



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İMMUNSUPRESE HASTALARDA LATENT MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS İNFEKSİYONU TANISINDA QUANTİFERON TESTİ VE
TÜBERKÜLİN DERİ TESTİNİN ÖZGÜLLÜK VE DUYARLILIĞININ
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DR. GÜNEŞ MERİÇ ANLAR
DOKTORA TEZİ**

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL**

**GAZİANTEP
2012**

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

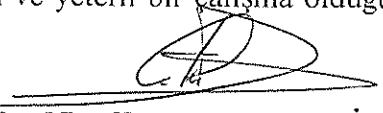
İMMUNSUPRESE HASTALARDA LATENT
MYCOBACTERİUM TUBERCULOSIS İNFEKSİYONU TANISINDA
QUANTİFERON TESTİ VE TÜBERKÜLİN DERİ TESTİNİN ÖZGÜLLÜK VE
DUYARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

GÜNEŞ MERİÇ ANLAR

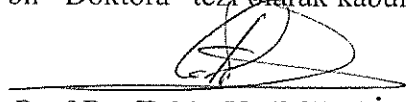
Tez Savunma Tarihi:01.06.2012
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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


Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

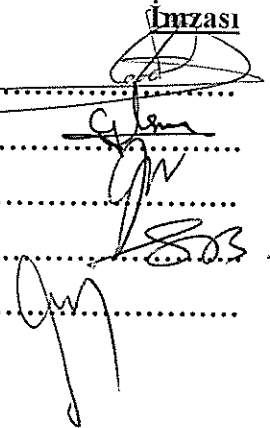

Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL
Tez Danışmanı

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

Tez Jürisi

Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL.....
Prof.Dr.Gönül ASLAN.....
Prof.Dr.Zülal ERBAĞCI.....
Prof.Dr.Ayşen BAYRAM.....
Doç.Dr.Yasemin ZER.....

İmzası



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.

01.06.2012
Güneş Meriç ANLAR

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenciliğim boyunca değerli bilgi, birikim ve deneyimlerinden faydalandığım, anlayış ve hoşgörülerini hissettiğim, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum sayın hocalarım Prof. Dr. İclal Balcı ve Prof. Dr. Tekin Karslıgil 'e, öğrenciliğim boyunca benden hiçbir destek ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayşen Bayram, Doç. Dr. Yasemin Zer, Doç. Dr. Fahriye Ekşi'ye, tez çalışmam boyunca bana desteğini esirgemeyen her konuda yardımcı olan Dermatoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zülal Erbağcı'ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında bana her konuda yardım eden laborant arkadaşım Kalender Kılıç ve Jale Özaslan'a, desteğini hep yanımda hissettiğim, büyük yardımını gördüğüm laborant arkadaşım Buket Katrancı'ya, örnek toplamamda yardımcı olan Romatoloji polikliniği hemşireleri ve sekreterine, tüm mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına, bana her konuda en büyük destek, moral ve yardımını esirgemeyen sevgili anneme, bana hep inanan, güvenen eşime ve gönüllü olarak kontrol grubuna katılan ve çalışma süresince irtibatımızın hiç kesilmediği hastalarımın en içten duygularıyla şükranlarımı sunarım.

Bu tez Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TF 10-20 numaralı proje ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Güneş MERİÇ ANLAR

Haziran 2012

İÇİNDEKİLER

BEYAN	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
RESİMLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ	XII
ÖZET	XIII
ABSTRACT	XIV
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.Tarihçe	4
2.2 Epidemiyoloji	5
2.3 Mikrobiyoloji	5
2.3.1 Hücre Duvarı	7
2.4 Mikobakterilerin Çevre Koşullarına Dayanıklılıkları	8
2.5 Tüberkülozda Tanı Yöntemleri	9
2.5.1 Direkt Mikroskopik İnceleme	9
2.5.1.1 Boyama Metodları	9
2.5.2 Kültür	11
2.5.2.1 Kültür Özellikleri	13
2.5.2.2 İdentifikasyon	13

2.5.3 Serolojik Tanı Yöntemleri	14
2.5.3.1 Antijen Tespitine Dayanan Testler	15
2.5.3.2 Antikor Tespitine Dayanan Testler	15
2.5.3.3 İnterferon Gama Üretiminin Ölçülmesi	16
2.5.3.3.A Elispot Testi	17
2.5.3.3.B QuantiFERON TB Gold Testi	18
2.5.4 Tüberkülin Deri Testi	19
2.5.5 Moleküler Biyolojik Yöntemler	26
2.5.5.1 Nükleik Asit Çoğaltma Yöntemleri	26
2.5.5.2 RFLP	27
2.5.6 Çeşitli Hücrelerden Salınan Enzimlerin Belirlenmesi	28
2.5.6.1 Adenozin Deaminaz	28
2.5.6.2 Lizozim	28
2.5.7 Hızlı Faz Amplifikasyon Testi	28
2.6 İmmunopatogenez	28
2.6.1 Doğal Savunma	29
2.6.2 İmmun Savunma	30
2.7 Tüberküloz Patogenezi	31
2.7.1 Evre 1. Başlangıç Evresi	31
2.7.2 Evre 2 Basillerin Çoğalma ve Yayılma Evresi	31
2.7.3 Evre 3 Hücre Aracılı İmmun Yanıt	32
2.7.4 Evre 4 Hücre Aracılı İmmun ve Geç Tip Aşırı Duyarlılık Yanıtları	
Arasındaki Karşılıklı Etkileşim	33
2.7.5 Evre 5 Erime ve Kavite Oluşumu	34
2.8 Bulaşıcılık	34

2.8.1 Bulaşı Etkileyen Faktörler	35
2.8.1.1 Kaynak Olgunun Özellikleri	35
2.8.1.2 Çevresel Faktörler	36
2.8.1.3 Karşılaşma Süresi ve Yoğunluğu	36
2.8.1.4 Tüberküloz Basilinin Özellikleri	36
2.8.1.5 Hedef Kişinin Özellikleri	36
2.9 Tüberkülozun Klinik Sınıflandırılması	38
2.10 Latent Tüberküloz Enfeksiyonu	38
2.11 Ekstrapulmoner Tüberküloz	39
2.12 Tüberkülozda Tedavi	40
2.12.1 Antitüberküloz İlaçlar	40
2.12.1.1. İzonazid	40
2.12.1.2 Rifampisin	41
2.12.1.3 Pirazinamid	41
2.12.1.4 Streptomisin	42
2.12.1.5. Etambutol	42
2.12.2 Tüberküloz Tedavi Rejimleri	42
2.12.2.1 Tedavi Şeması	43
2.12.3 İkinci Grup Tüberküloz İlaçlar	43
2.12.4 Tüberkülozda Kortikosteroid Kullanımı	44
2.12.5 Koruyucu İlaç Tedavisi	44
2.13 Tüberkülozu Önlemek İçin Aşı Uygulaması	46
2.13.1 BCG'nin Yan Etkileri	46
2.13.2 Erken Aşı Reaksiyonu	46
2.13.2 Erken Aşı Reaksiyonu	47

2.13.3 BCG Aşısının Yapılmayacağı Durumlar	48
2.13.4 Türkiye’de BCG Uygulaması	48
3.GEREÇ VE YÖNTEM	50
3.1 Hasta Seçimi	50
3.2 Örneklerin Dağılımı	50
3.3 Tüberkülin Deri Testi Uygulaması	50
3.4 Quantiferon-TB Gold in tube Çalışma Prototokolü	51
3.5 İstatistik Yöntem	53
4.BULGULAR	54
5.TARTIŞMA	61
6.KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

AC:	Akciğer
ADA :	Adenozin deaminaz
ARB:	Aside dirençli basil
BCG:	Bacille Calmette Guerin
CFP-10:	Culture filtrate protein-10
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
E:	Etambutol
ELISPOT:	Enzyme linked immunospot
EPT:	Ekstrapulmoner tüberküloz
ESAT-6:	Early Secreted Antigenic Target 6kDa protein
EZN:	Ehrlich-Ziehl-Neelsen
GTA:	Geç tipte aşırı duyarlılık
IGRA:	İnterferon gamma releasing assay
IL-2	İnterlökin-2
INF-γ:	İnterferon gama
INH (H)	İsoniazid
LTBI:	Latent tuberculosis infection
M:	Morfozinamid
MOTT:	Mycobacteria other than tubercle bacilli
MTC:	<i>M.tuberculosis complex</i>
NA (A):	Nükleik asit amplifikasyon
NAP:	p-nitro-o-asetil-amino-3-hidroksipropifenon
NTM:	Nontüberküloz mikobakteri
PAS:	Para-amino salisilik asit ünitesi
PPD:	Purified Protein Derivative=Safılaştırılmış protein türevi
R:	Rifampisin
RA:	Romatoid artrit
RD:	Regions of differences
S:	Streptomisin
TB:	Tüberküloz
TCT:	Tuberculin skin test
TDT:	Tüberkülin deri testi
TNF:	Tümör nekrotizan faktör
TÜ:	Tüberkülin Ünitesi
VSD:	Verem Savaş Dispanserleri
Z:	Pirazinamid

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Mikobakterilerin Taksinomik Ağacı	6
Şekil 2.2 Mikobakterilerin Hücre Duvarı Yapısı	8
Şekil 3.1 Quantiferon Testinde Kan Örneğinin İnkübasyonu	53

RESİMLER LİSTESİ

Resim2.1 EZN- boyama ile <i>M.tuberculosis</i>	10
Resim 2.2 Tüberküloz Deri Testinin Uygulanması	24
Resim 2.3. Endurasyon Büyüklüğünün 48-72 saat sonra ölçülmesi	24
Resim 2.4 Tüberkülin Deri Testinin Uygulama Bölgesi	24

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2. 1. Mikobakterilerin Üremeleri İçin Kullanılan Farklı Kültür Ortamları ve İnhibitör Ajanlar	12
Tablo 2. 2 Antikor Tespitine Dayanan Ticari Testler.	15
Tablo 2.3 Tüberkülin Deri Testinde Yanlış Negatiflik Nedenleri	22
Tablo 2.4.PPD/TDT ve IFN- γ Esaslı Testlerin Özelliklerinin Karşılaştırılması	25
Tablo 2.5 Quantiferon Gold Testinin Duyarlılığı, Özgüllüğü ve PPD ile Uyumu	25
Tablo 2.6 TB Bulaşını Etkileyen Faktörler	37
Tablo 2.7 TB Sınıflandırma Sistemi	38
Tablo 2.8 Bazı Klinik Durumlarda TB Hastalığı İçin Relatif Risk	38
Tablo 2.9 Latent Tüberkülozun Endojen Reaksiyonu İçin Risk Faktörleri	39
Tablo2.10. TB Olgu tanımlarına Göre Tedavi Şeması	43
Tablo 2.11. Ülkemizde Koruyucu İlaç Tedavisi Endikasyonları	44
Tablo 2.12. TDT Kontrolü ile BCG Aşısı Yapılırken Karar Yaklaşımı	49
Tablo 4.1. İmmüsupresif Hastalarda Quantiferon ve PPD Sonuçları	54
Tablo 4.2.Kontrol Grubunda Quantiferon ve PPD Sonuçları	55
Tablo 4.3 Hasta Grubunun Epidemiyolojik, Serolojik ve Klinik Özellikleri	57
Tablo 4.4 Kontrol Grubunun Epidemiyolojik, Serolojik ve Klinik Özellikleri	59

ÖZET

İMMÜNSÜPRESE HASTALARDA LATENT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS İNFEKSİYONU TANISINDA QUANTİFERON TESTİ VE TÜBERKÜLİN DERİ TESTİNİN ÖZGÜLLÜK VE DUYARLILIĞIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Güneş Meriç Anlar
Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tekin KARSLIĞİL
Haziran 2012

Tüberküloz infeksiyonunun laboratuvar tanısında, mikroskopik boyama yöntemleri ve bakteri kültürü gibi klasik yöntemlerin yanısıra serolojik ve moleküler tanı yöntemlerinden de faydalanılmaktadır. Antijen veya antikor tespitine dayanan serolojik testlerin yanında interferon gama üretiminin ölçülmesi, son yıllarda önemli tetkikler arasına girmeye başlamıştır. İn vivo deri testlerinden tüberkülin deri testine (TDT) alternatif olarak early secretory antijen target (ESAT-6) (erken salınan tüberküloz antijeni) ve culture filtrate protein (CFP-10) (koloni oluşturan protein) gibi antijenler interferon gama indüksiyonu amacıyla kullanılmıştır. Çalışmada *Mycobacterium tuberculosis* tanısında kullanılan TDT ve Quantiferon- TB Gold in tube yöntemlerinin duyarlılıkları ve özgüllükleri karşılaştırıldı. Çeşitli kliniklerden immunsupresif tedavi alan hastalar ve sağlıklı kontrol grubu latent tüberküloz infeksiyonu araştırılmak üzere değerlendirmeye alındı. Hasta ve kontrol grubuna Quantiferon testi (Quantiferon –TB Gold In Tube, Cellestis Limited Australia) ve TDT çalışıldı, akciğer grafileri değerlendirildi. . Hasta grubunda kappa değeri 0.345, $p=0.002$ saptandı. Kontrol grubunda ise $kappa=0.256$, $p=0,040$ bulundu. Quantiferon TB-Gold in tube testi için: Sensivite: % 24.14 (Güven aralığı 13.87- 37.17), spesifite: % 53.97 (Güven aralığı 40.94 – 66.61). TDT için: Sensivite % 49.23 (Güven aralığı 36.60- 61.93), spesifite: % 61.54 (Güven aralığı 48.64- 73.35) olarak saptandı. Quantiferon-TB Gold in tube yöntemi özellikle klinik bulgu vermeyen latent tüberküloz infeksiyonunun araştırılmasında kullanılan uygun bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Halen rutinde kullanılan TDT ‘ye bir alternatif olabilir.

Anahtar kelimeler: Kontrol grubu, İmmunsuprese hasta, Latent tüberküloz infeksiyonu, TDT, Quantiferon TB-Gold in tube.

ABSTRACT

EVALUATION OF SENSIVITY AND SPECIFICITY OF QUANTIFERON TEST AND TUBERCULIN SKIN TEST IN DIAGNOSIS OF LATENT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INFECTION IN IMMUNOSUPRESSED PATIENTS

Güneş Meriç Anlar, MD
Department of Microbiology

Supervisor: Prof. Tekin KARSLIĞİL MD, PhD.
Department of Microbiology
June, 2012

Besides classical diagnostic methods such as microscopic staining and bacterial culture, serological and molecular methods are being utilized in the diagnosis of tuberculosis. Along with the serological methods which depend on antigen and antibody detection, measurement of interferon gamma production has been important in last years. Antigens such as early secretory antigen (ESAT-6) and culture filtrate protein (CFP-10) are used to induce interferone gamma as an alternative to tuberculin skin test (TCT). This study aimed the determination of *Mycobacterium tuberculosis* infection in immunocompromised patients and in control group by Quantiferon-TB Gold in tube and TCT methods. A further aim was to compare their specificity and sensitivity. In this study latent tuberculosis was investigated in immunocompromised patients from various clinics and in control group. Interferon gamma was detected and TCT was applied to both groups. Pulmonary radiographies of patients and control groups were investigated. Quantiferon-TB Gold in tube test was performed by a commercial kit (QuantIFERON-TB gold IT Cellestis Limited, Australia). In immunocompromised group kappa value was 0.345, $p=0.002$. In control group kappa was 0.256, $p=0.040$. For Quantiferon TB-Gold in tube test, sensitivity was 24.14% (Confidence interval: 13.87-37.17) and specificity was 53.97% (Confidence interval: 40.94-66.61). For TDT, sensitivity was 49.23% (Confidence interval: 36.60-61.93) and specificity was 61.54% (Confidence interval: 48.64-73.35). Quantiferon-TB Gold in tube test is an effective method especially in determination of latent tuberculosis infection. It may be an alternative to TCT that is utilized currently in routine.

Key words: Control group, Immunocompromised patients, Latent tuberculosis, TCT, Quantiferon –TB Gold.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Her toplumda ve tüm tarih dönemlerinde büyük sağlık sorunları yaratan tüberküloz (TB) hastalığı, İngiltere’de sanayi devrimiyle birlikte çevresel faktörlerin de etkisiyle epidemik bir hal almış, önce Avrupa ülkelerine sonra da tüm dünyaya yayılmıştır (1).

Onyedinci ve 18. yüzyıllarda Avrupa’da erişkin ölümlerinin dörtte birine TB sebep olmuştur. Tüberkülozla ilgili modern kavramlar ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında geliştirilmiştir (2).

ABD’li Waksman’ın 1946 yılında Streptomycin’i (S) bulmasıyla (TB) tedavisinde kemoterapi dönemi başlamıştır. Bunu 1950–53 yılları arasında Para-amino salisilik asit (PAS), isoniazid (INH) ve 1969 yılında rifampisin (R) bulunması takip etmiştir. Tüm dünyada uygulanan TB tedavi süresi başlangıçta 2 yıl iken, İNH ve R’in birlikte kullanımıyla 9 aya ve çok ilacılı tedavi yaklaşımları ile 6 aya düşmüştür. Ancak TB Dünya’da halen en yaygın ve ölüme en çok yol açan infeksiyon hastalığı olarak varlığını devam ettirmektedir (3).

Tüberküloz hastasının erken tanısı ve optimal tedaviye başlanması, sadece hastalığın iyileştirilmesini değil, aynı zamanda infeksiyon ve hastalığın toplumdaki diğer insanlara bulaşmasını da önlemektedir (3).

Ülkemizde TB ile etkin mücadele 1950’li yıllarda başlatılmıştır. Çıkarılan bir yasa ile 1960 yılında Verem Savaş Dispanserleri (VSD) kurulmuştur. Bu çalışmalar sayesinde 1965’te yüz binde 172 olan TB insidansı 1975 yılında yüzbinde 50’ye düşmüştür. Doksanlı yıllarla birlikte ‘Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz’ alanında bilimsel dernek örgütlenmeleri gerçekleşmiş; düzenli, disiplinli bir şekilde bilimsel çalışmalar, mezuniyet sonrası mesleki eğitimler yapılmaya başlanmıştır. Böylece ulusal TB insidansı ilk defa 2000 yılında yüz binde 30’un altına düşmüştür. Ancak Türkiye’nin resmi olgu bulma oranı dikkate alındığında gerçek insidansının yüz binde 50–60 arası olması gerektiği hesap edilmektedir (4-6).

Bugün dünya nüfusunun % 32’si TB basili ile infektidir. Her yıl yaklaşık 8 milyon kişi TB hastalığına yakalanmakta ve yaklaşık 2 milyon kişi tüberkülozdan ölmektedir (6).

Ülkemizde TB durumu değerlendirildiğinde, hastalık insidansı açısından başarılı kontrol programı uygulamış ülkeler ile kötü programlar uygulamış ülkeler arasında bir konumumuzun olduğu görülmektedir. Hastalık insidansı Avrupa ülkelerinin çoğunda yüzbinde 20’den az iken, Hindistan, Bangladeş, Çin gibi ülkelerde yüzbinde 100 hatta

yüzbinde 200'ün üstündedir. Ülkemizdeki TB insidansı, 2009 yılında Verem Savaş Dispanserlerine kayıtlı hastalara göre hesaplandığında yüzbinde 24'dür (5).

TB, *Mycobacterium. tuberculosis* basili tarafından oluşturulur (6). TB basilleri insan vücuduna çok değişik bölgelerden (solunum, sindirim, deri, konjonktiva gibi) girebilir ancak en önemli bulaş yolu inhalasyondur (1). Tüm TB olgularının %80-90'ında hastalık akciğerlerde ortaya çıkar. TB basili ile infekte olanların ilk iki yılda % 5'i, sonra da yaşam boyunca % 5 olmak üzere %10'unda TB hastalığı gelişir (6). Vücuda giren tüberküloz 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 pozitifleşmesine neden olur. Bu süreçte az sayıda basil, metabolizmalarını durdurarak canlılıklarını koruyabilirler ve bu durum latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI) olarak tanımlanır (7).

Son yıllarda kanserlerin, allerjik ve otoimmün hastalıkların tedavisi ve transplant reddinin önlenmesi için immün sistemi baskılayan yaklaşımlar yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir. Bu yeni yaklaşımlar birçok yararlı terapotik etkiler sağlamakla birlikte toksisite, malignite ve enfeksiyon riski gibi bazı problemleri de yanında getirmiştir. Bu nedenle, immünsupresör ve immünmodülatör ilaçların uygulanmasından önce veya uygulaması sırasında hastaların latent enfeksiyon yönünden değerlendirilmesi oldukça önemlidir. İmmünsupressif ilaçların kronik kullanımları sırasında latent TB enfeksiyonunun aktifleşmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır (8)

M. tuberculosis ile infekte olan kişileri belirlemede tüberkülin deri testi (TDT) kullanılır.(6). Buna karşın TDT çeşitli nedenlerle hatalı sonuçlar verebilir. Birincisi pozitif reaksiyonlar, kişide *M. tuberculosis* dışında diğer çevresel mikobakterilere maruz kalınca da oluşmaktadır. TDT'nin bir diğer hatası da immünsupresyon yapan durumlarda ve özellikle HIV hastalığının seyri sırasında immün sistemin çok zayıf (anerjik) hale gelmesiyle deri testinde kişinin tüberküloza maruz kalıp kalmadığını belirleyebilecek bir reaksiyon veremez hale gelmesidir (9). Bu nedenlerle TDT'nin sensitivitesi ve spesifitesi oldukça düşüktür. BCG aşılmasının yaygın olarak uygulandığı ülkelerde TDT aşılama etkilenir. Ayrıca tüberküline ait faktörler ve uygulama yöntemi, farklı okuma ve kayıt ile ilişkili faktörler nedeniyle yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Dolayısı ile *M. tuberculosis* ile BCG aşılama ve çevresel mikobakteriler arasında ayırım yapacak, hatta LTBI ile aktif hastalığı ayırt edecek bir teste ihtiyaç vardır. Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) LTBI

tanısında Quantiferon testinin kullanımını önermektedir. Quantiferon testi periferik kanda oluşan interferon gama (IFN- γ) düzeyini ölçmektedir (10).

İmmüsupresyon tedavisi gören ve LTBI'nun pozitif olduğu kişilere korunma amacıyla profilaktik INH tedavisi uygulanmaktadır. İlaç yükü, uzun süreli tedavi izlemindeki zorluklar, ilaç yan etkileri ve maliyet göz önüne alındığında latent infeksiyonun doğru teşhisi oldukça büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin çeşitli polikliniklerine başvuran ve immüsupressif tedavi gören latent tüberküloz şüpheli hastalara ve herhangi bir bulgusu olmayan sağlıklı kontrol grubuna TDT ve Quantiferon TB Gold in tube testi uygulanmıştır. Ayrıca bu hastaların akciğer (AC) grafileri de değerlendirilerek aktif tüberküloz infeksiyonu olup olmadığı araştırılmıştır. Araştırmada immüsupressif kişilerde ve sağlıklı gönüllülerde LTBI tanısında Quantiferon testi ve TDT'nin tanıya ne oranda yardımcı olacağı araştırılmış, her iki testin sonuçları karşılaştırılmıştır. Araştırmanın özellikle immüsuprese kişilerin latent infeksiyon şüphesinde tanıya hızlı bir şekilde gidilmesine katkı sağlayacağını, ayrıca LTBI şüphesi nedeniyle uygulanacak profilaktik (6 ay süreli) izoniazid (INH) tedavisinin sınırlandırılmasına da katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

2-GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

TB, insanlık tarihinin en eski ve en çok korkulan hastalıklarından biridir. Bakterinin paleolitik çağda, insanları infekte etmeden önce, hayvanlar arasında yaygın olarak bulunduğu tahmin edilmektedir. Başlangıçta muhtemelen *M.bovis* (veya bir varyantı) olan etkenin infekte hayvan etlerinin yenmesi veya kontamine sütlerin içilmesiyle insanlara geçtiği, toplu yaşamaya geçişle birlikte önce kabile içi daha sonra kabileler arası yayılım gösterdiği sanılmaktadır. Taş devri'nden kalan iskeletler ve Mısır mumyaları üzerinde yapılan incelemelerde tüberkülozu düşündüren kemik lezyonlarına(*Pott hastalığı*) ve aside dirençli basillere rastlanmıştır(1).

Eski Mısır ve Çin kaynaklarında, hastalığı tarif eden yazılar bulunmaktadır. Ancak tüberkülozla ilgili ilk klinik ve patolojik gözlemler; hastalıktan ölen kişilerin akciğerinde kaviter lezyonlar olduğunu bildiren Vesalius (1478) ile başlamaktadır. Sonraki yıllarda Sylvius tarafından tüberküller tanımlanmış, Marton (1689) hastalık için, bitme tükenme anlamına gelen, verem tabirini kullanmıştır (1).

Her toplumda, tüm tarih dönemlerinde, büyük sağlık sorunları yaratan TB, İngiltere'de sanayi devrimiyle birlikte çevresel faktörlerin de etkisiyle epidemik bir hal almış, önce Avrupa ülkelerine daha sonra tüm dünyaya yayılmıştır (1).

Hastalığın bulaşıcı karakterde olabileceği ilk kez Fracastorius tarafından ileri sürülmüş, Willem (1865) tüberkülozdan ölen kişilerin akciğer kavite örneklerini tavşanlara inoküle ederek hayvanlarda hastalık oluşturmayı başarmıştır. Robert Koch 1882 yılında bakteriyi mikroskopta göstermiş, 1884 'de klinik örneklerde izole ettikten sonra saf kültürünü yapmış, deneysel olarak hayvanlarda hastalık oluşturmuş ayrıca 1890'da "*old tüberkülin*" ile hastalığın özel immunité ve alerjisini ortaya koymuştur. Başlangıçta *Bacterium tuberculosis* adıyla anılan bakteri koloni morfolojisi ve yavaş üreme nedeniyle mantara benzetildiğinden Lehmann ve Neumann tarafından 1886 yılında *M. tuberculosis* olarak isimlendirmiştir.(1).

BCG aşısı ile, henüz tüberküloz basili ile karşılaşmamış (tüberkülin negatif) kişilere, hastalık yapma yeteneği giderilmiş fakat canlılığını koruyan '*M. Bovis*' tipi basil vererek, kişinin tüberküloz basiline karşı immün yanıtını uyarmak, böylece konakçıda hasar oluşturmaktan onun vücut savunmasını artırmak amaçlanmaktadır. İki Fransız

araştırmacı (A. Calmette ve A. Guerin), patojen bovin tipi bir tüberküloz basili suşunu, 13 yılda 231 alt kültür yaparak, 1920’de avirulan hale getirmeyi başarmışlardır. Araştırmacıların isimleriyle anılan bu aşı (Bacillus Calmette-Guerin/BCG) ilk kez 1921’de hayvanlarda daha sonra da çocuklarda denenmiştir. Aşının yaygın kullanımı, 2. Dünya Savaşı’ndan sonra gerçekleşmiştir (7).

2.2.Epidemiyoloji

Bugün dünya nüfusunun %32’si tüberküloz basili ile infektidir, her yıl yaklaşık 8 milyon kişi tüberküloz hastalığına yakalanmakta ve yaklaşık 2 milyon insan ölmektedir. Dünya tüberküloz hastalarının % 80’ini kapsayan, en çok hastanın olduğu ülkeler yüksek hasta yükü olan ülkeler olarak ele alınmaktadır. Bugün 22 ülke dünyadaki TB hastalarının %80’ini barındırmaktadır. Bunlardan en çok hastanın bulunduğu beş ülke Hindistan, Çin, Bangladeş, Filipinler ve Güney Afrika’dır (6).

Dünyada tüberküloz hastalarının %80’i 15-49 yaşları arasındadır (6). Gelişmiş ülkelerdeki infekte bireylerin % 80’i 50 yaş ve üzeri iken gelişmekte olan ülkelerdeki bireylerin %77 ‘si 50 yaş ve altındakilerden oluşmaktadır. Her yıl ortaya çıkan olgulardan akciğer tüberkülozlu olguların 3.6 milyonunu bulaştırıcı olgular, (yayma pozitif), 3.6 milyonu ise bulaştırıcı niteliği olmayan (yayma negatif) olgular oluşturur. Geri kalan 0.8 milyon olgu akciğer dışı organ tüberkülozlu olgulardır. Dünyadaki tüm ölümlerin % 7’ sinden TB sorumludur. Bu verilere göre tüberküloz her yıl diğer infeksiyon hasarlıklarının (AIDS ,diyare, sıtma, diğer tropikal hastalıkların) yol açtığı toplam ölüm sayısından fazlasını tek başına gerçekleştirmektedir (11).Bir yılda tüberkülozdan yaklaşık 2 milyon kişi ölmektedir.İnfekte nüfustan sürekli yeni hastalar çıkacağı için TB sorununun uzun yıllar süreceği açıktır (6).

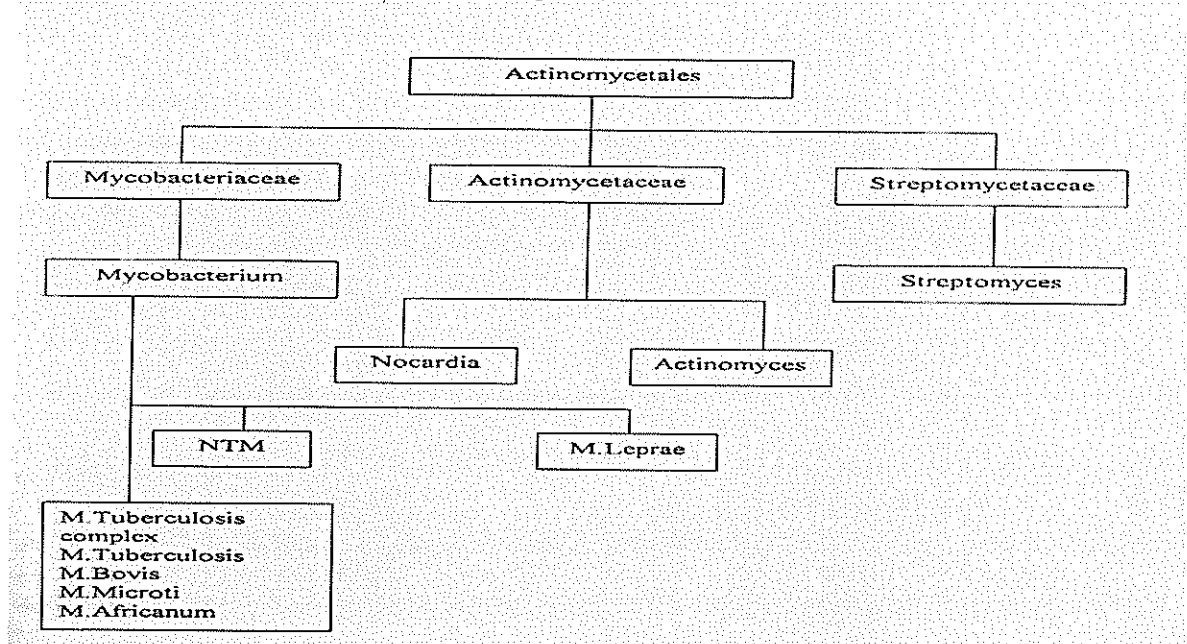
2.3.Mikrobiyoloji

Mycobacterium Yunanca fungus‘fungus’(myces) ve ‘küçük çubuk’ (bakterion) kelimelerinden türemiştir. İsmi fungus kısmı bu mikroorganizmanın sıvı besiyerlerinde büyüme paterninin küf benzeri olmasından kaynaklanmaktadır (10).

Mycobacterium genusu içinde yer alan *Mycobacterium tuberculosis complex*, beş bakteri türü içerir. Bunlar; *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. canetti*’dir (Şekil 1). İnsan *M. tuberculosis* için tek kaynaktır ve bu mikroorganizma

insanlar arasında hastalık yapar (9).Günümüzde tüberküloz olgularında en sık izole edilen tür *M. Tuberculosis*'dir. *M. Bovis* sıklıkla %75-80 akciğer dışı organ tüberkülozuna neden olur. DNA hibridizasyon çalışmaları bu bakteriler arasındaki DNA homolojisinin %85-100 arasında değiştiğini, *M.tuberculosis* ile *M.bovis*'de %100 benzerlik olduğunu ortaya koymuştur (1). *M.tuberculosis* kompleksi dışındaki mikobakteriler ise atipik mikobakteriler, nontüberküloz mikobakteriler (NTM), tüberküloz basili dışındaki mikobakteriler (Mycobacteria other than tubercle bacilli= MOTT) gibi isimler alırlar. MOTT en çok kabul gören isimlendirmedir.(12).

Şekil 2.1:Mikobakterilerin taksonomik ağacı (13).



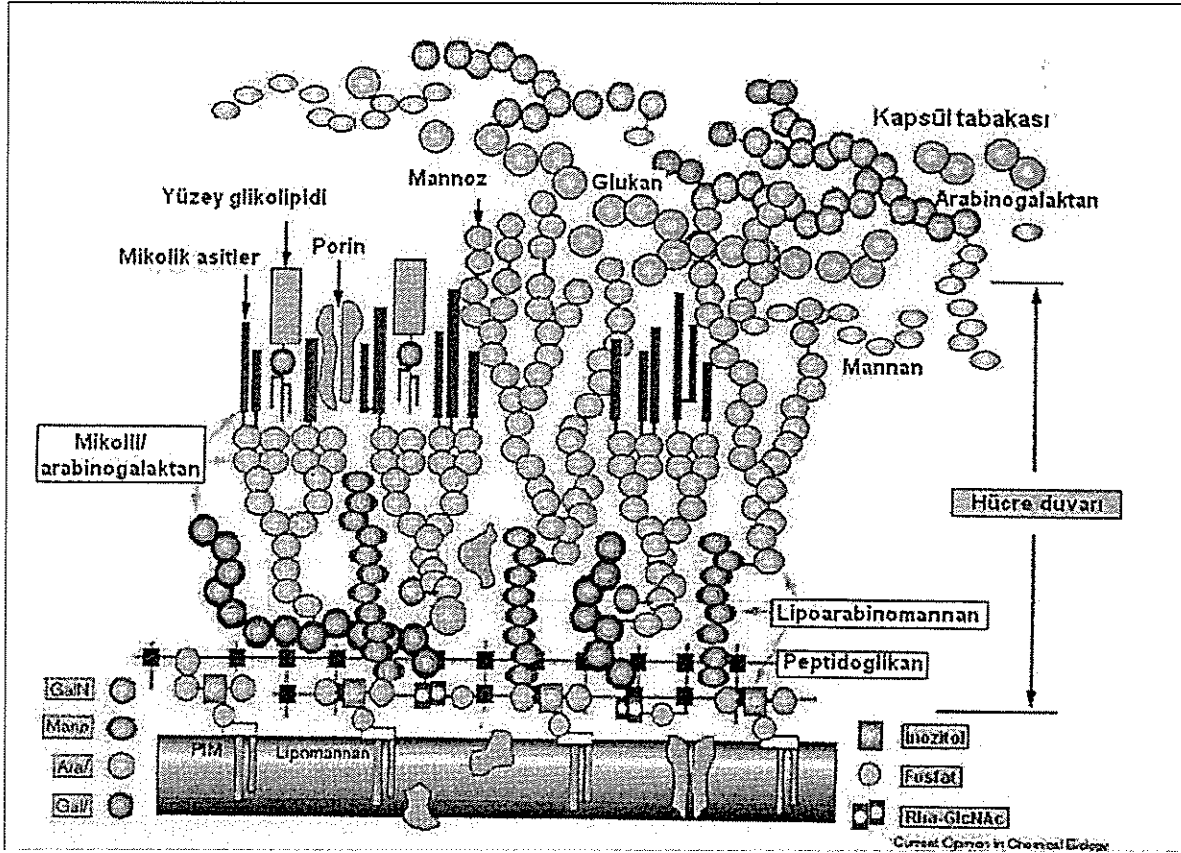
M. tuberculosis 0,2–0,6 mikron kalınlığında, 1,0–10 mikron uzunluğunda, aerobik, sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz hafif kıvrık veya düzgün çomak şeklinde bir basildir (13). Eski kültürlerden ve kazeöz lenf bezlerinden yapılan preparatlarda dallanmış, filamentöz veya kokoidal formda görülebilir. Klinik 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 (1).

2.3.1. Hücre Duvarı

M. tuberculosis bilinen bakteriler arasında en kompleks yapılı hücre duvarına sahiptir. Biyokimyasal çalışmalar, mikobakteri hücre duvar iskeletinin 3 makromolekülden ibaret olduğunu göstermiştir. Bunlar peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asitlerdir. Mikobakterilerin hücre duvarı yapısı alışlagelmiş gram negatif veya gram pozitif bakteri hücre duvarlarından oldukça farklı kompleks bir yapıdır. Bu kompleksde en iç tabaka diğer bakterilerde de görülen plazma membranıdır. Orta tabakanın nüvesi ve duvarın iskeleti peptidoglikan arabinogalaktanın mikolik asit esterinden oluşan *mycolylarabinogalaktan* peptidoglikan oluşturur.(mAGP). Peptidoglikan tabakası bakteriye şekil ve dayanıklılık verir. Bu tabakanın üzerinde arabinoz ve galaktozdan oluşan bir polisakkarid olan arabinogalaktan tabakası bulunur. Burası hücre duvarının karakteri en az bilinen tabakasıdır. Arabinogalaktanın zincirlerindeki uç arabinoz birimlerine mikolik asitler bağlanmıştır. Total lipid miktarının %11'i mikolik asit olup hücre duvar kalınlığı ve asit rezistansından sorumludur. (14,15).Aside direnç özelliği balmumu tabiatındaki hücre duvarının bütünlüğünün korunmasına bağlıdır (16). Mikolik asitler trehalose gibi şekerlere bağlandığında “kord faktörü” oluştururlar. Virülans ile ilgili olduğu düşünülen bu faktör hücrelerin birbirine dolanmış demetler oluşturarak paralel zincirler halinde üremelerine neden olur. Ayrıca fagositlerin göçünü engelleyip granülom oluşmasını sağlar, fakat bu özelliğin makrofaj kemotaksisi ve uyarısına ikincil geliştiğine inanılmaktadır. (13, 15, 17). En dış tabaka ise bir grup glikopeptid ve/ veya fenolik glikolipitten oluşmuştur ve mikoitler olarak adlandırılırlar. Hücre duvarında bulunan ve hücre duvarının %60'nı yapan lipidlerin çoğu uzun zincirli yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bu lipidler tüberkülostearik asit, mikoserik asit ve mikolik asitleri içerirler (18).

Mikobakterilerin en dışında ise özellikle infekte makrofajlardan hazırlanan preparatlarda açık olarak gösterilebilen ağırlıklı olarak polisakkarit ve proteinler, az miktarda da lipidleri içeren kapsül yer almaktadır. Mikobakterilerin hücre duvarında gram negatif bakterilerde görülen porin proteinleri de bulunur (3).

Şekil 2.2: Mikobakteri hücre duvar yapısı (3).



M. tuberculosis' in üremesi yavaştır, replikasyon süresi 15-20 saattir. Görünür koloni büyümesi en az 3 hafta; genellikle standart kültür ortamlarında 4-6 haftadır (19,20). Yumurtalı besi yerinde (Löwenstein-Jensen besi yeri) optimal 33-39 °C ısıda, pH 6,5-6,8'de, % 5-10 CO₂'li ortamda çoğalırlar (20). Hücre duvar yapısının büyük bölümünü oluşturan lipidlerin hidrofobik özelliğinden dolayı bakteriyolojik boyalarla zor boyanırlar (21).

2.4. Mikobakterilerin Çevre Koşullarına Dayanıklılıkları

Mikobakterilerin çevre koşullarına dayanıklılıkları, epidemiyolojik ve klinik bakımdan önemlidir. Mikobakteriler kurumaya çok dirençlidirler. 37° C besiyerinde 12 yıl canlı kalabilirler. Kuru balgamda gün ışığı olmadığı takdirde 6-8 ay canlı kalabilirler. Dezenfektanlara diğer bakterilere oranla daha dirençlidirler. Sodyum hipoklorit, % 70'lik alkol, %5 fenol, povidon-iyodin etkin olan dezenfektanlardır *M. tuberculosis* olumsuz koşullara oldukça dayanıklı olup bu koşullarda uzun süre canlı kalabilir. +4°C'de haftalarca, -70°C'de yıllarca canlılığını korur. Mikobakteriler, ultraviole

ışınları, basınçlı buharla sterilizasyona ve pastörizasyona duyarlıdır.60° C’de 15-20 dakikada ölürlür (12).

2.5. Tüberkülozda Tanı Yöntemleri

Tüberkülozun spesifik klinik ve radyolojik bulguları olmadığından ve her zaman doğru sonuç verebilen, kolay uygulanır, ucuz serolojik ve moleküler tanı yöntemleri olmadığından, bakteriyolojik tanı yöntemleri dünyanın her yerinde vazgeçilmez yöntemlerdir. Bakteriyolojik muayene, örneklerin direk muayenesi ve kültürü olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Direk muayene ucuz, çabuk sonuç veren bir yöntem olması açısından tüberküloz tanısında önemli bir yer tutar (22).

2.5.1. Direk Mikroskopik İnceleme

M.tuberculosis aranması için alınan materyaller balgam, açlık mide suyu, solunum sistemine ait diğer örnekler(bronş lavajı, bronkoalveoler lavaj, transbronşial biyopsi gibi), idrar, beyin omurilik sıvısı, gayta, doku ve diğer vücut sıvılarıdır. Akciğer tüberkülozu tanısı için en sık balgam örneğine başvurulur. Balgam ard arda 3 gün, sabah erken saatlerde, steril, geniş ağızlı, kapağı sıkı kapatılabilen plastik kutulara alınmalıdır ve alınan tüm örnekler hızla laboratuara ulaştırılmalıdır (23)

2.5.1.1. Boyama Metodları

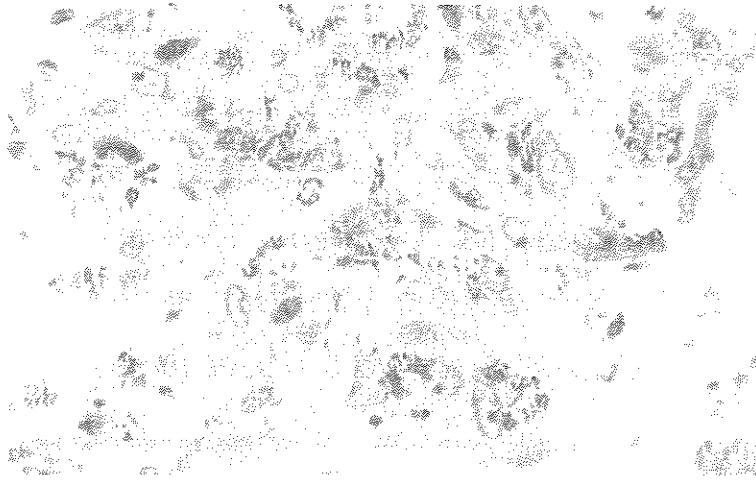
Mikobakteriler gram (+) ya da (-) olarak sınıflandırılmaz (11). %95 etil alkol ve %3 hidroklorik asit (asit- alkol) mikobakteri hariç tüm bakterileri dekolarize eder. Bunun nedeni hücre duvarındaki lipid düzeyinin yüksek olmasıdır. Lipid içeriği gram (+) bakterilerde %0,5, gram (-) bakterilerde %3 iken, mikobakterilerde %25’ tir (21).

Bakterinin aside dirençli boyanma özelliği, fiziki bütünlüğü yanında hücre duvarındaki mikolik asit ve hücre duvar sistemine bağlıdır. Dolayısıyla “asit dirençli basil” olarak adlandırılır (1). Boyama metodları karbolfuksin ve florokrom metodları olarak ikiye ayrılır. Karbolfuksin ile boyama metodları; Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) ve Kinyoun metodudur (23, 24).

Yaymalar direk materyalden hazırlanabileceği gibi, dekontaminasyon işlemi sonrası santrifüj edildikten sonra(homojenizasyon) teksif hazırlanabilir. Steril bölgelerden

alınan materyallere dekontaminasyon işlemi yapmaya gerek yoktur. Mikobakteriler kimyasal ajanlara daha dayanıklı olduklarından, bu özellikleri kullanılarak dekontaminasyon işlemi gerçekleştirilir. En sık kullanılan yöntem Nasetil-Lsistein % 2 NaOH (NALC-NaOH) yöntemidir. NALC disülfid bağlarını kopararak mukolitik etki, NaOH ise dekontaminasyon yapar (23, 25) .

Erlich-Ziehl-Neelsen metodunda; üzerine materyal alınan lam alevde tespit edilir, üstüne tam örtecek şekilde karbolfuksin boyası konur. Kaynatmadan 3-4 dakika ısıtılır, sonra boya dökülür, %5 asit-alkol ile dekolorize edilir. Distile su ile yıkanır. Metilen mavisi ile 20-30 sn boyanır, distile su ile tekrar yıkanır ve kurutulur. Preparatlar 100x immersiye objektifinde incelenir. Bu işlemler sonunda mikobakteriler mavi zemin üzerinde, parlak kırmızı olarak görülür ve tek tek ya da gruplar halinde çizgiler oluşturmuş olarak izlenir (1, 23, 24).



Resim 2.1: EZN boyama ile *M. tuberculosis* (26)

Florokrom Yöntemi: (Auramin O, auramin-rhodamin): Aside dirençli mikroorganizmalar floresan mikroskopta sarımsı turuncu renkte floresan verirler. Aside dirençli boyama mikobakterilerin lipitten zengin hücre duvarlarının primer boya ile boyanması ve renk giderici ajan asit ve alkolle muameleden sonra boyalı kalma esasına dayanmaktadır.

Direkt mikroskopi ile görülebilmesi için, balgamin her mililitresinde 5000-10000 basil bulunması gereklidir. Direkt mikroskopik incelemenin duyarlılığı %22- %80 arasında değişiklik gösterir (14).

Yanlış pozitif sonuçlar: Balgamdaki yemek artıkları boya parçacıkları, saprofit aside dirençli bakteriler, atipik mikobakteriler, nokardia, cam poleni, iplikçik, lamdaki

çizikler, başka balgamdan bulaşma, immersiyeon yağı ile bulaşma, aynı lamın tekrar kullanımı (23).

Yanlış negatif sonuçlar: Balgam toplanmasındaki yetersizlikler, balgam örneklerinin ve boyanmış preparatların uygunsuz korunmaları, homojenize edilmeyen balgamda uygun yerden örnek alınmaması, tekniğe uygun olmayan boyama, okuma hataları (23).

2.5.2. Kültür

Klinik örneklerde tüberküloz 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 tüberkülozun kesin tanısı etkenin izolasyonu ve identifikasyonu ile konur. Materyalin mililitresinde 10-100 arasında bakteri bulunması, kültür pozitifliği için yeterlidir (27).

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 selektif besiyerleri hazırlanabilir. En çok kullanılan selektif olmayan besiyerleri; Löwenstein-Jensen, Pertragnani, Trudeau, Middlebrook 7 H 10, Middlebrook 7 H 11 'dir. Selektif besiyerleri ise; Selektif Löwnstein-Jensen, Selektif Middlebrook 7 H 1, Middlebrook 7 H 12'dir (28)

Tablo 2.1: Mikobakterilerin üremeleri için kullanılan farklı kültür ortamları ve inhibitör ajanlar (28).

	Besiyeri	İçerik	Inhibitör 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, dekstroz, albumin, vitaminler, kofaktörler, oleikasit, katalaz	0.025 gr/100 ml malaşit yeşili
	Middle Brook 7H12	Belirli tuzlar, gliserol, albumin, 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 18-24 günde saptanmaya başlar (29).

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 radyometrik ya da kolorimetrik materyal eklenerek elde edilmişlerdir. Sıvı besiyerlerinde üreme 1-3 haftada saptanabilir. Ticari sistemler arasında en sık kullanılanlardan biri BACTEC 460'dır (23).

BACTEC: Radyoaktif mikobakteri varlığında kullanılan palmitik asitten çıkan karbon 14 işaretli CO₂ CO₂) otomize cihaz tarafından saptanmaktadır. Saptanan CO₂

miktarındaki artış basilin üremesi olarak değerlendirilmektedir. Bu sistemle *M.tuberculosis* saptama süresi 4-25 gündür. *M.tuberculosis* basilini nontüberküloz mikobakterilerden (NTM) ayırmak için besiyerine p-nitro o-asetil amino-3-hidroksipropifenon (NAP) eklenir. NAP varlığında üreme olmaması *M .tuberculosis* lehinedir (29,30,31).

2.5.2.1. Kültür Özellikleri

M. tuberculosis makrofajların fagositik vakuollerinin içinde ürer ve asidik pH'da üremesi çok kısıtlıdır. pH 6'da en kısıtlı üreme olur ve bunun için de Mg^{2+} 'ye ihtiyaç vardır (32). Optimal ısı 37° C, pH 7'dir (1).

M. tuberculosis, zorunlu aerop bir bakteridir. Sürekli çalkalanarak iyi bir şekilde havalandırılan kültürlerde üreme seviyesi en üst düzeyde iken ortamın oksijen miktarındaki küçük bir azalma, üreme hızında kayda değer düşmeye neden olur. %5-10 CO² üremeyi artırır.. Bazı özel şartların yerine getirilmesi durumunda anaerop şartlara adapte olup hayatiyetini devam ettirebilir ve oksijenli ortamla karşılaştığında üremeye başlar (1).

Mikobakterilerin organizmadan ilk izolasyonları oldukça güçtür. Temel karbon kaynağı gliserol, nitrojen kaynağı asparajin, ve amonyum tuzlarıdır. Lipit ihtiyacı yumurta sarısından sağlanır (12).

2.5.2.2.İdentifikasyon

M.tuberculosis complex' ine (MTC) (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M. Microti*, *M.cannetti*) ait izolatların tür identifikasyonu hastaların uygun tedavisi için önemlidir MTC'deki mikobakteriler DNA düzeyinde birbirleriyle yüksek oranda benzerlik göstermesine rağmen MTC üyeleri konak tropizminde, fenotip ve patojenitede birbirinden farklıdırlar. Genellikle MTC olarak tanımlanan izolatlarda daha ileri ayırım yapılamamakla birlikte, bazı durumlarda hastaların doğru değerlendirilmesinde veya epidemiyolojik durumlarda bu konu önemli olmaktadır. Özellikle *M. bovis* infeksiyonunda türün erken teşhisi uygunsuz tedaviden kaçınmak için önemlidir. Çünkü *M. bovis* doğal olarak pirazinamide dirençlidir ve standart tedavide bu ilaç kullanılmamalıdır (33).

Mikobakterilerin türlerini tanımlamak için bazı yaklaşımlar vardır. MTC’i diğer MOTT’lardan ayırt etmek için niasin toplanması, p-nitrobenzoik asit ve p-nitro alfa astilamino beta hidroksipropiofen testleri, MTC, *M.avium complex*, *M.kansasii*, *M.gordonae*’nin identifikasyonu veya doğrulanması için DNA-DNA hibridizasyon metodu, gaz-sıvı kromatografi, mikolik asitleri veya mikobakteriyel hücre duvarının yağlı asit çeşitlerini tanımlamaya yarayan yüksek performanslı sıvı kromatografi analizleri bunlara dahildir. Bu dört metod kesin identifikasyonu üremeden sonraki 2-5 saat içinde sağlar. Ayrıca Capilla TB, *M.tuberculosis complex* ve MOTT basillerin ayırımını hızlı bir şekilde yapan immunokromatografik bir yöntemdir (34).’

Nükleik asit amplifikasyon teknikleri kullanılarak çeşitli hızlı identifikasyon metodları TB teşhisi için kullanılmakta, ancak *M.tuberculosis*’i diğer MTC’lerden ayıramamaktadır. Son zamanlarda karşılaştırmalı genomik analizlerle MTC’nin Regions of differences (RD) bölgesinde önemli bilgiler saptanmıştır ve MTC’nin spesifik identifikasyonu bu bölgelerin tespitiyle elde edilmektedir. RD ‘leri hedefleyen PCR teknikleri lokal klinik laboratuvarlarda düşük maliyetle yapılabilmektedir (33).

2.5.3. Serolojik Tanı Yöntemleri

İmmünolojik tanı için hem klinik örneklerde mikobakteriyel antijenlerin gösterilmesi, hem de bu antijenlere karşı oluşan antikorların saptanmasına çalışılmaktadır. Geliştirilen yöntemler arasında immunodiffüzyon, pasif hemaglutinasyon, ELİSA, floresan antikor testi, solid faz radyoimmunoassay bulunmaktadır (25, 35, 36). Serolojinin yüksek tanı değerine sahip olduğu diğer hastalıklardan farklı olarak, tüberkülozda klinik kullanım için duyarlı, özgül ve pratik bir yöntem geliştirme çabaları başarısız kalmıştır. Özgülük konusunda temel sorun, enfekte olmak ile hastalık varlığı ayırımının yapılamamasıdır. Daha önce yapılmış olan BCG aşısına bağlı olarak gelişen serolojik reaksiyon da sorun oluşturmaktadır. Bu durum, serolojik inceleme gibi basit bir testin yarar sağlayacağı gelişmekte olan ülkelerde özellikle anlamlıdır. Bu gibi ülkelerde nüfusun yaklaşık %40’ında LTBI vardır ve önemli sayıda insan *M. bovis* BCG’si ile aşılanmıştır. Diğer önemli bir konu da NTM’lere bağlı infeksiyondan *M. tuberculosis* infeksiyonunun ayırımıdır (3).

2.5.3.1. Antijen tespitine dayanan testler:

Lipoarabinomannan, mikobakterinin hucre duvarında bulunan bir lipopolisakkarittir ve doğal mikobakteri enfeksiyonu sırasında antikor yanıtını indüklediği bilinmektedir. Antijen olarak kord faktörü kullanılan ELİSA testinin, akciğer tüberkülozu tanısında duyarlılığı %66,6–74,1 ve özgüllüğü %95,2–99,0 olarak bulunmuştur (35).

2.5.3.2. Antikor tespitine dayanan testler:

Tüberkülozlu hastaların serumunda mikobakteri antijenlerine karşı oluşan antikorlar monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılarak tespit edilebilir (Tablo II). Çevredeki mikobakterilere çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış pozitif test sonuçları alınabilmektedir. Ayrıca mikobakteri hastalıklarında ortaya çıkan bağışık yanıtlar; HLA klas II 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 (3).

Tablo 2.2: Antikor tespit temeline dayanan ticari testler (3)

Kullanılan antijen	Testin adı	Metodu	Duyarlılık	özgüllük
Lipoarabinomannan (LAM)	MycoDot™	Dot-blot	%70-75	%96.7
Rekombinant protein peptit	Detect -TB	ELISA	%75	%97
38 kDa (rekombinant antijen) ve LAM	Pathozone Myco	ELISA	%57-89	%92-100
38 kDa ve 16 kDa (rekombinant antijen)	Pathozone 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

Tüberkülozun serolojik tanısında hangi antijenin kullanılması gerektiği, sadece antijen tanınması ile sınırlı değildir. Antijen tanınması ile aynı öneme sahip 3 konu daha vardır: 1-Antijen kokteylleri: TB sırasında serumda ortaya çıkan antikorlar tarafından tanınan tek bir antijen veya sık rastlanan bir antijen kombinasyonu olmaması nedeniyle, serolojik tanı testlerinde antijen kokteylleri kullanılmalıdır. Farklı hastalarda, çok az miktarda antikor üretilen immunsupresyonlu hastalar dahil, çeşitli antikor yanıtları

oluşur. Antijen kombinasyonları, bu TB olgularının yakalanma şansını arttırmaktadır (37)

2- Katı faz: Kokteyl esasına dayanan testlerde solid faz kullanılarak, kokteylde bulunan her antijenin serolojik aktivitesinin tespiti sağlanır. Bu amaca ulaşabilmek için, nitrosellüloz temelli metodlar geliştirilmiştir (37).

3- Özgül antijen: Çapraz reaksiyon veren epitoplara bağlı yanlış pozitif test sonuçlarından kaçabilmek için, antijenler *M. tuberculosis*'e (veya *M. Tuberculosis complexi*) özgül olmalıdır. Ayrıca, TB'un karakteristik özelliği olan heterojen antikor repertuarını karşılayacak şekilde birden fazla antijen seçilmelidir. Panellerdeki antijenlerin seroaktivitesi incelenmiş; 38kd PhoS ve 14 kd alfa kristali' ninki en fazla bulunmuştur. Bu iki antijene eklenen diğer antijenlerden early secretory antigenic target (ESAT-6), MPT64, MPT63, 19 kd lipoprotein, MTSA-10 duyarlılığın artmasını sağlamaktadır (37).

2.5.3.3. İnterferon gamma (IFN- γ) üretiminin ölçülmesi:

Özellikle çocuklarda ve ekstrapulmoner TB teşhisindeki mikrobiyolojik ve moleküler metodların kısıtlılığı ve hızlı ve düşük maliyetli teşhis metodlarının arayışı sebebiyle immün diağnoz tüberküloz için cazip bir seçenek haline gelmiştir. Temel olarak bu testler, hastalık veya infeksiyon varlığında konağın spesifik hümmoral veya hüccresel immün yanıtını kullanırlar. Tüberkülin deri testi ve son zamanlarda antijene spesifik interferon gamanın ex vivo salınımını ölçen İnterferon Gama Salınım Testleri (IGRA), *M.tuberculosis* ile oluşan infeksiyonu tespit etmekte kullanılmaktadır (38,39). Hem TB hastalarında hem de TB infeksiyonu olan kişilerde *M. Tuberculosis* antijenlerine karşı güçlü bir hüccresel immün yanıt vardır. Bu reaksiyon, in vivo olarak PPD deri testine ex vivo olarak ise bakterinin değişik bileşiklerine karşı lenfositlerin proliferasyon yanıtının ölçülmesiyle ortaya çıkarılabilmektedir. (40).

Son 10 yılda yapılan kapsamlı çalışmalar; 6-kDa ESAT-6 ve homologları gibi immün dominant antijenlerin infeksiyonu tespit etmekte oldukça uygun olduğunu göstermiştir. Bu antijenler BCG aşısı suşlarında olmadığından, BCG aşısıyla çapraz reaksiyon görülmez. Yapılan çalışmalara dayanılarak, son yüzyılda TB teşhisinde en önemli gelişme interferon gama tespitine yönelik deneyler olan IGRA testleridir. Bu testler, duyarlı hale gelmiş kişilerin T hüccrelerinin *M. tuberculosis* (MTB) antijenleriyle tekrar karşılaştıklarında IFN- γ üretmeleri prensibinden köken alır. (40). IGRA testlerinin en

büyük avantajı, BCG aşısı ve diğer çevresel mikobakterilerde mevcut olmayan bir genomik segment olan (RD)1 bölgesinde kodlanan MTB 'ye spesifik antijenlerin kullanılması sayesinde MTB enfeksiyonunun tespitindeki artan spesifitesidir. Son zamanlardaki değerlendirmeler, ESAT-6 ve CFP10 gibi MTB RD1 antijenlerini kullanan IFN- γ deneylerinin tüberkülin testine göre üstünlüklerinin olabileceğini göstermiştir (41- 43).

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.

2.5.3.3.A. Elispot Testi

Elispot testi MTB enfeksiyonunun teşhisi için MTB antijenlerine spesifik T hücrelerinin hızlı tesbitine dayalı bir yöntemdir. Bu hücrelerden ex vivo olarak salgılanan IFN- γ , ELISPOT yöntemi ile geniş çapta tespit edilmektedir (44). Her bir T hücresi koyu renkli bir beneklenmeye sebep olur ve okuma beneklerin sayısıdır. Elispotla tek tek sıralanan T hücreleri, yakın zamanda in vivo olarak antijenle karşılaşan efektör hücrelerdir ve yeniden antijenle karşılaştıklarında hızlı bir şekilde IFN- γ salarlar (45). Bunun tersine patojenden arındıktan sonra uzun süre ısrarla kalan uzun ömürlü hafıza T hücreleri göreceli olarak daha hareketsizdir ve ex vivo ortamda kısa bir süre antijene maruz kaldıklarında beklenenden daha az miktarda IFN- γ salgırlar (44).

Lalvani ve arkadaşları (43) LTB için tek bir kan örneğini stimüle etmek için ESAT-6 peptidini kullanarak ilk kuşak Elispot testini geliştirdiler. Bu test 60.000 kadar az IFN- γ üreten hücreleri tespit etmektedir. İlk denemede bu test, 47 TB hastasının %96'sında ve latent tüberküloz olduğu tahmin edilen 26 kişinin %85 'inde pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda BCG aşı 26 kişide ELISPOT testi negatifti ve bu özgünlük TDT 'ye göre major bir avantajı belirtmekteydi (46). Yöntem değişik gruplar tarafından değerlendirildi ve (47) sonuçlar gösterdi ki ELISPOT latent enfeksiyonlu kişilerde TDT 'ye göre daha doğru bir yaklaşım sunmaktaydı. Bu testler önleyici tedavi özel olarak hedeflendiğinde tüberküloz kontrolünü artırabilir.

2.5.3.3.B. 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 kaplanmış. 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 infekte olan 7 hasta, *M. kansasii* ile infekte 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 alışmalarda 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 malignensileri, 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 infeksiyonu için daha geniş çaplı araştırma gerekliliği hakkında uyarabilir. Bu bilgi TDT ile alınamaz (62).

ELISA-IGRA'nın avantajı özgünlüğü artırarak BCG ile aşılı veya non tüberküloz mikobakterilere maruz kalmış kişilerdeki yanlış pozitif sonuçları azaltarak LTB tedavisi için kullanılan ilaçların potansiyel toksisitesinden ve ilave masrafindan korumasıdır. Ek olarak, LTB vakalarının çoğunun aktif hastalığa ilerlemeden önce teşhis edilmesini artırırılar. Bu avantajlar, tahsis edilmiş donanım ve personel eğitiminin gerekliliğinin sonucu olan artan laboratuvar maliyetleri ile dengelenmelidir (63).

2.5.4. Tüberkülin Deri Testi

Tüberkülin deri testi, (TDT) TB infeksiyonunu 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 solusyonu tüberküloz basili kültüründen protein presipitatlarının filtrasyonu ile elde edilir. Elde edilen protein presipitatlarına tüberkülinler denir. İçeriğinin çoğu 10000 Da molekul ağırlığındaki proteinlerdir. Ayrıca bazı polisakkarit ve lipidlerde solüsyonda bulunur. Seibert ve Gleen 1932'de PPD tüberkülini elde etmiş, 1941 yılında ise standart tüberkülin (PPD-S) olarak kabul edilmiştir (66). Üretilen diğer PPD'lerin PPP-S ile eşit güçte oldukları biyolojik olarak gösterilmelidir. PPD-S'in standart 5 tüberkülin ünitesi (TU) dozu 0,1mg/ 0,1ml dozundaki bir PPD-S'in gecikmiş deri testi aktivitesine eşittir. Ticari PPD solusyonlarındaki standart test dozu, PPD-S'deki 5 TU'e eşdeğer doz olarak tanımlanır. Ticari preparatlara Tween eklenerek cam ve plastiğe yapışması azaltılmıştır. Bu nedenle solusyon kaptan kaba aktarılmamalı, enjektöre çekildikten sonra en kısa sürede kullanılmalıdır. Solusyon ışık ve ısıya dayanıksızdır. Karanlıkta bulundurulmalıdır. Buzdolabında +2 ile +8 °C'de saklanmalıdır. Donmamasına özen gösterilmelidir. TDT, PPD solusyonu ile sol ön kolun 2/3 üst iç kısmına, mümkün olduğunca kılsız ve venlerden uzak bir bölgeye yapılmalıdır. Solüsyonun 5 TU eşdeğer olan 0,1 ml'si insulin enjektörüyle (27 gauge iğne) deri içine (intradermal) verilmelidir. Bu yöntem Mantoux yöntemi denir. Enjeksiyon yapılırken iğnenin kesik ucunun yukarı gelmesine özen gösterilmelidir. Enjeksiyondan sonra test deri icerisine yapıldıysa 6- 10 mm'lik beyaz renkli bir kabarcık oluşur. Bu oluşmadıysa hemen ikinci test dozu birkaç cm uzak bir yere yapılmalıdır. Test yapıldıktan sonra geç tip bir hücresel yanıtın tetiği çekilmiş olur. Kişi TB basili ile daha önce karşılaştıysa bellek T hücreleri oluşmuştur. PPD solusyonunun enjekte edilmesi ile bellek T hücreleri ortama gelir ve lenfokinler salgılamaya başlarlar. Bu lenfokinler o bölgede vazodilatasyona, ödeme, fibrin birikimine ve diğer inflamatuvar hücrelerin toplanmasına yol açar; bu reaksiyonlar deride kendini endurasyon olarak gösterir. Reaksiyon ortalama 5–6 saatte başlar ve 48-72 saatte maksimuma ulaşır. Kaybolması günler alır. İlk 24 saatte ortaya çıkan reaksiyonlar aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak algılanmalı; geç tip yanıtla karıştırılmamalıdır. İlk 24 saatte ortaya çıkan aşırı duyarlılık reaksiyonu kendini deride kızarıklık olarak gösterir. TDT okunurken, oluşan kızarıklık değil, sertlik (endurasyon) incelenmelidir (6).

Endurasyon varlığı inspeksiyonla saptanabilirse de kalem ucuyla endurasyonun sınırlarının belirlenmesi daha duyarlı bir yöntemdir. Kalem deriye 45 derece açıyla test yapılan bölgeye doğru ilerletilir. Endurasyonun sınırına gelindiğinde kalem ucu deriye takılır. Bu nokta endurasyonun sınırı olarak kabul edilir. Test çevresinde bu işlem tekrarlanır. Şeffaf bir cetvelle kalemin takıldığı noktalar ölçülerek TDT sonucu milimetre cinsinden rapor edilir. Endurasyon çevresinde ölçülen kola göre dikey ve yatay çapların rapor edilmesi önerilmektedir. Eğer 72 saat içinde ölçülmediyse 96 saate kadar ölçüm yapılabilir. Endurasyon oluşmadıysa negatif yerine 0 mm olarak rapor edilmesi daha doğrudur. Test yerinde bül, vezikül gibi lezyonlar oluşabilir. Bunların klinik önemi yoktur. Lokal tedavi gerektirmez. Ağrı olursa anti inflamatuvar ilaçlar oral yoldan önerilir. TDT değerlendirmesinde günümüzde kabul edilen değerler kişinin aşılama ve bağışıklık durumu göz önüne alınarak belirlenir.

T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı'na göre TDT'nin yorumlanması skar olup olmamasına göre değişmektedir (6):

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) (67).

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 VI).

Tablo 2.3: Tüberkülin deri testinde yanlış negatiflik nedenleri (68, 69).

Test Edilen Kişiyi Ait Faktörler	• Enfeksiyonlar Viral (kızamık, kabakulak, su çiçeği, HIV) Bakteriyel (tifo, tifüs, brucella, 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, afibrinogenemi) • Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (Hodgkin hastalığı, lenfoma, kronik lösemi, sarkoidoz) • İlaçlar (kortikosteroidler ve diğer birçok bağışıklığı baskılayıcı ilaç) • Yaş (yenidoganlar, "azalmış" duyarlılığı olan yaşlı hastalar) • Stres (cerrahi, yarıklar, 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 yanıt genellikle PPD antijeni ile paylaşılan diğer mikobakterilerden kaynaklanmaktadır. Bu da NTM ile enfeksiyona bağlı çapraz reaksiyon veya BCG aşılmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. *Mycobacterium avium* veya diğer mikobakteriler ile enfeksiyon tüberkülin reaktivitesine yol açabilir. Bu çapraz reaksiyonların birbirlerinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Bunun yanında endurasyon çapının büyük olması durumunda, tüberkülozlu birey ile temas hikayesi olan olguda, ailede TB hastalığı varlığında, ülkede TB enfeksiyonu prevalansının

yüksek olması durumunda reaksiyonun *Mycobacterium tuberculosis*'e bağlı olma ihtimali yüksektir. TDT'nin duyarlılığı farklı toplumlarda karşılaştırıldığında çok fazla değişkenlik göstermemektedir. Bunun yanında farklı ülkelerde çevresel mikobakteriler farklı dağılımlar gösterebileceğinden testin özgüllüğü hakkında yorumda bulunmak mümkün olmamaktadır. DSO'nun 1950'li yıllarda 10 farklı ülkeyi içine alan ve 3600 TB hastasını içeren çalışmasında TDT'nin 16–17 mm arasında yoğunlaştığı ve TB enfeksiyonu için duyarlılığın 10 mm endurasyon kriter olarak kullanıldığında %93, 14 mm kriter olarak kullanıldığında %78 olduğu saptanmıştır (70).

Mikobakteriyel enfeksiyonu olmayan veya anejisi olanlarda TDT reaksiyonu birkaç mm 'yi geçmez. TDT endurasyon çapları toplumun BCG aşılı olup olmamasına veya aşı sayısına göre de değişkenlik gösterebilir (71)

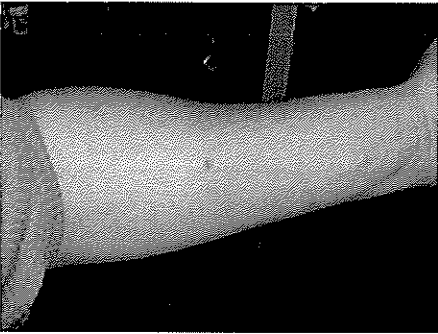
Yoğunluğu 0.1 mg/0.1ml, 5 standart tüberkulin ünitesinin deri içine enjeksiyonu sonrası, önceden duyarlanmış T lenfositleri varlığında enjeksiyon yerine salınan lenfokinler, antijen enjekte edilmesinden en az 24 saat sonra zirve yapan endurasyon, vezikülasyon ile karakterize deri reaksiyonuna neden olurlar. Deri testi eğitimli sağlık çalışanları tarafından 48-72 saat sonra değerlendirilerek reaksiyon yerinde oluşan endurasyon çapı değerlendirilir. Maliyetin düşüklüğü ve özel ekipman gerektirmemesi nedeniyle PPD deri testi epidemiyolojik olarak latent *M.tuberculosis* enfeksiyonunun taranması ve kliniklerde aktif enfeksiyonun tanısında kullanılmaktadır. Buna karşın tüberkulin deri testinin çeşitli hataları vardır. Birincisi pozitif reaksiyonlar kişide *M. tuberculosis* dışında diğer çevresel mikobakterilere maruz kalınca da oluşmaktadır. TDT'nin bir diğer hatası da immünsupresif hastalıklarda ve özellikle HIV enfeksiyonunun seyri sırasında immun sistemin çok zayıf (anejik) hale gelmesiyle deri testinde kişinin tüberküloza maruz kalıp kalmadığını belirleyebilecek bir reaksiyon veremez hale gelmesidir. Hastaların test sonucunu okutmak için geri gelmesi gerekliliği, subjektif olması ve sonuçları değerlendiren sağlık çalışanlarının arasındaki kişisel farklar da tüberkulin deri testlerinin dezavantajlarına dahildir (9). Tüberkulin deri testinin anamnestik cevabının artması gibi bir dezavantajı da vardır (50). BCG aşısı yakın zamanda yapılmış çocuklarda ve adolesanlarda pozitif TDT reaksiyonuna neden olmaktadır.



Resim 2.2: Tüberkülin deri testinin uygulanması (72)



Resim 2.3: Endurasyon büyüklüğünün 48-72 saat sonra ölçülmesi. Eritemin (kızarıklık) büyüklüğü dikkate alınmaz. (72)



Resim 2.4: Tüberkülin deri testinin uygulanma bölgesi (72)

Tablo 2.4: PPD/TDT ve İFN- γ esaslı testlerin özelliklerinin karşılaştırılması (27).

Performans ve İşlevsel Özellikleri	PPD/TDT	İFN- γ esaslı testler
Duyarlılık (aktif tüberkülozlu hastalarda)	%75-%90(immün yetmezliği olanlarda daha düşük)	%80 - %95(immün yetmezliği olan populasyonlar için yeterli bilgi yok)
Özgüllük (Tbc hastalığı veya teması olmayan sağlıklı bireylerde)	%70 - %95	%95 - %100
BCG ile çapraz reaksiyon verme	Var	Daha az
Non tüberküloz mikobakterler ile çapraz reaksiyon	Var	Daha az
Test pozitifliği ile izleme sırasında aktif Tbc riski arasındaki ilişki	Yüksek pozitif ilişki var	Yetersiz veri
Güvenilirlik (tekrarlanabilirlik)	Var	Yok
Booster reaksiyonu	Var	Yok
Yan etkiler	Nadir	Yok
Hasta / Doktor görüşmesi	İki kez	Bir kez
Laboratuvar alt yapısı gerektirme	Gerekmez	Gerekli
Testin cevaplanma süresi	2-3 gün	1-2 gün
Deneyimli personel ihtiyaç	Var	Var
İmmüsupresyon	İmmüsupresyona bağlı yanlış negatif sonuçlar bulunabilir.	Pozitif kontrol olarak kullanılan mitojen tüpe cevap oluşmaması, immüsupresyona bağlı negatifliklerin tespitini sağlayabilir
Testin değerlendirilmesi	Değerlendirme kişiden kişiye değişebilir.	Sonuçlar objektiftir. Değerlendirmede kişisel yorumlar yoktur.

Tablo.2.5:Quantiferon Gold Testinin duyarlılığı, özgüllüğü ve PPD ile uyumu (27)

PPD ile uyum	% 79 - 94
Latent tüberkülozda özgüllüğü	%89 –100
Latent tüberkülozda duyarlılığı	% 90
Aktif tüberkülozda özgüllüğü	%97 - 100
Aktif tüberkülozda duyarlılığı	%72 – 89

Negatif PPD ve negatif QuantiferonTB Gold testleri, TB hastalığı belirti ve bulguları olan bireylerde TB tanısını ekarte etmez. Çünkü; AIDS hastalarında, immünsupressif tedavi, yüksek doz steroid, anti-TNF –alfa tedavisi alanlarda, hematolojik bozukluğu ve malignitesi olanlarda, diabetiklerde, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda PPD'nin duyarlılığı düşmektedir. Bu durumlarda İFN- γ üretiminde düşüklük olabileceği akla gelmelidir. Özetle; Quantiferon TB Gold tüberküloz tanısında, klinik, radyolojik ve diğer bulgulara yardımcı olarak kullanılan önemli bir tamamlayıcıdır. PPD gibi BCG aşısı ve non spesifik mikobakterilere karşı reaksiyon vermediği için taramalarındaki spesifikliği PPD'ye göre çok daha yüksektir (27).

2.5.5. Moleküler Biyolojik Yöntemler

2.5.5.1. 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 (73).

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 (73):

-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 (73).

2.5.5.2 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 (74).

Dört temel adım vardır: DNA izolasyonu, DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesimi, kesilen DNA'nın elektroforezi ve jeldeki DNA parçalarının görüntülenmesi (74). Bu yöntemle *M. tuberculosis* complex içinde tip tayini ve *M. Tuberculosis* suşlarında nokta mutasyonları saptanarak ilaç direncini saptamak mümkündür (75).

M.tuberculosis 'te ELISA, katı faz antikor kompetisyon testi (solid- phase antibody competition test SACT) ve' dot immunoassay' gibi serolojik tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile TB'da olumlu sonuçlar ancak hastalığın ilerlemiş dönemlerinde alınmakta, bu dönemde direk yayma ve kültür yöntemleri de pozitif sonuç verdiği için serolojik yöntemlerin tanıya ek bir katkısı olmamaktadır. Bu testlerin akciğer dışı TB'lu hastaların ve balgam çıkaramayan TB ön tanılı hastalarda yararlı olabileceği düşünülmektedir (75).

Yurdumuzda bu konuda aktif ve inaktif akciğer TB'lu, TB plörezi ve TB menenjitli olan hastalar ve sağlıklı kişilerden alınan örneklerde çeşitli antijenler kullanılarak birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda antijen 60 (A 60) ve mikobakteriyel sonike antijen (MSO) kullanılarak ELISA yöntemi uygulanmıştır. Çeşitli yıllarda aktif TB'lu ve sağlıklı kişilerin serumları alınarak yapılan çalışmalarda, antijen 60' a karşı oluşan Ig G antikor duyarlılıklarını % 52.6 ile %83, özgüllüklerin ise %85.4 ile % 94.7 arasında değiştiği görülmüştür (76).

Mikobakterilerin sonike edilmiş adsorbe antijeni kullanılarak özgül Ig G yanıtı, akciğer TB'lu ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, duyarlılıkların % 60.8 ile %92 arasında, özgüllüklerin ise %87 ile %98.7 arasında değiştiği görülmüştür (77- 79).

2.5.6.Çeşitli Hücrelerden Salınan Enzimlerin Belirlenmesi

2.5.6.1. Adenozin Deaminaz:

Adenozin deaminaz (ADA), monosit, makrofaj ve özellikle T lenfosit gibi birçok hücrenin olgunlaşmasında rol oynayan bir enzimdir. TB olgularında BOS, plevra, periton ve perikard sıvılarında bu enzim düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (80).

2.5.6.2. Lizozim

Granülosit, monosit ve aktive olmuş makrofajlardan salınan lizozimin de TB plörezi olgularında plevral sıvıda düzeyinin arttığı gösterilmiştir. (81).

2.5.7. Hızlı Faz Amplifikasyon (Fast Plaque) Testi

Bu test faj amplifikasyon teknolojisi kullanılarak canlı *M. Tuberculosis* ' i tanımlayan manuel, hızlı bir yöntemdir. Bu konuda yapılan çalışmalar henüz araştıma aşamasındadır. Heydendrich ve arkadaşları 751 yeni TB olgularında Auromine ile direkt mikroskopi, Löwenstein Jensen besiyeri ile kültür ve Fast Plaque tekniğini karşılaştırmışlar, tüm örneklerde duyarlılığın % 73, özgüllüğün % 99.8 olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmalarda bu testin direkt mikroskobinin yanında yardımcı test olarak kullanılabileceği, direkt mikroskopi negatif olan olgularda canlı *M.tuberculosis* 'i tanımlayabildiğinden tanıda kullanılabileceği, ucuz ve alete gereksinim göstermediği belirtilmektedir (82).

2.6. İmmünopatogenez

M.tuberculosis ile karşılaşan kişilerde infeksiyon veya hastalığın oluşup oluşmaması konağın direnci ile basilin virulansı arasındaki dengeye bağlıdır (83). Basil ile infekte olan kişilerin büyük çoğunluğunda (%90) hastalık gelişmemektedir. Aktif hastalık gelişen infekte kişilerin bazılarında immün sistem yetersizliği (HIV infeksiyonu, malnütrisyon malignite vb.) saptanmasına karşın, çoğu hastada belirgin bir immün baskılama izlenmemektedir. Bunlara ek olarak hiçbir tedavi almayan tüberkülozlu 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. (7).

Hastalık virulan mikroorganizmaların akciğerlere yerleşmesi, çoğalması ve konak bağışıklık sistemi ile etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Konağın direnç ve aşırı duyarlılık durumu hastalık gelişimi üzerinde çok etkilidir (16). Konağın TB'a karşı yanıtında hem doğal hem de kazanılmış immunité rol oynamaktadır (83).

TB'da, canlı bir basilin alveole yerleşmesinden kaviter akciğer tüberkülozu gelişimine kadar geçen olaylar, basil ile konakçı arasındaki bir seri'savaş' sonucu olur (84).

Bu konak cevabının bileşenlerini temel düzeyde anlamak, insanlardaki TB'un patogenezi daha iyi anlamamıza yol açarak bu hastalığı önlemek ve tedavi etmede yeni yaklaşımlara önderlik edecektir (85).

2.6.1.Doğal Savunma

Mikobakteriyel enfeksiyonlar hemen daima mikroorganizmaları içeren damlacık çekirdeklerinin inhalasyonu ile başlamaktadır. 1-3 mikrometre boyutlarındaki damlacık çekirdekleri, üst solunum yolunun oluşturduğu engelleri aşabilmekte ve ilk enfeksiyonun olduğu alveollere ulaşabilmektedirler. Respiratuvar bronşiyol epiteli *M. tuberculosis* ile enfeksiyona dirençlidir. Fakat virulan TB basili, tip 2 alveol hücrelere sitotoksik etkiye sahiptir (7,84).

Alveole ulaşan TB basilini dört gelecek beklemektedir.

- a. Başlangıç konakçı yanıtı oldukça etkilidir ve alınan tüm basiller yok edilebilir.
- b. Basil başlangıçta çoğalabilir, fakat gelişen immün yanıtla enfeksiyon kontrol altına alınır ve koruyucu immunité gelişir. Primer enfeksiyon olarak tanınan bu durum, hiçbir klinik belirti oluşturmamasına karşılık tüberkülin deri testinin pozitifleşmesine neden olur. Bu süreçte az sayıda basil metabolizmalarını durdurarak canlılıklarını koruyabilirler (uyuyan basiller) ve bu durum latent enfeksiyon olarak tanımlanır.
- c. Basiller primer enfeksiyona takiben çoğalmaya devam edebilirler. İnfekte olan bu kişilerin % 5' inde enfeksiyonu izleyen 5 yıl içinde hastalık gelişir (primer TB) .(7, 84).
- d. .Primer enfeksiyonu izleyen uzun bir latent dönemden sonra (en az 5 yıl sonra) infekte kişilerin % 5'inde hastalık gelişmektedir (sekonderTB) (84).

M. tuberculosis 'le enfeksiyonda ilk savunma, basil alt solunum yoluna ulaştığında alveoler makrofajlar tarafından oluşturulur. Bu hücreler, fagositoz yolu ile basilin

büyümesini inhibe etme yeteneğine sahiptir ve antijen sunumu ve T lenfositlerinin devreye girmesiyle oluşan geniş bir hücrel immunitenin içinde yer alırlar. Dentritik hücreler gibi diğer antijen sunan hücreler solunum yolunda büyük miktarlarda bulunmalarına rağmen TB'a karşı konak savunmasındaki kesin rolleri halen iyi bilinmemektedir ve işin çoğunda monositler ve makrofajlar yer alırlar (85). Alveoler makrofajlar tarafından sağlanan fagositoz süreci; basilin bu hücrelere tutunması, hücre içine alınması ve sonunda basilin çoğalmasının inhibisyonu veya basilin yok edilmesini içerir. Makrofajların *M.tuberculosis* 'e karşı savunmalarında bir diğer güçlü mekanizma da apoptozdur. (programlı hücre ölümü) Yapılan çalışmalarda TB basili ile infekte makrofajlardan TNF- α üretildiği ve programlı hücre ölümünün TNF- α bağımlı mekanizma ile gerçekleştiği bildirilmiştir. TB basili infekte mononükleer fagositlerden ve tüberküloz bileşikleriyle karşılaşan fagositlerden hem immün baskılayıcı sitokinler (özellikle TGF- β ve IL-10) hem de immün koruyucu sitokinler (TNF- β ve IL-12) salgılanmaktadır. Buna ek olarak, mikobakteri ve bileşikleriyle karşılaşan makrofajlar, yanıt olarak TNF- α , IL-12 ve birçok kemotaksik sitokin (kemokinler) üretmekte ve enfeksiyonu kontrol altına almaya çalışmaktadır. Kandaki mononükleer hücrelerin %10-15'ini oluşturan doğal öldürücü hücreler [Natural Killer cells (NK)], içlerinde basil bulunduran ve IL-2 ve TNF- α üreten makrofajlar tarafından aktive edilirler. Aktive olan NK hücreler, IFN- γ ve diğer sitokinler üreterek enfeksiyonun erken döneminde nonspesifik olarak alveoler makrofajları aktive ederler. NK hücreler, içlerinde basil üreten makrofajları lize de edebilirler. Bu nedenle NK hücreleri, daha özgül immünite gelişmeden önce enfeksiyonun erken dönemlerinde, enfeksiyona karşı antijenden bağımsız konakçı savunmasında önemli bir yere sahiptirler (7).

2.6.2. İmmün Savunma

TB hücrel immün yanıtla kontrol edilebilen hücre içi enfeksiyonların tipik bir örneğidir. Enfeksiyon, zengin bir antikor yanıtı oluşturmakla birlikte humoral immunitenin konakçı savunmasına anlamlı bir katkısı yoktur. *M.tuberculosis* ' e ait protein ve nonprotein antijenler, polimorfik (CD-1) molekülleri ile birlikte, değişik T lenfosit alt gruplarına sunulurlar. Duyarlılaşan T lenfosit alt grupları değişik mekanizmalarla koruyucu immünite gelişimine katkıda bulunurlar. IFN- α üreten T lenfosit alt grupları (özellikle CD4+ Th-1 lenfositler) makrofaj aktivasyonuna yol açarak, sitotoksik T lenfositleri (CD4+, CD8+, CD4-CD8-lenfositler, $\alpha\gamma$ T lenfositler,

NK hücreleri, lenfokin ile aktive killer hücreler/LAK) ise granül ekzositozu veya FasL-Fas mekanizmalarını kullanarak infekte hedef hücrelerde lizise ve hücre içi basilin doğrudan öldürülmesine yol açarak konakçı savunmasına katkıda bulunurlar (7).

2.7.Tüberküloz Patogenezi

TB patogenezi ile ilgili ilk çalışmalar Robert Koch'un basil antijenine karşı gecikmiş tip hipersensitivite olduğu anlaşılan Koch fenomeni'nin tanımlanmasıyla başlamış, Max B. Lurie'nin tavşanlarda yaptığı çalışmalar ile büyük ilerleme kaydedilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen verilerle birlikte A.M. Dannenberg'in yaptığı çalışmalar, ilk infeksiyondan kavite oluşumuna kadar devam eden olayların tanımlanmasını sağlamıştır (86).

2.7.1.1. Evre I: Başlangıç Evresi (Birinci Hafta)

TB basilinin inhalasyonu ile başlar. İnsanlarda erken dönemdeki lezyonlardan örnek almak pek mümkün olmadığından, erken histopatolojik lezyonlar sadece deney hayvanlarında yapılan çalışmalar ile tanımlanmıştır. Bu evrede alveoler makrofajların mikrobisidal gücü ve basilin virulans özellikleri sonucu belirler. Alveoler makrofajlar basilin akciğere yerleşip yerleşmemesinde belirleyici rol oynar. İnfeksiyonun gelişmesine karşı konak direnci ise kısmen genetik kontrol altındadır. Sıçanlarda TB duyarlılığının otozomal dominant bir gen (Bcg geni) tarafından kontrol edildiği ve benzer bir uzantının insanlarda ikinci kromozomun uzun kolunda yer aldığı ileri sürülmüştür. Bcg geni T lenfositlerden bağımsız olarak makrofaj aktivasyon düzeyini belirlemektedir (10).

2.7.2. Evre II: Basillerin Çoğalma ve Yayılma Evresi (2-3. Hafta) (simbiozis)

Bu evrede TB basili yaşamak için kendisinin makrofajca alınmasına yardımcı olmak zorundadır. Güçlü virulan basil alveolar makrofaj içinde çoğalır, makrofajı parçalar ve sekrete edilen kemotaktik faktörlerin etkisi ile dolaşımdaki inaktif makrofajların lezyon bölgesine gelmesine neden olur. İnaktif makrofajların sitoplazmalarındaki sitoplazmik vakuoller, basilin çoğalması için ideal bir ortamdır. Bu aşama konak ve basilin tam bir ortak yaşam sergiledikleri dönemdir, her ikisi de birbirine zarar vermemektedir. Basil

yüklü makrofajlar, lenfatiklerle bölgesel lenf nodlarına taşınır, burada da kontrol altına alınamazlarsa lenfohematojen yol ile tüm vücuda yayılarak çoğalmaya devam ederler. Çünkü hücrel immun yanıt henüz gelişmemiştir (10).

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

Bu evrede lezyonlardaki basil sayısı hücrel immun yanıt ile yok edilemeyecek kadar fazladır. Gelişen geç tip aşırı duyarlılık yanıtı basillerin logaritmik çoğalmasını durdurur ve oluşan granülomların merkezinde kazeöz nekroz odaklarının gelişmesine yol açar. Bu odaklarda basiller canlılıklarını sürdürebilir, fakat uygun olmayan ortam koşulları nedeniyle artık çoğalamazlar. Kazeöz dokulardaki basillerin bir kısmı olur, bir kısmı dorman halde kalırlar. Basil çoğalmasının önlenmiş olmasının bedeli doku hasarı olmuştur. Basilin akciğerlerde ilk yerleştiği orta alt akciğer zonlarındaki primer lezyon (Ghon odağı), hiler ve paratrakeal lenfatiklerle birlikte primer kompleksi oluşturur (10).

Konakta basillerin belli bir sayıya ulaşması ve hücrel immün cevabın ortaya çıkmasına kadar 3-8 haftalık bir süre geçer. Hücrel immün cevap ile birlikte aktive olan T lenfositler ve makrofajlar basilleri çevreleyerek granümatöz inflamasyon gelişimine yol açarlar. Granülom oluşumunda, mikobakteri ile infekte makrofajlardan salınan kemokinlerin (özellikle MCP-1 ve IL-8)önemli rol oynadıkları düşünülmektedir. İnfekte makrofaj veya dendritik hücreler bölgesel lenf bezlerine basil antijenlerini taşıyarak, basilin alveole yerleşmesinden 2-3 hafta sonra antijene özgü konakçı yanıtının başlamasına katkıda bulunurlar (7).

Normal konakçıların çoğunda, akciğerdeki primer lezyon ve aynı zamanda mikropların yayıldığı distal yerler edinsel hücrel direnç etkisi ile sınırlanır. Ancak bazı konakçılar, tüberkülozu kontrol edebilecek immun yanıtı oluşturmada özellikle daha az yeteneklidirler. Bu kişilerde basil yayılması ilerleyici, kesintiye uğramamış bir şekilde görülür, primer infeksiyonu izleyerek haftalar-aylar içerisinde klinik olarak açık TB ile hasta hale gelirler. Primer infeksiyona dayanabilen bireylerde bir reaktivasyon riski devam etmektedir. Bu, değişik doku bölgelerinde canlı basillerin varlıklarını sürdürmesine bağlıdır. Tüberkülozun reaktivasyonunda en sık ve anlamlı yer akciğerlerin apeksleridir (3).

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

İmmün sistemi yeterli kişilerde eğer kazeöz odak erimezse, gelişen süreç hücre aracılı immün yanıt ile durdurulur. Tüberkülün 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 GTA yanıtı tekrarlanarak makrofajlar öldürülmeye devam edilecek, gelişen kazeöz nekroz daha geniş ve şiddetli olacaktır. Gelişen 0,1–1,3 mm capındaki kazeöz odaklar makrofajlar tarafından hiç iz bırakmadan temizlenir, 2–8 mm capında olanlar hidrolitik enzimlerle eritilir ve geride fibroz bir doku oluşur, 5–20 mm capındakiler ise çevresi fibröz bir kapsülle çevrili tüberkülomları oluşturur. Sonuçta immün sistemi yeterli kişilerde basillerin yok edilmesi ile süreç durdurularak, sadece PPD pozitifliği ile primer infeksiyon ortaya çıkmaktadır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde ise genişleyen kazeöz nekrozların akciğerde doku hasarına neden olduğu ve klinik olarak primer TB geliştiği bildirilmiştir (3).

2.7.5. Evre V: Erime ve Kavite Oluşumu

Bu evre genellikle primer infeksiyon veya hastalık sonrası endojen reaktivasyon ya da ekzojen reinfeksiyon sonrası gelişen yetişkin tip akciğer tüberkülozunda görülmektedir. Nadiren primer tüberkülozda hücresele immün yanıt yeteri kadar güçlü olsa bile süreç ilerleyip kavite oluşabilir. Kavite gelişiminin nedeni tam bilinmemekle birlikte lezyon bölgesine gelen makrofajlardan salınan hidrolitik enzimlerin etkisiyle geç tip aşırı duyarlılığın sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda mikobakterilerin makrofajları uyarak matriks metalloproteinazlarının yapımını arttırdıkları ve bu enzimlerin de kollojen I-IV’u harap ederek kavite oluşturdıkları ileri sürülmektedir (3). Tüberküloz, infeksiyon oluşumu ve bundan sonraki dönemde hastalık gelişimi olarak iki aşamalı bir süreçte sahiptir. Bulaşıcı nitelikteki bir akciğer tüberkülozlu hasta ile (yayma pozitif) temas eden PPD negatif kişilerin yaklaşık % 30 ‘unda tüberküloz infeksiyonu oluşur Yeterli hücresele immün cevap, basille ilk infeksiyonu sınırlar ve durdurur. Bu durumda primer infeksiyonun tek belirtisi PPD’nin pozitifleşmesidir. Eğer hücresele immünite yetersiz kalır ise infekte olan bu kişilerin % 5 ‘inde infeksiyonu

izleyen ilk 5 yıl içinde hastalık gelişir ve primer infeksiyon, aktif hastalığa ilerler.(sekonder tüberküloz) (geç hastalık gelişimi).(1, 7)

Tüberküloz patogenezi, canlı bir tüberküloz basilinin alveole yerleşmesinden kaviter akciğer tüberkülozu gelişimine kadar, basil ile konakçı arasında bir seri ‘ savaş’ olarak tanımlanabilir. Hücrel immünite ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık (GTA) T hücreleri ile meydana gelen; birbirleriyle yakından ilişkili olaylardır. GTA, tüberkülin deri testi pozitifliğinden ve tüberkülozda görülen kazeifikasyon, likeifikasyon ve kavitasyon gibi zararlı etkilerden sorumludur (1, 7).

2.8. Bulaşıcılık

Tüberküloz, kronik granülomatoz bir infeksiyon hastalığıdır. Olguların %98’inden *M. tuberculosis* sorumludur. Tüm organlarda görülebilen TB hastalığında en sık tutulan organ %85 oranla akciğerlerdir (87).

Primer akciğer tüberkülozu bulaştırıcıdır. Diğer organ tüberkülozlu hastalar bulaştırıcı değildir (88).

Uzun yıllar genetik geçişli bir hastalık olduğu düşünülen tüberkülozun bulaşıcı olduğu görüşü 16. yüzyılın ortalarında ortaya konulmuş ve bu dönemde hastaların toplumdan izolasyonu başlamıştır. 1843’te insandan alınan kazeöz materyalin tavşanlara enjeksiyonu ile tüberkülozun bulaştığı deneysel olarak gösterilmiştir (89).

Flugge 1907’de, solunum salgılarındaki küçük damlacıkların yeni konakçılara basili taşıdıklarını öne sürmüş ve sınırlı çalışmada, TB hastalığı olanların solunumla verdikleri damlacıkların inhalasyonu ile kobay infeksiyonlarını göstermiştir (89).

Wells 1934 yılında hastalığın hava yolu ve damlacık çekirdekleri ile hastalardan sağlam bireylere geçtiğini varsaymıştır. Riley ve arkadaşları damlacık çekirdeği modeli ve TB bulaşmasındaki ilişkiyi incelemişlerdir (90).

M.tuberculosis insandan insana solunum yolu ile geçer. Tüberküloz infeksiyonu hemen tüm örneklerde, içinde canlı tüberküloz basili içeren ve havada asılı halde duran, yeterince küçük (1-5µm) damlacık çekirdeklerinin solunum yolu ile alınması ve bunların alveollere yerleşmesiyle gerçekleşir. Bir hastanın bulaştırıcı olabilmesi için basilin havaya verilmesi ve aerosol haline geçmesi gerekir. Bu nedenle yalnızca akciğer ve larinks tüberkülozlu hastalar bulaştırıcı olarak kabul edilir. Bulaştıracılıktan en çok sorumlu olan hastalar balgam yaymaları pozitif olan hastalardır. Bir kişiden diğerine bulaşma olasılığı, taşıyıcı tarafından ortama salınan infeksiyöz damlacıkların sayısı,

ventilasyonun etkinliğ, nem süresi ve MTB suşunun virulansına bağlıdır. Uzun, yoğun ve sık temas halindeki kişiler infeksiyona yakalanma açısından özellikle risk altındadırlar ve bu oran % 22 oranında tahmin edilmektedir. Aktif ama tedavi edilmemiş tüberküloz infeksiyonlu kişiler yılda 10-15 kişiyi infekte edebilirler Bundan dolayı, bulaş zincirinin kırılması aktif tüberkülozlu hastaların izole edilmesi ve etkin bir antitüberküloz tedavinin başlaması ile mümkün olur. Böyle bir tedavi ile non resistan hastaların bulaştıracılığı bir iki hafta içinde kaybolur (91-93).

Kapalı ortamlarda, standart nem ve ısı koşullarında aerosol halindeki tüberküloz basillerinin %60-71'i 3 saat , %28-30'u dokuz saat canlı kalmaktadır. Bu nedenle solunan ortamdaki damlacık çekirdeklerinin havalandırma ve süzme yoluyla uzaklaştırılması veya ultraviyole ışık ile öldürülmesi bulaşıcılığı önlemede etkin önlemlerdir (84).

2.8.1. Bulaşı Etkileyen Faktörler

2.8.1.1. Kaynak Olgunun Özellikleri

Tüberkülozlu bir hastanın öksürme, hapsırma ve konuşması ile havaya bol miktarda basil yüklü damlacıklar atılmaktadır. Damlacıkların parçalanması ve içediği suyun buharlaşması ile damlacık çekirdekleri denilen daha küçük parçacıklar oluşmaktadır. Kaynak olgunun konuşma ile 0–210, öksürme ile 0–3500, hapsırma ile 4500–1000000 partikül oluşturduğu saptanmıştır. Bir kez öksürme ile oluşturulan partikül miktarı, ortalama 5 dakika konuşma ile oluşturulan miktara eşittir. Ayrıca bu fonksiyonların sayısı arttıkça bulaş olasılığı da artmaktadır (3, 94).

Hava yolu ile bulaşta; icinde 1–3 canlı TB basili içeren ve birkaç saat havada asılı kalabilen, 1–5 mikron büyüklüğünde damlacık çekirdekleri önemli rol oynar. Nadiren lenfatik ve hematojen bulaşma, kontamine aletlerin taşıyıcı olduğu bulaş yolu, bakterinin direkt inokulasyonu ve lokal bulaşma olduğu gösterilmiştir. TB hastalığında en bulaştıracı olan kaynak, aside direncli basil (ARB) pozitif olan akciğer ve larenks tuberkulozlu olgulardır. Kaynak olgunun kültür ve yayma durumuna bakılmaksızın uygulanan TB tedavisi ile bulaştıracılık azalır. Doğru ve etkili bir tedavi başlandıktan sonra olguların bulaştıracılıkları pratik olarak 2–3 haftada sona erer.

2.8.1.2 Çevresel Faktörler

Kaynak olgu ile paylaşılan ortamın havalandırması yetersiz, kapalı bir mekan olması bulaşmayı artırır.(95).

2.8.1.3 Karşılaşma Süresi ve YoğunluğuKaynak olgunun karşılaşma süresi ne kadar uzunsa ve basil yoğunluğu ne kadar fazla ise bulaş o kadar fazla olur (95).

2.8.1.4 Tüberküloz Basilinin Özellikleri

Basilin virulansındaki kantitatif değişiklikler arasında, tutulan organ sayısı ya da yaygın hastalık yapma eğilimi, organlardaki basil sayısı ve oluşan doku reaksiyonu veya hasarının şiddeti sayılabilir. Örneğin H37Ra *M. tuberculosis* suşu avirulandır ve insanlarda hastalıkla ilgisi olmadığı gibi hayvan modellerinde de ilerleyici enfeksiyon yapma yeteneği çok azdır. Buna karşın Oshkosh suşunun diğer suşlardan daha bulaştırıcı olduğu tespit edilmiştir (95). Basilin fiziksel ve kimyasal yapısındaki küçük değişiklikler, aerosol hale gelme, damlacık çekirdeği ortamında yaşama, ya da akciğerlerdeki primer savunmalara direnebilme yeteneği bulaşıcılığı etkileyebilir (3).

2.8.1.5 Hedef Kişinin Özellikleri

Temasının daha önce TB gecirip geçirmediği, BCG durumu, TB hastalığı gelişimini arttıran bir durum varlığı (Diabetes Mellitus, Silikozis, kortikosteroid kullanımı, transplantasyon, HIV pozitifliği vb.) kaynak olguyla karşılaşma sonrası gelişecek durumun belirlenmesinde önemlidir. Bulaştırıcı özellikteki balgam yayması pozitif tüberkülozlu bir hasta ile karşılaşılınca, PPD negatif temaslıların %30'unda klinik ve radyolojik olarak hiçbir bulgu olmaksızın PPD pozitifleşir (Primer Enfeksiyon). Enfekte olan kişilerin %5'inde enfeksiyonu izleyen ilk 5 yıl içinde erken hastalık gelişir. Enfekte olup primer tüberküloz gelişmeyen geri kalan %95'i oluşturan latent enfeksiyonlu kişilerin de %5'inde yaşamlarının herhangi bir döneminde geç reaktivasyon hastalığı (Sekonder Tüberküloz) gelişir. TB enfeksiyonu, kaynak olgu ile karşılaşma sonrası, 1–3 basil içeren damlacık çekirdeklerinin alveole ulaşmasıyla başlar (3).

Alveolde 4 olay gerçekleşebilir: (3).

- 1- Basiller güçlü bir konakçı yanıtı ile herhangi bir lezyon oluşturmada, alveoler makrofajlar tarafından yok edilebilir (3).
- 2- Basil başlangıçta çoğalabilir, fakat immün yanıtla birkaç milimetre çapında küçük kazeoz lezyonlar oluşturur ve koruyucu immünite gelişir. Bu durumda klinik ve radyolojik hiçbir bulgu olmaksızın PPD pozitifleşerek primer infeksiyon oluşur. Az sayıda basilde dorman halde kalarak latent infeksiyonu oluşturabilir (3).
- 3- Basiller çoğalmaya devam eder, geniş kazeoz lezyonlar oluşur, kan ve lenf damarları yoluyla özellikle akciğer, böbrek ve kemik doku başta olmak üzere tüm vücuda dağılır, primer TB ya da erken hastalık olarak isimlendirilen tabloyu oluşturur (3).
- 4- Primer infeksiyon sonrası dorman halde kalan basillerin çoğalmaya başlaması ile geç reaktivasyon hastalığı (sekonder TB) gelişir (3).

Tablo2.6 : Tüberküloz bulaşını etkileyen faktörler (3).

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 YOGUNLUĞU
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

2.9. Tüberkülozun Klinik Sınıflandırılması

Tüberkülozun en yaygın kullanılan sınıflandırma sistemi 1999 yılında Amerikan Toraks Cemiyeti tarafından yayınlanmıştır (96).

Bu sınıflandırma patogenezi, maruziyet ile ilgili bilgilerin kombinasyonunu temel almıştır ve MTB identifikasyonu için mikrobiyolojik, ve tüberkülozun teşhisi için immunolojik testlerle desteklenmiştir. Altı grup temel alınmıştır. Sınıf 3-5 arası olan kişilerin acilen en yakın sağlık kuruluşuna bildirilmesi gerekmektedir (96).

Tablo 2.7: Tüberkülozun sınıflandırma sistemi (96)

Sınıf	Tip
0	Tüberküloza maruziyet yok.İnfekte değil.
1	Tüberküloza maruziyet var. İnfeksiyon bulgusu yok.
2	Tüberküloz enfeksiyonu var. Hastalık yok.
3	Klinik olarak aktif tüberküloz
4	Klinik olarak aktif olmayan tüberküloz.
5	Tüberküloz şüphesi

2.10.Latent Tüberküloz Enfeksiyonu

Yayma pozitif akciğer tüberkülozlu bir olgu, kendisine tanı konulup tedavi başlanana kadar 3–5 kişiyi enfekte etmektedir. TB olguları ile temas eden sağlıklı kişilerin %5’inde ilk 2 yıl içinde aktif TB hastalığı, %95’inde ise sessiz enfeksiyon yani latent TB enfeksiyonu (LTBI) gelişmektedir. Ayrıca LTBI olgularının %5’i yaşamlarının bir döneminde aktif akciğer tüberkülozuna yakalanmaktadır (97).

Tablo 2.8 Bazı klinik durumlarda tüberküloz hastalığı için relatif risk (97)

Klinik Durum	Relatif Risk
Silikozis	30
Diabetes Mellitus	2,0–4,1
Kronik böbrek yetmezliği/ hemodializ	10,0–25,3
Gastrektomi	2-5
Jejunioileal Bypass	27–63
Böbrek Transplantasyonu	37
Kalp Transplantasyonu	20–74
Baş-Boyun Kanseri Transplantasyonu	16

Günümüzde LTBI belirlenmesinde TCT kullanılmaktadır. Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) son dönemde LTBI tanısında quantiFERON’un (Celletis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) kullanımını önermektedir (98).

TB ile mücadelede yapmamız gereken, olguları bulup onları etkili bir şekilde tedavi etmektir. Hasta bulma hızı fabrika vb. yerlerin taranmasında %0,11 (relatif hız=1) iken, temaslı muayenesinde %5,6 (relatif hız=51,3), semptomlu muayenesinde %4,99 (relatif hız=45,4) bulunmuştur. Görülüyor ki temaslı muayenesi semptomlu muayenesi kadar hatta ondan daha önemlidir. Öte yandan her temaslı PPD pozitif olmaz ve her PPD pozitif olan da hasta olmaz (99). Bireyleri TB gelişmesine daha yatkın yapan belirli faktörler vardır. Potansiyel risk faktörleri arasında

1. Yeni enfeksiyonları almayı arttıran dış risk faktörleri,

2. Yeni infeksiyon almada intrinsik yatkınlık
3. Progresif hastalık ya da LTBI'nun reaktivasyonu için intrinsik risk faktörleri yer alır (10).

Tablo 2.9 Latent tüberkülozun endojen reaktivasyonu için risk faktörleri (10)

Faktör	Yorum
Normal biyolojik değişkenler	
Genetik yatkınlık	Unsurlar arasında ırklar arası ve aynı ırk içindeki immün olaylar bulunabilir. Bu aynı zamanda aşağıda belirtilen astenik fenotip içinde yer alabilir.
Akciğer filminin durumu	Apikal fibronodüler skar varlığı yüksek riskli bir göstergedir; Ghon odağı ve plevral kalınlaşma anlamlı risk faktörleri değildir.
Astenik bünye	Yatkınlığın bir fenotipik göstergesi olabilir ... "uzun ve ince-narin".
Küçük ve ileri yaşlar	Okul öncesi çocuklar, gerçek reaktivasyon hastalığı için değil progresif primer tüberküloz için çok yüksek risk taşırlar, 65-70 yaş civarında riskte keskin artış (T-lenosit profillerinde ya da vitamin D düzeylerinde muhtemel değişimler).
Gebelik/doğum	Plasentalı daha iyi tolere etmesi için muhtemel immünbaskınlama; muhtemel beslenme stresi.
Hastalık/tıbbi değişkenler	
HIV infeksiyonu/AIDS	CD4 sayısında düşüşle birlikte progresif yatkınlık.
Diabetes mellitus	İnsülin bağımlı diyabet belirgin bir risk faktörü.
Böbrek yetmezliği/azotemi	Muhtemelen makrofajların fonksiyonlarında bozulma ile ilişkili.
Silikoze	Muhtemelen makrofajların fonksiyonlarında bozulma ile ilişkili.
Kortikosteroid tedavisi	Tek başına glukokortikoidlerin etkisini araştırmak zor; sitotoksik ilaçlar ya da immünbaskılayıcı hastalıklarla birlikte riskler artar.
Yetersiz beslenme	Çeşitli bozukluklar bu duruma neden olabilir.
Sigara içme	Sigara içme, hem yeni infeksiyon almada hem de daha sonra reaktivasyon tüberkülozu geçirmede artan risk ile ilişkili olabilir. Makrofaj fonksiyonunu etkileyebilir.
Diğerleri	
	Kanser: Hem solit tümörler hem de lenfatik ya da hematolojik malignansiler; kemoterapiye eşlik eden risk artışı.
	Transplantasyon: organ reddini önlemek için yoğun, sürekli immünbaskınlama gereklidir.
	Yasak ilaç kullanımı.
	Alkolizm.
Sosyal/çevresel değişkenler	
Evlilik durumu	Evli erkeklerle göre tek yaşayan ya da dul erkeklerde iki kat fazla risk; boşanmış erkeklerde dört kat risk; kadınlarda benzer fakat daha az belirgin bulgular.
Stres	Yukarıda belirtilen faktörlerin birçoğuyla sıkı bir şekilde iç içe geçmişse de, stres tek başına, tüberküloz riskini artırmada immünitide yeterli bozulmaya neden olabilir.
Göçmenlik ^a	Kişisel dengelerin (homeostazis'in) çok büyük ölçüde bozulması.
Hapiste olma ^a	
Evsizlik ^a	

^a Bu bireyler, sosyal/çevresel koşullar nedeniyle, aynı zamanda eksojen reinfeksiyon için yüksek risk taşırlar, bu da onların açık hastalık riskini artıracaktır.

2.11. Ekstra Pulmoner Tüberküloz

Akciğer dışı organ ve yumuşak doku tüberkülozlarına ekstrapulmoner tüberküloz (EPT) adı verilir. *Mycobacterium tuberculosis*, her doku ve organa yerleşerek hastalık yapabilir. Bunların başlıcaları miliyer TB, TB menenjit, plevra, perikard, kemik ve eklem, genitoüriner sistem, gastrointestinal sistem, deri ve lenf bezi tüberkülozlarıdır. Son yıllarda EPT yaşlılarda ve immün yetmezliği olanlarda sık görülmektedir. Hastalığın en düşük insidansı 5-20 yaş grubunda, en yüksek insidansı ise 60 yaş üstündekilerde gözlenmektedir. Dünyada HIV infeksiyonunda artışa paralel olarak EPT olgularında artma olmuştur (100).

EPT patogeneze göre üç gruba ayrılabilir. Birincisi akciğer TB olan hastaların infektif balgamları ile solunum yolları veya gastrointestinal kanal mukozalarında oluşan

tüberküloz lezyonlarıdır. EPT 'nin ikinci mekanizması enfeksiyonun bir odaktan komşuluk yoluyla yayılmasıdır. Üçüncüsü ise lenfohematojen yayılımdır. Genellikle primer enfeksiyon sırasında olur (100).

2.12. TB Tedavisi

TB tedavisinde bazı ilkelere uymak gerekmektedir (6)

1. En etkili, en güvenli ve en kısa süreli tedavi seçilmelidir.
2. Kombine ilaç kullanılmalıdır.
3. İlaçlar düzenli kullanılmalıdır.
4. İlaçlar yeterli sürede kullanılmalıdır.

TB tedavisinde en önemli faktör ilaçlardır. Dinlenme, beslenme ve iklim gibi faktörlerin etkisi önemsizdir. Kür sağlayacak bir ilaç kombinasyonu ile tedavi rejimi oluşturulmalıdır. Tedavinin başlangıcında basil sayısı en yüksek düzeyde olduğundan dirençli mutant suşların ortaya çıkma olasılığı en yüksektir. Ülkemizde olduğu gibi INH direncinin % 4 'den yüksek olduğu yerlerde başlangıç döneminde dört ilaç kullanılmalıdır. İdame döneminde en az iki ilaç kullanılmalıdır. Bu tedavide ilaçların düzenli olarak ve yeterli sürede kullanılması çok büyük önem taşımaktadır; aksi halde, ilaç direnci ve başarısızlığı ortaya çıkmaktadır (6).

TB ilaçları basilleri hızla öldürür (erken bakterisidal aktivite), ilaç direnci gelişimini önler (direnç gelişimini önleyici aktivite) ve hastanın vücudundaki basilleri sterilize eder (sterilize edici aktivite) (6).

2.12.1. Antitüberküloz İlaçlar

2.12.1.1. İzoniiazid

- a. Etki şekli: Bilinmiyor. Çoğalan basillere son derecede bakterisidal etkilidir.
- b. Farmasötik şekil: 100 mg ve 300 mg olarak bulunur.
- c. Doz: Günlük 5 mg/kg, maksimum 300 mg verilir.
- d. Uygulama şekli: Yiyeceklerle emilimi azaldığından yemekten yarım saat önce alınmalıdır. Diğer TB ilaçları ile birlikte verilir.

- e. Yan etkileri: Hepatit, periferik nöropati, ruhsal durum bozukluğu, sistemik lupus eritematozus (SLE) sendromu, cilt döküntüleri
- f. Kontrendikasyonları: Karaciğer fonksiyon bozukluğu, aşırı duyarlılık.
- g. İlaç etkileşimleri: Fenitoin, karbamazepin, disülfiram metabolizmalarını artırarak etkilerini artırabilir (6)

2.12.1.2. Rifampisin

- a. Etki şekli: Ribonükleik asid (RNA) sentezini inhibe eder. Sterilize edici etkisi en yüksek ilaçtır. Bakterisidal etkisi de yüksektir (6).
- b. Farmasötik şekil: 150 mg ve 300 mg kapsül, 100mg/ 5ml süspansiyon.
- c. Doz: Günlük 10 mg / kg, maximum 600 mg verilir.
- d. Yan etkileri: İdrar, gaita, balgam, gözyaşı turuncu olur; gastrointestinal rahatsızlık, hepatit, aşırı duyarlılık reaksiyonları, trombositopeni, grip sendromu, böbrek hasarır.
- e. Kontrendikasyonları: Hemolitik anemi, aşırı duyarlılık, tedaviye bağlı böbrek yetmezliği, trombositopenidir.
- f. İlaç etkileşimleri: Karaciğerde metabolize olan ilaçların atılımını hızlandırabilir. Bunların başlıcaları, kortikosteroidler, hipoglisemikler, makrolidler, antikonvülzanlar, beta blokerler, antikonvülzanlardır (6).

2.12.1.3. Pirazinamid

- a. Etki şekli: Etki şekli bilinmemektedir. Özellikle asit ortamlarda etkilidir.
- b. Farmasötik şekil: 500 mg 'lık tablet halindedir.
- c. Doz : Günlük 30 mg /kg' dır.
- d. Uygulama şekli: Yiyeceklerle emilimi azaldığından yemekten yarım saat önce alınmalıdır. Diğer TB ilaçları ile birlikte verilir.
- e. Yan etkileri: Hepatit, hiperürisemi, artralji, döküntü, gastrointestinal rahatsızlıktır.
- f. Kontrendikasyonları ve ilaç etkileşimleri: Karaciğer fonksiyon bozukluğu, aşırı duyarlılıktır. Ürikozürük probenesid ve sülfipirazonun etkisine antagonist etki gösterir (6).

2.12.1.4. Streptomisin

- a. Etki şekli: Bakterinin 30 S ribozomuna bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Aminoglikozid grubundadır.
- b. Farmasötik şekil ve doz: 0.5 ve 1 gramlık flakonlar halindedir. Günlük doz 1000 mg 'dır. 55 yaş üstünde ve 50 kilogramdan daha düşük ağırlıktaki kişilerde 750 mg 'dır.
- c. Uygulama şekli: İntramuskuler olarak uygulanır. İntravenöz uygulanabildiği de bilinmektedir.
- d. Yan etkileri: Vestibüler, işitme ile ilgili bozukluklar, elektrolit ve tuz dengesizliği, nefrotoksisite, ateş ve döküntü, aşırı duyarlılık.
- e. Kontrendikasyonları: Ototoksisite, vertigo, ataksi, aşırı duyarlılık, gebelik.
- f. İlaç etkileşimleri: Nefrotoksisite ve ototoksisiteyi artıran etkileri nedeniyle aminoglikozidler, amfoterisin B, sefalosporinler, etakrinik asit, siklosporin, sisplatin, furosemid, vankomisin ile birlikte kullanılmamalıdır (6).

2.12.1.5. Etambutol

- a. Etki şekli: Etki şekli bilinmemektedir.
- b. Farmasötik şekil ve doz: 500 mg 'lık tablet halindedir. Dozu, ilk iki ay günlük, 25 mg /kg sonra 15 mg /kg'dır.
- c. Uygulama şekli: Besinlerle etkileşmez. Oral yoldan çok iyi emilir.
- d. Yan etkileri: Optik nörit, hiperürisemi, gastrointestinal rahatsızlık.
- e. Kontrendikasyonları: Optik nörit varlığı, böbrek bozukluğu ve görme sorunudur.
- f. İlaç etkileşimleri: Bilinmemektedir (6).

2.12.2. Tüberkülozda Tedavi Rejimleri

Ülkemizde her TB hastasında tedavi doğrudan gözetimli tedavi (DGT) şeklinde yapılmaktadır (6).

Tedavi rejimleri iki dönemlidir: başlangıç dönemi ve idame dönemi (6).

1. Başlangıç dönemi: Hızlı çoğalan basillerin temizlendiği dönemdir. Bu dönemde dört ilaç (terkten dönenlerde 5 ilaç) kullanılır. Bakterisidal aktivite ve direnç gelişimini önleyici aktivite söz konusudur. Genellikle 2 ay sürer. Bu dönemde tedavi bırakılırsa tedavi başarısızlığı olabilir ve ilaç direnci gelişme olasılığı yüksektir.

2. İdame dönemi: Bu dönemde sterilizasyon gerçekleştirilir. Yani zaman zaman aktivasyon gösteren, aralıklı çoğalan basiller temizlenir. Yeni olgularda genellikle 4ay sürer. Bu dönemde tedavi terk edilirse nüks gerçekleşebilir ve genellikle basil ilaçlara duyarlıdır (6).

2.12.2.1.Tedavi Şeması

Tablo 2.10 TB olgu tanımlarına göre tedavi şeması (6).

TEDAVİ ŞEMASI		
HASTALIĞIN TÜRÜ	BAŞLANGIÇ FAZI (2 ay)	İDAME FAZI
Yeni Olgular	HRZE veya HRZS	4 ay HR
Tedaviye ara verip dönenler	2 ay HRZES	5 ay HRE
Nüksler	1ay HRZE	
Çocuk TB	HRZ	4 ay HR
Ekstra Pulmoner TB (Meningit, milier, perikard, peritonit, iki taraflı plörezi, omurga, genitoüriner, intestinal) Diğerleri	HRZE veya HRZS	7-10 ay HR
	Aynı	4 ay HR
Tedavi başarısızlığı, Kronik olgular	Bu konuda uzmanlaşmış merkezlerde 2. kuşak ilaçlarla tedavi edilir.	

İzoniyazid (INH), (H), Rifampisin (R) Pirazinamid (Z), Morfozinamid (M), Etambutol (E), Streptomisin (S)

2.12.3. İkinci Grup Tüberküloz İlaçları

İkinci grup anti- TB ilaçları: Amikasin, Kanamisin, Kapreomisin, Etyonamid, Protionamid, Para-amino salisilik asit, Sikloserin, Ofloksazin, Siproflaksozin, Klorfazimin ve Thioasetazon'dur (6).

2.12.4. Tüberkülozda Kortikosteroid Kullanımı

Kortikosteroidler TB tedavisinde genellikle akciğer dışı tüberkülozda gerekli olmaktadır. Günlük doz 0.5 mg/kg prednizolon eşdeğeri dozda 4-6 hafta verilebilir. Sonra doz basamaklı olarak azaltılarak kesilir. Ağır milier TB ya da genel durumu bozuk TB hastasında TB tedavisi ile birlikte kortikosteroid verilmesi hastanın genel durumunu düzeltir ve tüberküloz ilaçlarının etki edeceği dönemde hastaya destek olur (6).

2.12.5. Koruyucu İlaç Tedavisi

Koruyucu ilaç tedavisi, kemoproflaksi ya da latent TB infeksiyon tedavisi olarak da adlandırılır. Koruyucu ilaç tedavisinin amacı, TB hastası ile teması olan kişide infeksiyon gelişimini ya da *M.tuberculosis*'le infekte kişide TB hastalığı gelişimini önlemektir. Toplumda TB basili ile infekte olmuş herkese koruyucu ilaç tedavisi vermek mümkün değildir; bu nedenle TB hastalığı gelişme riski yüksek olan gruplara önerilmektedir. Koruyucu ilaç tedavisi ile latent infeksiyonu olanlarda hastalık gelişimi önlenerek yeni bir basil kaynağının ortaya çıkması önlendiği için epidemiyolojik olarak da TB kontrolünde önemi vardır. (6).

Tablo 2.11. Ülkemizde koruyucu ilaç tedavisi endikasyonları (6).

TÜBERKÜLOZ HASTASI İLE TEMASI OLMAYANLAR	
15 yaşından küçük TCT pozitif çocuklar	Yeni enfeksiyonda TB hastalığı gelişme riski yüksektir ve çocuklarda genellikle yeni enfeksiyon söz konusudur. Çocuklarda TB hastalığı, hayatı tehdit eden milier ve menenjit formlarda ortaya çıkabilir.
TCT konversiyonu	Son 2 yılda, bu arada BCG aşısı yapılmamış olmak koşuluyla, daha önce negatif olan TCT'nin en az 6 mm artış göstermesi ve pozitifleşmesi.
Akciğer filminde TB sekeli lezyonu	Eski TB ile uyumlu sekel lezyonu olan 35 yaş altındakiler (36)*.
TB riskini artıran bağışıklığı baskılanmış TCT pozitif kişiler**	Bu grup hastada TCT pozitifliği kriteri 5 mm ve üzeri değerlerdir.
TÜBERKÜLOZ HASTASI İLE TEMASI OLANLAR	
35 yaşından daha genç olanlar	Koruyucu tedavi 6 ay süreyle verilir. 6 yaşından küçük çocukları koruyucu tedavinin sonunda TCT yapılır. Negatif bulunursa, BCG aşısı yapılır; pozitif bulunursa birşey yapılmaz. (Önceki kılavuzlarda 15 yaşa kadar öneriliyordu. İstanbul'da yapılan bir çalışma ile 16-35 yaş grubundaki temaslılarda TB hastalığı gelişme riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (54).
TCT konversiyonu	Son 2 yılda, bu arada BCG aşısı yapılmamış olmak koşuluyla, daha önce negatif olan TCT'nin en az 6 mm artış göstermesi ve pozitifleşmesi.
Akciğer filminde TB sekeli lezyonu	Eski TB ile uyumlu sekel lezyonu olan 35 yaş altındakiler (36)*.
TB riskini artıran bağışıklığı baskılanmış kişiler**	

Kemoprofilaksi için INH erişkinlerde günde 5 mg/kg (maksimum 300 mg), çocuklarda 10 mg/kg/ gün hesabıyla 300 mg'ı geçmeyecek şekilde 6 ay süreyle verilir. HIV pozitifler, silikozis olanlar, bağışıklığı baskılayıcı tedavi alanlar, eski TB sekeli olanlara 9 ay önerilmektedir (7). Kaynak olgu INH'a dirençli ise R (birlikte INH da olabilir) en az 4 ay, R ve Z verilirse 2 ay süreyle verilmelidir. TB hastalarının temashılarına koruyucu tedavi verilirken, hastaya verilen tedavi süresinden daha uzun olmamasında yarar vardır (101).

Koruyucu ilaç tedavisine başlamadan, o kişide TB hastalığı olmadığı gösterilmelidir. Bunun için hastanın tıbbi öyküsü alınır, akciğer filmi, fizik muayene ile hasta değerlendirilir. TB hastalığı düşündüren bulgu saptanırsa bakteriyolojik inceleme yapılır. TB hastalığı varsa ve saptanmazsa, koruyucu tedavi ilaç direnci gelişimine neden olabilir. Koruyucu tedaviye başlamadan önce, o kişinin ev içi temashılarının TB açısından taranması gerekir; öyküsünde ev dışında kuşkulu kişiler varsa onların da taranması uygundur (101).

Diabet, üremi, alkolizm, malnütrisyon, gebelik, epilepsi varlığında INH ile birlikte pridoksin (vitamin B6) kullanımı endikasyonu vardır. Günde 10 mg verilir (102).

INH kemoterapisi konusunda günümüzdeki uygulama aşağıdaki gibidir (3). Aktif tüberkülozlu olgular, önceden düzenli tedavi almış olanlar, daha önce INH'a bağlı ciddi yan etki görülen kişiler ile akut karaciğer yetmezliği durumunda koruyucu ilaç kullanımı kontrendikedir. Diabetli, alkolik, böbrek yetmezliği veya kronik karaciğer hastalığı olan kişiler ile gebeler ve önceden isoniazide bağlı minör yan etki görülmüş kişiler ve çok yaşlılarda mutlak kontrendikasyon olmamakla birlikte tedavi süresince yakın izlem gerekir. Gebelerde yüksek hastalık gelişme riski yoksa koruyucu tedavi doğum sonrasına bırakılmalıdır (3).

Gelişebilecek hepatotoksisiteyi saptamak üzere INH profilaksisi uygulanan kişiler izlenmelidir. Otuz beş yaşın altındakilere aylık semptom sorgulaması, 35 yaş ve üzerindekiilere ise buna ilaveten tedavinin başlangıcında periyodik olarak karaciğer enzimlerinin takibi önerilmektedir. Başka bir nedene bağlı olmaksızın hepatit semptomları gösteren bir olguda transaminazların yükselmesi, SGOT değerinin başlangıç düzeyinin 5 katı veya normal üst sınırın 3 katı yükselmesi ve başka nedeni olmaksızın transaminazlar ile birlikte bilirubin artışı gibi durumlarda INH tedavisi kesilmelidir. INH kesildikten sonra, eğer verilmesi gereken dozun %80'i verilmişse, yeterli kabul edilebilir; eğer daha az ilaç kullanmışsa, rifampin ile devam edilebilir (3). INH'a yüksek direnç, INH'a bağlı yüksek hepatit riski, 6–12 aylık INH tedavi süresinin

uygun olmadığı durumlar gibi nedenlerle farklı ilaçlarla koruyucu tedavi yaklaşımları denenmiştir. Haftada iki kez aralıklı olarak yüksek doz (15mg/kg) INH, doğrudan gözetim altında verilmek koşuluyla uyumsuz kişiler için bir alternatif olabilir. Rifampin veya diğer Rifampin grubu ilaçlar (rifabutin, rifapentin) koruyucu tedavide diğer seçeneklerdir. Günlük 10 mg/ kg dozda, maksimum 600 mg'ı geçmeyecek şekilde 4 ay süreyle rifampin, 2 ay süreyle rifampin+pirazinamid gibi farklı protokoller farklı hasta gruplarında önerilmektedir (3).

2.13. Tüberkülozu Önlemek İçin Aşı Uygulaması

Calmette ve Guérin safranin *M. bovis* suşunun virülansını azalttığını ve seri halde 231 pasajdan sonra, bu zayıflatılmış basillerin hayvan modellerinde belirgin koruma sağladığını gösterdiler ve 1920'lerin başlarında bu bir insan aşısı olarak sunuldu (103). BCG canlı bir aşıdır. Genellikle sol deltoid bölgeye, tipik olarak cilt altına veya cilt içine inokülasyonla uygulanır; oral yoldan ya da aerosol olarak uygulanması son derece nadirdir. Sulandırılmadan oda sıcaklığında bir ay, buzdolabında +2 ile +8°C'de 1–2 yıl etkinliğini korur. Işığa ve ısıya karşı çok dayanıksızdır. Sulandırıldıktan sonra 6 saat içinde kullanılması gerekir. Kendi sulandırıcısı dışında herhangi bir sulandırıcı ile kesinlikle sulandırılmaz. Basil yerel bir enfeksiyon yapar, seyrek olarak yerel lenfadenit ile birlikte. Basilin büyüme hızının yavaşlığı nedeniyle, bu olay tipik olarak 6–8 haftada gerçekleşir. Tüberküloproteine geç tip aşırı duyarlılık sıklıkla bu dönemde gelişir. Tüberkülin testi aşılanaınların tümünde değil, fakat çoğunluğunda pozitifleşir. Bu aşının koruyucu etkisi geç tip aşırı duyarlılığa neden olma derecesi ile ilişkili değildir (104). Yerel akciğer yerleşmesini engelleyememesine rağmen, BCG teorik olarak, akciğer ve akciğer-dışı tüberkülozun her ikisini de azaltabilmektedir. İlk kontrollü aşılama çalışmalarından biri 1935 yılında yürütülmüş ve bu çalışmada, hastalığa karşı %75 bir koruyucu etki görülmüştür (105). Bunu izleyerek çok sayıda çalışma yürütülmüş ve BCG aşısının etkilerinin yukarıya doğru %80 koruma ile aşağıya doğru %56 etkiye kadar değişmekte olduğu görülmüştür (10).

2.13.1. BCG' nin Yan Etkileri

BCG tüberkülin cilt testini bozarak, yeni enfeksiyonu ve böylece koruyucu tedaviye adaylığı gösteren tek pratik aracı sıfırlamaktadır. Yeni enfeksiyon, geleneksel olarak

tüberkülin negatifliğinden çeşitli düzeylerde endürasyonlu yanıt kadar konversiyon ile belirlenir. Bununla birlikte BCG yapılanlardan %15-90'ının başlangıçta tüberkülin pozitifliği yoktur (104). Aşıdan sonra zaman geçtikçe pozitiflerin yüzdesi azalmakla birlikte, bebekken aşılananlarda ve 5 yaşında aşılananlarda TDT'ye genç erişkin iken reaksiyon verme sırası ile %8 ile %25'tir (106). Başlangıç TDT'ye cevap vermeyen BCG aşılarının, sonraki TDT'lerinde ilk teste bağlı önemli reaktiviteyi artırma (boosting) riski taşıdıkları bulunmuştur. Bu durum bireylerin peş peşe cilt testi ile izlenmesini engellemektedir. BCG aşısı, yan etkileri az olan bir aşıdır. Aşıdan sonra görülen komplikasyonlar daha çok aşının dozu, aşılama yeri ve derinliği, aşılanan kişinin yaşı ve bağışıklık sisteminin durumuyla ilgilidir (107).

En sık görülen komplikasyonlar, aksiller ve servikal adenopatilerle lokal apselerdir. Adenopatiler genellikle aşıdan 1-2 ay sonra meydana gelmektedir, fakat nadir de olsa 8-12 ay sonra ortaya çıkabilir. Tedavi uygulamak gerekmez. Büyük adenopatiler blok halinde cerrahi olarak çıkarılabilir. Fluktuasyon vermeyen adenopatiler için bir şey yapmak gerekmez. Süpüre olanlar ise iğne ile aspire edilir ve drenaj sağlanır, ya da eksize edilebilir. INH verilmesi tedavi süresini kısaltmaz. Aşı yerinde meydana gelen geniş ve deriden kabarık hasır örgüsü görünümündeki anormal skarların genetik nedenlerle olduğu düşünülmektedir (107).

2.13.2. Erken Aşı Reaksiyonu

Aşıdan sonraki bir hafta içinde aşı yerinde akıntı yara ve şişlik oluşur. Bu, çocuğun daha önce TB basili ile enfekte olduğunu (TDT pozitifliği) gösterir (90). Bu nedenle üç aylıktan büyük çocuklara BCG aşısı yapmadan önce TDT yapmak gereklidir. Erken aşı reaksiyonuna **Koch fenomeni** ya da **akselere reaksiyon** da denilebilir. Koch fenomeni, TB basili ile daha önce enfekte olmuş ve tüberkülin allerji düzeyleri yüksek kişilerin basille tekrar karşılaştıklarında basilin girdiği yerde 1-3 gün içinde meydana gelen kuvvetli spesifik reaksiyondur. Akselere reaksiyon, basille karşılaşmış ancak henüz anti-alerjik devrede olan ya da uzun yıllar önce karşılaştığı için tüberkülin allerjisi zayıflamış olan kimselerde görülür. Böyle kimselere aşı yapıldığında aşı yerinde 3. günden sonra kızarıklık ya da akıntı olabilir. Erken aşı reaksiyonu oluşursa, TCT pozitif gibi davranılır; TB hastalığı araştırılır. Hastalık yoksa koruyucu tedavi verilir, kaynak olgu araştırılır (91).

BCG aşısının nadir de olsa diğer komplikasyonları; aşı yerinde lupus vulgaris ve keloid

gelişimi aşı suşuyla sistemik TB infeksiyonu (özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda), aşı suşu ile olan osteomiyelit, diffüz lenfadenit, hepatosplenomegali ve genitoüriner lezyonlardır (91).

2.13.3.BCG Aşısının Yapılmayacağı Durumlar

- 1 Ateşli hastalığı olanlar
- 2.Kızamık salgını sırasında (kızamık aşısı yapılmamış olanlar)
- 3.İmmün yetmezliği olan hastalar
- 4.TB hastalığı geçirenler
- 5.Deri hastalığı olanlar (egzema vs...)
- 6.Kortizon grubu ilaçlarla tedavi görenler
- 7.TDT pozitif olanlar (108).

2.13.4. Türkiye’de BCG Uygulaması

Ülkemizde 1981–1982 yıllarında yapılan prevalans çalışmalarının verilerine göre, BCG’nin Türkiye’de bütün yaş gruplarında koruyuculuğu %72,7 bulunmuştur; özellikle de 0–6 yaş grubunda %85 olarak hesaplanmıştır (108).

Sağlık Bakanlığı biri doğumdan 2 ay sonra, diğeri ilkokul birinci sınıfta olmak üzere, çocuklarda iki kez BCG yapılmasını kararlaştırmıştır. Doğumdan hemen sonra BCG yapılabilir fakat bebeğin cildi çok ince olduğu için teknik zorlukları vardır. Ayrıca komplikasyonların daha fazla olması ve bağışıklık yanıtının yeterli gelişmemesi nedeniyle pek tercih edilmez. Ülkemizde TDT kontrolü ile BCG aşısı yapılırken karar yaklaşımı Tablo XII’de verilmiştir (6).

Tablo 2.12 TDT kontrolü ile BCG aşısı yapılırken karar yaklaşımı (6).

TDT	BCG Skarı Yok	BCG Skarı Var
0	Aşılanır	Aşılanır
6-9 mm	1 haftadan sonra TCT tekrarlanır. 10mm' den az ise aşılanır	Bir şey yapılmaz
10-14 mm	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır.*	Bir şey yapılmaz
15 mm ve üstü	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır.*	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır.*

*BCG aşısı için TCT 0–6 yaş grubuna yapıldığı için burada koruyucu tedavi verilen kişiler 6 yaş altındakilerdir.

BCG diğer aşılarla aynı anda yapılabilir. Canlı virüs aşıları ile birlikte, aynı anda farklı kollardan uygulanabilir. Birlikte uygulanmamışsa dört hafta ara ile yapmak uygun olur. İmmün yetmezliği olan çocuklara BCG yapılmaz (6).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinde en az iki aydır immünsüpresif tedavi alan, 33 kadın, 32 erkek olmak üzere 65 kişi ve kontrol grubu olarak 34 kadın, 31 erkek olmak üzere. 65 kişi alındı. Etik Kurul onayı alındı ve immünsüpresif ve kontrol grubundaki kişilere Etik Kurul'da düzenlenen Hasta Bilgilendirme Formu okutuldu. Yapılacak işlemler hakkında bilgi verildi. Daha sonra onayları alındı. Yaşı 18 'den küçük olanlar için ebebeyinlerden birinin onayı alındı. Adres ve telefon numaraları kaydedildi. Quantiferon TB-Gold in tube yöntemiyle hastaların periferik kanında IFN- γ miktarı ölçüldü. Bu hastalara aynı zamanda TDT uygulanıp sonuçları değerlendirildi. Bu şekilde her iki grupta latent TB enfeksiyonu araştırılarak iki yöntemin tanıda sensitivite ve spesifitesi değerlendirildi. İmmünsüpresif hastalar, en az 2 aydır immünsüpresif tedavi alan hastalardan seçildi. Hastalardan AC grafisi istenilip bulgular klinik verilerle birlikte değerlendirilerek, aktif TB şüphesi araştırıldı.. Aynı şekilde immünsüpresif tedavi görmeyen ve kontrol grubu olarak seçilen 65 sağlıklı gönüllüde de Quantiferon yöntemi ve TDT uygulanıp sonuçlar karşılaştırıldı. Kontrol grubundaki kişilerin klinik bulguları AC grafileri ile birlikte aktif TB şüphesi yönünden değerlendirildi

3.2. Örneklerin Dağılımı:

Hastaların 32'si Romatoloji, ikisi Onkoloji, 30'u Dermatoloji, biri ise Dahiliye Polikliniğinden gönderilmişti. Hastalar en az iki aydır immünsüpresif tedavi altındaydılar. Kontrol grubuna tüberküloz şüphesi olmayan, immünsüpresif tedavi almamış olan sağlıklı gönüllüler seçildi.

3.3. TDT Uygulanması

Yoğunluğu 0.1 mg/0.1ml, 5 standart tüberkülin ünitesi hasta ve kontrol grubuna ön kol derisi içine enjekte edildi. Olgulara sonuçlar okununcaya kadar enjeksiyon bölgesine su değirmemeleri ve kaşıma oğuşturma gibi travmatize edici hareketlerden kaçınmaları

belirtilirdi ve sonucun değerlendirilmesi için 48- 72 saat sonra tekrar gelmeleri istenerek, 72 saat sonra gelmelerinin tercih edildiği soylendi. Deri testi 48-72 saat sonra değerlendirilerek reaksiyon yerinde oluşan endurasyon çapı lld. Enjeksiyon bölgesindeki eritemin çapı değerlendirilmeye alınmadı. TDT sonucu değerlendirilirken immünsüprese grupta endurasyon çapı 5mm ve üzeri olgular TDT pozitif kabul edilirken, 5mm altındaki sonuçlar TDT negatif olarak kabul edildi. Kontrol grubunda ise BCG skarı olmayanlarda endurasyon çapı 0-5 mm ise negatif, 6-9 mm olanlar şüpheli, 10 mm ve üzeri sonuçlar ise pozitif kabul edildi. Çalışmada BCG skarı negatif olup endurasyon çapı 6-9 mm olan bir olguya rastlanmadı. BCG skarı pozitif olan olgularda endurasyon çapı 0-5 mm olanlarda TDT negatif, 15 mm ve üzeri sonuçlar pozitif olarak kabul edildi. Bu grupta endurasyon çapı 6-14 mm olan olgularda sonuç BCG'ye atfedilerek negatif olarak değerlendirildi.

3.4. Quantiferon-TB Gold in tube alışma Protokolü

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

Kit içerisinde, mikropalak stripleri, insan IFN-γ standardı, liyofilize dilüent, 100x konsantre ve liyofilize konjugat, yıkama tamponu, 20x konsantre Enzim Substrat Solusyonu 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 i 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 santrifüj edilerek plazma ayrıldı.

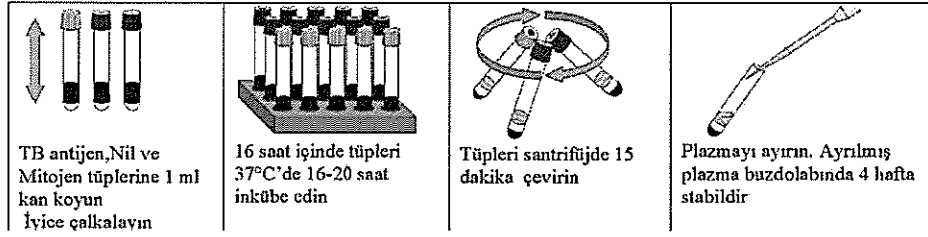
Daha sonra bu tüpler etiketlenerek test çalışılınca kadar -20 C°de bekletildi. Hastalardan alınan üç tp plazmanın birisi negatif kontrol olan 'nil' tüpü, birisi pozitif kontrol olan 'mitojen' tüpü, diğeri ise antijen tüpü idi. Plazma numuneleri alışılacağında reaktiflerle birlikte oda sıcaklığına gelene 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 solusyonu 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 dilüent (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/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 solusyonu ile en az 6 kez yıkandı.
15. Daha sonra her kuyuya 100 µl enzim substrat solüsyonundan eklenip mikroplak 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 mikroplak 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.

Şekil 3.1 Quantiferon testinde kan örneğinin inkübasyonu

1. Aşama: Inkübasyon ve ayırma



3.5. İstatistik yöntem:

İki yöntem karşılaştırmalarında Kappa istatistiği, yöntemlerin tanı koyma yeteneklerinin belirlenmesinde sensitivite ve spesifite değerleri ve %95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11,5 ve MedCalc version 12.1 paket programları kullanılmış ve $P \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmanın başlangıcında 160 kişinin kanı alındı ve Quantiferon –TB Gold in tube testi çalışıldı ancak immünsüpresse gruptan 3 hasta kan alındıktan sonra çalışma sırasında ex olduğu için TDT çalışılmadı. 15 hastanın telefonuna hiçbir şekilde ulaşamadığından TDT okunamadı. Kontrol grubundan 9 kişi ise kan verdikten sonra birkaç kez aranmasına rağmen TDT yaptırmak veya TDT yapıldıktan sonra sonuç okunması için gelmedi. Aynı isim ve soy isimle örneği iki kez alınan 2 hastaya daha sonra ulaşıldığında bu kişilerin aynı kişiler olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda 1 kişinin örnek alındıktan hemen sonra gebe olduğu tespit edildi ve TDT yapılamadı. Hasta grubunda 18, kontrol grubunda ise 12 kişi olmak üzere toplam 30 kişinin TDT’si yapılamadı.

Çalışmada çeşitli polikliniklerden gönderilen 65 immunsuprese hastanın ve 65 sağlıklı gönüllüden oluşan kontrol grubunun kan örnekleri alındı. İmmünsüpresse grubun aritmetik yaş ortalaması 42 (18-65 yıl), Standart sapma: 10.64488, varyans: 113.3134610 idi. Kan örnekleri kabul edilen hastaların en az 2 aydır immunsupresif tedavi almış olmasına dikkat edildi Kontrol grubunun aritmetik yaş ortalaması ise 46 (13-79 yıl) , Standart sapma: 12.97581, varyans: 168.37163 idi. Kontrol grubundan 18 kişi hastane çevresindendi. İmmünsüpresse ve kontrol grubundaki kişilere Quantiferon-TB Gold in tube testi uygulanarak periferik kanda IFN- γ miktarı ölçüldü. Bu kişilerin eş zamanlı TDT’lerine bakılarak sonuçları karşılaştırıldı. Her iki grubun duyarlılık ve özgünlüğü değerlendirildi ve kappa değeri ve p sonucu saptanarak kaydedildi.

Tablo 4 1: İmmunsupressif hastalarda Quantiferon ve TDT sonuçları:

N=65		TDT Sonuçları		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Quantiferon Testi Sonuçları	Pozitif	12	2	14
	Negatif	17	27	44
	Tanımsız	3	4	7
	Toplam	32	33	65

Hasta Grubunda Kappa değeri: 0.345, p=0.002

Örneklerde toplam 14 hastada Quantiferon- TB Gold in tube test sonuçları pozitif bulunurken, 44 hastada negatif bulundu. Toplam 7 hastada ise sonuç, tanımsız (şüpheli)

olarak değerlendirildi. TDT sonuçları ise toplam 32 kişide pozitif iken, 33 hastada negatif bulundu. Otuzdokuz hastada Quantiferon –TB Gold in tube test sonuçları ile TDT sonuçları (pozitif ve negatif sonuçlar) birbiriyle uyumlu bulundu. Bunlardan 12 hastada her iki test sonucu pozitif iken 27 hastada her iki test sonucu negatif idi. Toplam 19 hastada sonuçlar birbiriyle uyumsuz saptandı. On yedi hastada Quantiferon-TB Gold in tube testi negatif sonuç verirken, TDT sonucu pozitif idi. Buna karşın 2 hastada Quantiferon- TB Gold test sonucu pozitif iken TDT sonucu negatifti. Quantiferon –TB Gold in tube testinde tanımsız olarak rapor edilen toplam 7 hastanın TDT sonuçları 3 hastada pozitif iken 4 hastada negatif bulundu. Hastalarda aktif tüberküloz varlığının araştırılması amacıyla, 3 haftadan fazla bir süredir öksürük, balgam çıkarma, gece terlemesi, halsizlik, kilo kaybı gibi şikayetlerinin olup olmadığı soruldu ve AC grafileri değerlendirildi. Bu değerlendirmeler sonucunda aktif bir AC tüberkülozu bu hastalarda düşünülmeydi. Kontrol grubu olarak çalışmaya alınan toplam 65 kişinin eş zamanlı olarak çalışılan Quantiferon–TB Gold in tube test sonuçları ve TDT sonuçları karşılaştırıldı.

Tablo4 2: Kontrol Grubunda Quantiferon ve TDT sonuçları

n=65		TDT Sonuçları		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Quantiferon Sonuçları	Pozitif	15	14	29
	Negatif	9	25	34
	Tanımsız	1	1	2
	Toplam	25	40	65

Kontrol Grubunda Kappa değeri: 0.256 (p=0,040)

Kontrol grubunda toplam 65 kişi çalışmaya gönüllü olarak katıldı. Bu kişilerde immün süpresyonu düşündürecek bir hastalık ya da tedavi bulunmamaktaydı. Yine aktif TB düşündüren klinik bir bulguya rastlanmadı. Quantiferon –TB Gold in tube test sonuçları 29 kişide pozitif iken 34 kişide negatif bulundu. İki kişide ise tanımsız olarak rapor edildi. TDT sonuçları ise toplam 25 kişide pozitif, 40 kişide negatif olarak tespit edildi. 40 kişide her iki test sonucu Pozitif ve negatif) birbiriyle uyumlu bulundu. Yirmi beş kişide her iki testin sonucu negatif iken 15 kişinin her iki test sonucu pozitif bulundu. Yirmi üç kişide iki testin sonuçları birbiriyle uyumlu değildi. Dokuz kişide Quantiferon-TB Gold in tube test sonucu negatif iken TDT sonucu pozitif, buna karşın 14 kişide Quantiferon- TB Gold in tube test sonucu pozitif iken TDT sonucu negatifti.

Quantiferon-TB Gold in tube testi tanımsız olarak rapor edilen bir kişinin TDT'si pozitif bulunurken diğer kişinin TDT sonucu negatif olarak bulundu.

Kontrol grubunda Quantiferon-TB Gold in tube ve/veya TDT pozitif olanlar TB araştırılması için Göğüs hastalıkları polikliniğine yönlendirildi.

TDT yapılamayıp sadece Quantiferon- TB Gold in tube testi çalışılan örneklerde ise sonuçlar şöyleydi: Ex olan 3 hastadan ikisinin Quantiferon –TB Gold in tube testi negatif iken bir hastanın sonucu pozitif. Gebe olan hastanın Quantiferon- TB Gold in tube testi sonucu negatifti. TDT için görüşmeye gelmeyen 15 hastanın sonuçları ise şöyleydi: 5 kişinin Quantiferon- TB Gold in tube testi sonucu pozitif iken 10 hastada ise negatifti. Mükerrer çalışılan hastalardan birinin test sonucu negatif iken TDT sonucu pozitif. TDT yaptırmaya veya bu test yapıldıktan sonra sonuçlarını okutturmak için geri gelmeyen dokuz kişinin Quantiferon-TB Gold in tube test sonuçları ise iki kişide pozitif iken yedi kişide negatifti.

İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11,5 ve MedCalc version 12.1 paket programları kullanıldı ve $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

İki yöntem karşılaştırmasında Kappa istatistiği, yöntemlerin tanı koyma yeteneklerinin belirlenmesinde sensitivite ve spesifite değerleri ve %95 güven aralıkları hesaplandı.

Tanımcı istatistik olarak frekans, yüzde değerleri verildi. Hasta grubunda Kappa değeri 0.345, $p=0.002$ saptandı. Kontrol grubunda ise Kappa=0.256 ($p=0,040$) bulundu.

Yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü aşağıdaki gibidir.

Quantiferon TB-Gold in tube testi için:

Sensivite: % 24.14 (Güven aralığı 13.87-37.17)

Spesifite: % 53.97 (Güven aralığı 40,94-66,61).

TDT için:

Sensivite % 49.23 (Güven aralığı 36,60-61,93)

Spesifite: % 61,54 (Güven aralığı 48,64-73,35) olarak saptandı.

Tablo 4.3: Hasta grubunun epidemiyolojik, serolojik ve klinik özellikleri

HASTA ADI	CİNSİYE T	YAŞ	QUANTI FERON	TDI	SKAR	TEŞHİS	KULLANILAN İLAÇLAR
1-S.E	Erkek	50	pozitif	pozitif	pozitif	Mesane CA	Prednol
2-M.K	Erkek	36	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Remicade
3-M.T	Kadın	28	negatif	negatif	negatif	Behçet	Prednol
4--M.A	Erkek	32	negatif	negatif	negatif	Romatoid artrit	Metotoraxat
5-M.F	Kadın	19	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Remicade
6-İ.U	Kadın	51	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Humira
7-E.Ö	Erkek	46	negatif	negatif	pozitif	Romatoid artrit	Prednol
8-A.G	Erkek	38	negatif	negatif	negatif	Stil hastalığı	Prednol
9-M.E	Erkek	30	negatif	negatif	negatif	Psöriazis	Humira
10-A.F	Erkek	34	negatif	negatif	pozitif	psöriazis	Neotigason
11-S.K	Kadın	27	negatif	negatif	pozitif	Lenfoma	Dekort
12-M.K	Erkek	36	pozitif	pozitif	pozitif	psöriazis	Humira
13-C.T	Erkek	42	pozitif	pozitif	pozitif	psöriazis	Sandoimmun
14-K.A	Erkek	33	tanımsız	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Prednol
15-H.S	Kadın	28	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Remicade, Prednol, Metotoraxat
16-T.Ö	Kadın	18	negatif	negatif	negatif	Psöriazis	Remicade
17-S.B	Kadın	44	negatif	negatif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade
18-M.Z	Erkek	70	negatif	negatif	negatif	Psöriazis	Humira
19-H.K	Kadın	22	negatif	negatif	negatif	Romatoid artrit	Humira
20-B.Z	Erkek	26	negatif	negatif	pozitif	Romatoid artrit	Dekort
21-A.T	Kadın	55	pozitif	pozitif	negatif	Psöriazis	Remicade
22-R.Y	Erkek	48	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Humira
23-H.K	Kadın	29	negatif	negatif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade
24-H.Ö	Kadın	46	negatif	pozitif	negatif	Romatoid artrit	Metotoraxat
25-F.K	Erkek	23	pozitif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Enbrel
26-H.U	Kadın	40	pozitif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade
27-N.B	Erkek	49	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Metotoraxat, Humira
28-Ş.K	Kadın	65	negatif	negatif	pozitif	Romatoid artrit	Dekort
29-Z.Ö	Kadın	39	negatif	negatif	pozitif	Romatoid artrit	Metotoraxat
30-S.C	Kadın	33	pozitif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Humira
31-E.E	Erkek	25	negatif	negatif	pozitif	Lenfoma	Dekort
32-H.Ş	Kadın	32	pozitif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Humira

33-F.K	Kadın	45	negatif	negatif	negatif	Psöriazis	Humira
34-A.T	Kadın	55	pozitif	pozitif	negatif	Romatoid artrit	Arava
35-S.T	Erkek	39	negatif	negatif	pozitif	Psöriazis	Metotoraxat
36-S.A.Ö	Erkek	36	pozitif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade
37-M.A	Erkek	34	negatif	negatif	pozitif	Romatoid artrit	Remicade
38-T.B	Erkek	42	pozitif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade
39-A.Y	Erkek	37	negatif	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Prednol
40-Z.E.T	Kadın	28	negatif	pozitif	pozitif	psöriazis	Remicade
41-A.M.E	Erkek	22	negatif	pozitif	pozitif	psöriazis	Humira
42-Ş.Ç	Kadın	50	negatif	pozitif	pozitif	psöriazis	Enbrel
43-A.G	Kadın	28	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Humira
44-S.E	Kadın	29	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Remicade
45-Y.T	Erkek	37	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Humira
46-E.Y	Kadın	31	negatif	pozitif	pozitif	Takayasu artrit	Prednol, Remicade
47-N.Ç	Kadın	22	negatif	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Prednol
48-Z.S	Erkek	37	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Remicade
49-S.Ç	Kadın	23	negatif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Arava, Remicade
50-S.D	Erkek	32	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Sandoimmun, Humira
51-A.G	Erkek	29	negatif	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Remicade
52-İ.Y	Erkek	39	pozitif	negatif	pozitif	psöriazis	Sandoimmun
53-Y.K	Kadın	22	negatif	pozitif	pozitif	psöriazis	Remicade
54-M.A	Kadın	36	pozitif	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Prednol
55-Ş.A	Erkek	34	negatif	pozitif	pozitif	Psöriazis	Humira
56-Z.A	Kadın	40	negatif	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Remicade, humira
57-E.K	Erkek	33	negatif	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Remicade, Humira
58-E.D	Kadın	37	tanımsız	negatif	pozitif	SLE+Romatoid artrit	Prednol
59-S.A	Kadın	19	negatif	negatif	negatif	Psöriazis	Remicade
60-Y.Y	Kadın	30	tanımsız	pozitif	pozitif	Romatoid artrit	Metotoraxat
61-T.Ö	Erkek	28	tanımsız	negatif	negatif	Behçet	Prednol
62-İ.G	Kadın	31	tanımsız	negatif	pozitif	Behçet	Prednol
63-A.T	Kadın	35	tanımsız	negatif	pozitif	psöriazis	Metotoraxat
64-M.D	Erkek	24	pozitif	negatif	pozitif	skleroderma	Prednol
65-A.Ü	Erkek	33	tanımsız	pozitif	pozitif	Ankilozan spondilit	Humira

Tablo 4.4: Kontrol grubunun epidemiyolojik, serolojik ve klinik özellikleri

HASTA ADI	CİNSİYET	YAŞ	QUANTİFERON	TDT	SKAR
1-M.S.B	Erkek	35	negatif	negatif	pozitif
2-E.T	Kadın	42	negatif	negatif	negatif
3-F.Y	Kadın	22	pozitif	pozitif	negatif
4-G.D	Kadın	55	pozitif	pozitif	pozitif
5-H.B	Erkek	38	negatif	negatif	pozitif
6-M.K	Erkek	40	pozitif	pozitif	pozitif
7-M.Ö	Erkek	51	pozitif	pozitif	negatif
8-H.S	Kadın	29	pozitif	pozitif	pozitif
9-İ.S	Erkek	29	negatif	negatif	pozitif
10-A.A	Erkek	36	pozitif	pozitif	pozitif
11-G.M	Kadın	44	negatif	negatif	pozitif
12-T.A	Erkek	47	negatif	negatif	pozitif
13-N.A	Erkek	40	pozitif	pozitif	pozitif
14-N.Ç	Kadın	39	negatif	negatif	pozitif
15-P.D	Kadın	35	negatif	negatif	pozitif
16-D.K	Kadın	44	negatif	negatif	negatif
17-M.Ç	Erkek	18	negatif	negatif	pozitif
18-İ.K	Erkek	52	tanımsız	pozitif	negatif
19-H.Ş	Kadın	33	pozitif	pozitif	pozitif
20-Ş.B	Kadın	28	negatif	negatif	pozitif
21-C.D	Kadın	13	negatif	negatif	pozitif
22-M.K	Erkek	26	negatif	negatif	pozitif
23-F.B	Kadın	15	negatif	negatif	pozitif
24-G.K	Kadın	30	pozitif	pozitif	pozitif
25-D.Ö	Kadın	46	pozitif	pozitif	pozitif
26-G.D	Kadın	44	pozitif	pozitif	pozitif
27-A.B	Kadın	47	negatif	negatif	pozitif
28-S.C	Erkek	30	pozitif	pozitif	pozitif
29-M.G	Erkek	32	pozitif	pozitif	pozitif
30-Z.G	Erkek	30	pozitif	pozitif	pozitif
31-B.B	Erkek	26	negatif	negatif	pozitif
32-M.D	Erkek	35	pozitif	pozitif	negatif
33-A.B	Kadın	40	negatif	negatif	pozitif
34-A.G	Kadın	37	negatif	negatif	pozitif
35-D.Ö	Kadın	34	negatif	negatif	pozitif
36-V.T	Erkek	39	negatif	negatif	pozitif
37-S.C	Kadın	33	negatif	negatif	pozitif
38-F.İ	Kadın	25	negatif	negatif	pozitif
39-İ.H.F	Erkek	40	negatif	negatif	pozitif
40-P.A	Kadın	30	negatif	negatif	pozitif
41-S.Ö	Kadın	41	negatif	negatif	pozitif
42-M.Y	Erkek	43	negatif	pozitif	pozitif
43-T.U	Erkek	25	negatif	pozitif	pozitif
44-T.A	Kadın	26	pozitif	negatif	pozitif

45-F.N	Erkek	27	negatif	pozitif	pozitif
46-G.D	Kadın	32	negatif	pozitif	negatif
47-E.B	Kadın	15	negatif	pozitif	pozitif
48-A.M	Erkek	79	pozitif	negatif	negatif
49-V.Y	Erkek	28	pozitif	negatif	pozitif
50-B.Ş	Kadın	51	pozitif	negatif	pozitif
51-S.M	Kadın	68	pozitif	negatif	negatif
52-K.K	Erkek	23	pozitif	negatif	pozitif
53-M.C	Erkek	55	pozitif	negatif	pozitif
54-M.D	Erkek	58	negatif	pozitif	pozitif
55-N.B	Kadın	45	pozitif	negatif	pozitif
56-A.S	Erkek	39	negatif	pozitif	pozitif
57-G.K	Kadın	28	pozitif	negatif	pozitif
58-T.K	Erkek	50	pozitif	negatif	pozitif
59-İ.Ü	Kadın	38	pozitif	negatif	pozitif
60-S.A	Erkek	73	negatif	pozitif	negatif
61-E.Y	Kadın	52	negatif	pozitif	pozitif
62-M.N	Kadın	28	tanımsız	negatif	pozitif
63-M.G	Erkek	46	pozitif	negatif	negatif
64-A.T	Erkek	39	pozitif	negatif	pozitif
65-Ç.B	Kadın	25	pozitif	negatif	pozitif

5. TARTIŞMA

TB tarihin bilinen en eski hastalıklarından biri olmasına rağmen, halen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ü *Mycobacterium tuberculosis* ile infekte olup 2009 yılında 9.4 milyon yeni TB olgusuyla karşılaşılmış (1.1 milyonu HIV ile birlikte) bunların yaklaşık 1.7 milyonu ölümle sonuçlanmıştır. Tahmin edilen insidans 137/100 000 dir. DSÖ hesaplamalarına göre etkin kontrol önlemleri geliştirilmez ise 2020'ye gelindiğinde yeni enfekte olmuş kişilerin sayısı 1 milyarı bulacaktır (24). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığının 2010 yılında yayınladığı ve 2008 yılına ait verilere göre toplam 18.452 TB hastası (2008 yılında) VSD kayıtlarına girmiştir. Hasta sayısında bir önceki yıla göre 1.021 kişi (%6,75) azalma olmuştur. Toplam olgu hızı ise, yüz bin nüfusta 27,9'dan 25,8'e (%7,5) düşüş göstermiştir (5). TB'lu olgular ile temas eden sağlıklı kişilerin %5 'inde ilk 2 yıl içinde aktif TB enfeksiyonu, % 95 'inde ise latent enfeksiyon gelişmektedir. Ayrıca latent olguların %5'i, yaşamlarının bir döneminde aktif tüberküloz enfeksiyonuna yakalanmaktadır. Aktif enfeksiyona yakalanmayan bu %95'lik dilimdeki kişilerin vücudunda bakteri kalır ve yıllar sonra konağın immün sisteminde bir çöküş olduğunda ya da immünsupressif tedavi sırasında hastalığa sebep olabilir (97).

Son yıllarda kanserlerin, allerjik ve otoimmün hastalıklarının tedavisi ve transplant reddinin önlenmesi için immün sistemi aktive eden ya da baskılayan yaklaşımlar yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir. Bu yeni yaklaşımlar birçok yararlı terapötik etkiler sağlamalarına rağmen toksisite, malignite ve enfeksiyon riski gibi bazı problemleri de yanında getirmiştir. Bu nedenle immünmodülatör veya immünsüpresör ilaçların uygulanmasından önce veya uygulanması sırasında hastaların değerlendirilmesi oldukça önemlidir (8).

İmmünsüpressif ilaçların prototipi olan glukortikoidlerin kronik kullanımları sırasında adrenal sistemin baskılanması, osteoporoz, katarakt ve miyopati gibi istenmeyen etkilerin yanı sıra latent tüberkülozun aktifleşmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Kortikosteroidler IL-2 yapımını etkin olarak baskılayarak T hücre proliferasyonunu ve efektör sitotoksik T lenfositlerin artmasını engeller (8).

Glukokortikoidlerin yanısıra başta siklosporin olmak üzere takrolimus ve sirolimus gibi immünosupressörler son zamanlarda giderek artan sıklıklarda organ reddinin önlenmesinde ve otoimmün hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya

başlanmıştır. İmmünmodölatör ilaçlar biyolojik yanıt düzenleyicileri olarak da bilinir, çoğu zaman immünsüpressif ilaçlar da bu grup içinde değerlendirilmektedir (8). İnfeksiyon riski açısından ele alındığında immünmodölatörler içinde en dramatik örnek olarak TNF inhibitörleri verilebilir. Özellikle anti-TNF tedavisinin extrapulmoner dissemine tüberküloza yol açan latent tüberkülozun aktivasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle TNF- α antagonistleri uygulanacak hastaların öncelikle tüberküloz infeksiyonu yönünden araştırılması ve latent tüberküloz saptanan hastalarda TNF- α antagonistleri başlanmadan önce tüberküloz tedavisine başlanması önerilmektedir (8). 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 vardır. Tüberkülinde mikobakteriyel antijenler bulunmakta ve bu antijenler *M. Tuberculosis*'e spesifik olmadığından deri testi yüksek oranda yanlış pozitif sonuçlara neden olmaktadır (9). İmmünsüpressif hastalardaki yüksek orandaki negatif sonuçlar, hastaların test sonuçlarını okutmak için geri gelmesine uyum göstermesi gerekliliği, sonuçları değerlendiren sağlık çalışanları arasındaki kişisel farklılıklar nedeniyle sübjektif olması gibi problemler bulunmaktadır. TDT'nin anamnestik cevabının artması gibi bir dezavantajı da vardır. Hücreler IFN- α üretimini ölçen metodlardan birisi olan Quantiferon-TB Gold ELISA testi ise tam kanda yapılması, daha spesifik antijenleri kapsamaması uygulama kolaylığı açısından TDT'ye nazaran daha avantajlı duruma geçmiştir.

Bu çalışmada en az iki aydır immünsüpressif tedavi gören 65 hastanın ve kontrol grubundaki 65 sağlıklı gönüllünün aktif ya da latent tüberküloz infeksiyonunu araştırmak için bir ELISA yöntemi olan Quantiferon- TB Gold in tube testi ve TDT uygulanmış, her iki testin duyarlılık ve özgünlükleri karşılaştırılmıştır.

İmmünsuprese grupta Quantiferon testi negatif olan 17 kişinin TDT sonuçları pozitif saptanmıştır. Kontrol grubunda Quantiferon testi negatif olan 9 kişide TDT pozitifdir. TDT'nin atipik mikobakterilerle infeksiyonda ve BCG ile aşılanalarda yanlış pozitifliğe neden olabilmesi bu duruma neden olabilmektedir. Nitekim bizim çalışmamızda da immunsuprese gruptaki 17 hastanın tümünde ve kontrol grubundaki 9 kişinin 8'inde BCG aşı skarının bulunması ve bu kişilerde tüberküloza ait klinik ve radyolojik bulguların bulunmaması TDT pozitifliğini açıklayabilir.

Bu çalışmada 9 hastanın Quantiferon-TB Gold in tube test sonuçları tanımsız olarak bulunmuştur. Tanımsız sonuçların 7'si immünsüpressif hasta grubunda, 2'si ise kontrol

grubunda bulunmakta olup yaşları 13-79 arasındadır. Kontrol grubunda bu oran % 3.1 iken hasta grubunda % 10.8 olarak saptanmıştır. Tanımsız (şüpheli) sonuçların kan örneğindeki lenfosit sayısının azalmasından veya HIV enfeksiyonu, malignensi veya böbrek yetmezliği gibi araya giren hastalıklar nedeniyle azalmış lenfosit aktivitesinden, uzamış örnek transportundan veya mitojenin yanlış eklenmesinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (27,50). Ferrara ve arkadaşlarının (52) 318 hastayı kapsayan çalışmasında, % 21.4 oranında tanımsız sonuçlarla karşılaştığı, bu kişilerin çoğunluğunun 3 yaşından daha genç, 80 yaşından daha yaşlı, immünsupresif tedavi alanlar, kanser kemoterapisi görenler, sistemik steroidler veya anti-TNF ajanları kullananlar, HIV enfeksiyonu olan kişiler ve böbrek yetmezliği olan kişiler olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, TDT endurasyonunun 5 mm'den küçük olduğu hastalar daha büyük endurasyona sahip olanlarla karşılaştırıldığında 'tanımsız' ELISA Igra sonucu vermeye daha yatkın olduğu bildirilmiştir (57). Çalışmamızda tanımsız Quantiferon testi sonuçlu 7 hastanın 3'ünde PPD deri testi 5mm'den küçük (4'ünde ise 5 mm'den büyük) saptanmıştır. İmmünsüpressif gruptaki tanımsız sonuçların bu kişilerin aldığı immünsüpressif tedaviye bağlı olduğu düşünülmektedir. Kontrol grubundaki tanımsız saptanan kişiler, yukarıda bildirilen hastalıklara sahip olmayıp herhangi bir immünsüpressif tedavi almamış orta yaş grubundaki kişilerdi. Bu nedenle çalışmada saptanan tanımsız sonuçların uzamış örnek transportundan veya mitojenin yanlış eklenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu kişilerden bazılarına, kişilere ulaşmadaki zorluklar nedeniyle ikinci bir çalışma yapılamadı. Sadece 5 kişinin Quantiferon–TB Gold in tube testi tekrar çalışılabilirdi. Bu kişilerde aynı sonuç elde edildi. Sağlıklı gönüllülerdeki tanımsız sonuçlar altta yatabilecek olası bir immün sistemi baskılayıcı hastalığın varlığının araştırılmasını da düşündürebilir.

Chen ve arkadaşlarının (109), latent tüberküloz araştırılmak üzere immünsupressan adalimumab tedavisi alan romatoid artritli hastalarda yaptığı çalışmada, sıkça görülen anergi yüzünden Quantiferon ve tüberkülin deri testinin tanı değerinin kısıtlandığı belirtilmiştir. Çalışmada her iki testin birlikte uygulanmasının Adalimumab tedavisi alanlardaki TB araştırılması için tanıya daha çok yardımcı olacağı belirtilmiştir.

Çalışmamızda immünsuprese grupta Quantiferon TB Gold in tube testi pozitif iken TDT'si negatif olan 2 hasta saptanmıştır. TDT'nin bu hastalarda negatifliği immünsupresyona bağlı anerjik reaksiyonla açıklanabilir.

Kobashi ve arkadaşlarının (110) yaptığı çalışmada immünsüprese hastalarda her iki test sonuçları karşılaştırılmış, immünsüpresif tedavi, malignensi, HIV gibi nedenlerle

immünitesi baskılabmış 252 hastada Quantiferon testinin TB teşhisindeki pozitiflik oranı % 78 iken TDT'ninki %50 saptanmıştır. Quantiferon- TB testinin, TDT'den belirgin bir şekilde daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada tanımsız sonuçların immünsüprese hastalarda daha sık görüldüğü, Quantiferon testinin immünsüprese hastalarda daha yararlı bir teşhis metodu olduğu sonucuna varıldığı, ancak ciddi bir hastalığa bağlı olarak lenfositopenisi olan ve immünsüpresif tedavi alan hastalarda test sonucu okunurken tanımsız cevapların dikkate alınması gerektiği belirtilmiştir.

Bu çalışmada kontrol grubundaki 29 kişide Quantiferon testi pozitif bulunmuştur. Kontrol grubuna alınan kişilerden 18'i hastane de çalışan sağlıklı gönüllülerdi. Bu nedenle tüberküloz enfeksiyonu ile bir şekilde karşılaşmış olmaları mümkündür. Ayrıca bu sonuç toplumda latent tüberküloz enfeksiyonunun sanılandan daha yüksek bir oranda seyrettiğini düşündürebilir.

Çalışmamızda testlerin özgüllük ve duyarlılıklarının istatistiksel açıdan düşük bulunması kontrol grubundaki yüksek pozitifliğe bağlanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarında kappa değerlerinin düşük fakat anlamlı olması bu iki yöntemin birbirlerine karşı alternatif olmadığını ancak birlikte tanı değerlerinin yükseldiğini göstermektedir. Kim Y ve arkadaşlarının (111) yaptığı çalışmada, immünsüprese hastalarda Quantiferon ve TDT'de uyumluluk (kappa=0.38) iken immün kompetan grupta orta derecede uyumluluk (kappa=0.57) saptanmıştır. Aynı çalışmada tanımsız sonuçlar, anemi, lenfositopeni, hipoproteinemi ve hipoalbüminemiye bağlanmıştır. İmmünsüprese hastalarda Quantiferon testinin TDT'den daha duyarlı olduğu ancak tanımsız sonuçlar dikkate alındığında immünsüprese hastalarda iki testin sonucunun birlikte değerlendirilmesinin daha doğru olacağı belirtilmiştir. Bu çalışma sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir

İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 11,5 ve MedCalc version 12.1 paket programları kullanılmış ve $P \leq 0.05$, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İki yöntemin uyumluluğunun karşılaştırılmasında Kappa istatistiği, yöntemlerin tanı koyma yeteneklerinin belirlenmesinde ise sensitivite ve spesifite değerleri ve %95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Bu çalışmada Quantiferon TB Gold in tube testi ve TDT arasında immünsüprese grupta ve kontrol grubunda istatistiksel açıdan düşük ama anlamlı bir uyum görülmektedir. İmmünsüprese grupta kappa=0.256, $p=0.040$ iken kontrol grubunda, kappa=0.345, $p=0.002$ bulunmuştur..

İmmün sistemin baskılandığı, immünsupressif ilaç kullanımı, malignite, böbrek yetmezliği gibi durumlarda latent tüberküloz enfeksiyonunun aktif hale gelebileceği düşünüldüğünde, immünsupressif tedavi kullanacak olan veya kullanan hastaların aktif ve latent tüberküloz yönünden taranması ve latent tüberküloz enfeksiyonu bulunan olguların INH proflaxisine alınması gerektiği söylenebilir. Bu tarama için halen rutin olarak kullanılmakta olan TDT'nin bazı dezavantajları bulunduğu, yanlış pozitif sonuçların lüzumsuz INH proflaxisine neden olarak hem hastaların lüzumsuz ilaç kullanımı nedeniyle sağlık sorunlarının oluşabileceği, hem de maliyet yükünü artırabileceği düşünülmelidir. TDT'nin immünsuprese hastalarda verdiği anerjizan yanıtlar, *M.tuberculosis* dışında bazı atipik bakterilerle enfeksiyon ve BCG aşısı olanlarda pozitifliğe sebep olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Quantiferon TB Gold in tube testinin ise bu çalışmada immünsuprese grupta %10.8, kontrol grubunda ise %3.1 olarak belirlenen tanımsız sonuçlar vermesi, latent tüberküloz enfeksiyonu araştırılmasında tek başına değil de her iki testin birlikte kullanılmasının uygun olacağını düşündürmektedir.

6-KAYNAKLAR

- 1-Kıyan M. Mycobacteriaceae. İçinde: Ustaçelebi Ş. (Ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. 1999: s. 420-435.
- 2-Des Prez RM, Heim CR. Mycobacterium Tuberculosis. In: Mandell GL, Bennet JE, (Eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 3th ed., New York: Churchill Livingstone.1990: p.1877
- 3-21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun: 2003: s. 74-215.
- 4-Kocoğlu F. Verem Savaşı. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yayını. 1986: s.36-86.
- 5-T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye’de Verem Savaşı 2011 Raporu,
<http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-4040/verem-savasi-dairesi-baskanligi.html>
- 6-Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı Türkiye’de tüberküloz kontrolü için başvuru kitabı. Ankara. Rekmay Ltd. Şti. 2003: p.7- 62.
- 7-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.
- 8-Oral HB. İmmunomodülatörler, İmmünsüpresifler ve İnfeksiyon Riski. ANKEM Dergisi 2007; 21(0): 106-108.
- 9-Chaparas SD, Vandiviere HM Melvin I, Koch G, Becker C. Tuberculin test. Variability with the Mantoux procedure. Am Rev Respir Dis. 1985;132:175- 7.
- 10- Iseman MD. Klinisyenler İçin Tuberkuloz Kılavuzu. Ceviren: Ş. Ozkara. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 2002; 21-402.
- 11-5. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kurs Kitabı. Diyarbakır: 2006: s. 27.
- 12-Durupınar B. Mikobakteriler ve Çevre Koşullarına Dayanıklılıkları. O.M.Ü Tıp Dergisi, 1996; Ekim-Aralık; 13(4): 302.
- 13- Parker T, Deverden B (ed):Topley Wilson’s Principles of Bacteriology, Virology and İmmunity. Vol II. 1990; 74-97.
- 14- Barış İ. Son bilgiler Işığında Tuberkuloz. İnfeksiyon Bulteni, 1996: p. 23-9.
- 15-Kocabaş A (Ed). Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Çukurova Üniversitesi, 1991.
- 16-Brooks GF, Carrol KC, Morse SA. Mikobakteriler. In Yenen OŞ (Çeviri Ed.). Tıbbi

Mikrobiyoloji Lange. 24th ed., Nobel Kitabevi. 2010: p. 320

17-Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, 1986: s. 407–37.

18-Arslan Karabulut N. *M. tuberculosis complex* Suşlarının Primer İlaçlara Duyarlılığının, MGIT, E-Test ve Agar Proporsiyon Yöntemleri ile Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, 2008.

19-Zahra Tossi, Jerrold J, Elner R; Mycobacterium Tuberculosis and Other Mycobacteria. In Gerold L. Mandell (ed): Principles and Practice of Infectious Disease. Churchill- Livingstone: 1995: p. 2229.

20-Kocabaş A. Akciğer Tüberkülozu. İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalin S (Ed). Temel İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, 1996: s. 456–76.

21-Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick, Edward A. Adelberg (Eds). Mycobacteria, Medical Microbiology, Lange. 1991: p. 272–80.

22-Tahaoğlu K. Toraks derneği Tüberküloz Çalışma Grubu, Tüberküloz Ders Notları. 1998: s.13–9.

23-Çöplü N. Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı. Enfeksiyon Hastalıkları serisi 4 (1): 30–40.

24-Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı: Tüberküloz Hastalarının Tanı, tedavi, izlenmesi. Ankara; 1998.

http://ekutuphane.tusak.gov.tr/kitaplar/tuberkuloz_hastalarinin_tani_tedavi_ve_izlenmesi.pdf.

25- Schlossberg D. Tüberküloz. Bilimsel ve Teknik Yazı Çeviri Vakfı 1995: p.39–47.

26-Luis M de La Maza, Marie T. Pezzlo, Ellen Jo Baron. Color atlas of diagnostic microbiology. Mossby-Yearbook. 1997: p. 11: 95.

27-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.

28-Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: 2000: s. 443- 444.

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

30- Heifets LB, Good RC, Current laboratory methods for diagnosis of tuberculosis. In

- Bloom RB(ed): Tuberculosis: Pathogenesis, protection, control. ASM press, Washington DC:1994: s.85–110.
- 31- Ellner PD, Kiehn TE, Cammarata R, Hosmer M. Rapid detection and identification of pathogenic mycobacteria by combining radiometric and nucleic acid probe methods. J Clin Microbiol. 1988 Jul; 26(7):1349–52.
- 32-Piddington DC, Kashkouli A, Buchmeier NA. Infection and Immunity. August 2000; 68 (8): 4518-4522
- 33-Nakajima C, Rhim Z, Fukushima Y, Sugarawa I, Ven der Zenden AGM, Tamaru A, Suzuki Y. Identification of *M. Tuberculosis* clinical isolates in Bangladesh by species distinguishable multiplex PCR. BMC Infectious Diseases. 2010; 10:18
- 34-Abe C. Standardisation of Laboratory Test for Tuberculosis and Their Proficiency Testing. Kekkaku. 2003 Aug; 78(8) :541-51
- 35- Khomenko AG, Bayensky AV, Chernousova LN, Kulikovskaya NV, Demianenko NV, Litvinov VI. Serodiagnosis of tuberculosis: detection of mycobacterial antibodies and antigens. Tuber Lung Dis. 1996 Dec;77(6):510–5.
- 36-Özdemir Ö. Tüberküloz Tanı Yöntemleri. Türkiye Klinikleri Tıp bilimleri dergisi, Tüberküloz özel sayısı. 1994: s. 420–4.
- 37-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.
- 38-Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis. 1993; 17: 968- 75.
- 39-Pai M, Riley LW, Colford JM (Jr). Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2004; 4: 761-76.
- 40-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
- 41-Arend SM et al. Detection of active tuberculosis infection by T cell responses to early-secreted antigenic target 6-kDa protein and culture filtrate protein 10. J Infect Dis. 2000; 181: 1850- 4.
- 42-Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT- 6 and CFP-10. Int J Tuberc Lung Dis. 2001; 5: 462-7.

- 43-Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: 824- 8.
- 44-Centers for Disease Control: Report of the ad hoc committee on isoniazid on liver disease. *Am. Rev Respir Dis*. 1971;104: 254–59.
- 45-Scharer L, Smith JP. Serum transaminase elevations and other hepatic abnormalities in patients receiving isoniazid. *Ann Intern Med*. 1969 Dec;71(6):1113–20.
- 46-Comstock GW, Edwards PQ. The competing risks of tuberculosis and hepatitis for adult tuberculin reactors. *Am Rev Respir Dis*. 1975 May;111(5):573–7.
- 47-Israel HL. Editorial: Isoniazid-associated hepatitis. Reconsideration of the indications for administration of isoniazid. *Gastroenterology*. 1975 Aug; 69(2):539–42.
- 48-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.
- 49-<http://www.cdc.gov/tb> March 2006.
- 50-Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2005; 54: 49–55.
- 51-Cellestis Limited. QuantiFERON-TB Gold (in-tube method) [package insert]. Available at <http://www.cellestis.com/IRM/Company/ShowPage.aspx?CPID=1023>. Accessed 29 August 2007.
- 52-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.
- 53-Diel R, Nienhaus A, Lange C, Meywald-Walter K, Forssbohm M, Schaberg T. Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir Res*. 2006; 7: 77.
- 54-Arend SM, van Meijgaarden KE, de Boer K.. Tuberculin skin testing and in vitro T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M. kansasii*. *J Infect Dis*. 2002; 186: 1797–807.

- 55-Geluk A, van Meijgaarden KE, Franken KL. Identification and characterization of the ESAT-6 homologue of *Mycobacterium leprae* and T- cell cross-reactivity with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 2002; 70: 2544–8.
- 56-Van Pittius NCG, Gamielien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+ C Gram-positive bacteria. *Genome Biol*. 2001; 2: 44
- 57-Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170: 65–9.
- 58-Taşbakan MS, Sayiner A. Tüberküloz Hastalığı ve Enfeksiyonunda İnterferon Gama Testlerinin Yeri. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Infection)*. 2008; 22(3): 179-184
- 59-Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170: 59–64.
- 60-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.
- 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- Pai M, Lewinsohn DM. Interferon-gamma assays for tuberculosis: is anergy the Achilles' heel? *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172: 519–21.
- 63- Richeldi L. An update on the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 174: 736–42.
- 64-Lee E, Holzman RS. Evolution and current use of the tuberculin test. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 365- 70.
- 65-Van Pinxteren LAH, Ravn P, Agger EM, Pollock J, Andersen P. Diagnosis of Tuberculosis Based on the Two Specific Antigens ESAT-6 and CFP10. *Clinical and Vaccine Immunology*. March 2000;7(2):155-160
- 66- Gençer B. Purified Protein Derivative of Tuberculin. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2001; 58 (1): 27-32
- 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-Holden M, Dubin MR, Diamond PH. Frequency of negative intermediate-strength tuberculin sensitivity in patients with active tuberculosis. *N Engl J Med.* 1971; 285: 1506–1509.
- 69-Nash DK, Douglass JE. A Comparison between positive and negative reactors and an evaluation of 5-TU and 250- TU skin test doses. *Chest.* 1980; 77: 32- 37.
- 70-WHO tuberculosis Research Office. further studies of geographic variation in naturally acquired tuberculin sensitivity. *Bull World Health Organ.* 1955;22:62–83.
- 71-Bass JB Jr. The tuberculin test. In: Reichman LB. Hershfield ES. (Eds.) .Tuberculosis. An international approach. New York: Marcel Dekker, 1993: p.144.
- 72-Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Tuberculin Skin Test (2012) (<http://www.cdc.gov/tb/?404>;<http://www.cdc.gov:80/tb/pubs/Mantoux/part1.htm>)
- 73-Durmaz R. Uygulamalı moleküler mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitapevleri, 2001: s.15–35.
- 74-Imboden P, Cole S, Bodmer T, Telenti A. Detection of rifampin resistance mutation in *Mycobacterium tuberculosis* and *M. Leprae*. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC (eds): Diagnostic molecular Microbiology: Principles and Applications. ASM Press, Washington DC: 1993: p.519–26.
- 75-Kocagöz T. Tüberküloz tanısında yeni laboratuvar yöntemleri. *İnfeksiyon Bült.* 1996: s. 1: 30.
- 76-Hasçelik G. Türkiye ‘de kullanılan Diğer Yeni Yöntemler. İn: Uzun M, Erturhan Z. (Editörler). 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu. Abant: 31 Ekim- 2 Kasım 2002; 63.
- 77-Rota S, Toksöz D: Pulmoner tüberkülozun *Mycobacterium tuberculosis* sonike antijeni kullanılarak Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) ile serolojik tanısı, *Türk mikrobiyoloji Cem Derg.* 1993; 23: 28.
- 78-Saçılık SC. Tüberküloz serolojisinde, ELISA ve Farklı Mikobakteri Antijenlerinin Önemi, *Mikrobiyoloji Bült.* 1990: p. 24: 198.
- 79-Öztürk R. Mikobakterilerin sonike edilmiş adsorbe antijeni ve purifiye protein derivesi kullanılarak yapılan ELISA ile akciğer tüberkülozunun serolojik tanısı. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg.* 1993; 23: 84.
- 80-Maerinez- Vazquez JM, Ocana I, Segura RM, Pascual C. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of tuberculosis. *Gut.* 1986; 27: 1049.
- 81-Buesco JF, Hernando HV, Garcia-Buela JP, Juncal LD, Egana MTM, Martinez MCMI. The diagnosis value of simultaneous determination of pleural adenosine deaminase and pleural lysosime/ serum lysosyme ratio in pleural effusion *Chest.* 1988;

93: 303.

82-Heydendrych A, Brookes R, Albert H, Mole R, Harley E, Subotzky E, Henry R, Avezedo V. Evaluation of a rapid TB diagnostic test, FastPlaque TB, in South Africa, 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 1- 4 April.2001.

83-Özbal Y. Immunity of Tuberculosis. Erciyes Medical Journal.2006; 28(1): 025-034

84-<http://celalkarlikaya.trakya.edu.tr/TBdernot.htm>

85-Schluger NW, Rom WN. The Host Immun Response to Tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med 1998;157(3):679- 691.

86- Dannenberg Am. Delayed- type hypersensitivity and cell- mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. Immunol Today 1991; 12: 228- 233.

87- Arseven O. Akciğer Hastalıkları: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti, 2002: s.285–304.

88-http://www.verem.org.tr/pdf/tuberkuloz__bulaşma.pdf

89-Corper HJ. Founders of our knowledge of tuberculosis. Hygeia 1929; October-November: p.1- 13.

90-Riley R, Mills C, O' Grady F, Sultan LU, Wittstadt F, Shivpuri DN. Infectiousness of air from tuberculosis ward: ultraviolet irradiation of infected air- comparative infectiousness of different patients. Am Rev Respir Dis 1962; 85: 511–525.

91-World Health Organization (WHO). Tuberculosis Fact sheet N°104 - Global and regional incidence. March 2006; Retrieved on 6 October 2006.

92-Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Tuberculosis Elimination. Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know. 4th edition 2000; Updated August 2003.

93-Iademarco MF, Castro KG. Epidemiology of tuberculosis. Seminars in respiratory infections 2003; 18: 225–40.

94-Duguid J. The numbers and sites of origin of the droplets expelled during respiratory activities. Edinburgh Med J 1945; 52: 385.

95-Valway SE, Sanchez MPC, Shinnick TF, Orme I, Agerton T, Hoy D, Jones S, Wesmorelans S, Onarato I.M. An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of Mycobacterium tuberculosis. N Engl J Med 1998; 338:633- 639.

96-American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161: 1376- 95.

- 97-Cohn DL. Treatment of latent tuberculosis infection: renewed opportunity for tuberculosis control. Clin Infect Dis 2000 Jul; 31(1):120–4.
- 98-Centers for Disease Control and Prevention: Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent Mycobacterium tuberculosis infection. MMWR: Morb Mortal Wkly Rep 2003; 52: 15–18.
- 99-XXIII. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıklar Kongresi Tüberküloz Ve Kontrolü Kongre Kitabı. Malatya: 2003: s.21–5.
- 100-Aygen B. Ekstrapulmoner Tüberküloz. İçinde: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 1. Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: s.591.
- 101-Comstock GW, Baum C, Snider De Jr. Isoniazid prophylaxis among Alaskan Eskimos: a final report of the Bethel studies. AM Rev Respir Dis 1979;119:827–830.
- 102-Snider DE Jr. Pyridoxine supplementation during isoniazid therapy. Tubercle 1980 ;61:191–196.
- 103-Gubrin C. The history of BCG. In: Roesenthal S, ed. BCG vaccination against tuberculosis. Boston: little, Brown: 1957; 48- 53.
- 104-Comstock GW. Field trials of tuberculosis vaccines: how could we have done them better? Control Clin Trials 1994; 15: 247- 276.
- 105-Townsend J, Aronson J, Saylor R. Tuberculosis control among North American Indians. Am Rev Tuberc 1942; 45: 41- 52.
- 106-Menzies R, Vissandjee B. Effect of Bacillus Calmette- Guerin vaccination on tuberculin reactivity. Am Rev Respir Dis 1992; 145: 621–625.
- 107-Göçmen A, Kiper N, Ertan U, Kalayci O, Özçelik U. Is the BCG test of diagnostic value in tuberculosis? Tuber Lung Dis. 1994 Feb;75(1):54–7.
- 108-Koçoğlu F. Tüberküloz Sorununun Çözümünde Günümüzde Uygulanan Kontrol Yöntemlerinin Etkinliği. İçinde: Kocabaş A. (Editörler). Tüberküloz, Kliniği ve Kontrolü. Emel Matbaası, Ankara: 1991:s. 439- 443.
- 109- Chen DY, Shen GH, Hsieh TY, Hsieh CW, Lan JL. Effectiveness of the combination of a whole-blood interferon-gamma assay and the tuberculin skin test in detecting latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis patients receiving adalimumab therapy. American College of Romatology. 15 June 2008; 59(6): 800-806
- 110-Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, Fukuda M, Miyashita N, Oka M. Clinical evaluation of quantiferon TB-2G test for immunocompromised patients. Eur Respir J. 2007; 30: 945-950

111- Kim EY, Lim JE, Jung JY, Son JY, Lee KJ, Yoon jw, Park BH, Moon JW, Park MS, Kim YS, Kim SK, Chag J, Kang YA. Performance of the Tuberculin Skin Test and Interferon Gmma Release Assay for Detection of Tuberculosis Infection in Immuncompromised Patients in a Vaccinated Population. BMC Infectious Diseases. 2009; 9: 207

ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Gaziantep'in Şahinbey İlçesi'nde doğdu. 1986 yılında Gaziantep Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 1992 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. Zorunlu hizmetini Erzurum'un Tortum İlçesi'nde tamamlayarak 1994 yılında Gaziantep'te göreve başladı. Çeşitli sağlık ocaklarında çalıştı. Halen aile hekimi olarak görevine devam etmektedir. Evli ve iki kız çocuğu annesidir. İngilizce bilmektedir.