelliği nedeni ile mantara benzetildiğinden Lehman ve Neuman tarafından 1886 yılında *M.tberclosis* olarak isimlendirilmiştir (10). Tüberküloz kompleksi bakterileri içinde; *M.tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* (1896), *Mycobacterium africanum* ve *Mycobacterium microti* (1937) yer alır.

İnsanlarda hastalık etkeni olan *M.tberclosis* ve *M.bovis* dışındaki mikobakteriler (lepra haric) “atipik mikobakteri” veya “tüberküloz dışı mikobakteriler” MOTT (*Mycobacteria other than tberclosis*) olarak adlandırılmaktadır (14).

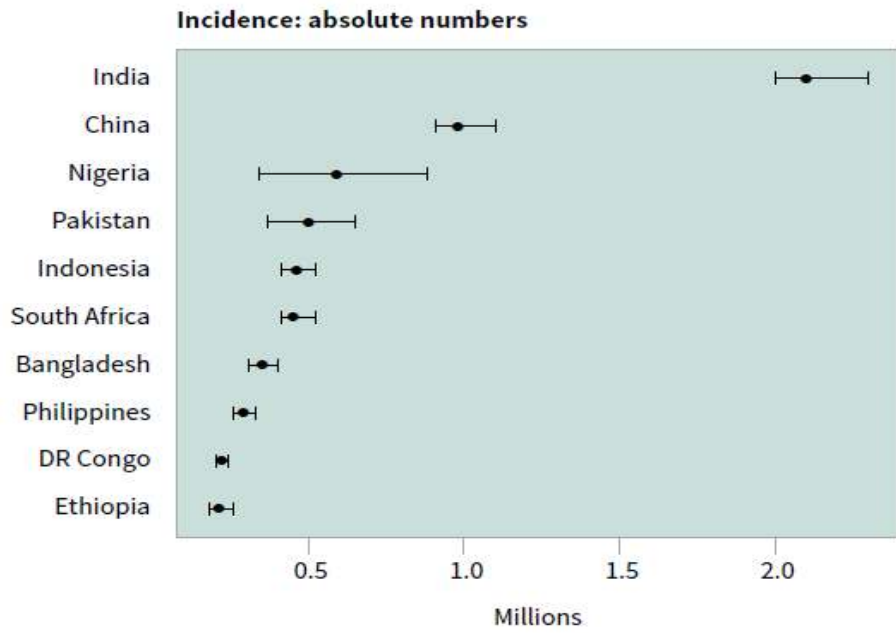
2.1.2. Türkiye’de Tüberküloz Tarihi

Türkiye’de TB’la mücadele çalışmaları ilk olarak 1895 yılında II. Abdulhamit döneminde başlamış, sonrasında gönüllü verem savaş dernekleri kurulmuş ve 1924 yılında Heybeliada Sanatoryumu açılmıştır. Devlet desteği ise 1945 yılında başlamış, 1953’de UNICEF ile birlikte kitlesel BCG aşı kampanyaları uygulanmıştır. 1960’da Sağlık Bakanlığı kontrol çalışmalarını üstlenmiş ve 1950–70 yıllarında hastalığın kontrolünde önemli başarılar elde edilmiştir. Hastalığın prevalansı, 1950 yılında 25/1000 iken 1970 yılında 1/1000 seviyesine dşmştir. TB’nin kontrol altına alındığı düşüncesiyle 1970’lerde ise kontrol çalışmaları zayıflamıştır (15). lke genelinde enfeksiyon havuzunun belirlenmesi için en son kitlesel çalışma 1982’de yapılmıştır. Bu çalışmada tüberkülozlu hasta prevalansının 3.6 /1000 olduğu ve ülke genelinde toplam 180 bin tüberküloz hastası olduğu kayıtlara geçmiştir (16).

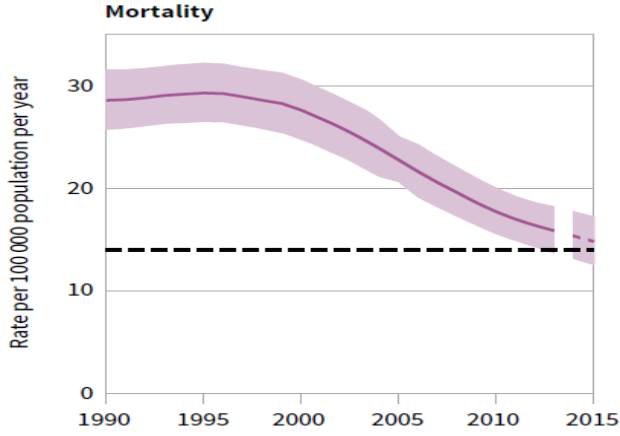
2.2.Tüberkülozun Epidemiyolojisi

Tüberküloz hastalığı etkili bir şekilde tedavi edilebilir bir hastalık olmasına karşın, halen tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olarak varlığını sürdürmektedir. Tüm dünya nüfusunun yaklaşık 1/3 TB basili ile enfektedir. Enfekte kişilerin %5-10'u yaşamlarının herhangi bir döneminde hastalığı geçirmektedir (3).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) “Küresel Tüberküloz 2015 Raporu'na göre dünya genelinde tüberküloz insidans, prevalans ve mortalite hızları düşmektedir. Buna rağmen küresel TB yükü halen çok yüksektir. 2014 yılında 9.6 milyon yeni vaka ve 1.5 milyon TB'den öldüğü kayda geçmiştir. Dünyadaki TB vakalarının yarısından fazlası (%58) Güneydoğu Asya ve Batı Pasifik Bölgelerindedir. Hastaların yaklaşık %43'ü Hindistan, Endonezya ve Çin'de bulunmaktadır (17).



Şekil 2.1. Tahmini TB insidansının en yüksek olduğu ilk on ülke (17)



Şekil 2.2. Küresel tüberküloz mortalitesi tahmini oranları (17)

Tablo 2.1. DSÖ bölgelerine göre TB vaka bulma hızları ve tedavi başarıları (17)

BÖLGE	Vaka Bulma Hızı (%) (2011)	Yeni Yayma (+) Olgularda Tedavi Başarısı (%) (2010)	Önceden Tedavi Görmüş Olgularda Tedavi Başarısı (%) (2010)
Afrika Bölgesi	61	82	54
Amerika Bölgesi	84	75	49
Avrupa Bölgesi	76	67	51
**TÜRKİYE	85	91	69
Batı Pasifik Bölgesi	81	93	86
Doğu Akdeniz Bölgesi	62	88	75
Güney Doğu Asya Bölgesi	62	88	75
DÜNYA GENELİ	67	87	69

*Tedavi başarıları: Kür ve tedavi tamamlamanın toplamıdır.

** Türkiye, DSÖ Avrupa Bölgesinde yer almaktadır.

Tablo 2.2. DSÖ Avrupa bölgesinde tedavi başarıları ortalaması (17)

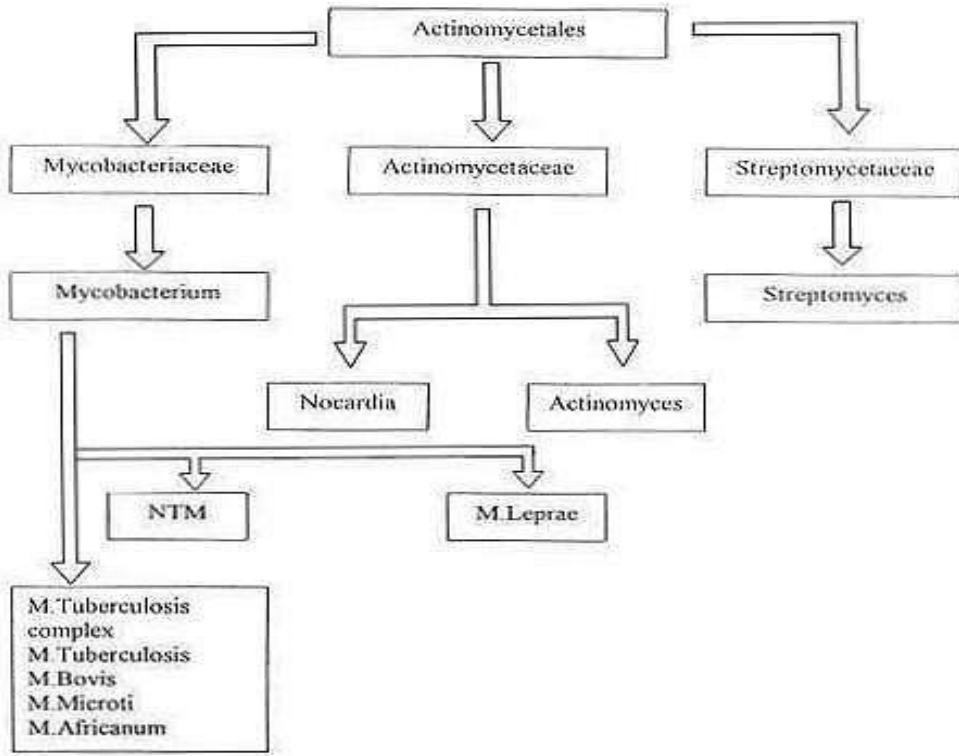
	ÜLKE	Yeni Yayma (+) Olgularda Tedavi Başarısı (%)
1	Bosna Hersek	98
2	Arnavutluk	91
3	Norveç	91
4	Türkiye	91
5	Makedonya	90
6	İzlanda	88
7	Karadağ	87
8	Sırbistan	87
9	Bulgaristan	86
10	Slovenya	85
	DSÖ Avrupa Bölgesi Ortalaması	67

Türkiye'de 2014 yılında toplam 13.378 tüberküloz hastası verem savaşı dispanserleri kayıtlarına girmiştir. Toplam olgu hızı 100.000 nüfusta 17.2'dir. 2014 yılı TB hastalarının %92'si (12.253 kişi) yeni TB olgusu, %8'i (1.125 kişi) önceden tedavi görmüş olgudur. Toplam 13.378 hastanın 7.728'i (%58) erkek, 5.528'i (%42) kadındır. Hastaların 8.632'sinde (%65) akciğer tüberkülozu varken, 4.746'sında (%35) akciğer dışı organlar (lenf bezleri, plevra, kemik, böbrek, beyin vb.) tutulmuştur (17).

2.2. Tüberkülozun Mikrobiyoloji

Mycobacterium Yunanca myces (fungus) ve bakteri (küçük çubuk) kelimelerinden oluşmuştur. İsmi fungus kısmı bu mikroorganizmanın sıvı besiyerlerinde büyüme gelişmesini ve küf benzeri yapısından kaynaklanmaktadır (11).

Mycobacterium genusu içinde yer alan ***Mycobacterium tuberculosis* kompleks**, beş bakteri türü içerir. Bunlar; *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. canetti*'dir İnsan *M. tuberculosis* için tek kaynaktır ve bu mikroorganizma insanlar arasında hastalık etkenidir (10). Günümüzde TB olgularında en sık izole edilen tür *M. Tuberculosis*'dir. *M. Bovis* sıklıkla %75-80 akciğer dışı organ TB neden olur. DNA hibridizasyon çalışmaları bu bakteriler arasındaki DNA homolojisinin %85-100 arasında değiştiğini, *M.tuberculosis* ile *M.bovis*'de %100 benzerlik olduğunu ortaya koymaktadır (18). *M.tuberculosis* complex dışındaki mikobakteriler ise atipik mikobakteriler, nontüberküloz mikobakteriler (NTM), TB basili dışındaki mikobakteriler (MOTT) gibi isimler ile adlandırılırlar. MOTT en sık kullanılan kısaltmadır (19).



Şekil 2.3. Mikobakterilerin taksonomik ağacı (18)

M. tuberculosis 0,2–0,6 mikron kalınlığında, 1,0–10 mikron uzunluğunda, aerobik, sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz hafif kıvrık veya düzgün çomak şeklinde bir basildir (20). Eski kültürlerden ve kazeöz lenf bezlerinden yapılan preparatlarda dallanmış, filamentöz veya kokoidal formda görülebilir. Klinik örneklerde tek tek veya ikili üçlü küçük gruplar halinde bulunur. *M. bovis* ise daha kalın ve kısadır. Bazen nokta gibi granüllü, bazen uzun şekillerde görülür (18).

2.3.1. Hücre Duvarı

M. tuberculosis bilinen bakteriler arasında en kompleks yapılı hücre duvarına sahiptir. Mikobakterilerin hücre duvarı yapısı diğer bakteri türlerinden oldukça farklı bir yapıdadır. TB basilinin hücre duvar yapısı diğer bakterilere kıyasla daha kalındır ve yüksek miktarda lipit içerir. Hücre duvarındaki lipit miktarının yüksek olması TB basilini yapısal olarak farklı kılmasına, üreme ve patojenitesini etkilemekte ve TB basilini diğer bakterilerden ayrı kılmaktadır (21).Yapılan çalışmalar, mikobakteri hücre duvar yapısını üç makromolekülden ibaret olduğunu göstermiştir. Bunlar Dıştan içe doğru mikolik asit, arabinogalakattan ve peptidoglikandan oluşan bu sağlam yapı, bir zırh

yansıra, hücre duvarında bulunan geçiş kanallarının diğer b
ması da rol oynamaktadır (24). TB basilini diğer bakterilerden a
özel çevre koşullarına adaptasyon yeteneğinin çok fazla olması



M. tuberculosis’ in üremesi yavaştır, replikasyon süresi 15-20 saattir. Görünür koloni büyümesi en az 3 hafta; genellikle standart kültür ortamlarında 4–6 haftadır. Löwenstein–Jensen besi yerinde en uygun 33–39 °C ısıda, pH 6.5- 6.8’de, % 5–10 CO₂’li ortamda çoğalırlar (26). Hücre duvar yapısının büyük bölümünü oluşturan lipidlerin hidrofobik özelliğinden dolayı bakteriyolojik boyalarla zor boyanırlar (27).

2.4. Tüberkülozun Patogenezi

2.4.1. Evre I - Bulaşma-Başlangıç Evresi (1. hafta)

TB bulaş, akciğer TB’lu bir hastanın kapalı bir ortamda öksürük, hapşırık, konuşma gibi dış ortama çıkardığı solunum sekresyon sonucu bu basillerin sağlıklı bireylerce inhalasyon sonucu TB bulaş başlar. Hastaya ait sekresyonların sıvı kaybetmesi sonucu damlacık çekirdeği oluşur. %60-71’i 3 saat, %48-66’sı 4 saat %28-32’si ise 9 saat havada canlı kalabilen damlacık çekirdeği 1-5 mikron çapındaki damlacıklar hızla akciğer alveollerine ilerler. Alveoler makrofajlarla olan ilk karşılaşmada basilin direnci, basilin virülansı ve alveoler makrofajların bakterisidal aktivitesi olayın seyrini belirleyici etkenlerdendir. Alveollere ulaşan basiller burada alveoler makrofajlarca fagosit edilir. Bu zamanda makrofajların gösterdiği antimikrobiyal yanıt ve proinflamatuvar direnç kuvvetli olmadığı için basillerin bir kısmı bütünlüğü bozulmadan canlı kalırken, bir kısmı da makrofajlar içinde kısmen antijenik parçalara ayrılır. Konağın doğal savunması; üst solunum yolunun fiziksel engeli, fagositoz, fagositik hücrelerin salgıladığı reaktif nitrojen ve oksijen ürünleri, inflamatuvar hücreler ve saldıkları sitokinler, alveoler makrofajların kimyasal yapısını değiştirmesi, apoptoz ve genetik faktorlerin rol oynadığı bilinmektedir (28).

Tablo 2.3. Tüberküloz bulaşını etkileyen faktörler

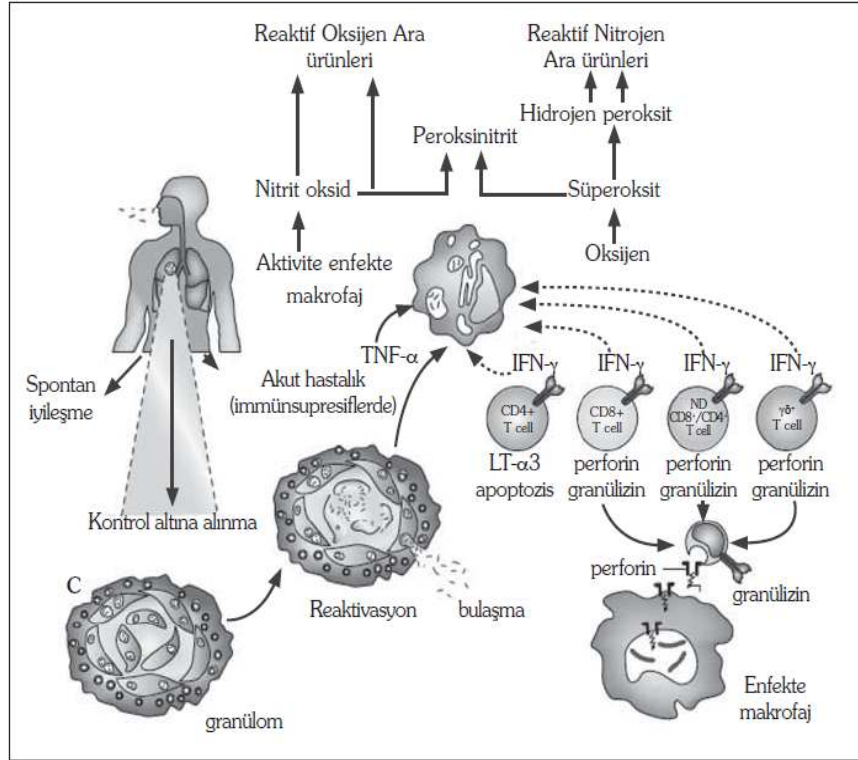
1- KAYNAK OLGUNUN ÖZELLİKLERİ: * Aside dirençli basil pozitif balgam çıkarma miktarı * Aerosol oluşturma potansiyeli (öksürük,aksırık, konuşma vb) * Tüberkülozun klinik formu * Tüberküloz tedavisi alıp almadığı
2- ÇEVRESEL FAKTÖRLER Havalandırma, ultraviyole, güneş ışığı
3- KARŞILAŞMA SÜRESİ VE BASİL YOĞUNLUĞU
4- MİKROORGANİZMANIN ÖZELLİKLERİ
5- HEDEF KİŞİNİN ÖZELLİKLERİ • Geçirilmiş tüberküloz öyküsü • Riski arttıran faktörlerin varlığı (HIV pozitifliği, Silikozis, Kortikosteroid kullanımı Diabetes mellitus vs.) • BCG aşısının olup olmadığı

2.4.2. Evre II - Enfeksiyon, çoğalma ve yayılma (2-3 hafta)

Makrofajlarda bulunan canlı basiller makrofajlar içinde çoğalarak alveoler makrofajların bütünlüğünü bozar ve basiller aktif hale gelir. Makrofajların yıkımıyla açığa çıkan kemokinler farklı inflamatuvar hücrelerin olay yerine hareket eder. Monositler, T lenfositler, NK hücreler de bu dönemde lezyon bölgesine gelmeye başlar. Yeni alveol makrofajları ve monositleri basilleri fagosit ederler. Basiller çoğalmayı sürdürerek konakçı hücrelerini yok eder ve yerel bir yayılma gösterirler. Replikasyon süresi 15-20 saat olan bir TB basili kontrolsüz çoğalma safhasında 20 günde 54x10 basil düzeyine ulaşır. Bölgeye göç eden monosit ve lenfositler granülom oluşumunu başlar. Bu nedenle, makrofaj içindeki bütünlüğü bozulmamış ve antijenik parçalara ayrılmış basiller alveoler dendritik hücrelerce alınıp bölgesel lenf bezlerine taşınırlar.

Buradan da lenfohematojen yol ile tüm vücuda yayılarak yeni yerleştikleri odaklarda granülomlar oluştururlar. Lenfohematojen yolla yayılım gösterir, yayılım sırasında basiller en çok akciğerlerin (apeks),böbrekler, uzun kemikler ve vertebralara yerleşir. Sağlıklı bireylerde lenfohematojen yolla vücuda dağılan basillerin oluşturduğu küçük

kazeoz odaklar makrofajlarca temizlenmektedir. Büyük kazeoz odaklar ise fibroz bir kapsül (tüberküloom) ile çevrilerek izole edilmektedir (29).

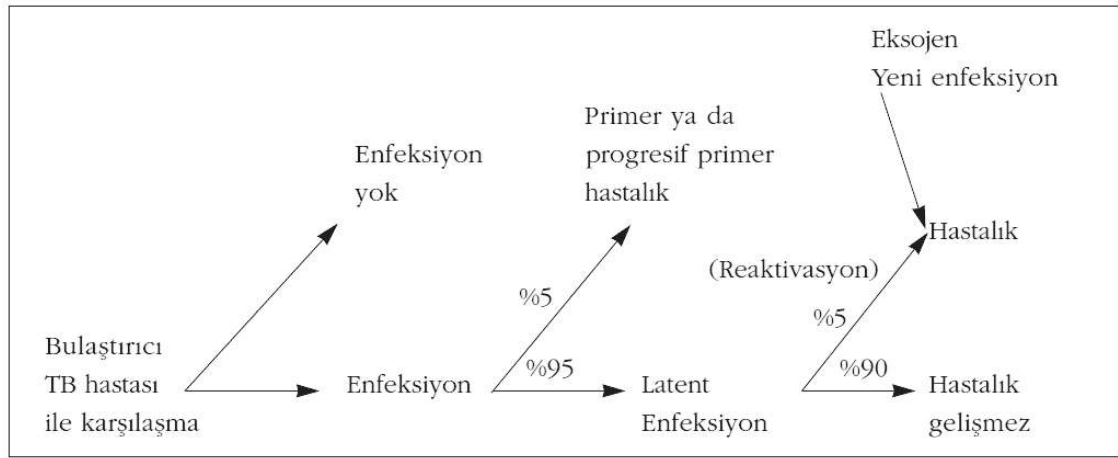


Şekil 2.5. Tüberküloz patogeneğinde alveoler makrofaj ve lenfosit fonksiyonları (31)

2.4.3. Evre III: Hücre Aracılı İmmün Yanıt ve Geç Tip Aşırı Duyarlılığın Gelişimi (3–9 hafta).

Bu evrede ise TB antijenleri T-lenfositlere sunulur. Antijenik uyarım sonrası aktive olan T-lenfositlerden açığa çıkan sitokinler, makrofajlarda sayıca artışa neden olur ve makrofaj fonksiyonlarını güçlendirir. Yani basilin inhalasyonundan 2-3 hafta sonra hücresel immünite gelişmiş olur. Bu süreçte gelişen ikinci immünolojik yanıt gecikmiş tip aşırı duyarlılık (GTA) olup, aktive makrofajlar tarafından salınan IL-12 ile Tc1 hücreleri stimüle edilmesi sonucu gerçekleşir. Tc1 hücreler içlerinde TB basili bulunduran makrofajları öldürürler. Böylece basil çoğalması durur, ortama dökülen basiller solid kazeoz dokuya geçerler ve burada nekroz oluştururlar. Ekstraselüler solid kazeoz dokuda, TB basili canlılığını korur ancak, anoksik ortam, düşük pH ve inhibitor yağ asitlerinin varlığı nedeniyle çoğalamazlar. Solid kazeoz dokuda bazı basiller uzun yıllar hatta ömür boyunca dormant yani ölü olarak kalabilmektedir. Dormant basillerin metabolik aktiviteleri çok düşük düzeydedir. Bu yüzden ilaçlardan etkilenmezler ve yıllarca bu durumda kalabilirler. 6-8 haftada gelişen bu süreçte kişinin TDT pozitifleşir.

Kazeoz nekroz alanlarında artış ve erime enfekte kişilerin %5'inde enfeksiyon'dan hemen sonra meydana gelir, bu tabloya primer tüberküloz denmektedir. Enfeksiyon bu dönem ile sınırlı kalırsa primer enfeksiyon evresi tamamlanmış olur (28). Kazeoz lezyon hücre aracılı immünite tarafından kontrol edilir. Zayıf bir hücre aracılı immün yanıt varlığında dahi basil kazeoz nekrozun merkezinden kaçarak etrafındaki aktive olmamış alveoler makrofajlar içinde çoğalmaya devam edebilir. Bu enfekte makrofajların sitotoksik GTA reaksiyonu sonucu öldürülmesiyle kazeoz nekroz giderek genişleyebilir (30).



Şekil 2.6. TB enfeksiyonu ve hastalığının gelişimi (31)

2.4.4. Evre IV: Hücre Aracılı İmmün ve Geç Tip Aşırı Duyarlılık (GTA) Yanıtları Arasındaki Karşılıklı Etkileşim

İmmün sistemi yeterli kişilerde eğer kazeöz odak erimezse, gelişen süreç hücre aracılı immün yanıt ile durdurulur. Tüberkülin etrafı fibröz bir duvarla çevrilerek ortadaki kazeöz odak kalsifiye olur ve süreç yaşam boyu durdurulur. Ancak kazeöz odaktan basil kaçıışı olur ve basil aktive makrofajlar tarafından tutulup yok edilemezse Geç Tip Aşırı Duyarlılık (GTA) yanıtı tekrarlanarak makrofajlar öldürülmeye devam edilecek, gelişen kazeöz nekroz daha geniş ve şiddetli olacaktır. Gelişen 0.1–1.3 mm çapındaki kazeöz odaklar makrofajlar tarafından hiç leke bırakmadan temizlenir, 2–8 mm çapında olanlar hidrolitik enzimlerle eritilir ve geride fibroz bir doku oluşur, 5–20 mm çapındakiler ise çevresi fibröz bir kapsülle çevrili tüberkülomları oluşturur. Sonuçta immün sistemi yeterli kişilerde basillerin yok edilmesi ile süreç durdurularak, sadece PPD pozitifliği ile primer enfeksiyon ortaya çıkmaktadır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde ise

genişleyen kazeöz nekrozların akciğerde doku hasarına neden olduğu ve klinik olarak primer TB geliştiği bildirilmiştir (25).

2.4.5. Evre V - Likefaksiyon ve Hızlı Basil Çoğalması, Yeniden Bulaşma

Hücrel immünite hastanın kendini savunması için yararlı olurken GTA basillerle birlikte çevre dokularda da nekroz ve kaviteleşmeye yol açan bir reaksiyon olarak ortaya çıkar. Enfekte kişilerin %95'inde olay sessiz olarak kalırken, %5'inde ise hayatlarının herhangi bir döneminde ilk lezyon yerinde ya da basillerin lenfhematojen yolla yayıldıkları herhangi bir organdaki odakta oluşan likefaksiyon ve onu takip eden aktivasyonla oluşan hastalık ise postprimer TB reaktivasyon TB olarak tanımlanmaktadır. İmmün yanıt ile primer enfeksiyonun kontrol edilebildiği bireylerde reaktivasyon riski devam eder. Akciğer odağının reaktivasyonu sonrasında likefaksiyon ile kavite oluşur. Bu hızlı basil çoğalması döneminde hücre dışı basiller logaritmik olarak çoğalır. Th2 hücre yanıtının yoğun olduğu olgularda makrofajların bakterisidal etkinliği artar ve oluşan yıkım sonucunda granülom dokusunda kazeifikasyon nekrozu daha yoğun gelişebilir. Makrofajlardan salınan proteinaz, lipaz, nükleaz gibi hidrolitik enzimler ve tüberkülin benzeri basil ürünleri, kazeoz odağın likefikasyonuna neden olur. Likefikasyon alanı, basiller için iyi bir besi yeri oluşturur. Basilin hücre içi ortamda çoğalması hücrel immünite ile kontrol edilirken, likefiye hücre dışı ortamda bu kontrol ortadan kalkar ve basil sınırsız olarak çoğalabilir. Kazeoz lezyon hücre aracılı immünite tarafından kontrol edilir. Zayıf bir hücrel immün yanıt varlığında dahi basil kazeoz nekrozun merkezinden kaçarak etrafındaki aktive olmamış alveoler makrofajlar içinde çoğalmaya devam edebilir. Bu enfekte makrofajlar sitotoksik GTA reaksiyonu ile yok edilmektedir. Kronik hastalık durumunda basiller ya da konakçı hücrelerden açığa çıkan toksik yağ asitleri, alveoler makrofajların ölümüne neden olarak likefaksiyon ve nekrozu artırır. İlerleyen nekrotik doku komşu bronş duvarında nekroz ve rüptür oluşturarak kavite geliştirebilir. Basil içeren likefiye materyal bronkojenik yolla akciğerin diğer bölümlerine yayılır. Likefiye materyalin ekspektorasyonu (balgam çıkarması) ile dış ortama salınan damlacık çekirdeklerinin sağlıklı bireyler tarafından solunması sonucunda bu kişiler de enfekte edilmiş olur. Hücrel immün yanıtı yeterli olan kişilerde ise kazeoz odakta bulunan aktif makrofajlardan salgılanan hidrolitik enzimler ile granülom sınırlandırarak yerini fibröz dokuya bırakır. Bu fibrotik odakta

tüberküloz basili dormant olarak ömür boyu uykuda kalabilmekte ve konağın immun süpresif durumunda aktif hale geçebilmektedir (31).

2.5. Tüberküloz İmmünolojisi

TB basili akciğerlere ulaştıktan sonra organizmada gelişen immün yanıtta çeşitli inflamasyon hücreleri rol oynar. Antijenik özelliği çok zengin olan tüberküloz basili önce makrofajlarca organizmaya tanıtılır ve inflamatuvar bir yanıt oluşturmak üzere o bölgeye farklı tipte inflamasyon hücre sevkıyatı gerçekleşir. İmmün yanıtta rol alan inflamasyon hücre tipleri, görevleri aşağıdaki tabloda özetlenecektir (32).

Tablo 2.4. Tüberküloz immünopatogenezinde rol alan başlıca hücre tipleri (32).

<i>Antijen sunan hücreler (Makrofajlar ve Dendritik Hücreler)</i>	Aktive olmayan monosit ve makrofajların içinde tüberküloz basili çoğalır; aktive makrofajlar tüberküloz basiliyi yok etmek için çalışırlar. Dendritik hücreler antijen sunumunda rol alan hücrelerdir. Tüberküloz basili antijenleri lenfositlere hem tüberküloz lezyon bölgesinde hem de komşu lenf bezlerinde sunulur.
<i>Lenfositler (CD₄T lenfositler, CD₈T lenfositler, Tc1 lenfositler, γδ T lenfositler, B lenfositler)</i>	Lenfositler tüberküloz basiline karşı oluşturulan özgün immünolojik savunma mekanizmasını yürütürler. Antijen sunumu sonrasında aktiveleşen T lenfositler ürettikleri sitokinler aracılığıyla makrofajları aktive ederler. Hangi T lenfosit alt grubu çoğalıyorsa immün yanıt o yönde gelişir. B lenfositler ise spesifik antikor yapımından sorumludur.
<i>Natural Killer Hücreler (NK)</i>	NK hücreleri basil yüklü makrofajları öldürür ve IFN γ üreterek makrofaj aktivasyonunun devamlılığını sağlarlar. Ayrıca, Th1 profilinde sitokin üretimini arttırırlar.

2.5.1. İmmünopatogeneze

M.tuberculosis ile karşılaşan kişilerde enfeksiyon veya hastalığın oluşup oluşmaması konağın direnci ile basilin virülansı arasındaki dengeye bağlıdır (33). Basil ile enfekte olan kişilerin büyük çoğunluğunda (%90) hastalık gelişmemektedir. Aktif hastalık gelişen enfekte kişilerin bazılarında immün sistem yetersizliği saptanmasına karşın, çoğu hastada belirgin bir immün baskılama izlenmemektedir. Bunlara ek olarak hiçbir tedavi almayan TB'lu hastaların yaklaşık 1/3'nün kendiliğinden iyileştiği bilinmektedir. Yaygın olarak kullanılan BCG aşısı bazı TB şekillerinin ortaya çıkışını %50 oranında

engellerken, bazı kişilerde tüberkülin test pozitifliği, aktif TB'lu hastalarla yoğun karşılaşmaya rağmen hastalık gelişimini önlemektedir (34). Hastalık virülan mikroorganizmaların akciğerlere yerleşmesi, çoğalması ve konak bağışıklık sistemi ile etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Konağın direnci ve aşırı duyarlılık durumu hastalığın gelişimi üzerinde etkili bir faktördür. Konağın TB'a karşı yanıtında hem doğal hem de kazanılmış immünite rol oynamaktadır (33).

2.5.2. Doğal Savunma

TB başlangıcı basil içeren pflugge damlacıkları (damlacık çekirdeklerinin) inhalasyonu ile başlar. 1-3 mikrometre boyutlarındaki pflugge damlacıkları, üst solunum yolunun oluşturduğu bariyerleri aşabilmekte ve ilk enfeksiyonun olduğu alveollere ulaşmaktadır (35). Alveole ulaşan TB basilini dört farklı yolla kendini göstermektedir. birinci yol: Konakcının immün yanıtı oldukça önemlidir çünkü alınan tüm basilleri yok edilebilir. ikinci yol: Basil ilk safhada çoğalır, fakat gelişen immün yanıtla enfeksiyon kontrol altına alınır ve koruyucu immünite gelişir. Primer enfeksiyon olarak tanınan bu durum, hiç bir klinik belirti oluşmamasına rağmen TDT'nin pozitifleşmesine neden olur. Bu süreçte az sayıda basil metabolizmalarını dormant hale sokarak durumunu koruyabilirler ve bu durum latent enfeksiyon olarak tanımlanır. Üçüncü yol ise: Basiller primer enfeksiyon sonunda basiller sayılarını arttırarak çoğalmaya devam eder, enfekte olan bu kişilerin % 5'inde enfeksiyonu izleyen 5 yıl içinde hastalık gelişir buna da primer TB denir (37). Son durum ise Primer enfeksiyonu izleyen bu süre zarfında bir latent dönemden sonra (en az 5 yıl sonra) enfekte kişilerin % 5'inde hastalık gelişir buna da sekonder TB denir (36).

2.6. Tüberkülozda Klinik Belirtiler

Yapılan ilk çalışmalar basilin uzun süre inaktif kalabilme yeteneğine sahip olmasıydı, çocukluk çağında basil ile enfekte olan kişilerin erişkin dönemde ise TB hastalığı geçirebileceğini gösterirken, ilerleyen çalışmalarda primer lezyonların zaman içinde steril hale geldiğini göstermiştir. Öte yandan, erişkin yaşlarda gelişen TB ise dormant halde kalan basillerin aktif hale gelmesi sonucunda gerçekleşebileceği görüşü de öne sürülen diğer hipotezler arasındadır. Primer enfeksiyonun immün yanıtı başlatarak basil ile yeniden karşılaşma durumunda daha farklı ve ağır bir hipersensitivite reaksiyonu ile

yanıtı ise Koch tarafından gösterilmiştir (38). Yapılan çalışmalar sonucunda; *Mycobacterium tuberculosis*'e bağlı hastalık kliniği ortaya çıkışında basilin virulansından çok konakçının immun savunma sisteminin etkili rol oynadığı şeklindedir. TB genellikle sessiz bir başlangıç gösterir ancak kronik seyirlidir. TB hastalarında sık görülen belirtiler;

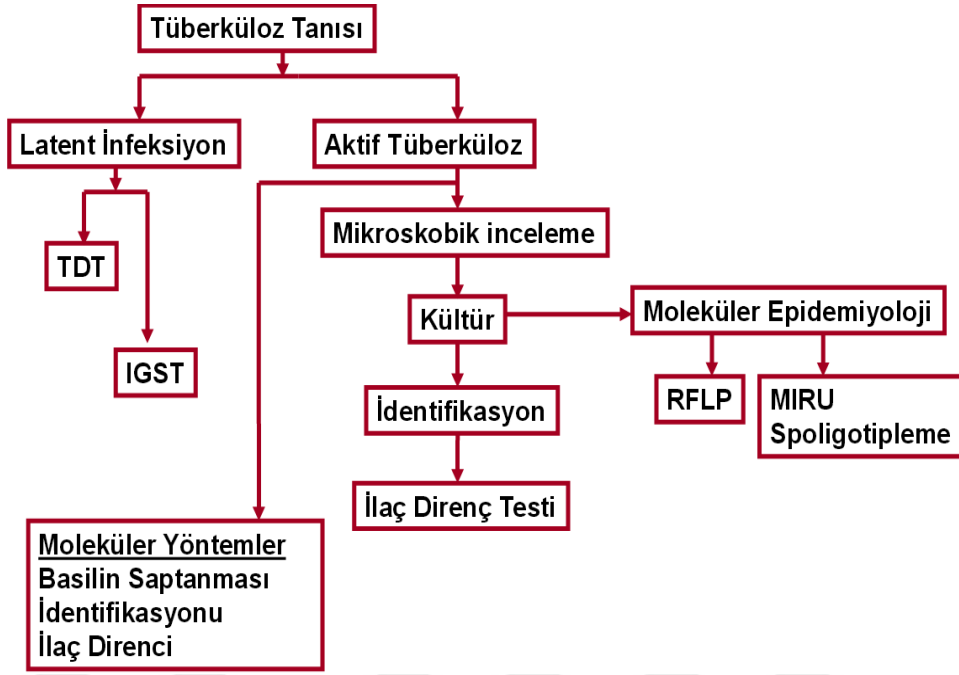
Tablo 2.5. Akciğer tüberkülozundaki semptomlar (39).

Solunumsal semptomlar	Genel semptomlar
Öksürük	Kilo kaybı
Pürülan balgam	Ateş
Hemoptizi	Gece terlemesi
Nefes darlığı	Yorgunluk
Göğüs ağrısı	İştah azlığı

Bu yakınmaları olan kişilerde veya 2-3 haftadan uzun süren öksürük durumlarında TB hastalığından şüphelenilmelidir. TB hastalığının kesin teşhisi mikroskopla balgamda TB basilinin görülmesi ve altın standart kültür sonucunda teşhis konulmaktadır (39).

2.7. Tüberkülozda Tanı Yöntemleri

TB tanısında her ne kadar, hastanın anamnezi, fiziki muayene, Akciger grafisi, TDT teşhis yöntemlerinde yol gösterici olsa da. Balgamda direkt boyalı preparatlarda basillerin gösterilmesi ön tanı da önemlidir TB'un kesin tanısı uygun balgamda altın standart olan kültürle iki haftadan uzun bir süreye ihtiyaç vardır. TB laboratuvar tanısında başarı: Klinik örneğin kaliteli olması çok önemlidir. Hastalık çok çeşitli organ ve dokuları tuttuğu için, örnek seçimine özen gösterilmeli: normal flora üyeleri ile kontamine örnekler incelenirken dikkatli olunmalıdır (40).



Şekil 2.7. Tüberküloz tanı yöntemleri (40)

2.7.1. Direk Mikroskopik İnceleme

Akciğer TB tanısı için en sık balgam örneği alınır, balgam veremiyorsa bronş lavajı, bronkoalveoler lavaj, gibi örnekler alınır; Balgam örneği üç gün boyunca sabah erken saatte, aç karnına, steril, geniş ağızlı, kapağı kapatılabilen kaplara çıkartılır, alınan örnekler en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır. Diğer doku veya organları tutan TB ise bulundukları doku veya organlardan alınan örneklerle açlık mide suyu, idrar, beyin omurilik sıvısı, gaita, doku ve diğer vücut sıvılarıyla basiller aranır (41).

2.7.2. Boyama Metodları

2.7.2.1. Ziehl-Neelsen yöntemi

Karbon fuksin: 10ml %90-95'lik etil alkol içerisinde 3gr bazik fuksin eritilir. 90ml %5 sıvı fenol ilave edilir.

Metilen Mavisi: 100ml distile su içerisinde 0,3gr metilen mavisi eritilir.

Asit alkol: 197ml %90-95'lik alkol içerisine dikkatli ve yavaş bir şekilde 3ml konsantre HCl ilave edilir.

Yöntem

Preparat lama yayılarak ısı ile tespit edilir. Preparatın üzerine karbol fuksin boyası kaplanır. 5 dakika boyunca alttan belli aralıklarla ısıtılır ısıtma işlemi sırasında buhar çıkacak kaynama olmayacak. Çeşme suyu ile yıkanıp iyice durulanır. Dekolorizasyon için preparat üzerine asit alkol dökülerek 2 dakika boyunca beklenir. Su ile tekrar durulanır. Preparat üzerine metilen mavisini preparat üzerine dökerek lamın üzeri kaplanır. 1-2 dakika beklenir daha sonra su ile durulanarak kurumaya bırakılır. 100x immersiyon objektifi ile bakılır. Mikobakteriler mavi zeminde kırmızı veya pembe renkte basiller aranır aşağıdaki resimde olduğu gibi görülür (42).



Şekil 2.8. ARB mikroskoptaki görünümü (43)

2.7.2.2.Kinyoun soğuk yöntem

Karbon fuksin: 20ml %90-95'lik etil alkol içerisinde 4gr bazik fuksin eritilir ve 100ml %9 sıvı fenol ilave edilir.

Metilen Mavis: 100ml distile su içerisinde 0.3gr metilen mavisini eritilir.

Asit alkol: 97ml %90-95'lik alkol içerisine dikkatli ve yavaş bir şekilde 3 ml konsantre HCl ilave edilir.

Yöntem

Preparat lamayayılarak ısı ile tespit edilir. Preparatın üzeri absorban kâğıt (2x3cm filtre kâğıdı) ile örtülür ve Kinyoun karbol fuksin boyası kaplanır. 5 dakika beklenir (ısıtma işlemi yapılmaz). Kağıdı penset ile alınıp dezenfektan içerisine atılır. Çeşme suyu ile yıkanır ve iyice durulanır. Dekolorizasyon için preparat üzerine asit alkol dökerek 2 dakika beklenir. Su ile yıkanır ve durulanır. Preparat üzerine metilen mavisi dökülerek ve 1-2 dakika boyanır. Su ile yıkanır, durulanır ve havada kurutulur. 100x immersiyon objektifi ile bakılır. Mikobakteriler mavi zeminde kırmızı veya pembe renkte görülür (44).

2.7.2.3.Auramin-florokrom boyama

Fenolik auramin: 10ml %90-95'lik etil alkol içerisinde 0.1 gr auramin eritilir ve 87ml distile suda 3gr fenol ile karıştırılarak kahverengi şişede stoklanır.

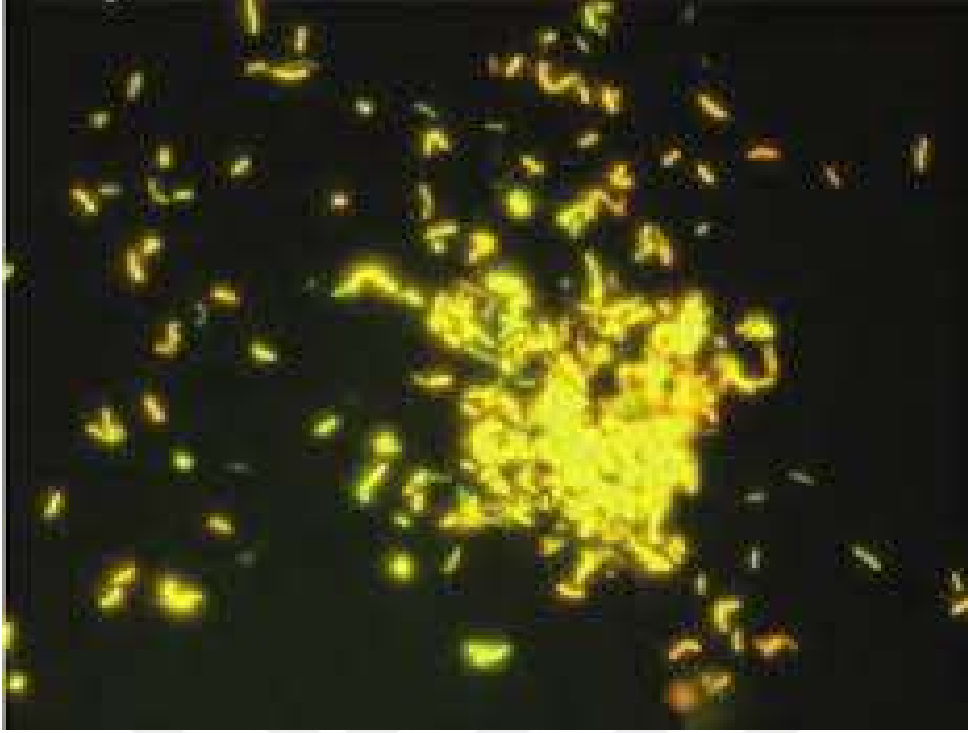
Potasyum permanganat:

100ml distile su içerisinde 0.5gr potasyum permanganat eritilir.

Asit alkol: 100ml %70 lik alkol icerisine 0.5ml konsantre HCl ilave edilir.

Yöntem

Preparat hazırlanıp ısı ile tespit edilir. Preparatın üzerine karbol auramin boyası kaplanır. 15 dakika beklenir (filtre kağıdı konmaz ve ısıtma yapılmaz). Çeşme suyu ile yıkanır ve iyice durulanır. Dekolorizasyon için preparat üzerine asit alkol dökerek 2 dakika beklenir. Su ile yıkanır ve durulanır. Preparat üzerine potasyum permanganat dökülerek 2 dakika beklenir Su ile durulanır kurumaya bırakılır. Floresan mikroskopta kuru objektif (25x veya 40x) ile incelenir. Mikobakteriler koyu (siyah) zeminde sarı-turuncu parlak renkte görülür. Mikroskobtaki görüntüsü aşağıdadır (43).



Şekil 2.9 Mikobakteriler koyu (siyah) zeminde sarı-turuncu parlak renkte görülür (45).

2.7.3. Kültür

Klinik örneklerde TB basillerinin varlığı patolojik bir bulgu iken, tüberküloz dışı mikobakteri türleri için aynı şeyi söylemek her zaman mümkün değildir. Mikroskopik muayenede aside dirençli basil (ARB) görülmesi ön tanıda önemlidir. Ancak TB kesin tanısı etkenin izolasyonu ve identifikasyonu ile konur. Materyalin mililitresinde 10-100 arasında basil varlığı, kültür pozitifliği için yeterlidir (46).

TB basilleri ve diğer mikobakterilerin üretilmesinde özel besiyerleri kullanılır. Bu besiyerleri kompleks yapıda olup içerikleri bakımından yumurtalı ve yumurtasız olmak üzere iki çeşittirler. Yumurtalı besiyerlerinde tam yumurta, bazı tuzlar, patates unu ve gliserin, oleik asid, albumin, gliserol bulunur. Ayrıca gerek yumurtalı gerekse yumurtasız besiyerlerine bazı antibiyotikler eklenerek çeşitli besiyerleri hazırlanır. En çok kullanılan besiyerleri; Löwenstein-Jensen, Pertragnani, Trudeau, Middlebrook 7 H 10, Middlebrook 7H11'dir. (47).

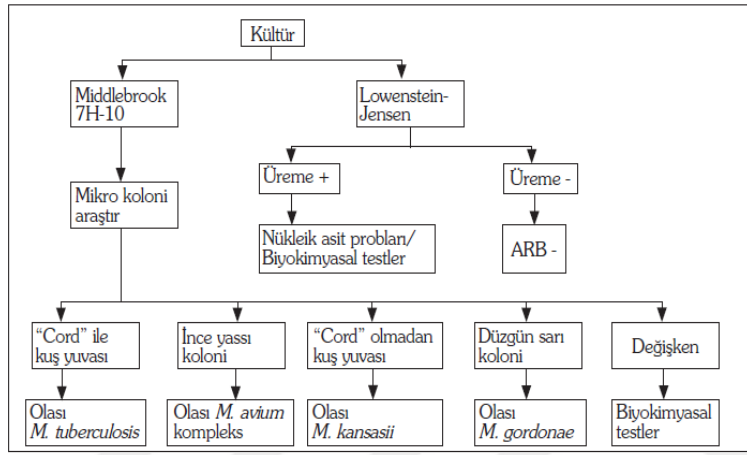
Tablo 2.6. Mikobakterilerin üremeleri için kullanılan farklı kültür ortamları ve inhibitör ajanlar (48).

	Besiyeri	İçerik	İnhibitör Ajan
Yumurtalı	L-j	Koagule edilmiş bütün yumurta, belirli tuzlar, gliserol, patates unu	0,025 gr/100 ml malaşit yeşili
	Petragnani	Koagule edilmiş bütün yumurta, patates, gliserol, süt, patates unu	0,052 gr/100 ml malaşit yeşili
	Amerikan Toraks Topluluğu	Koagule edilmiş yumurta sarısı Gliserol, patates unu	0,02 gr/100 ml malaşit yeşili
Sıvı	Middlebrook 7H12	7H9 buyyon, kazeinhidrolizat, katalaz, sıgır serum albumini, C ¹⁴ palmitikasit	5 antimikrobik ajan (PANTA)
Agarlı	Middle Brook 7H10	Belirli tuzlar, gliserol, dekstroze, albümin, vitaminler, kofaktörler, oleikasit, katalaz	0,025 gr/100 ml malaşit yeşili
	Middle Brook 7H12	Belirli tuzlar, gliserol, albümin, oleik asit, vitaminler, kofaktörler, katalaz, %0,1 kazein hidrolizat	0,0025 gr/100ml malaşit yeşili

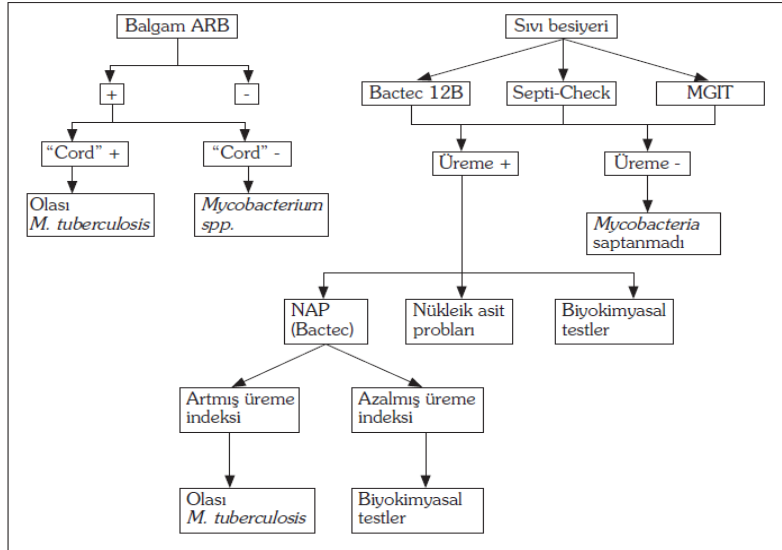
Yumurtalı besiyerlerinden en çok kullanılan Löwestein-Jensen (LJ) besiyeridir. Petragnani inhibitör madde olarak malaşit yeşilini daha yüksek konsantrasyonlarda içerir ve bu nedenle konsantrasyonun yüksek olduğu örneklerde tercih edilir. Yumurtalı besiyerinin bir avantajı üremenin birçok mikobakteri türlerinde daha iyi gözlenmesidir. Ancak kontaminasyon halinde besiyerinin tüm yüzeyi etkilenebilir ve hatta tüm besiyeri likefaksiyona uğrayabilir. L.J besiyeri opak olup koloniler 10-14 günde görünmeye başlar (49).

Agar içeren middlebrook besiyerleri; hazır satılan şeffaf besiyerleri olup, koloniler 10-12 günde saptanmaya başlar. Ticari sıvı besiyerinin kullanımı mikobakteri tanısında kolaylık sağlamıştır. Bu sistemler arasında BACTEC 460 (Becton Dickinson Mikrobiyoloji Systems), Mycobacteria Growth İndicator Tube (MGIT) BBL (Becton Dickinson Microbiology Systems), MB REDOX (H. Diagnostica), Extrensensing Power(ESP), Myco-ESP culture system 2 (Trek Diagnostica Systems Inc) ve BAC/ALERT MB susceptibility kit (OrganonTeknika) sayılabilir. Bu sistemler sıvı middlebrook 7H12 içermekte olup mikobakterileri saptamak için kolorimetrik materyal eklenerek elde edilmişlerdir. Sıvı besiyerlerinde üreme 1-3 haftada saptanabilir. Ticari sistemler arasında en sık kullanılanlardan biri BACTEC 460'dır (50).

BACTEC: İçerisinde C kaynağı olarak radyoaktif karbon (^{14}C) işaretli palmitik asit bulunan 4ml'lik sıvı (Middlebrook 7H9) besiyerleridir. Her bir şişeye 0.5ml işlemlenmiş örnek ekilir ve 35°C 'de inkübe edilir. Bu besiyerinde üreyen mikobakteriler radyoaktif karbon işaretli palmitik asidi metabolize ederek $^{14}\text{CO}_2$ oluştururlar. Oluşan bu maddenin radyoaktivitesinin ölçülmesi ile üremenin olup olmadığı, üreme varsa ne miktarda üredikleri saptanır. Bu sistemle *M.tuberculosis* saptama süresi 9-14 gündür. mikobakterilerin primer izolasyonu, MTC ile NTM ayrımı ve anti TB duyarlılık testlerini yapabilen yarı otomatize hızlı bir sistemdir (51).



Şekil 2.10 Katı besiyerinin akış şeması



Şekil 2.11. Sıvı besiyerinin akış şeması

2.7.4. İdentifikasyon

MTC fenotipik ve genotipik özelliklerine göre tür düzeyinde tanımlanması işlemine identifikasyon denir. MTC enfeksiyonların tanısına geleneksel yöntemlerde; L-J'de üreyen kolonilerin fenotipik karakterlerinin saptanması esastır. MTC tür düzeyinde tanımlanmasında alternatif yöntem olarak mikolik asitin kromatografik analizi, nükleik asit proplarının kullanımı, nükleik asit amplifikasyon ve hibridizasyon testleri, sekans analizi sayılabilir. Özellikle *M. tüberkülozis*'in hızlı tür tayini için fenotipik ve moleküler yöntemlerin birlikte kullanımı önerilmektedir (52). Geleneksel tür tayininde gelen materyalden preparatlar hazırlanmalı ve ARB ile boyanarak incelenmelidir. TB laboratuvarların çoğunda balgam örneklerinin dekontaminasyon ve konsantrasyonu için NALC-NaOH yöntemini kullanır. Geleneksel yöntemlerle yapılan identifikasyonda tüm balgam örnekleri ve diğer örneklerin katı besiyeri ve sıvı besiyeri olmak üzere iki tane ekilmesi önerilmektedir. İnsan mikobakteri hastalıklarının çok büyük bir kısmında etken *M. tuberculosis* olduğuna göre identifikasyonda temel hedef MTC tanımlanması olmalıdır. MTC içinde *M. tüberkülozis*, *M. bovis*, *M. africanum* ve *M. microti* bulunmaktadır. Kültürde üreyen bakteriler öncelikle üreme hızı ve pigment yapımı yönünden incelenir. Böylece daha sonraki biyokimyasal testin seçimi ayarlanabilir. Ancak bazı farklı türlerin benzer biyokimyasal ve morfolojik özellikleri paylaşabileceği, suşlar arasında da farklılıklar olabileceği unutulmamalıdır. Geleneksel identifikasyonda en sık kullanılan testler; üreme özellikleri ve üreme ısısı, koloni yapısı, pigment yapımı, niasin testi, nitrat testi, katalaz testi, T2H testi ve pirazinamidaz testidir. Üreme zamanının kullanılan besiyeri ve inokulum miktarına göre değişiklik gösterebileceği ve bazen zaman hakkında yanlış bir fikir verebileceği bilinmelidir. O nedenle kontrol için üreme zamanları bilinen stok kültürler kullanılmalıdır. Yavaş üreyenler için stok kültür olarak *M. tüberkülozis*, hızlı üreyenler için *M. fortuitum* kullanılır. Middlebrook 7H10-7H11 besiyerinde 5-10 günde üreyen mikrokolonilerin değerlendirilmesi hem *M. tüberkülozis* kompleks'in hızlı tanınmasını hem de prob seçimini yönlendirebilir. Pigment yapımı da identifikasyonda önemlidir. Runyon tarafından yapılan ve halen kullanılmakta olan sınıflamaya göre *M. tüberkülozis* kompleks dışındaki mikobakteriler bu özelliklerine göre 4 sınıfa ayrılırlar. Bu sınıflamada nonkromojen olduğu bilinen ve son yıllarda AIDS'li hastalardan sıkça izole edilen *M. avium intracelulare*'nin ışıқта pigment oluşturabilmeleri nedeni ile tüm pigment yapan türlerin iki farklı ısıda test edilmeleri önerilmektedir. Örneğin *M. szulgai* 37°C'de skotokromojen iken 25°C' de

fotokromojendir. İnsanda hastalık yapan MTC identifikasyonunda kullanılan gerekli fenotipik testler aşağıdaki tablo 2.7’de özetlenmiştir.

Tablo 2.7. *M.tüberkülosis* kompleks tanısında kullanılan fenotipik testler (48).

	Optimal izolasyon ısı ve üreme zamanı	Pigment yapımı Işık- karanlık	Niasin testi	Nitrat testi	Tween80 hidrolizi- 10gün	Katalaz testi	Üreaz testi	Pirazi namidaz üreme	T2H’de üreme
M. tuber- culosis	37°C 12-25 gün	Yok	+	+	Değişken	-	+	+	+
M. african- um	37°C 31-42 gün	Yok	Değişken	Değişken	-	-	Değişken	-	+
M. bovis	37°C 24-40 gün	Yok	Değişken	-	-	-	+	-	-

Tablodan da anlaşılacağı üzere MTB LJ ve Middlebrook besiyerinde 37°C’lik enkübasyonda 14-28 günde kuru, pürüklü, pigmentsiz koloniler yapar. Middlebrook 7H10-11 agarda 5-10 günde mikrokoloniler oluşturur. Bu kolonilerde kord yapısı vardır. Niasin, nitrat, üre testleri (+)’dir. Katalaz aktivitesi yoktur. NAP (P nitroacetylamine hydroxy-propiofenan) içeren sıvı besiyerinde üremez (53).

2.7.5. Serolojik Tanı Yöntemleri

DSO göre, TB tanısında kullanılacak bir serolojik testin duyarlılığı %80’nin; özgüllüğü ise %95’in üzerinde olmalıdır (54). TB’un immünolojik tanısında en önemli konu bu hastalığın maruz kalmadan latent enfeksiyona ve aktif hastalıktan ağır hastalığa kadar geniş bir spektrum sergilemesidir. Ek olarak BCG aşılınması, NTM’ye maruz kalma, HIV ile birlikte hastalık gibi çeşitli faktörler immünolojik temelli testlerin performansını etkilemektedir (55). Aktif TB tanısı için yapılacak immünolojik testlerde kullanılacak iyi bir antijen şu özelliklere sahip olmalıdır: aktif TB’li kişilerce tanındığı halde LTBE negatif sonuç vermeli; aktif hastalıklıların tümü veya çoğunda ve aktif hastalığın farklı şekillerinde immün cevaba yol açmalı; ya *M. tuberculosis*’e spesifik olmalı yada serodominant spesifik epitoplara sahip olmalıdır. TB’daki immün yanıtı belirleyen herhangi bir test hastalık ilerlemesi boyunca çeşitli aşamalarda eksprese olan antijenleri

kapsamalıdır (56). İmmunolojik tanı için hem klinik örneklerde mikobakteriyel antijenlerin gösterilmesi, hem de bu antijenlere karşı oluşan antikorların saptanmasına çalışılmaktadır. Geliştirilen yöntemler arasında immunodiffüzyon, pasif hemaglütinasyon, ELİSA, fluoresan antikor testi, solid faz radyoimmunoassay bulunmaktadır (57).

2.7.5.1. Antijen Tespitine Dayanan Testler

Mikobakteri antijenlerinin parçalara ayrılması, izolasyonu ve analizi için geliştirilen tekniklerdeki ilerlemeler sonucunda, *M. tüberkülozis*'in, bazılarında karbonhidrat ve glikolipit kısımları bulunan çeşitli protein antijenleri gösterilmiş ve detaylı yapısal özellikleri tanımlanmıştır. TB hastaların kan serumunda, dolaşan antijenler izole edilmiş ve bunları tanımak amacıyla kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Ayrıca, mikobakterilerin plazma membranında bulunan antijenler, antijen 5, Lipoarabinomannan (LAM), sitoplazmik antijenler ve diğer antijenleri tespit eden çeşitli serolojik test kitleri hazırlanmıştır (58).

2.7.5.2. Antikor Tespitine Dayanan Testler

TB hastaların serumunda mikobakteri antijenlerine karşı oluşan antikorlar monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılarak aşağıdaki tabloda gösterilmiştir. Çevredeki mikobakterilere çapraz reaksiyonlar sonucu yanlış pozitif test sonuçları alınabilmektedir. Ayrıca mikobakteri hastalıklarında ortaya çıkan bağışık yanıtlar; HLA class2 allotipleri ile ilişkili olup farklı hastalarda aynı antijenler tanınmayabilir. Tüberkülozlu hastalarda özgül antikorları tespit etmek için birçok serolojik test incelenmiştir. Bu tür serolojik testlerde, antijenik proteinler (A65, A60, A38, A14, A19, A90, A34, A55 kd'luk antijenler) ve polisakkaritler dışında ısı şok proteinleri, diacil trehaloz gibi ELİSA tekniğine uygun birçok antijen denenmiştir (25).

Tablo 2.8. Antikor tespit temeline dayanan ticari testler (3)

Kullanılan antijen	Testin adı	Metodu	Duyarlılık	özellik
Lipoarabinomannan (LAM)	MycoDot TM	Dot-blot	%70-75	%96.7
Rekombinant protein peptit	Detect -TB	ELISA	%75	%97
38 kDa (rekombinant antijen) ve LAM	Pathozyme Myco	ELISA	%57-89	%92-100
38 kDa ve 16 kDa (rekombinant antijen)	Pathozyme TB plus	ELISA	%71-89	%98-100
Antijen - 60	Antigen A60	Membran	%71-100	%71-95
38 kDa (rekombinant)	ICT tuberculosis	bazlı	%49-89	%98-100

İmmünokromatografi temeline dayanan antikor tespit testleri:

TB hastaların kan veya serumlarında bulunan antikorları tespit etmek amacıyla, immünokromatografik yöntemli, hızlı testler geliştirilmiştir. Bu testlerde yöntem membrana bağlanmış TB antijeni kombinasyonları ve kolloid haldeki altın partiküllerine birleştirilen antikor bağlayıcı bir protein kullanılır. Kart test şeklinde bulunmaktadır. Kart testin kuyucuk kısmına numune eklenir ve antikor bağlayan protein-kolloid altın kompleksi arasında ilerlemesi için beklenir. İlerleme sırasında örnekte tüberküloza karşı oluşmuş antikorlar varsa bağlanır ve bir kompleks oluşur. Oluşan kompleks, üzerinde sabitleştirilmiş antijen bulunan membrandan geçirilince antikorlar antijene bağlanır. Kart test üzerindeki B zonunda pembe renge bir bant görülür. Bağlanmayan kompleksler kontrol alanına doğru göç etmeye devam eder ve bu alanda pembe renge bir bant oluşturur. Bu bandın oluşması testin doğru yapıldığını göstermektedir. Bu test, aktif tüberkülozlu hastaların taranmasında kullanılır. Negatif sonuçlar tüberküloz olasılığını saf dışı ettirmezken, pozitif sonuçların da doğrulanması gerekmektedir. İmmünokromatografik temelli testlerin duyarlılığı %75-97 ve özelliği ise %95-98'dir. Aktif TB ve LTb arasında ayırım yapabilmesi nedeniyle, TB olduğu ülkelerde denenebilir (58).

2.7.5.3. İnterferon Gamma (IFN- γ) Üretiminin Ölçülmesi

İnterferon gama salınım testleri TDT'ye alternaif olarak geliştirilmiş *M. tüberkülozis*'e kompleks antijenlerine karşı hücresel immün yanıtı ölçen in vitro testlerdir. Bu antijenler BCG aşısı suşlarında olmadığından, BCG aşısıyla çapraz reaksiyon görülmez. TDT ve

İGST, LTBE tanısında kullanılan ancak aktif TB dışlamayan LTBE ve aktif TB ayrımı yapamayan aktif hastalığa progresyon açısından yeterli fikir vermeyen testlerdir. Ülkemizde İGST aşağıdaki durumlarda TDT ile birlikte yapılması önerilir.

- Kronik Hastalarda ve HIV (+) kişilerde
- Çocukta klinik ve radyolojik tanı şüphesini desteklemek için
- Akciğer dışı TB tanı şüphesi desteklemek için
- I. S durumlarda koruyucu tedavi kararı için
- Kronik böbrek yetmezliği olanlar
- Organ transplantasyonundan önce
- Yüksek doz steroid kullanımı öncesi
- TNF α blokeri kullanmadan önce
- Çocuklarda balgam çıkarma zor olduğundan serum içinde tercih edilir (59).

Perifer kanından elde edilen mononükleer hücreler, *in vitro* şartlarda uyarılır ve duyarlılaşan T lenfositlerinden salınan interferon (IFN) gamma üretimi ELISA ile ölçülür. PPD yanıtından sonra, kanda gamma IFN tespiti yapan testler (CSL/QuantiFERON TB testi) geliştirilmiş ve tüberküloz tanısında yayma ve kültür yerine kullanılabileceği bildirilmiştir. Ticari olarak bulunan IFN- γ testleri orijinal QuantiFERON-TB, onun geliştirilmiş versiyonları olan QuantiFERON-TB Gold ve QuantiFERON-TB Gold in tube assays (Cellestis International, Carnegie, Australia) ve the enzyme-linked immunospot (ELISPOT) T SPOT-TB assay (Oxford Immunotec, Oxford, United Kingdom)'dur.

2.7.5.4. Elispot Testi

Elispot testi, kişinin periferik mononükleer hücrelerinin *in vitro* şartlarda bu antijenlerle uyarılıp daha sonra oluşan IFN- γ yanıtının çift sandviç ELISA yöntemi ile belirlenmesi ilkesine dayanmaktadır (ELISPOT testi). Daha sonra bu test Oxford-Immunotec (Oxford, İngiltere) firması tarafından ticari kit şekline getirilerek piyasaya T-SPOT. TB

testi adıyla surulmuştur. Bu test 2004 yılında Avrupa Birliği Ülkelerinde kullanılma onayını, Temmuz 2008 tarihine ise FDA onayını almıştır (20). Bu testin TCT ile karşılaştırıldığı ilk klinik çalışma Lalvani ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.

Bu çalışmada araştırmacılar kültür ile doğrulanmış aktif TB hastalarında ve tüberküloz dışı hastalığı olan bireylerde RD1-ELISPOT testi ile TCT'ni karşılaştırmışlardır. Aktif TB hastalığı olan bireylerde ELISPOT testinin duyarlılığı %96 bulunurken TCT'nin duyarlılığı %69 olarak saptanmıştır. ELISPOT testinin özgüllüğü bu çalışmada %92 olarak bulunmuştur (60).

2.7.5.5. Quantiferon-TB Gold Testi

Test tam kan örneğindeki T hücrelerinin spesifik *M.tuberculosis* antijenine maruz bırakılıp inkübe edildikten sonra IFN- γ üreteceği prensibine dayandırılmıştır (48). Quantiferon TB-Gold testinde antijenler sentetik peptid karışımı içerirler ve bunlar da iki *M. tuberculosis* proteini olan ESAT-6 ve CFP-10'u stimüle ederler (49). Test, heparinize edilen tam kanın alınıp ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini stimüle eden bu peptid kokteyllerinin inkübe edilmesiyle uygulanır. Fitohemaglutinin ve tuz gibi diğer antijenler kontrol olarak kullanılır. Önceki mitojendir ve plazmayı stimüle ettikten sonra interferon gama pozitif kontrolü olarak iş görür. Tuz ise serum veya plazmadaki heterofil antikorlara uyan bir kontroldür ve immün serolojik deneylerle etkileşime girdiği bilinir (50,51). 16-24 saat sonra interferon gama üretimi ELISA yöntemiyle ölçülür. Test sonuçları pozitif, negatif ve şüpheli olarak belirtilir. Şüpheli sonuçlar kan örneğindeki lenfosit sayısının azalmasından veya HIV enfeksiyonu, malignensi veya böbrek yetmezliği gibi araya giren hastalıklar sebebiyle azalmış lenfosit aktivitesinden, uzamış örnek transportundan veya mitojenin yanlış eklenmesinden kaynaklanabilir (51,52). Quantiferon- TB Gold in tube yönteminde kan toplama tüpleri kullanılır ve bunlar kontrol ve test antijenleriyle kaplanmıştır. Bu kan toplama tüpleri inkübasyon kuyuları olarak kullanılır bu da kana dokunma işini minimize eder ve stimülasyon basamağını basitleştirir (51,53).

Deneyde kullanılan proteinlerin *M.tuberculosis* 'e spesifik olmasına rağmen bunlar aynı zamanda *M.kansasii*, *M. szulgai*, *M.marinum*'u kapsayan bazı nontüberküloz mikobakterilerde de görülür. Örneğin, *M.marinum* 'la enfekte olan 7 hasta, *M. kansasii* ile enfekte 5 hasta ve tropikal balık tankı sahibi (muhtemelen *M. marinum*'a maruz

kalan) hastaları kapsayan küçük bir çalışmada bu kişilerin % 50'sinden fazlasında ESAT-6 veya CFP-10'a karşı ölçülebilir IFN- γ cevabı ELISA veya ELISPOT yöntemi ile tespit edilmiştir (54). Aynı zamanda *M.tuberculosis* 'de görülen T-ESAT antijeniyle homolog olan bir *M.leprae* antijeni olan L-ESAT önemli bir çapraz reaksiyon vermekte ve IFN- γ üretimini indükleyebilmektedir. Bundan dolayı test lepranın endemik olduğu yerlerde daha az yararlıdır (55). ESAT geni *M. avium* 'da da mevcuttur ama ELISA-IGRA testinin bu enfeksiyon varlığında yanlış pozitif sonuç vermesi ile ilgili yeterince bilgi yoktur (56).

TB olmayan ve ELISA-IGRA'nın negatif olduğu bazı hastalarda tanımlandığı gibi ELISA-IGRA aktif tüberküloz için yüksek oranda spesifiktir. Bu konuyu işaret eden çalışmalarda spesifiklik %97 ile %100 arasında değişmektedir. Aktif tüberkülozlu kişilerle yapılan vaka kontrol çalışmalarında ve çapraz kesitsel tabanlı çalışmalarda ELISA-IGRA'nın duyarlılığının %72 ile %89 arasında değiştiği bildirilmektedir. Güney Kore'de yapılan bir çalışmada aktif TB tanısı alan 67 olguda Quantiferon TB-Gold testi duyarlılığı %89, Elispot test duyarlılığı %92 ve TDT duyarlılığı %68 olarak bulunmuştur (42,57,60). Aktif TB'nin teşhisinde ELISA-IGRA'nın geleneksel mikrobiyolojik metodlarla direkt olarak karşılaştırılmasının yapıldığı ilk çalışma 2005'de yayınlanmıştır (60). Daha önceki çalışmalar mikrobiyolojik olarak aktif TB'lu olduğu ispatlanan hastalardaki özgünlük ve duyarlılığın hesaplanmasına dayanmaktaydı. Fakat bu çalışma hastaları prospektif olarak kaydetmiş ve final teşhisi bilmeden veri analizi yapmıştır. İlk çalışmalarda ELISA-IGRA testinin duyarlılığı %85 bulunmuştur. ELISA-IGRA'nın mikroskopi ve kültür negatif olan aktif extrapulmoner hastalarda önemli bir kullanıma sahip olduğu bildirilmiştir (61).

Hematolojik ve solid organ malignansileri, diabetes mellitus, kronik böbrek yetersizliği, kortikosteroid kullanımı, antineoplastik ilaçlar, immünsüpresanlar (kemoterapi ve organ transplantasyonu için) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) antagonistleri kullanımı gibi durumlar, tüberkülin deri testi cevabını ve aynı zamanda ELISA-IGRA sonucunu, IFN- γ üretimindeki azalma sebebiyle etkileyebilmektedir (50).

ELISA-IGRA'nın tanımsız sonuçlarla bağlantılı olması umut kırıcı olabilmesine rağmen mitojen cevabının eksikliği altta yatan bir immünsüpresanın olasılığı hakkında uyarı verebilir ve klinisyeni risk altındaki hastaların TB enfeksiyonu için daha geniş çaplı araştırma gerekliliği hakkında uyabilir. Bu bilgi TDT ile alınamaz (62).

ELISA-IGRA'nın avantajı, özgünlüğü artırarak BCG ile aşıları veya non tüberküloz mikobakterilere maruz kalmış kişilerdeki yanlış pozitif sonuçları azaltarak LTB tedavisi için kullanılan ilaçların potansiyel toksisitesinden ve ilave masrafından korumasıdır. Ek olarak, LTB vakalarının çoğunun aktif hastalığa ilerlemeden önce teşhis edilmesini artırır (63).

2.7.6. Tüberkülin Deri Testi (TDT)

Tüberkülin deri testi, (TDT) TB enfeksiyonu gösteren deri testlerinin genel adıdır. Bu testler basilin belirli bileşenlerinin TB basili ile enfekte olan kişilerde geç tip bir aşırı duyarlılık yapması temeline dayanır. Duyarlılığın oluşması için basil ile karşılaştıktan sonra 3–8 hafta gibi bir sürenin geçmesi gerekir. TDT için en sık kullanılan antijen PPD'dir (Purified Protein Derivative=safılaştırılmış protein derivesi). PPD deri testi yüz yılı aşkın bir süredir hem aktif hem de latent tüberkülozun teşhisi için kullanılmaktadır (64). Test, salgılanmış ve somatik proteinleri ihtiva eden mikobakteriyel antijenlerin kaba bir karışımıdır (65). PPD solüsyonu tüberküloz basili kültüründen protein presipitatlarının filtrasyonu ile elde edilir. Elde edilen protein presipitatlarına tüberkülinler denir.

A. BCG skarı yok:

0–5 mm ise: Negatif olarak kabul edilir.

6–9 mm ise: Şüpheli kabul edilir, 1 hafta sonra test tekrarlanır, yine 6–9 mm bulunursa negatif kabul edilir; 10 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.

Booster fenomeni (hatırlatma fenomeni): Tek bir TDT ile ufak bir endurasyon oluşabilir, fakat önceden oluşmuş bir bağışıklık yanıtını uyarabilir. Böylece bir haftadan bir yıla kadar bir sürede yapılacak ikinci TDT ile daha büyük yanıt oluşur. Konversiyondan ayırmak için bir haftadan sonra (en erken dönemde) TDT yapılmalıdır. 10 mm ve üzeri: Pozitif kabul edilir.

Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri pozitif kabul edilir: Kızamık veya boğmaca geçirenler, HIV, AIDS, diabetes mellitus, lenfoma ve lösemi gibi hematolojik bozukluklar, kronik peptik ülser, kronik malabsorpsiyon sendromları, orofarenks ve üst gastrointestinal sistem karsinomları, gastrektomi, barsak rezeksiyonu, kronik alkolizm,

silikozis, pnömokonyoz, kronik böbrek yetmezliği, uzun süre yüksek doz kortikosteroid ve diğer bağışıklığı baskılayıcı tedavi gerektiren durumlar (2–4 hafta süreyle, günde 15 mg veya üstü prednizon dozuna eşdeğer steroid dozları yeterli yüksek doz kabul edilmektedir) (66).

B. BCG skarı var:

0–5 mm: Negatif kabul edilir.

6–14 mm: BCG'ye atfedilir.

15 mm ve üzeri: Pozitif kabul edilir, enfeksiyon olarak değerlendirilir.

TDT uygun bir test olmasına rağmen mükemmel bir test değildir. Çünkü yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranları oldukça yüksektir. Fonksiyonel olarak, TDT'lerinin önemi, duyarlılığı, özgüllüğü ve prediktif değeridir. Testin duyarlılığı, pozitif değeri olanlardan hastalığı olanların yüzdesini göstermesidir. Yalancı pozitifler duyarlılığı etkilemez çünkü önemli olan sadece hastalığı olanlardan teste pozitif reaksiyon verenlerdir. Hastalığı olanlardan pozitif testi olmayanların yanlış negatif sonuçları olduğu söylenir. TDT'de yanlış negatiflik oranları azımsanmayacak düzeydedir. Yapılan çalışmalarda bu oranların %12–32 düzeyinde olduğu görülmektedir.

Tablo 2.9. Tüberkülin deri testinde yanlış negatiflik nedenleri (67)

Test Edilen Kişiyeye Ait Faktörler	* Enfeksiyonlar - Viral (kızamık, kabakulak, su çiçeği, HIV) - Bakteriyel (tifo, tifüs, brusella, boğmaca, yaygın TB, TB plörezi) - Mantarlar (Güney Amerika blastomikozu) * Canlı virüs aşıları (kızamık, kabakulak, polio, su çiçeği) * Metabolik bozukluklar (kronik böbrek yetmezliği) * Proteinlerin düşüklüğü (ciddi protein düşüklüğü, afibrinojenemi) * Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (Hodgkin hastalığı, lenfoma, kronik lösemi, sarkoidoz) * İlaçlar (kortikosteroidler ve diğer birçok bağışıklığı baskılayıcı ilaç) * Yaş (yenidoğanlar, "azalmış" duyarlılığı olan yaşlı hastalar) * Stres (cerrahi, yanıklar, mental hastalıklar, graft versus host reaksiyonları)
Kullanılan Tüberküline Ait Faktörler	* Uygunsuz depolama (ısı ve ışığa maruziyet) * Uygunsuz sulandırılmalar * Kimyasal denatürasyon * Kontaminasyon * Yapışma (adsorpsiyon) (Tween 80 eklemekle kısmen kontrol edilir)
Uygulama Yöntemine İlişkin Faktörler	* Çok az antijen enjekte etmek * Cilt altına enjeksiyon * Enjektöre çektikten sonra geç uygulama * Diğer cilt testlerine çok yakın enjeksiyon
Okuma ve Kayıt ile İlgili Faktörler	* Deneyimsiz okuyucu * Bilinçli ya da bilinçsiz hatalar * Kayıt hataları



- **Yanlış Pozitif Sonuç (%17-25)**

- BCG ile aşılama
- TB Dışı Mikobakteriler ile karşılaşma
- Uygulama ve değerlendirme hatası

- **Yanlış Negatif Sonuç (%17-32)**

- Bağışık sistemin baskılandığı durumlar
- Tüberkülozun ağır formları
- Uygulama ve değerlendirme hatası
- Hasta 2 kez değerlendirilir

Şekil 2.14.Tüberkülin deri testinin uygulanışı ve olumsuzlukları (35)

2.7.7. Moleküler Biyolojik Yöntemler

2.7.7.1. Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri

Nükleik asit çoğaltma yöntemleri iki prensip üzerine oturtulmuştur. Bunlar; nükleik asit prob hibridizasyon ve nükleik asit amplifikasyon (NAA) yöntemleridir.

Nükleik asit prob hibridizasyon yöntemleri: Örnekteki hedef nükleik asit dizisi, komplementeri olan işaretli bir prob ile hibritlenmekte ve tanı konmaktadır (68).

Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri: Nükleik asit teknolojisinin en kompleks ve duyarlı olanıdır. Hedef DNA'yı çoğaltmak için enzim kullanılır. Ortaya çıkarılan ampikonu tespit için nükleik asit problemleri kullanılması ve agaroz jelde ampikonların boyanarak gösterilmesi yoluna gidilir. Üç modifikasyonu bulunur (68):

- Hedef amplifikasyon yöntemleri: Polimeraz zincir reaksiyonu
- Prob hibridizasyon bazlı NAA: Ligaz zincir reaksiyonu
- Sinyal amplifikasyona dayalı yöntemler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu: Nükleik asitlerin in vitro şartlarda replikasyonu için geliştirilmiş bir test tüp sistemidir. Hedef DNA/RNA'nın selektif olarak amplifikasyonuna imkan verir. TB laboratuvarlarında klinik örneklerde bulunabilecek etkenin kısa sürede gösterilmesi, erken identifikasyonu, moleküler tiplendirilmesi ve ilaç direncinin saptanmasında kullanılmaktadır (68).

2.7.7.2 Restriction Fragment Length Polimorfism (RFLP)

Restriksiyon enzimleri; DNA'yı çok özgül olarak belli bölgelerden keserek genellikle 1000–20000 baz çiftlik parçalar oluşturan enzimlerdir. DNA'nın bu enzimlerin bir ya da birkaçı ile kesime uğratıldıktan sonra, agaroz jel elektroforezine tabii tutulması ve sonra etidyum bromür ile boyanan jelde oluşan DNA bantlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak elde edilen çeşitliliğe RFLP adı verilir. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılır (69).

Dört temel adım vardır: DNA izolasyonu, DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesimi, kesilen DNA'nın elektroforezi ve jeldeki DNA parçalarının görüntülenmesi (69). Bu yöntemle *M. tuberculosis* kompleks içinde tip tayini ve *M. tuberculosis* suşlarında nokta mutasyonları saptanarak ilaç direncini saptamak mümkündür (70).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin endokrinoloji polikliniğine başvuran tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalardan 25 tip 1 ve 25 tip 2 diyabetli hasta ve 25 kişi de kontrol grubu olarak alındı. Etik Kurul onayı alındı ve diyabetik hasta ve kontrol grubundaki kişilere düzenlenen Hasta Bilgilendirme Formu okutuldu. Yapılacak işlemler hakkında bilgi verildi. Daha sonra onayları alındı. Adres ve telefon numaraları kaydedildi. Quantiferon TB-Gold in tube yöntemiyle hastaların kanında IFN- γ miktarı ölçüldü. Bu şekilde üç grup oluşturularak Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastalarda ve kronik hastalığı veya immun süpresyonu olmayan ve tedavi görmeyen ve kontrol grubu olarak secilen 25 sağlıklı gönüllüde Quantiferon gold testi yöntemiyle latent TB enfeksiyonu araştırılarak sonuçlar karşılaştırıldı.

3.2. Quantiferon-TB Gold Çalışma Protokolü

Quantiferon yöntemi (Quantiferon –TB Gold in tube Cellestis Limited; Australia) ticari kitle çalışılmıştır.

Kit içerisinde, mikropalak stripleri, insan IFN- γ standardı, liyofilize diluent, 100x konsantre ve liyofilize konjugat, yıkama tamponu, 20x konsantre Enzim Substrat Solüsyonu ve stop solüsyonu bulunmaktaydı.

1. Quantiferon testinin çalışılması için bu teste özel heparinli, vakumlu 3 ayrı test tüpüne 1'er ml periferik kan alındı.
2. Kan tüplerinin iç yüzeyinin tamamen yıkanması için tüpler kuvvetle 5 saniye çalkalandı.
3. 37 C°'lik inkübatörde 16-24 saat bekletildi.
4. İnkübasyondan sonra tüpler 15 dakika 2000- 3000 RCF (g)' de santrifuj edilerek plazma ayrıldı.

Daha sonra bu tüpler etiketlenerek test çalışılncaya kadar -20C°’de bekletildi. Hastalardan alınan üç tüp plazmanın birisi negatif kontrol olan ‘nil’ tüpü, birisi pozitif kontrol olan ‘mitojen’ tüpü, diğeri ise antijen tüpü idi. Plazma numuneleri çalışılacağında reaktiflerle birlikte oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi.

5. Dondurularak kurutulmuş kit standardı standart şişesinin etiketinde belirtilen miktarda distile su ile çözüldü.

6. Daha sonra 4 tüpe standart solüsyonu hazırlandı. Bunun için 4 ayrı test tüpü S1, S2, S3, S4 diye işaretlenerek her birine 150 µl green dilüent solüsyonu eklendi.

Birinci standart tüpe (S1) 50 µl bu çözeltiden alınıp S2’ye konuldu ve iyice karıştırıldı.

Aynı şekilde S2 tüpünden 50 µl çözelti alınıp S3 tüpüne konuldu ve iyice karıştırıldı.

S4’de sadece gren diluent (yeşil çözelti) bulunmaktaydı.S4 tek başına sıfırlık standart olarak kullanıldı.

7. Dondurulmuş kurutulmuş konjugat 100 x konsantre, 0.3 ml distile su ile çözüldü.

Çalışma konjugatı, çözülen konjugat 100 x konsantrenin kullanılacak strip sayısına göre belirtilen miktardaki yeşil dilüent ile dilüe edilmesiyle hazırlandı.

8. Teste başlamadan önce, INF γ ’nın örnek içinde eşit dağıldığından emin olmak için plazmalar çalkalandı.

9. Kullanılan tüm ELISA kuyularına taze hazırlanmış çalışma konjugatından 50’şer µl eklendi.

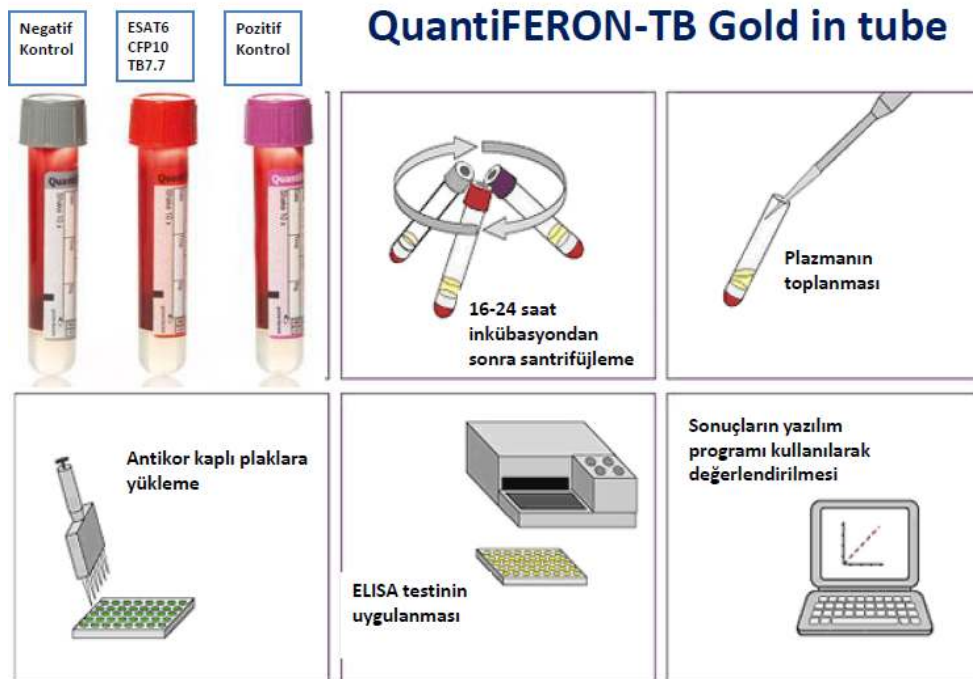
10. Kuyulara 50’şer µl plazma örnekleri ve ardından uygun kuyucuklara her standarttan yine 50 ‘şer µl pipetlenerek konuldu.

11.Mikroplak çalkalayıcı kullanılarak 1 dakika boyunca konjugat ve plazma örnekleri ve standartlar iyice karıştırıldı.

12. Plak kapak ile kapatılarak oda sıcaklığında 120 dakika inkübe edildi.

13. İnkübasyon sırasında bir birim wash buffer 20 x konsantre 19 birim distile su ile dilüe edilerek karıştırıldı.

14. İnkübasyondan sonra kuyular 400 µl yıkama solüsyonu ile en az 6 kez yıkandı.
15. Daha sonra her kuyuya 100 µl enzim substrat solusyonundan eklenip mikropalak çalkalayıcı ile 1 dakika karıştırıldı.
16. Plak kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
17. İnkübasyonu takiben her kuyuya 50 µl enzim durdurma solüsyonundan eklendi ve karıştırıldı.
18. Daha sonra bir mikropalak okuyucu kullanılarak, 450 nm dalga boyunda ve 620 nm ile 650 nm arasında bir referans dalga boyunu kullanarak her kuyunun optik dansitesi ölçüldü ve sonuçlar kaydedildi. Sonuçlar referans eğriye göre üretici firmanın vermiş olduğu programda değerlendirilerek elde edildi. Optik dansite 0.35 ve üzeri pozitif kabul edildi.



Şekil 3.1 Quantiferon testinde kan örneğinin inkübasyonu (35).

Çalışmaya alınan tüm numuneler Quantiferon testi ile çalışılmış, sonuçlar şeklinde değerlendirilmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programı ile yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımlar verilmiştir. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda çapraz tablolar (ki-kare testi) kullanılmış olup elde edilen sonuçlar %95 ($p<0.05$) anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmaya endokrinoloji polikliniğinde Tip 1 ve Tip 2 DM tanısı konulmuş 50 hasta ve 25 sağlıklı gönüllüden oluşan kontrol grubu olmak üzere toplam 75 kişi alındı. Her kişiden üç tüp kan alınarak Quantiferon –TB Gold in tube testi ile periferik kanda IFN- γ miktarı ölçüldü. Çalışmamızdaki kişilerin %38'i kadın %37'si erkekti. Gruplar arasında cinsiyet bakımından anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı

			Cinsiyet		Total	χ^2	p
			Kadın	Erkek			
Grup	Kontrol	n	14	11	25	1.707	.426
		%	56.0	44.0	100.0		
	Tip 1	n	10	15	25		
		%	40.0	60.0	100.0		
	Tip 2	n	14	11	25		
		%	56.0	44.0	100.0		
Toplam		n	38	37	75		
		%	50.7	49.3	100.0		

Çalışmaya katılan tüm gruplarda yapılan Quantiferon testi ile kadınların %21.1'inde, erkeklerin ise % 35.1'inde Quantiferon pozitifliği saptanmış olup pozitiflikle cinsiyet arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Cinsiyete göre sonuçların karşılaştırılması

			Sonuç		Total	χ^2	p
			Negatif	Pozitif			
Cinsiyet	Kadın	n	30	8	38	1.844	.174
		%	78.9	21.1	100.0		
	Erkek	n	24	13	37		
		%	64.9	35.1	100.0		
Total		n	54	21	75		
		%	72.0	28.0	100.0		

NOT: Optik dansite değerleri otomatik olarak hesaplanmış olup 0.35'in üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir.

Çalışmaya alınanlar, genç (17-35), orta (36-54) ve ileri yaş (55+) olmak üzere üç gruba ayrılarak LTB pozitifliği yönünden değerlendirildi. Tip 1 DM grubun aritmetik yaş

ortalaması 29.44 (17-61 yaş), Tip 2 DM grubunun aritmetik yaş ortalaması 54.04 (34-68 yaş) ve kontrol grubunun aritmetik yaş ortalaması ise 36.04 (19-62 yaş) olarak tespit edildi. 17-35 yaş grubunda 6 kişide, 36-54 yaş grubunda 7 kişide, 55 ve üzeri yaş grubunda ise 8 kişide Quantiferon testi pozitif bulundu. Yaş grupları ile LTB pozitifliği arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Yaşa göre sonuçların karşılaştırılması

			Sonuç		Total	χ^2	p
			Negatif	Pozitif			
Yaş	17-35	n	25	6	31	5.116	.077
		%	80.6	19.4	100.0		
	36-54	n	21	7	28		
		%	75.0	25.0	100.0		
	55 ve üzeri	n	8	8	16		
		%	50.0	50.0	100.0		
Total		n	54	21	75		
		%	72.0	28.0	100.0		

Yapılan çalışmada kontrol grubunda 6 kişide pozitiflik saptanmıştır. Bunların 2'si kadın, 4'ü erkektir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Kontrol grubu test sonuçları

KONTROL GRUBU							
ADI SOYADI	YAŞ	CİNSİYET	SONUÇ	ADI SOYADI	YAŞ	CİNSİYET	SONUÇ
1.	33	K	NEGATİF	14.	34	K	NEGATİF
2.	55	E	NEGATİF	15.	26	K	NEGATİF
3.	28	K	NEGATİF	16.	42	E	1,22
4.	38	K	NEGATİF	17.	30	E	NEGATİF
5.	25	K	NEGATİF	18.	30	E	NEGATİF
6.	50	K	NEGATİF	19.	19	K	2,74
7.	36	K	NEGATİF	20.	37	E	NEGATİF
8.	23	E	>10	21.	33	E	NEGATİF
9.	44	K	2,11	22.	62	K	NEGATİF
10.	24	K	NEGATİF	23.	22	K	NEGATİF
11.	38	E	NEGATİF	24.	41	E	NEGATİF
12.	35	E	>10	25.	36	K	NEGATİF
13.	60	E	>10				

NOT: Optik dansite değerleri otomatik olarak hesaplanmış olup 0.35'in üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir.

Tip 1 Diyabet grubunda 5 kişide pozitiflik saptanmıştır. Bunların 1'si kadın, 4'ü erkektir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Tip 1 Diyabetli hasta grubunda test sonuçları

TİP 1 DM GRUBU			
HASTA	YAŞ	CİNSİYET	SONUC
1	61	E	3,28
2	50	E	0,89
3	24	E	NEGATİF
4	50	E	NEGATİF
5	39	E	NEGATİF
6	17	E	NEGATİF
7	29	E	NEGATİF
8	42	E	>10
9	30	E	2,73
10	30	K	NEGATİF
11	30	E	NEGATİF
12	24	K	0,42
13	18	E	NEGATİF
14	19	E	NEGATİF
15	17	K	NEGATİF
16	39	E	NEGATİF
17	17	K	NEGATİF
18	19	K	NEGATİF
19	18	K	NEGATİF
20	18	K	NEGATİF
21	25	E	NEGATİF
22	21	K	NEGATİF
23	22	K	NEGATİF
24	41	E	NEGATİF
25	36	K	NEGATİF

NOT: Optik dansite değerleri otomatik olarak hesaplanmış olup 0.35'in üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir.

Tip 2 Diyabet grubunda 10 kişide pozitiflik saptanmıştır. Bunların 5'i kadın, 5'i erkektir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Tip 2 Diyabetli hasta grubunun test sonuçları

TİP 2 DM GRUBU			
ADI SOYADI	YAŞ	CİNSİYET	SONUÇ
1	51	K	NEGATİF
2	62	E	>10
3	48	K	NEGATİF
4	46	K	NEGATİF
5	60	K	NEGATİF
6	68	K	1,16
7	48	K	2,08
8	42	E	NEGATİF
9	42	K	1,52
10	46	K	NEGATİF
11	46	E	NEGATİF
12	71	E	NEGATİF
13	66	E	NEGATİF
14	53	K	NEGATİF
15	67	K	NEGATİF
16	58	E	NEGATİF
17	51	E	1,17
18	34	E	>10
19	60	K	0,6
20	60	E	0,74
21	61	E	4,59
22	53	K	NEGATİF
23	56	K	>10
24	46	E	NEGATİF
25	56	K	NEGATİF

NOT: Optik dansite değerleri otomatik olarak hesaplanmış olup 0.35'in üzerindeki değerler pozitif kabul edilmiştir.

Gruplara göre LTB pozitifliği araştırıldığında 25 kişilik gruplardan Kontrol grubunda 6, Tip 1 DM grubunda 5, Tip 2 DM grubunda ise 10 kişinin Quantiferon sonuçlarının pozitif olduğu görülmektedir (Tablo 4.7).

Gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0.05$).

Tablo 4.7. Gruplara göre Quantiferon sonuçlarının karşılaştırılması

			Grup			Toplam	χ^2	p
			Kontrol	Tip 1 DM	Tip 2 DM			
Sonuç	Pozitif	N	6	5	10	21	2.778	.249
		%	24.0	20.0	40.0	28.0		
	Negatif	N	19	20	15	54		
		%	76.0	80.0	60.0	72.0		
Toplam		N	25	25	25	75		
		%	100.0	100.0	100.0	100.0		

5. TARTIŞMA

Tüberküloz (TB), halk sağlığını tehdit eden ve ölümlerle sonuçlanabilen önemli bir hastalıktır. Gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olan tüberkülozun, “Küresel Tüberküloz 2015 Raporu”na göre insidans, prevalans ve mortalite hızları düşmektedir. Buna rağmen küresel TB yükü halen çok yüksektir. 2014 yılında 9.6 milyon yeni vaka ve 1.5 milyon kişinin TB’den öldüğü belirtilmektedir. Ölümle sonuçlanan çoğu olguda, hastaların tedaviye uyum göstermedikleri ve tedaviyi yarım bıraktıkları gözlenmektedir. Bu sorunlarla karşılaşmamak için 2006 yılında Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi uygulaması DSÖ tarafından önerilmiş ve Sağlık Bakanlığımız tarafından da kabul edilerek uygulamaya sokulmuştur (71).

TB basilleri insan vücudunun çok değişik bölgelerine solunum, sindirim, deri, konjonktiva yoluyla girebilir ancak en önemli bulaş yolu inhalasyondur. Mikobakteriler yavaş üreyen ve uzun süre vücutta dormant olarak kalabilen bakterilerdir. Bu nedenle konağın immün savunma sistemi çok önemlidir. Kendini sağlıklı hisseden bireylerin bile TB ile enfekte olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Kronik hastalar, diyabetli hastalar, HIV, kronik böbrek yetmezliği, organ transplantasyonu gibi durumlar, TB için risk faktörleridir (69).

Günümüzde tanısal tekniklerdeki gelişmeler ve etkin bir tedavinin varlığına karşın tüberküloz dünyada, ölüme ve kronik hastalığa yol açmaya devam etmektedir (73). Bazı tıbbi durumlar (silikozis, böbrek yetmezliği, diyabet) enfekte kişilerde tüberküloz hastalığı riskini artırmaktadır. Bu durumların bilinmesi tüberküloza karşı koruyucu önlemlerin alınması için gereklidir (74). Tüberkülozda hastalığın erken tanısı ve tedavisi, sadece hastalığın iyileştirilmesini değil, aynı zamanda enfeksiyon’un toplumdaki diğer bireylere bulaşmasını da engellemektedir (25). Vücuda giren TB basili gelişen immün yanıtla kontrol altına alınmaktadır. Primer enfeksiyon olarak tanımlanan bu durum, hiçbir klinik belirti oluşturmamasına karşın tüberkülin deri testinin pozitifleşmesine neden olur. Bu süreçte az sayıda basil, metabolizmalarını durdurarak canlılıklarını koruyabilirler ve bu durum, latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE) olarak tanımlanır (26).

Çalışmada TB için önemli bir risk faktörü olabilecek diyabetli hastalarda LTB enfeksiyonunun ne oranda bulunabileceği araştırılmıştır. Diyabet, çeşitli bozukluklara neden olan kronik metabolik bir hastalık olup, görülme sıklığı tüm dünyada artmaktadır (75). Türkiye’de Diyabet, Obezite ve Hipertansiyon Epidemiyolojisi (TURDEP) araştırmasında diyabet prevalansı erişkin grupta % 7,2 olarak bulunmuştur (76). Diyabetik hastalarda hücrel ve humoral yanıtta meydana gelen fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak enfeksiyonlar ve tüberküloz daha sık görülmektedir (77).

Ünalan ve ark. (78)’nın çalışmasında tüberküloza en sık eşlik eden hastalıkların, aktif olgularda diyabet (%8.2), hipertansiyon (%7.7) ve kronik obstruktif akciğer hastalığı (%5.1) iken, inaktif olgularda hipertansiyon (%11.1), kronik obstruktif akciğer hastalığı (%7.4) ve diyabet (%7.4) olduğu belirtilmiştir. Çin’de yapılan başka bir çalışmada ise tüberküloz hastalarının %2.3’ünde diyabet bulunmuştur (79). Bacakoğlu ve ark. nın çalışmasında diyabet ve tüberkülozun birlikte görülme insidansı %12.3 bulunmuştur (80). Literatürde, diyabetiklerde gelişen tüberküloz enfeksiyonunda diyabeti düzenlemenin aşırı derecede zorlaştığı da belirtilmektedir (81). Şenyigit ve ark. (82) diyabetin tüm sistemleri etkileyen bir hastalık olduğunu belirtmektedir. (83) diyabeti, vücut savunma sistemini olumsuz yönde etkileyerek enfeksiyonların gelişmesini kolaylaştırıp, daha farklı seyretmesine neden olan bir faktör olarak tanımlamışlardır. Koziel (84), diyabetin alt solunum yolu enfeksiyonlarında bağımsız bir risk faktörü olduğunu, tüberküloz, stafilokok ve gram (-) bakteri enfeksiyonları sıklığını artırdığını belirtmektedir. Yine Yamagishi ve ark. ları diyabetin, tüberkülozun ortaya çıkmasında önemli bir risk faktörü olduğunu belirtmiştir. Diyabetiklerde tüberküloz sık görüldüğü gibi, tüberküloz hastalarında da diyabet normal popülasyona göre daha sıktır. Fakat genel kanı diyabetin daha önce başladığıdır (81). Kronik hastalıklarda, uygulanan tedaviler ve enfeksiyonlar diyabetin belirgin hale gelmesine yol açabilmekte ya da seyrini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (83).

Yapılan başka bir çalışmada hastaların, diyabetik ketoasidozdan kurtulmayı başarsalar da tüberkülozdan yaşamlarını yitirdikleri belirtilmiştir Cakmak ve ark. (86). Pek çok çalışmaya göre diyabetik hastalarda tüberküloz enfeksiyonunun normal popülasyona göre 2-4 kat fazla olduğu bildirilmiştir (87).

Diyabet ile tüberküloz ilişkisi değişik şekillerde yorumlanmıştır. Diyabetiklerde tüberküloz izlenme oranının aynı yaş ve sosyal durumdaki normal topluluğa göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Artan glikozun patojen tüberküloz basillerinin büyümesini artırdığı belirtilmiştir Şenyiğit ve ark (82) çalışmasında. Diyabetli olgularda hastalık süresine bağlı olmadan solunum fonksiyonlarında restriktif tipte bozukluğun erken yaşlarda bile saptanabileceği belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak, diyabetin tüm sistemleri etkileyen bir hastalık olduğu düşünülmüştür. Diyabetiklerde tüberküloz sık görüldüğü gibi, tüberküloz hastalarında da diyabet normal popülasyona göre daha sıktır. Fakat genel kanı diyabetin daha önce başladığıdır (77). Diyabetiklerde tüberküloza karşı direnç düşüklüğüne yol açan faktörlerin metabolizma bozuklukları, retikuloendotelyal sistem yağlanması sonucu immunizasyon yetersizliği, A ve C avitaminozu, diyabetli bireylerin serumlarında bakterisid etkinin azalması, hiperglisemide lökositlerin kemotaksi, yapışma ve fagositoz yeteneklerinin bozulmasına bağlı olduğu da bildirilmiştir (77). Tüberküloz, diyabetli hastada kan şekeri düzenini bozarak hiperglisemi ve insülin direncine neden olur. Diyabetli hastada, hastanın yaşı, diyabetin süresi ve şiddeti, tüberküloz gelişimi için risk faktörleridir (81). On yıldan fazla süredir diyabeti olanlarda, kötü kontrollü diyabeti olanlarda, 40 yaşın üstündeki hastalarda, normal kilonun altındaki hastalarda tüberküloz riskinin daha da arttığı belirtilmektedir (88).

Son yıllarda kanserlerin, allerjik ve otoimmün hastalıklarının tedavisi ve transplant reddinin önlenmesi için immün sistemi aktive eden ya da baskılayan tedavi yaklaşımlarının yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Bu yeni yaklaşımlar, terapötik etkileri yanında, toksisite, malignite ve enfeksiyon riski gibi bazı problemleri de yanında getirmiştir. Bu nedenle immunmodülatör veya immünsüpresör ilaçların uygulanmasından önce veya uygulanması sırasında hastaların değerlendirilmesi oldukça önemlidir (4). İmmüsupressif ilaçların prototipi olan glukortikoidlerin kronik kullanımları sırasında adrenal sistemin baskılanması, osteoporoz, katarakt ve miyopati gibi istenmeyen etkilerin yanısıra latent tüberkülozun aktifleşmesi gibi sorunları da ortaya çıkarmaktadır. Kortikosteroidler IL-2 yapımını etkin olarak baskılayarak T hücre proliferasyonunu ve efektör sitotoksik T lenfositlerin artmasını engeller (4). Enfeksiyon riski açısından ele alındığında immünmodülatörler içinde en dramatik örnek olarak TNF inhibitörleri verilebilir. Özellikle anti-TNF tedavisinin extrapulmoner dissemine tüberküloza ve latent tüberkülozun aktivasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Bu

nedenle TNF- α antagonistleri uygulanacak hastaların öncelikle tüberküloz enfeksiyonu yönünden araştırılması ve latent tüberküloz saptanan hastalarda TNF- α antagonistleri başlanmadan önce tüberkülozun profilaktik tedavisine başlanması önerilmektedir (4). Diyabetik hastalarda, yukardaki herhangi bir sebeple yapılacak immünsuprese tedavinin de varolan LTB ‘un aktivasyonunu sağlayabileceği düşünülmelidir. Bu nedenle diyabetik hastalarda LTB nin araştırılması oldukça önemlidir.

Tüberkülin deri testi (TDT), yüzyılı aşkın bir süredir hem aktif hem de latent tüberkülozun teşhisi için kullanılmaktadır. TDT ucuzdur ve çalışılması için ek bir altyapı gerektirmez. Bu yüzden popülerdir. Buna karşın TDT’nin birçok dezavantajları bulunmaktadır. Tüberkülinde mikobakteriyel antijenler bulunmakta ve bu antijenler *M. tuberculosis*’e spesifik olmadığından deri testi yüksek oranda yanlış pozitif sonuçlara neden olmaktadır (5). İmmünsüpressif hastalardaki yüksek orandaki negatif sonuçlar, hastaların test sonuçlarını okutmak için geri gelmesine uyum göstermesi gerekliliği, sonuçları değerlendiren sağlık çalışanları arasındaki kişisel farklılıklar nedeniyle subjektif olması gibi problemler bulunmaktadır. TDT’nin anamnestic cevabının artması gibi bir dezavantajı da vardır. Hücrel IFN- α üretimini ölçen metodlardan birisi olan Quantiferon-TB Gold ELISA testi ise tam kanda yapılması, daha spesifik antijenleri kapsamaması ve uygulama kolaylığı açısından TDT’ye nazaran daha avantajlı bir test olarak görülmektedir.

Çalışmamızda en fazla sayıda Tip 2 DM hastaların (%40) daha sonra kontrol grubunun (%24) ve en az da Tip 1 DM hastalar (%20) arasında LTB pozitif bulunmuştur. Maalej ve ark. larının çalışmasında bizimle benzer olarak tüberkülozun eşlik ettiği diyabet formunun %91,5’ini Tip 2 diyabetli hastalar olduğu belirtilmiştir Maalej, Belhaoui, Bourguiba et al (95). Bunun yanında, Olmos ve ark. (96) tarafından yapılan çalışmada ise 1529 diyabetli hastada tüberküloz gelişme riski Tip 1 diyabetlilerde %24.2, Tip 2 diyabetlilerde ise %4.8 bulunmuş olup, tip 1 diyabetli hastalarda riskin, 40 yaşın altındaki normal popülasyonla karşılaştırıldığında 38 kat fazla olduğu saptanmıştır. Özellikle birçok çalışmada Tip 1 diyabette tüberkülozun reaktivasyon riskinin yüksek olduğu belirtilmektedir (88). Tip 1 diyabetli çocuklar üzerinde yapılan başka bir araştırmada pozitif PPD düzeyleri, çocukluk çağı için bildirilen oranlardan yüksek bulunmuş ve sonuç olarak tip 1 diyabetli çocukların ve gençlerin tüberküloza karşı aşılınmaları ve tüberküloz enfeksiyonu açısından belirli aralarla PPD testi ile tarama yapılmasının uygun olduğu belirtilmiştir (88). Çalışmamızda Tip 1 diyabette LTB oranı

kontrol grubu ile neredeyse aynı bulunmuştur. Bunun nedeni araştırmaya alınan hasta popülasyonunun sayı olarak düşük olmasından kaynaklanabilir. Çalışma, kısıtlı bütçe ile yapıldığından yeterli sayıya erişilememiştir. Daha yüksek sayıda hasta ile çalışılabilse belki daha anlamlı sonuçlar çıkacaktır.

Çalışmamızda erkeklerin %35.1'inde, kadınların ise %21.1'inde Quantiferon sonuçları pozitif bulunmuştur. Her ne kadar erkek oranı daha fazla bulunsada istatistiki bakımdan aralarında farklılık saptanmamıştır. Tip 1 ve Tip 2 DM lu 50 kişide, Quantiferon pozitifliği 9 Erkek, 6 kadın olmak üzere toplam 15 kişide saptanmıştır. Yapılan istatistiksel araştırmada DM ile Kontrol grubu arasında pozitiflik ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yaşa göre bakıldığında ise çalışmamızda 17-35 yaş arasında 6 kişi 36-54yaş arasınada 7 kişi 55 ve üzerinde ise 8 kişinin TB'a yakalanma riskinin olduğu görülmüş ve yaş grupları ile pozitiflik arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Yamagishi (85) çalışmasında, tüberküloz diyabet birlikteliği kadınlara göre erkeklerde iki kat fazla bulunmuştur. Aynı çalışmada, diyabetin komplikasyonu olarak belirtilen tüberkülozun erkeklerde 40-50 yaşları arasında, kadınlarda ise 60 yaşlarında pik yaptığı gösterilmiş ve diyabetli olgularda 12 yıl içerisinde artış olduğu belirtilmiştir. Dünyada tüberküloz hastalarının %80'inin 15-49 yaş arasında olduğu (89), ülkemizde de bununla benzer olarak çoğunluğun (% 64.0) 15-44 yaş arasında olduğu belirtilmiştir (90). Başka bir çalışmada tüberküloz hastalığının erkeklerde kadınlara oranla iki kat fazla olduğu saptanmıştır (91). Çalışmalarda, erken yaşlarda alınan tüberküloz basilinin, orta yaşlarda özellikle erkek bireylerde, sigara, alkol kullanımının fazla olması, çalışma koşullarının daha güç ortamlarda olması gibi olumsuz koşullara bağlı olarak aktif hale gelmesinin tüberkülozun erkeklerde daha fazla görülme sıklığını artırdığı belirtilmektedir. Törün ve ark.'nın (91) çalışmasında 419 akciğer tüberkülozlu olgunun 67 (%16)'sinde diyabet belirlenmiştir. Aynı kurumda yapılan başka bir çalışmada ise diyabetin hem yaşlı hem de gençlerde tüberküloza en sık eşlik eden hastalık olduğu; 60 yaş üstü tüberküloz hastalarının %52,2'sinde ek hastalık olduğu, bunların %34.7'sini diyabet'in oluşturduğu belirtilmiştir (92).

Sonuç olarak kendini sağlıklı hisseden bireylerin bile tüberküloz ile karşılaşp LTB olduklarını, yaş ilerledikce ve diyabet gibi immünsüpresyon yaratabilecek durumlarla karşılaşıldığında tüberküloz hastalığının gelişebileceği görülmektedir.

Çalışmamız, diyabetli hastalarda latent tüberkülozun varlığına dikkati çekmek açısından değerlidir. Bu hastalarda immün supresyon nedeniyle enfeksiyon görülme riski yüksek olup LTB araştırılmasının önemi görülmektedir.



6. KAYNAKLAR

1. T.C. Türkiye halk sağığı kurumu tuberkuloz daire başkanlığı 2015 Raporu, <http://www.tuberkuloz.thsk.saglik.gov.tr>
2. Bulaşıcı hastalıkları önleme derneğı (BUHASDER) İçinde: Tuberkuloz edidemiyojisi (Nisan 2015)
3. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye Cumhuriyeti Sağık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı Türkiye’de tüberküloz kontrolü için başvuru kitabı. Ankara. Rekmay Ltd. Şti. 2003: p.7- 62
4. Oral HB. İmmunomodülatörler, İmmünsüpresifler ve İnfeksiyon Riski. ANKEM Dergisi 2007; 21(0): 106-108
5. Chaparas SD, Vandiviere HM Melvin I, Koch G, Becker C. Tuberculin test. Varibiality with the Mantoux procedure. Am Rev Respir Dis. 1985;132:175- 7.
6. Iseman MD. Klinisyenler İçin Tuberkuloz Klavuzu. Ceviren: Ş. Ozkara. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2002; 21–402.
7. Turk Toraks Derneğı Eğitim kitaplar serisi Tuberkuloz Çalışma Grubu (ekim 2010) syf.383
8. Kim, Hong, Lew et al 1995; Masztalers ve Miller 1990; Pablos-Mendez, Blustein, Knirsch, 1997
9. Tüberküloz ders notları Yrd. Doç. Dr. Celal Karlıkaya, 1998 Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ABD
10. Chaparas SD, Vandiviere HM Melvin I, Koch G, Becker C. Tuberculin test. Varibiality with the Mantoux procedure. Am Rev Respir Dis. 1985;132:175- 7.
11. Iseman MD. Klinisyenler İçin Tuberkuloz Klavuzu. Ceviren: Ş. Ozkara. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2002; 21–402.
12. Daniel TM. Captain of Death. The Story of Tuberculosis. University ofRochester Press. Rochester, New York, 1997
13. Aksu M: Tıp Tarihi Acısından Türkiye’de Verem Savaşı, s.161-70, Türkiye Ulusal Verem Savaşı Dernekleri Federasyonu, Ankara (2007).
14. Barış Yİ: Dunyada tuberkulozun tarihcesi, Turk Toraks Derg 2002;3(3):338-40.
15. YüceA.Ülkemizde tüberkülozun durumu. Erisim: <http://klimikdergisi.org/sayilar/65/192-193.pdf>

16. Bilgic H. Tüberküloz epidemiyolojisi. In: Kocabas A (ed). Tüberküloz, klinigi ve kontrolü. Ankara, 1991: 401-37.
17. Tüberküloz edidemiyolojisi. Dr. Şukran KÖSE Nisan 2015: s.13-18.
- 18.Kıyan M. Mycobacteriaceae. İçinde: Ustaçelebi Ş. (Ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. 1999: s. 420-435.
- 19-Durupınar B. Mikobakteriler ve Çevre Koşullarına Dayanıklılıkları. O.M.Ü Tıp Dergisi, 1996; Ekim-Aralık; 13(4): 302.
- 20.Parker T, Deverden B (ed):Topley Wilson's Principles of Bact-eriology, Virology and İmmunity. Vol II. 1990; 74-97
21. Hett EC, Rubin EJ. Bacterial growth and cell division: a mycobacterial perspective.Microbiol and Mol Biol Rev 2008; 72: 126-56.
22. Ryll R, Kumazawa Y, Yano I. Immunological properties of trehalose dimycolate (cordfactor) and other mycolic acid-containing glycolipids - a review. Microbiol Immunol 2001;45: 801-11.
23. Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell-wall structure and role in natural resistance toantibiotics. FEMS Microbiol Lett 1994; 123: 11-8.
24. Niederweis M. Mycobacterial porins: new channel proteins in unique outer membranes.Mol Microbiol 2003; 49: 1167-77.
25. Smith I. Mycobacterium tuberculosis: pathogenesis and molecular determinants of virulence. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 463-96.
- 26.Kocabaş A. Akciğer Tüberkülozu. İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalın S (Ed). Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, 1996: s. 456-76.
- 27.Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick, Edward A. Adelberg (Eds). Mycobacteria, Medical Microbiology, Lange. 1991: p. 272-80.
- 28.Türk Toraks Derneği Eğitim kitaplar serisi Tüberküloz Çalışma Grubu (ekim 2010) syf.64-70
- 29.Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection. Lancet Infect Dis 2003; 3: 578-90.
30. Mack U, GB Migliori, Sester M, et al. LTBI: latent tuberculosis infection or lasting immune response to M. tuberculosis? A TBNET consensus statement. Eur Respir J 2009; 33: 956-73.
- 31.Türk Toraks Derneği Eğitim kitaplar serisi Tüberküloz Çalışma Grubu (ekim 2010) syf.69

- 32.Dannenberga AM Jr, Tomashefski JF Jr. Pathogenesis of pulmonary Tuberculosis
ishman AP. Fishman's pulmonary diseases and disorders 4th Edition. New York, Mc
Graw-Hill Company. 2008; 2247-71.
- 33.Özbal Y.Immunity of Tuberculosis. Erciyes Medical Journal.2006; 28(1): 025-034
- 34.Kocabaş A. Akciğer tüberkülozu. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.
(Editörler). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 1. Nobel Tıp Kitabevleri.
2002: s.538- 587.
- 35.<http://celalkarlikaya.trakya.edu.tr/TBdernot.htm>
36. Tufariello JM, Chan J, Flynn JL. Latent tuberculosis: mechanisms of host and
bacillus that contribute to persistent infection. Lancet Infect Dis. 2003; 3: 578- 90
- 37.Kocabaş A. Akciğer tüberkülozu. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.
(Editörler). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 1. Nobel Tıp Kitabevleri.
2002: s.538- 587.
- 38.Rieder HL. Reconciling historical, epidemiological, bacteriological and
immunological observations in tuberculosis. Int J Epidemiol 2008; 37: 932-4.
- 39.[Internet] <http://thsk.saglik.gov.tr/tuberkuloz-verem-hastaligi.html>. Erişim Tarihi:
21.03.2015.)
- 40.Temel ve klinik mikrobiyoloji 1999 Editör Prof Dr Şemsettin Ustaçelebi 429
- 41.Çöplü N. Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı. Enfeksiyon Hastalıkları serisi 4 5-29
- 42.WHO, Laboratory Services in Tuberculosis Control, Part I: Organization and
Management.WHO, Geneva, 1998. (WHO/TB/98.258).
- 43.<https://www.medikalakademi.com.tr/deri-tuberkulozlari-tani-tedavi/>
44. Doğan İ, Partal M, Mozioğlu E, et al. Tüberküloz on tanısı almış hastalardan alınan
klinik örneklerin işlenmesinde, dekontaminasyon ve konsantrasyon kiti Mycoprosafe'in
etkinliği.5. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu. 9-11 Aralık, 2004.
- 45.www.journals.tubitak.gov.tr/medical/issues/sag.04/10/2016.10:47
- 46.Madariaga M.G, Jalali Z, Swindells S . Evidence-Based Clinical Medicine. Clinical
utility of interferon gamma assay in the diagnosis of tuberculosis, J Am Board Fam
Med. 2007; 20:540-547.
- 47.Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları.
İzmir: 2000: s. 443- 444
- 48.Brunello F, Fontana R. Reliability of the MB/BacT system for testing susceptibility
of
- 49.Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger CP, Winn CW (ed): Color

Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiyology 5th ed, New York. Lippincott Philadelphia: 1997: p. 893- 952.

50.Çöplü N.Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı. Enfeksiyon Hastalıkları serisi 4(1): 30–

51.Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger CP, Winn CW (ed): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiyology 5th ed, New York. Lippincott Philadelphia: 1997: p. 893- 952

52.Piddington DC, Kashkouli A, Buchmeier NA. Infection and Immunity. August2000; 68 (8): 4518-4522

Mycobacterium tuberculosis complex isolates to antituberculous drugs. J Clin Microbiol 2000; 38: 872-3

53.Türk Toraks Derneği Eğitim kitaplar serisi Tüberküloz Çalışma Grubu (ekim2010)syf.92-104.

54. World Health Organization 1997.WHO Tuberculosis Diagnostics Workshop: product development guidelines, p.127. Workshop report. WHO, Geneva, Switzerland.

55. Devaux I, Kremer K, Heersma H, van Soolingen D. Clusters of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis cases, Europe. Emerg Infect Dis 2009; 15: 1052-60, doi: 10.32001/eid1507.080994

56.Heldal E, Docker H, Caugant DA, Tverdal A. Pulmonary tuberculosis in Norwegian patients. The role of reactivation, re-infection and primary infection assessed by previous mass screening data and restriction fragment length polymorphism analysis. Int J Tuberc Lung Dis 2000; 4: 300-7.

57.Özdemir Ö. Tüberküloz Tanı Yöntemleri. Türkiye Klinikleri Tıp bilimleri dergisi, Tüberküloz özel sayısı. 1994: s. 420–4.

58. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, SamsunTüberkülozun serolojik tanısı Doç. Dr. Halil İbrahim Özerol.İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya

59.Çağlayan V.Hastane Çalışanlarında Latent Tüberküloz Enfeksiyonu Tanısında Tüberkülin Cilt Testi ile Quantiferon-TB Gold Testinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp- Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.59.Ulusal TB tanı rehberi(UTTR) 2014 syf 3/6

60.Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. Am J Repir Crit Care Med 2001; 163: 824-8.

61. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *JAMA*. 2001; 286: 1740–7.
62. Orme IM, Roberts AD, Griffin JP, Abrams JS. Cytokine secretion by CD4 T lymphocytes acquired in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol*. 1993; 151:518–25.
63. <http://www.cdc.gov/tb> March 2006.
64. Cellestis Limited. QuantiFERON-TB Gold (in-tube method) [package insert]. Available at
65. Ferrara G, Losi M, Meacci M, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172: 631–65.
66. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. *Clin Diagn. Lab. Immunol*. 2005; 12: 491–6.
67. A Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 161(4 Pt 2): 221–247.
68. Lee E, Holzman RS. Evolution and current use of the tuberculin test. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 365–70.
69. Imboden P, Cole S, Bodmer T, Telenti A. Detection of rifampin resistance mutation in *Mycobacterium tuberculosis* and *M. Lepae*. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC (eds): *Diagnostic molecular Microbiology: Principles and Applications*. ASM Press, Washington DC: 1993: p.519–26.
70. Kocagöz T. Tüberküloz tanısında yeni laboratuvar yöntemleri. *İnfeksiyon Bülteni* 1996; s. 1: 30.
71. Gümürlü F, Ozkara Ş, Ozkan S, Baykal F, Gullu U. Türkiye’de Verem Savaşı, 2007 Raporu Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı. Ankara 2007
73. Ravighione, MC., O’Brien, RJ. (1998) Tuberculosis, In: *Harrison’s Principles of Internal Medicine*. Eds: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ et al. New York, McGraw-Hill, 1004-1013
74. Göksel, K., Sabri, E. (2001) Tüberkülozdan Korunma, *Türk Toraks Dergisi*, 2(1), 85
75. American Diabetes Association (ADA 2009) Standards of medical care in diabetes - 2009. *Diabetes Care*, 32 (supplement 1).13-61
76. Satman, İ. Yılmaz, T. Şengül, A. Salman, S. Salman, F. Uygur, S. ET AL. (2002) Risk

- Characteristics in Turkey Result of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP) Diabetes Care, 25, 1551-1556
- 77.Çolpan, A. (2005) Diyabetik Hastalarda Üriner Sistem, Solunum Sistemi ve Karınıçi Enfeksiyonları, Klimik Dergisi, 18(1), 14-16.
- 78.Ünalan, D., Baştürk, M., Soyuer, F., Ceyhan, O., Öztürk, A. (2007) Tüberkülozlu Hastalarda Depresyonun Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisinin Aktif, İnaktif ve Kontrol Gruplarında Belirlenmesi, Klinik Psikiyatri, 10, 113-124.
- 79.Liu, CY. (1989) Pulmonary Tuberculosis and Diabetes Mellitus. A Clinical Analysis of 42 Cases, Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 12(5), 288-289
- 80.Bacakoglu, F., Basoglu, OK., Çok, G., Sayiner, A., Ateş, M. (2001) Pulmonary Tuberculosis in Patients With Diabetes Mellitus, Respiration, 68, 595-600.
- 81.Öz, H. (1988) Diabetes Mellitus ve Akciğer Tüberkülozu İlişkisi, Uzmanlık Tezi, Sosyal Sigortalar Kurumu Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları Merkezi, İstanbul, (Danış.:Prof. Dr. O. Öğer).
- 82.Şenyiğit, A., Söker, M., Asan, E., Leblebici, H. (2002) Tip 1 Diyabetli Çocuklarda Solunum Fonksiyonlarında Saptanan Bozukluklar İle Bunun Diyabet Kontrolü ve Hastalık Süresi İle İlişkisi, Tüberküloz ve Toraks Dergisi, 50(3), 351-357.
- 83.Göksel, T., Çok, G., Karakuş, H., Güzelant, A., Bayındır, Ü. (2002) Diabetes Mellitusun Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Ataklarının Seyri Üzerindeki Etkisi, Türk Toraks Dergisi, 3(1), 26-30
84. Koziel, H., Koziel, MJ. (1995) Pulmonary Complications of Diabetes Mellitus, Pneumonia, Infect Dis Clin North Am, 9(1), 65-96.
- 85.Yamagishi, F., Sasaki, Y., Yagi, T., Yamatani, H., Kuroda, F., Shoda, H. (2000) Frequency of Complication of Diabetes Mellitus in Pulmonary Tuberculosis, Kekkaku, 75(6), 435-437
- 86.Çakmak, G., Yenigün, M., Karagenç, C., Sar, F., Sağlam, Z., Ataoğlu, E., Saler, T., Demir, T. (2007) Diyabetik Bireylerde Tüberkülin Deri Testinin Değerlendirilmesi, Akciğer, 13(1), 22-26.
- 87.Kim, SJ., Hong, YP., Lew, WJ., Yang, SC., Lee, EG. (1995) Incidence of Pulmonary Tuberculosis Among Diabetics, Tuber Lung Dis., 76, 529-533.
- 88.Erdoğan, B., Uzaslan, E. (2005) Diyabet ve Akciğer, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 31(1), 71-74.

89.Özkara, Ş., Aktaş, Z., Özkan, S., Ecevit, H. (2003) Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı, Ankara.

90.Anı, Ö., Uzun, M. (1998) Türkiye’de Tüberkülozun Son Durumu, Klimik Dergisi, 11(1), 3-5.

91.Çil,A.(2001) Akciğer Tüberkülozlu Hastalarda Tedaviyi Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul (Danış.Prof.Dr.N. Olgun).

92.Törün, T., Güngör, G., Özmen, İ., Bölükbaşı, Y., Bıçakçı, B., Çelik, B., Gündüz, G. (2005) Diyabet ve Tüberkülozu Olan Hastaların Klinik ve Radyolojik Özellikleri, Solunum, 2(7), 145-148



7. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Adıyaman'da doğdum. 2010 -2012 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde okudum. Gaziantep Halk sağlığı Laboratuvarında Çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım. 2013 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladım.

