

Tüberkülozun Mikrobiyolojik Tanısı



Dr. Cengiz ÇAVUŞOĞLU

M.tuberculosis kompleks

- *M.tuberculosis*
- *M.bovis*
 - *M.bovis* BCG
- *M.caprae*
- *M.africanum*
- *M.canettii*
- *M.microti*
- *M.pinnipedii*
- *M.orygis*
- *M.mungi*

- *M.tuberculosis*
- Temel olarak insan tüberkülozu etkeni
- İnsan tüberkülozunun ~93-%99.5'inden sorumlu
- *M.bovis* , *M.caprae*
- *M.bovis*, tüm memelileri enfekte edebilmekle birlikte temel olarak sığır TB etkeni
- *M.caprae* temel olarak keçilerde TB etkeni
- İnsan tüberkülozunun ~%0.5-7 zoonotik tüberküloz (*M.bovis*, *M.caprae*)
- *M.bovis* BCG (BCG aşısı)
- Ağır hücreli immün yetmezliği olanlarda yaygın enfeksiyon

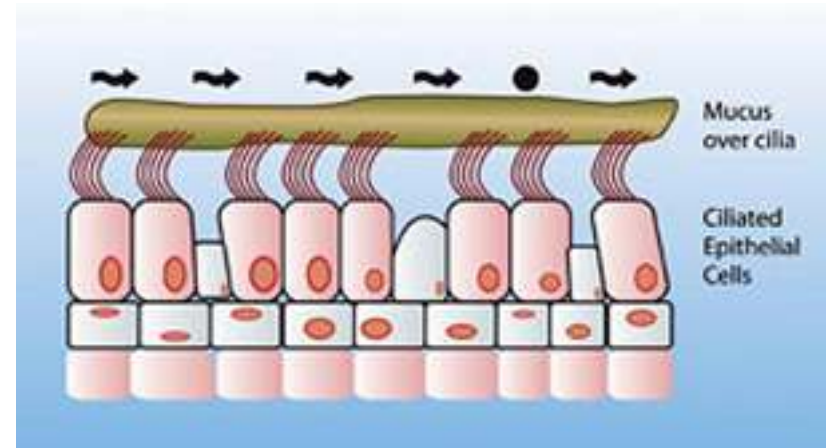
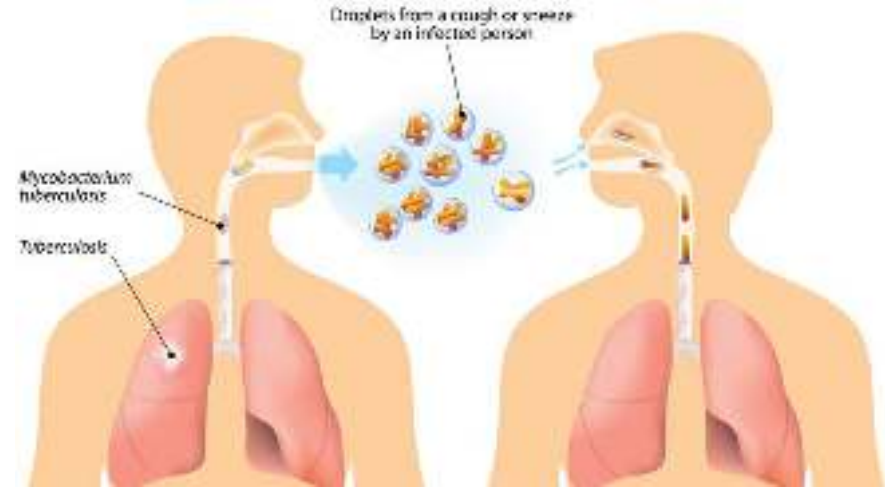
Enfeksiyon yok (A planı)

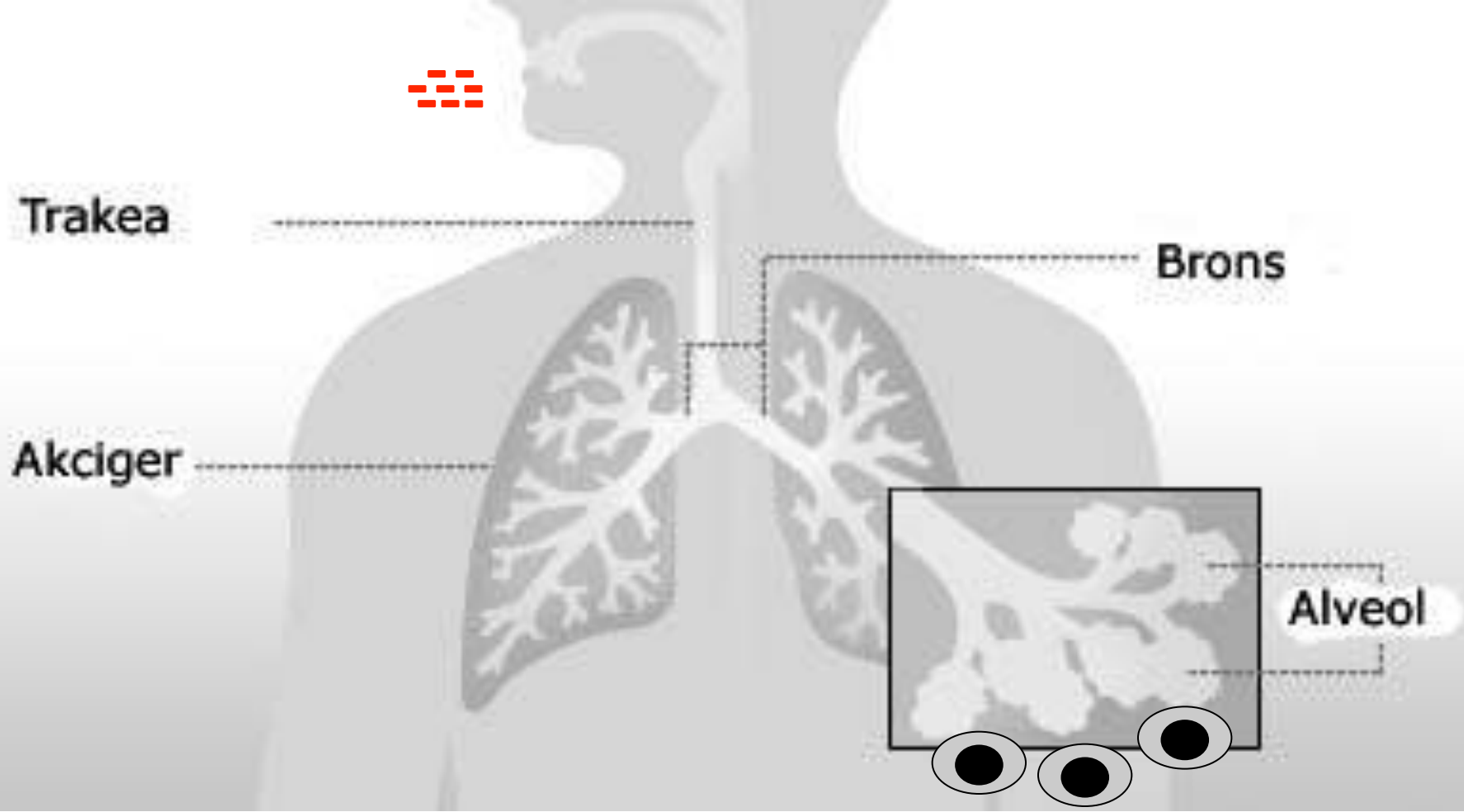
- Ortamın havalanması
- Basil yükü
- Temasin süresi
- Basilin virülansı

- Enfeksiyonu başlatmak için ~10 basil yeterli
- 1-5 μm (<5-10 μm) boyutunda damlacıklar
- 1-400 basil
- 3000 damlacık /bir öksürük
- 30 dakika süreyle partikül kalır

Anatomik ve fizyolojik engeller

- Solunum yollarındaki mukus ve siliyer epitel





1. Enfeksiyon oluşmaz

Trakea

Brons

Akciger

Alveol



1.Enfeksiyon oluşmaz

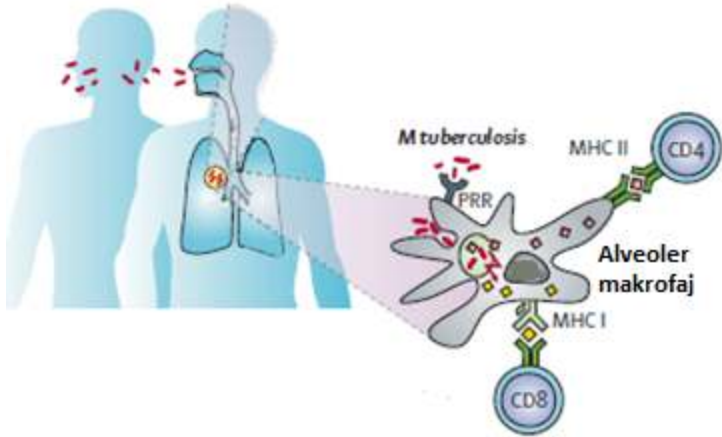
Enfeksiyonu yok et (B ve C planı)

1. Doğal bağışıklık

- Alveoler makrofaj

2. Kazanılmış bağışıklık

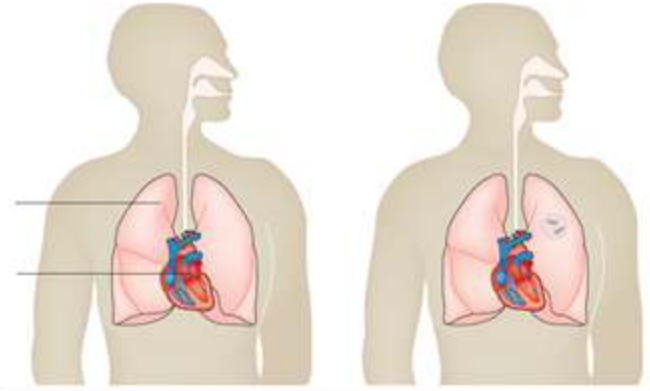
- T lenfosit



Enfeksiyon ortadan kaldırılır

Doğal immün yanıt ile

Kazanılmış immün yanıt ile



Trakea

Brons

Akciger

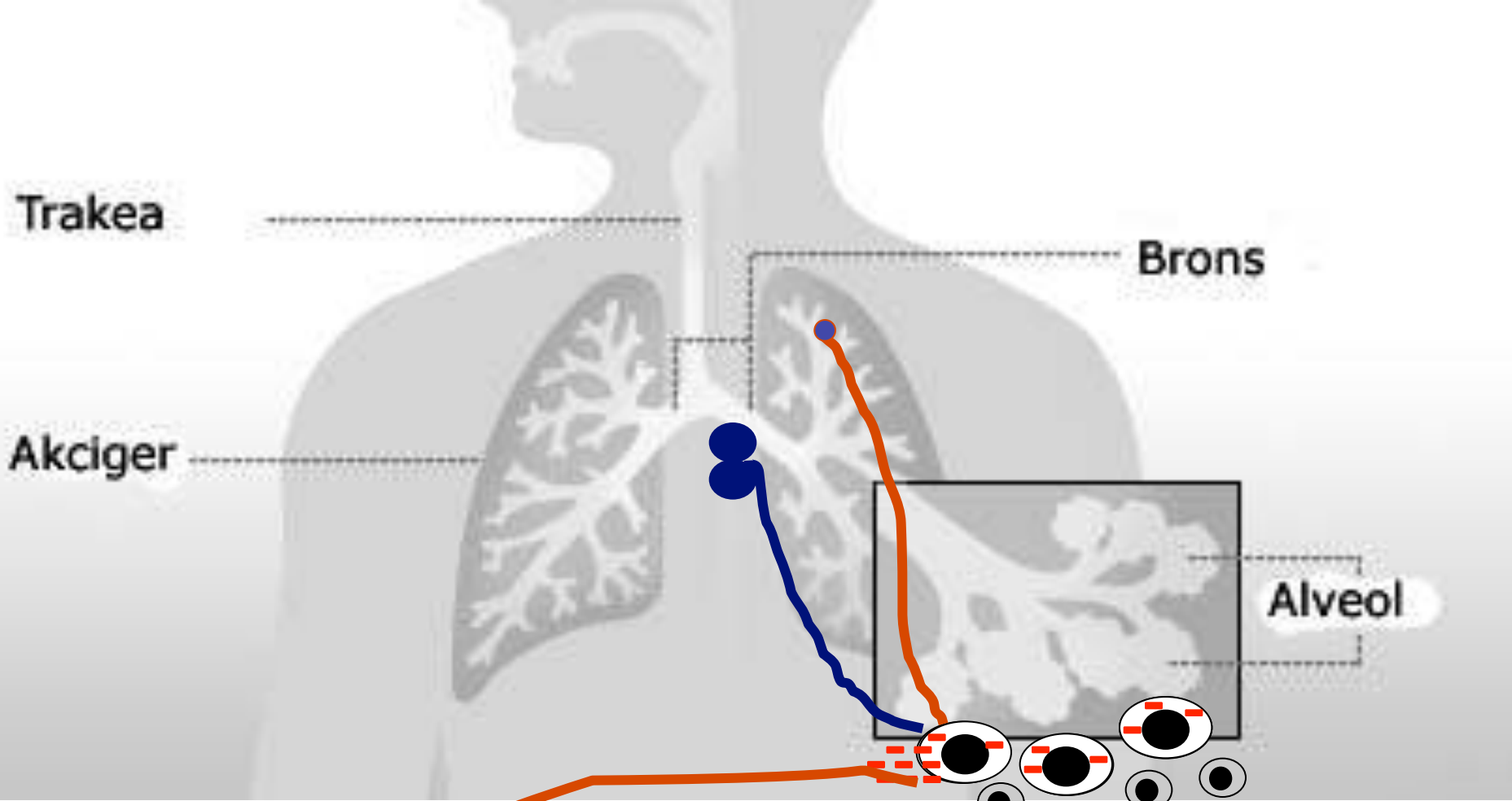
Alveol



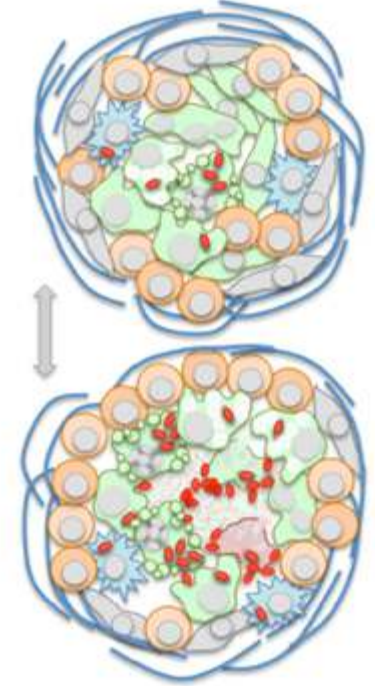
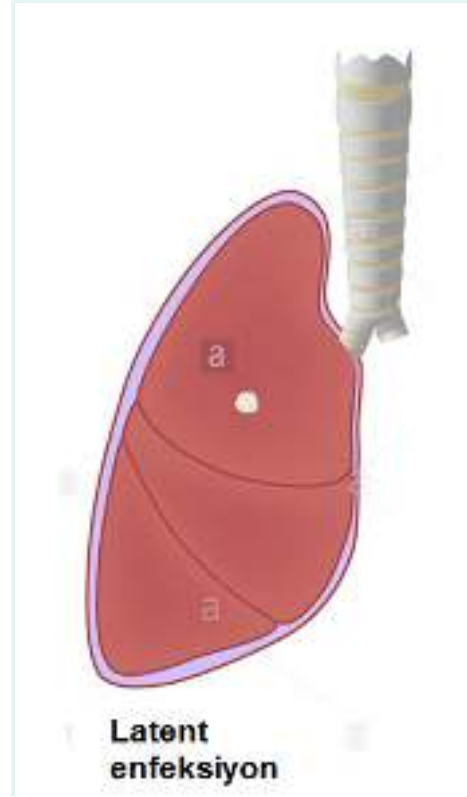
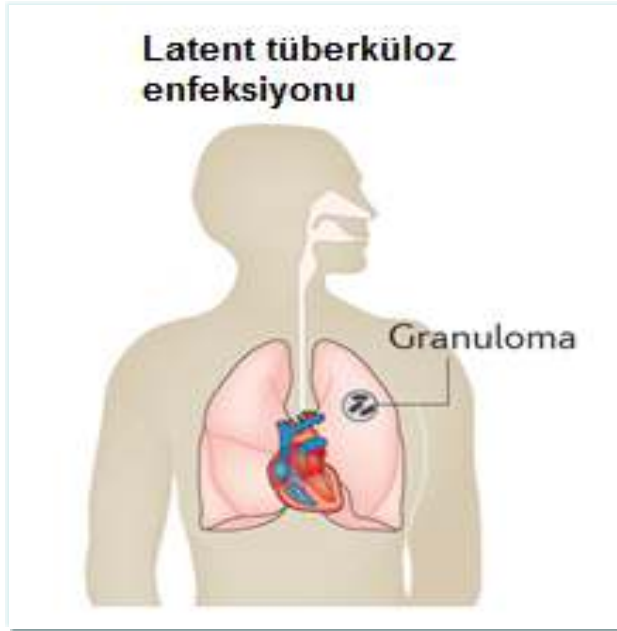
3-9 hafta sonra

2. Primer enfeksiyon

- Latentlik
- Primer progresif tbc
- Hiperakut milier tbc



Enfeksiyonu kontrol et; LTBE (D Planı)



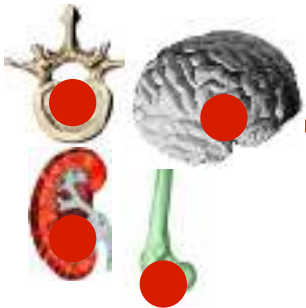
Kezeifikasyon nekrozu

Trakea

Brons

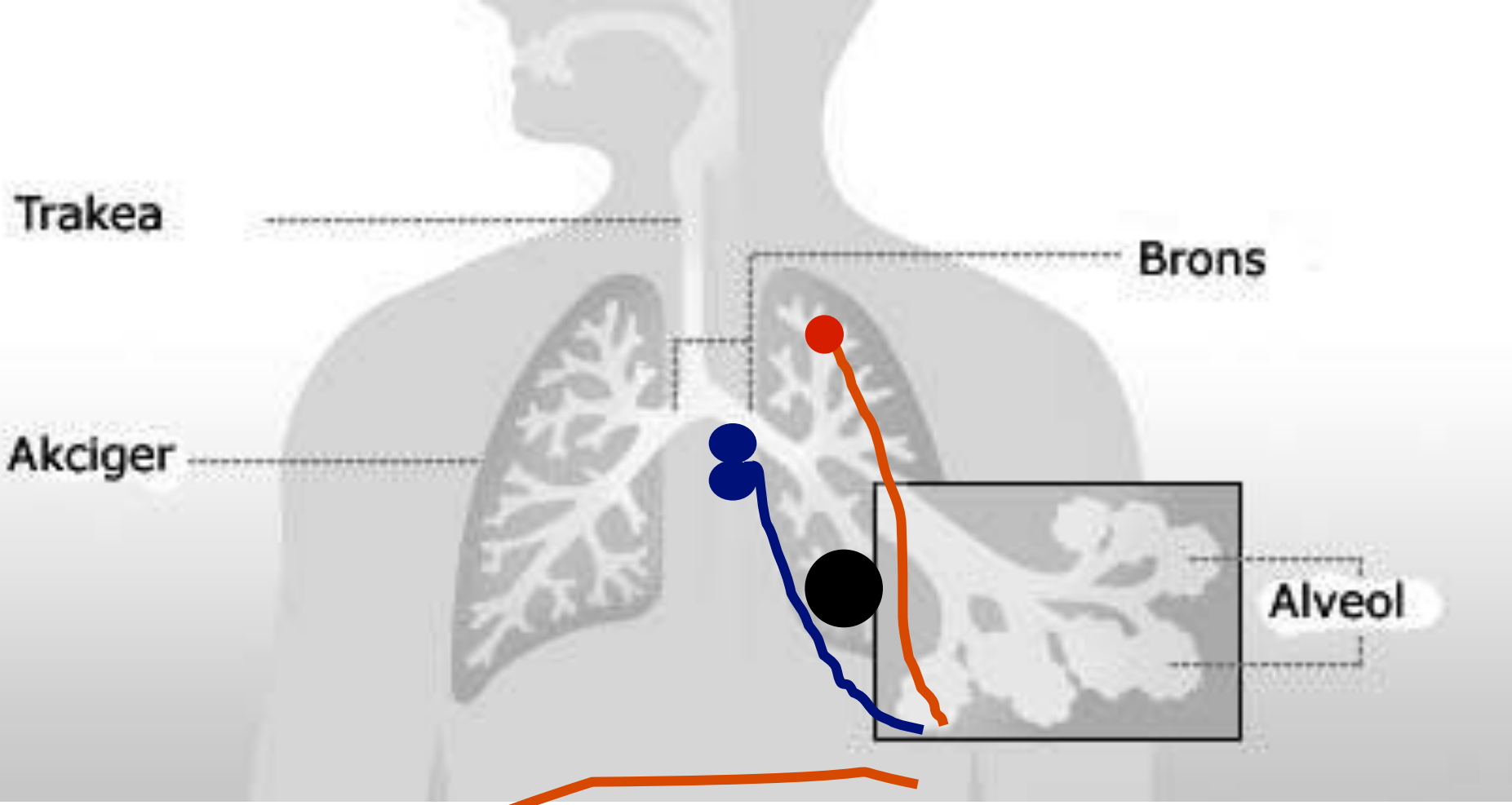
Akciger

Alveol

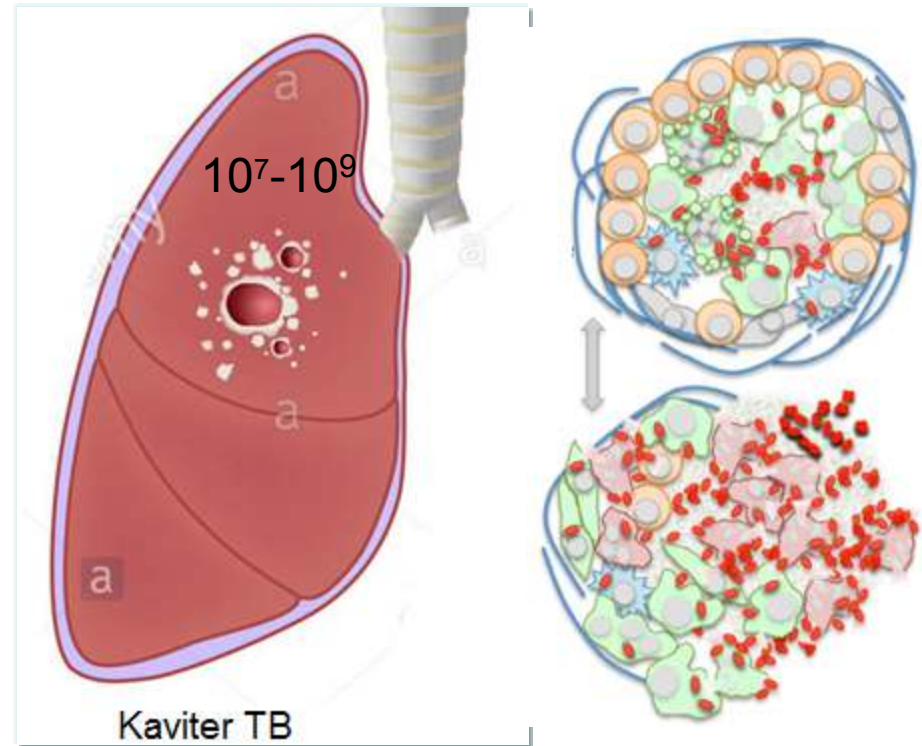
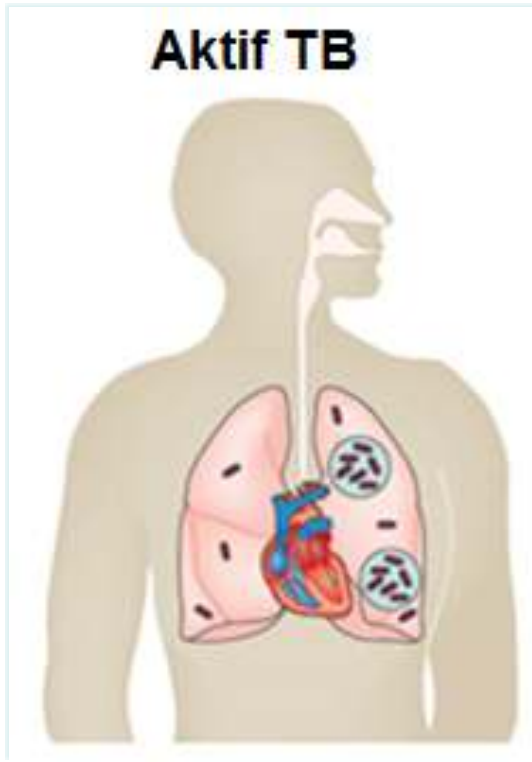


3. Sekonder enfeksiyon

- Reaktivasyon
- Reenfeksiyon



Her zaman basil kaybetmez; Aktif TB



Tanı

Akciğer tüberkülozunda klinik bulgular ve akciğer grafisi tanıda yol göstericidir. Ancak akciğer tüberkülozu ve diğer tüberküloz formlarında **kesin tanı mikrobiyolojiktir**

Mikrobiyolojik tanı

- Konvansiyonel yöntemler

–Mikroskopik inceleme

–Kültür (identifikasyon, duyarlılık testi)

- Moleküler yöntemler

- İmmünolojik yöntemler



Tüberküloz tanısı

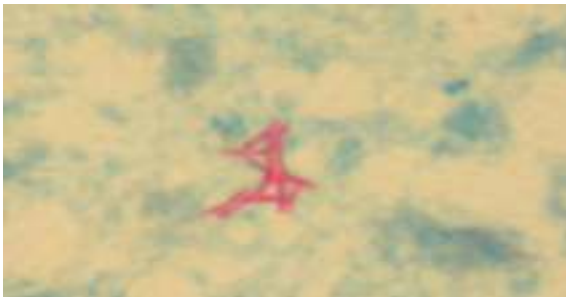
M.tuberculosis enfeksiyonu tanısı

Mikroskopik İnceleme

- Asido rezistan boyama
 - Karbol fuksin
 - Ehrlich-Ziehl-Neelsen
 - Kinyoun



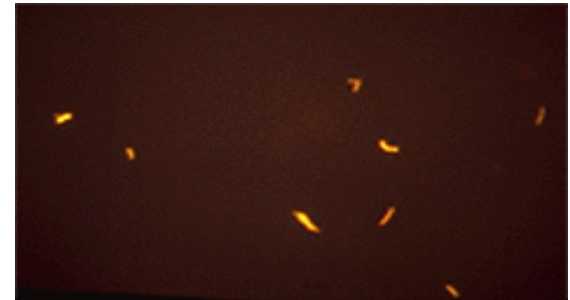
Işık mikroskobu



- Asido rezistan boyama
 - Florokrom
 - Auramin-Rodamin



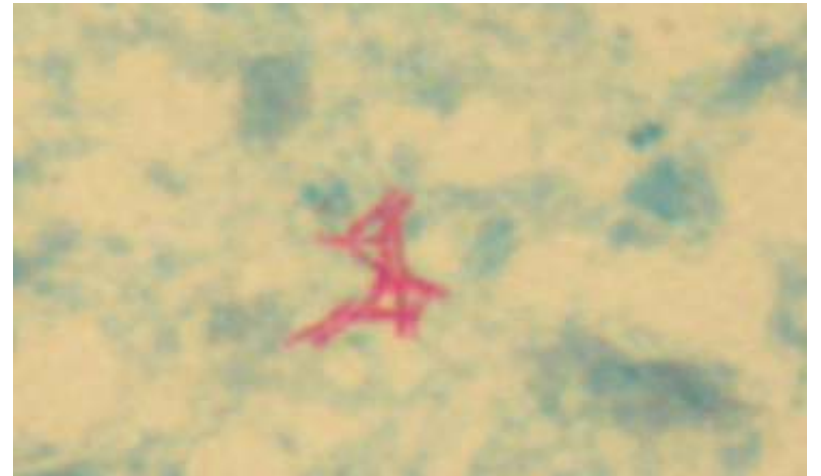
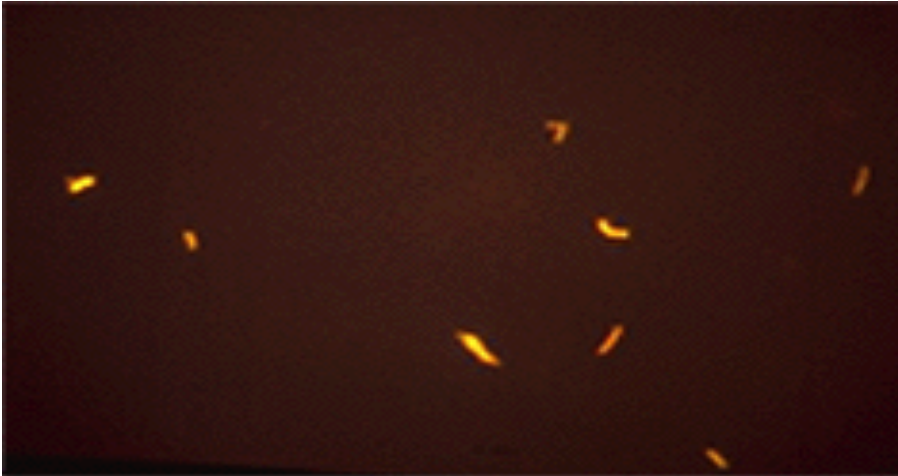
Floresan mikroskobu



Mikroskopik İnceleme

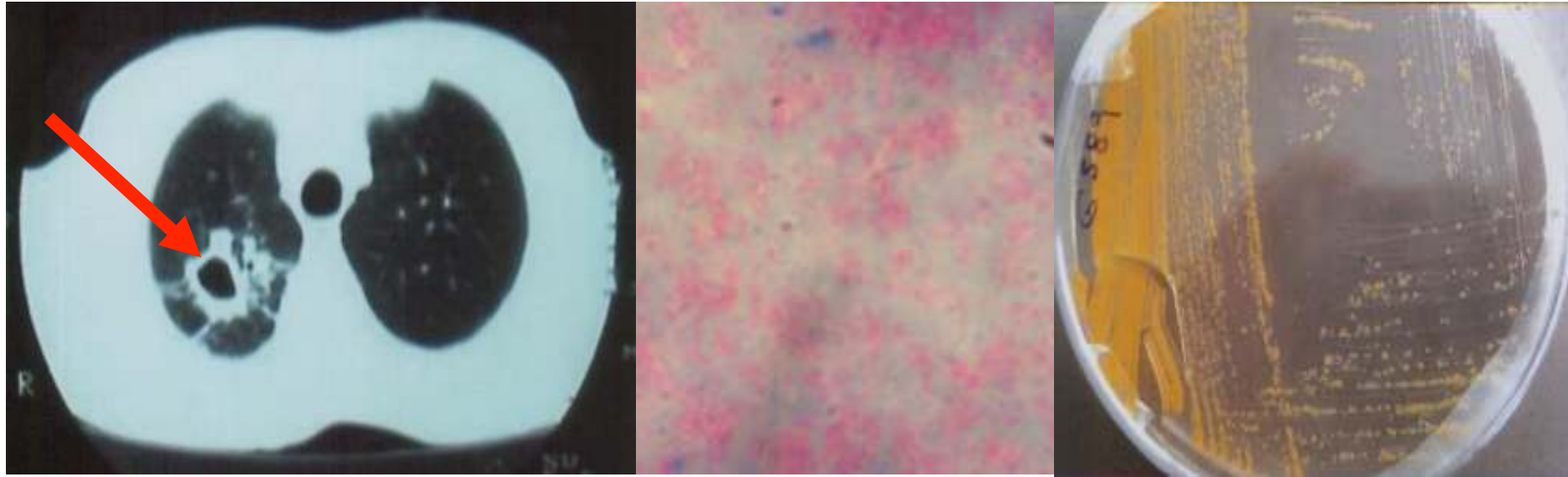
- Avantajları

- Hızlı
- Ucuz
- Uygulanması kolay



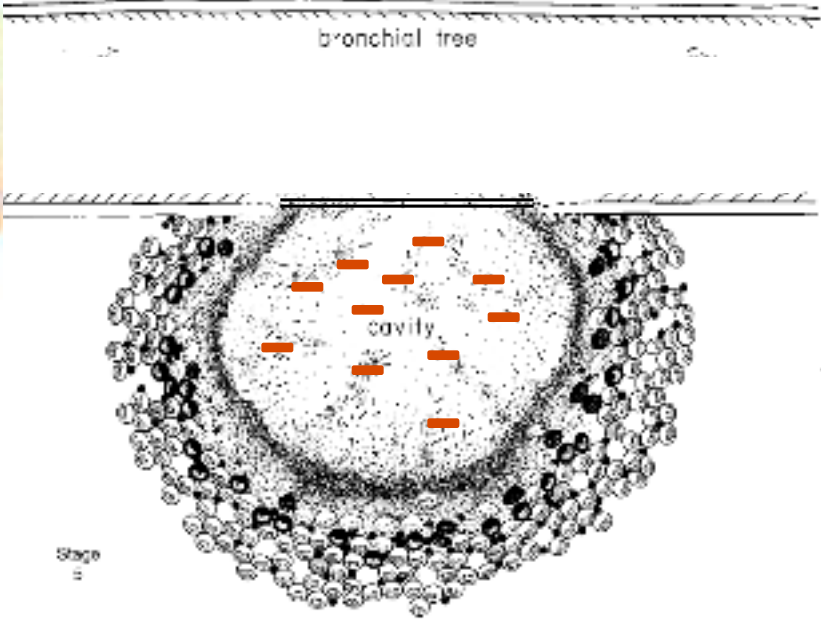
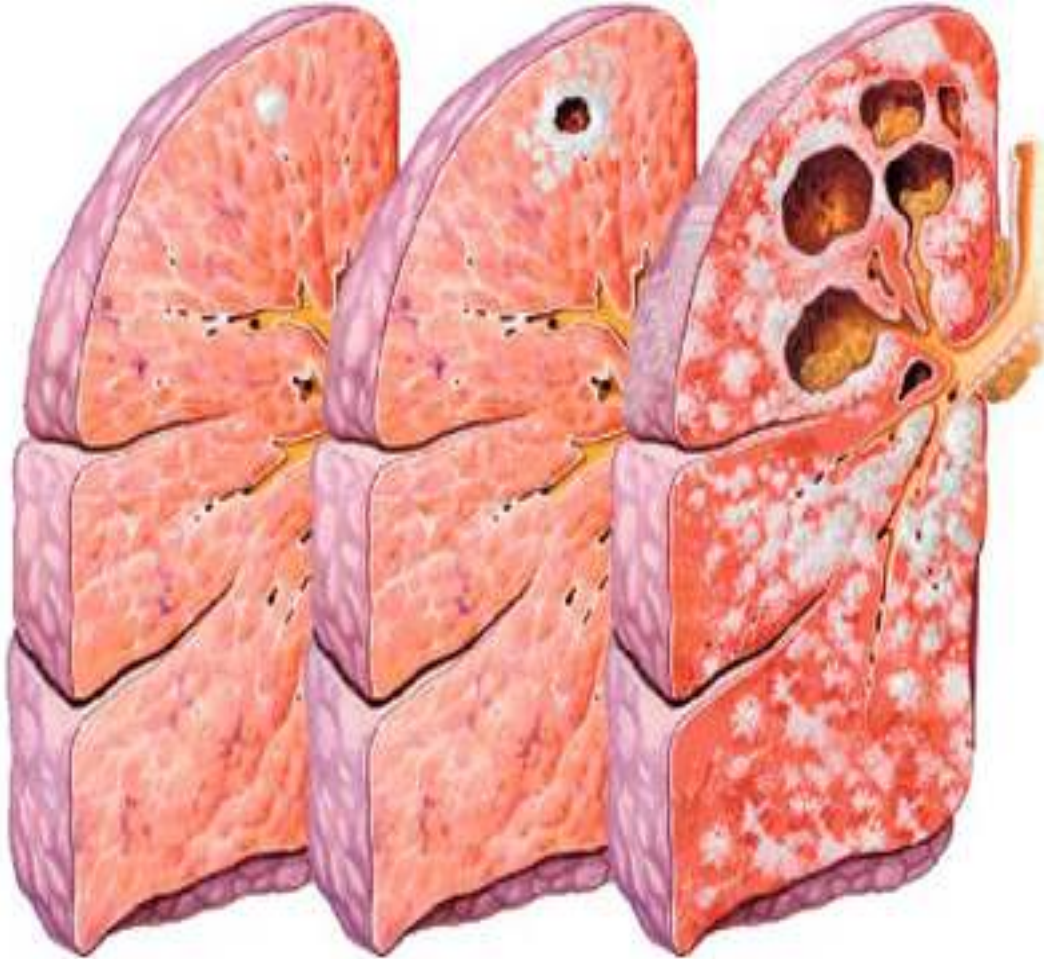
Mikroskopik İnceleme

- Dezavantajları
 - Boyalı inceleme ile *M.tuberculosis* diğer mikobakteri türlerinden ayırlamaz



Mikroskopi ARB (+) → *M.kansasii*

Mikroskopik İnceleme



Kültür

- Katı besiyerleri
 - Löwenstein-Jensen
 - Middlebrook 7H10



•L-J besiyerinde yüzei pürtüklü, krem rengi koloniler oluşturur

- Otomatize ticari sistemler



•Sıvı besiyerinde karakteristik, sicim görünümde **serpentin kord** oluşturur

Kültür

- Avantaj

- Tüberküloz tanısında altın standarttır

- Duyarlılığı yüksektir

- Örnekte 10-100/ml canlı basil bulunması kültürde üreme olması için yeterlidir

- Dezavantaj

- Hızlı bir yöntem değildir

- *M.tuberculosis* yavaş üreyen bir mikroorganizma olduğundan kültürde üremesi için ortalama 10 gün-4 hafta süre gerekmektedir

İdentifikasyon (tanımlama)

MPT64 kart test



POSITIVE

M.tuberculosis kompleks



NEGATIVE

Tüberküloz dışı mikobakteri

- Hızlı (10-15 dakika)
- Ucuz
- TDM türlerini tanımlamıyor

Moleküler yöntemler



- *Mikobakteri türlerini tanımlamak için*
- *M.tuberculosis* kompleks üyelerinin ayırımı yapmak için
- Hızlı (6 saat)

İlaç direncinin belirlenmesi

- **Çoklu ilaç direnci (ÇİD; MDR):** En az Rifampisin + INH direnci
- **Yaygın ilaç direnci (YİD; XDR):** En az Rifampisin + INH + Kinolon + Parenteral ilaç (amikasin, kanamisin veya kapreomisin) direnci
- **Total ilaç direnci (TİD; TDR)**
- İlaç direnci tüberküloz tedavisinde en önemli sorun

Life Magazine March 3, 1952



SEE VIEW DOCTORS Irving Selikoff and Edward Rubinow were first to see the new drugs as patients.



FIRST PATIENT named, Hilda Corbin, takes a pill. The long has improved, at her 100th and 101st birthdays.



HERBERT NAME is a patient in the New York Hospital tuberculosis ward. He is the first patient to be cured by the new drugs.



Agar proporsiyon



MGIT960

M.tuberculosis'de ilaç direncinin belirlenmesi

Fenotipik yöntemler



MGIT960

•4-13 gün

•Moleküler yöntemler

•PCR-Ters hibridizasyon

•DNA dizi analizi



•Dirence yol açan mutasyonlar saptanır

•RİF direnci → *rpoB*

• INH direnci → *katG* ve *inhA*

•Etambutol direnci → *embB*

•Amikasin, kanamisin direnci → *rrs*

•Kinolon direnci → *gyrA*

Moleküler Yöntemler

- Mikroskopik incelemenin duyarlılığı düşüktür, kültür ise geç sonuç vermektedir
- Hastalık örneklerinden *M.tuberculosis* DNA'sını saptayan PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) geliştirilmiştir
- Nükleik asit çoğaltma testleri ile 2 saat içinde sonuç alınmaktadır



- GeneXpert MTB/RIF
 - DSÖ tarafından TB tanısı ve RIF direnci saptamak için önerilen testtir
- GeneXpert MTB/RIF Ultra
 - Yayma-negatif TB olgularında artmış duyarlılık



GeneXpert MTB/RIF (Kısıtlılıklar)

- *M.tuberculosis* kompleks üyelerini ayırmaz

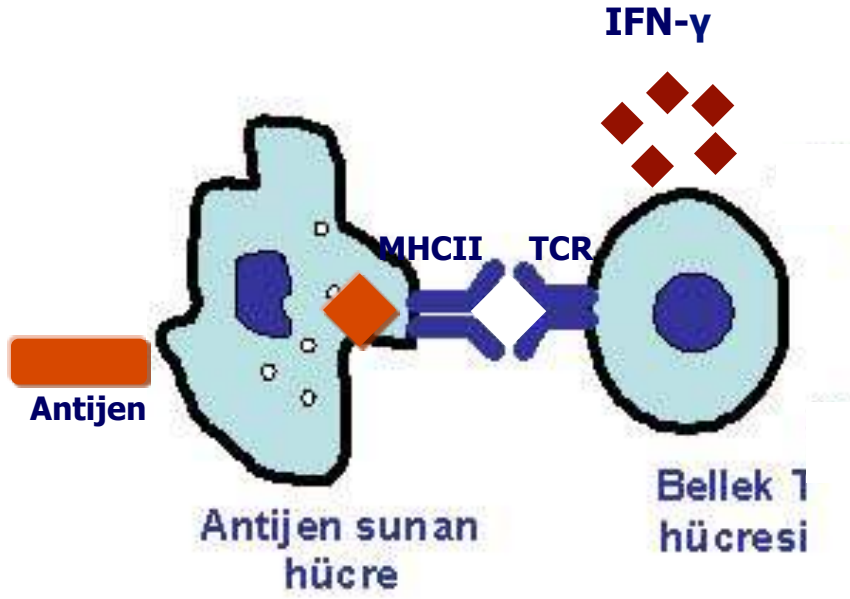
- *M.tuberculosis*
- *M.bovis*
- *M.bovis* BCG
- *M.caprae*
- *M.pinnipedii*
- *M.microti*
- *M.canettii*



- *M.tuberculosis* DNA' sını saptar
 - Ölü basili canlı basilden ayırmaz
 - Tedavinin takibinde kullanılamaz
- Tübeküloz dışı mikobakterileri saptamaz

İmmünolojik tanıda kullanılan testler

- Günümüzde özgül antijen veya antikor saptamaya dayalı immünolojik test yok
 - TBcAg yok
 - Anti-TBc IgG, IgA v.s. yok
- **Tanıda özgül T hücre yanıtına dayanan testler kullanılır**



İmmünolojik yöntemler



Robert Koch

Tüberkülin



Clemens von Pirquet



**Tüberkülin deri testi
(TDT)**



**İnterferon- γ salınım testleri
(IGST)**

- Özgül hücre sel bağışıklık yanıtını araştıran testler
- Enfeksiyona karşı aşırı duyarlılık reaksiyonunu gösterir
- Pozitif test kişinin *M.tuberculosis* ile enfekte olduğunu gösterir.
- Latent tüberküloz enfeksiyonunu aktif tüberkülozdan ayırmaz

Tüberkülin deri testi (PPD testi)



- 0.1 ml PPD antijeni (5 T) n kola intradermal olarak enjekte edilir

- 48-72 saat sonra oluřan endurasyon deęerlendirilir

- BCG aşısı olmayanlarda 10 mm ve zeri
- BCG aşısı bulunanlarda 15 mm ve üzeri pozitif olarak kabul edilir
- Her iki grupta 5 mm ve altı negatif olarak kabul edilir.

IGST



37°C'de 16-24 h



ESAT-6, CFP-10

Özgül T lenfositler tarafından üretilen
IFN- γ miktarı saptanır



TDT ve İGST

Pozitif test kişinin *M.tuberculosis* ile enfekte olduğunu gösterir.
Latent tüberküloz enfeksiyonunu aktif tüberkülozdan ve iyileşmiş tüberkülozdan ayırmaz.

İmmün yetmezliği olan tüberkülozlu hastalarda yalancı negatiflik

TDT

Önceden yapılan BCG aşısından etkilenir

Atipik mikobakteriler yalancı pozitifliğe neden olur

İGST

Önceden yapılan BCG aşısından etkilenmez

Atipik mikobakterilerden (*M.kansasii*, *M.marinum*, *M.szulgai* hariç) etkilenmez

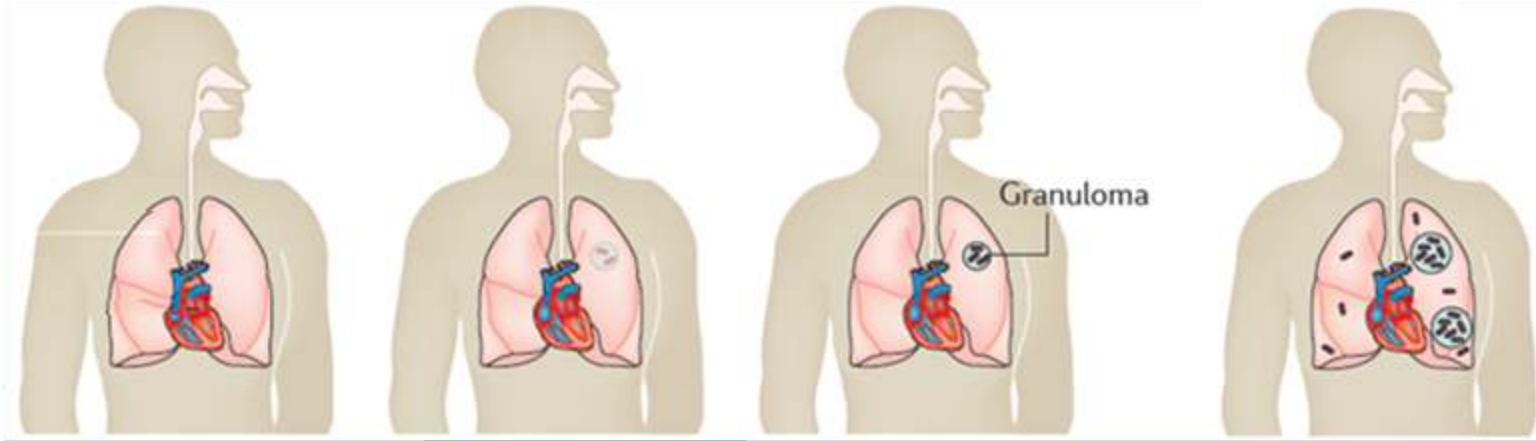
Enfeksiyon ortadan kaldırılır

Doğal immün yanıt ile

Kazanılmış immün yanıt ile

Latent tüberküloz enfeksiyonu

Aktif TB



TDT

IGST

Mikroskopi

Kültür

PCR