

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**AKTİF VE LATENT TÜBERKÜLOZLU OLGULARIN TANISINDA  
TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ İLE QUANTİFERON-TB GOLD IN TUBE  
TESTİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Levent KILIÇ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Figen DEVECİ**

**ELAZIĞ  
2010**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. ....

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

### **Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

**Danışman**

Uzmanlık sınavı jüri üyeleri

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

*Her Őeyimi borçlu olduğum  
aileme...*

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, bütün sorunlarımızı kendi sorunu gibi sahiplenen değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Figen DEVECİ'ye, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M. Hamdi MUZ'a, Anabilim Dalımızın değerli hocaları Doç. Dr. Teyfik TURGUT ve Doç. Dr. Gamze KIRKIL'a, tezimin her aşamasında yolumu aydınlatan ablam Prof. Dr. Hülya TAŐKAPAN'a, asistanlık eğitimim süresince fedakârlığın, dayanışmanın en canlı örnekleri olan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Funda YILDIRIM, Uzm. Dr. Bahar ÖZER ve Arş. Gör. Dr Ebru ERDEM'e, her zaman ve her konuda bana koşulsuz ve sonsuz destek olan aileme, her zaman yanımda olan niőanlım őebnem KUYUCU'ya teşekkür ediyorum.

## ÖZET

Tüberküloz (TB), tüm dünyada yüksek mortalite ve morbiditesi ile önemli bir infeksiyöz hastalıktır. Tüberkülin deri testi (TDT) TB'nin bilinen ilk immünolojik tanı aracıdır. Ancak, TDT klinik tanıda birçok yönden kısıtlı öneme sahiptir. Son dönemlerde geliştirilen QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT-GIT) testi gibi serolojik testlerin TB infeksiyonunu saptamada TDT'ye oranla daha spesifik sonuç verdiği konusunda çalışmalar vardır. Çalışmamızda aktif ve latent TB'si olan hastalarda QFT-GIT ve TDT testinin tanısal değerinin araştırılması ve bu iki testin etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza 16 aktif akciğer TB'li, 26 latent TB'li olgu ve 21 sağlıklı kontrol olgu alındı. Aktif akciğer TB tanısı en az bir balgam yayma ARB (+)'liği ve ARB kültür pozitifliğine göre konuldu. Aktif akciğer TB'li olgularda tedavi başlanmadan önce olmak üzere tüm olgularda önce QFT- GIT için kan alındı daha sonra TDT'leri uygulandı.

Gruplar arasında yaş ortalaması ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Aktif TB olgularının 8'inde (%50) TDT çapı 15 mm'nin altında idi. Ortalama TDT çapı latent TB'li olgularda aktif akciğer TB'ye göre ( $p:0.001$ ) ve aktif akciğer TB'li olgularda kontrol grubuna göre ( $p:0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Ortalama QFT-GIT testi düzeyleri hem aktif hem de latent TB olgularında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksekti (sırasıyla  $p:0.003$ ,  $p:0.005$ ). QFT-GIT testi aktif TB hastalarının 12 (%75.0)'sinde, latent TB olgularının 15 (%65.2)'inde pozitif iken, kontrol grubunda 3 (%14.3) olguda pozitif sonuç elde edildi. QFT-GIT testinin duyarlılığı ve özgüllüğü aktif akciğer TB'nin saptanmasında %75 ile %85.7, latent TB'nin saptanmasında %65.2 ile %85.7 olarak saptandı. Aktif akciğer ve latent TB'li olgular değerlendirildiğinde ise testin duyarlılığı %75, özgüllüğü %34.8 olarak bulundu. QFT-GIT testi ile TDT arasında pozitif korelasyon saptandı.

Latent TB infeksiyonunun ve aktif TB'li hastaların saptanmasında QFT-GIT'in tanıda katkısının olabileceği düşünülse de testin aktif hastalık ve latent infeksiyon ayırımında özgüllüğü düşmektedir. QFT-GIT ile TDT arasında pozitif

korelasyon saptanmış olması ve QFT-GIT'in maliyetinin yüksek olması nedeniyle özellikle ülkemiz şartlarında TDT'ye daha üstün gibi görülmemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Aktif akciğer tüberkülozu, Latent tüberküloz enfeksiyonu, QuantiFERON-TB Gold IT, Tüberkülin deri testi.

## **ABSTRACT**

### **COMPARISON OF A QUANTIFERON-TB GOLD IN TUBE TEST WITH TUBERCULIN SKIN TEST IN PATIENTS WITH ACTIVE AND LATENT TUBERCULOSIS INFECTION**

Tuberculosis (TB) is an important infectious disease with high mortality and morbidity worldwide. The tuberculin skin test (TST) is known as the first immunologic diagnostic method in TB. TST has limited value for diagnosis of TB in different settings. There are some studies demonstrated that recently developed some serological tests such as Quanti FERON-TB Gold (QFT-GIT) test had greater diagnostic specificity than TST. The aim of our study was to compare the usefulness and the performance of QFT-G assays and TST in patients with active and latent TB disease.

Sixteen patients with active tuberculosis, 26 patients with latent TB ve 21 controls were included into the study. The diagnosis of active TB was based on presence of at least one positive sputum smear and positive TB culture. Blood samples were taken for QFT-GIT before the treatment in patients with active TB and then TST was performed.

There was no difference according to age and gender among groups ( $p>0.05$ ). In 8 (50%) patients with active TB mean endurance of TST was under 15mm. Mean endurance of TST was significantly greater in latent TB patients than those of active TB patients ( $p:0.001$ ) and in active TB patients it was higher than those of controls ( $p:0.001$ ). QFT-GIT test was found to be significantly higher in active TB patients and in latent TB patients compare to those of controls (respective  $p:0.003$ ,  $p:0.005$ ). QFT-GIT tests were positive in 12 (%75.0) of active TB patients, in 15 (%65.2) of latent TB patients and in 3 (%14.3) controls. Sensitivities of QFT-G were found to be as 75% and specificities 85.7 % for active TB and 65.2 % and 85.7 % respectively for latent TB. When patients with active and latent TB were evaluated sensitivities of QFT-GIT were 75% and specificities 34.8 %. A positive correlation was detected between QFT-GIT test and TST.

Even it was thought that QFT assays have the supplementary role for detection of active and latent TB, specificity of the test for the diagnostic discrimination between active TB and latent TB disease is low. QFT-GIT is not more valuable in the diagnosis of active pulmonary TB than TST especially in our country condition due to higher cost of QFT-GIT and presence of positive correlation between QFT-GIT ile TST.

**Key words:** Active tuberculosis, latent tuberculosis, QuantiFERON-TB Gold IT, tuberculin skin test



## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK</b>	<b>i</b>
<b>DEKANLIK ONAYI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iv</b>
<b>ÖZET</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>ix</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Genel Bilgiler	3
1.1.1. Tüberkülozda Bulaşma	3
1.1.2. Tüberküloz Basili	4
1.1.2.1. Tüberküloz Basilinin Özellikleri	5
1.1.2.2. Bakterinin Yapısı	6
1.1.3. Tüberkülozun Patogenezi	7
1.1.3.1. Primer İnfeksiyon ve Primer Tüberküloz	7
1.1.3.1.1. Evre I: Başlangıç Evresi (Birinci Hafta)	7
1.1.3.1.2. Evre II: Basillerin Çoğalma ve Yayılma Evresi (simbiozis) (2-3. Hafta)	8
1.1.3.1.3. Evre III: Hücre Aracılı İmmün Yanıt ve Geç Tip Aşırı Duyarlılığın Gelişimi (3-9 hafta)	9
1.1.3.1.4. Evre IV: Erime ve Kavite Oluşumu	10
1.1.3.2. Postprimer Tüberküloz	12
1.1.4. Tüberküloz Tanı Yöntemleri	13
1.1.4.1. Bakteriyolojik Tanı Yöntemleri	13
1.1.4.1.1. Mikroskopik Değerlendirme	14
1.1.4.2. Kültür	15
1.1.4.3. Tüberkülin Deri Testi	16
1.1.4.3.1. Booster Fenomeni (Hatırlatma fenomeni):	18

1.1.4.4. Mikobakterilerin Tanısında Moleküler Yöntemlerin Kullanılması	19
1.1.4.5. Serolojik Tanı Yöntemleri	20
1.1.4.5.1. Tüberkülozun Serolojik Tanısında Kullanılan Testler	20
1.1.5. Tüberküloz Aşısı	24
1.1.5.1. BCG	24
1.1.5.1.1. BCG Aşısının Yan Etkileri	25
1.1.5.1.2. BCG Aşısının Kontrendikasyonları	25
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>26</b>
2.1. Hasta Seçimi	26
2.2. Tüberkülin Deri Testi Uygulanması	26
2.3. Quantiferon-TB Gold In-Tube testinin uygulanması	27
2.4. İstatistiksel Değerlendirme	28
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>33</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>39</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>49</b>

## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Tüberküloz basilinin bulaşmasını etkileyen faktörler .....	4
<b>Tablo 2.</b> Tüberkülozda patogenezi: dört-evre modeli .....	12
<b>Tablo 3.</b> Boyalı preparatta aside dirençli basillerin raporlanması .....	15
<b>Tablo 4.</b> Balgam mikroskopisinde yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların başlıca nedenleri.....	15
<b>Tablo 5.</b> Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı'na göre TDT'nin yorumlanması .....	17
<b>Tablo 6.</b> TDT'nin yalancı negatif olduğu durumlar .....	18
<b>Tablo 7.</b> QFT-GIT testinin değerlendirilmesi.....	28
<b>Tablo 8.</b> Olguların QFT-GIT ve TDT sonuçları.....	29
<b>Tablo 9.</b> Olguların BCG skar sayısı ve TB temas öyküsü .....	30
<b>Tablo 10.</b> Aktif ve latent TB'nin ayırımında QFT-GIT'in tanı değeri .....	30
<b>Tablo 11.</b> Aktif TB tanısında QFT-GIT'in tanı değeri .....	31
<b>Tablo 12.</b> Latent TB tanısında QFT-GIT'in tanı değeri.....	31
<b>Tablo 13.</b> Tüm olgularda TDT ve QFT-GIT sonuçları arasındaki uyumluluk .....	31
<b>Tablo 14.</b> Skar sayısına göre QFT-GIT ve TDT değerleri.....	32

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1.</b> Mikobakterilerin toksonomik ağacı.....	5
<b>Şekil 2.</b> Mikobakteri hücre duvarı yapısı.....	7
<b>Şekil 3.</b> Tüberküloz hastalığının gelişimi .....	8
<b>Şekil 4.</b> QFT-GIT testi ile TDT arasındaki ilişki .....	32

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ARB</b>	: Asido rezistan basil
<b>ATS</b>	:American Thorasic Society
<b>BCG</b>	: Bacille Calmette Guerin
<b>CDC</b>	: Centers for Disease Control and Prevention
<b>CD4</b>	: T helper
<b>CFP-10</b>	: Culture filtrate protein-10
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immun assay
<b>ELISPOT</b>	: Enzyme linked immunospot
<b>ESAT-6</b>	: Early Secreted Antigenic Target 6kDa protein
<b>GTA</b>	: Geç tipte aşırı duyarlılık
<b>HAI</b>	: Hücre Aracılı İmmünite
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon gamma
<b>LAM</b>	: Lipoarabinomannan
<b>LTBI</b>	: Latent tüberküloz infeksiyonu
<b>NTM</b>	: Nontüberküloz mikobakteri
<b>PPD</b>	: Purified Protein Derivative= Saflaştırılmış protein türevi
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>QFT- TB</b>	: QuantiFERON-TB
<b>QFT- G</b>	: QuantiFERON-TB-Gold
<b>QFT-GIT</b>	: QuantiFERON-TB GOLD In-tube
<b>RD1 geni</b>	: Region of difference 1 geni
<b>SDA</b>	: Zincir ayrıştırma amplifikasyon= Strand displacement amplification
<b>TB</b>	: Tüberküloz
<b>TDT</b>	: Tüberkülin deri testi
<b>TMA</b>	: Transkripsiyona bağlı çoğaltma =transcription mediated amplification
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrozis faktör alfa

## 1. GİRİŞ

Tüberküloz (TB) bütün yaş gruplarında görülen ve tüm sistemleri tutan önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olan bir infeksiyon hastalığıdır. Günümüzde, dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri *M. tuberculosis* ile infektidir (1, 2). Dünya sağlık örgütü TB'yi tek başına en önemli ölümcül infeksiyon hastalığı olarak kabul etmiştir, % 95'i gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere her yıl 8 milyon yeni olgu ve 2 milyon TB'ye bağlı ölüm bildirilmektedir (3).

TB'li hastanın erken tanısı ve uygun tedaviye başlanması, hastanın iyileştirilmesini sağlamakta ve aynı zamanda infeksiyon ve hastalığın toplumdaki diğer insanlara bulaşmasını da önlemektedir. Aktif TB'li bir hasta çevresindeki 20 sağlıklı kişiyi de infekte etmektedir. Bu risk, kaynak olgunun bulaştırıcılık özelliklerine, temas edenin vücut direncine, temasın yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Enfekte olduktan sonra olguların %10'unda genellikle TB temasının ilk 1-2 yılı içinde aktif hastalık gelişmektedir. Basil saçan bir TB hastasıyla temas eden sağlıklı bir kişi için sessiz infeksiyon olasılığı %95, iki yıl içinde aktif TB gelişme olasılığı %5'tir. Sessiz infeksiyon gelişenlerin %5'i yaşamlarının geri kalan bölümünde TB hastası olmaktadır (yaşam boyu toplam risk %10). TB ile savaşta infekte kişilere yaklaşım önemlidir. İnfekte olduktan sonra hastalanma riski yüksek olan grupların belirlenmesi bu yaklaşımda temeldir (1-4).

Tüberküloz hastalarının temaslılarının taranmasında kullanılan temel yöntemler mikofilm çekilmesi, tüberkülin deri testi (TDT) yapılması ve balgam çıkaranlar ile şüphelenilenlerde balgam incelemesi yapılmasıdır. Balgamda asido-resistan basil (ARB) direkt bakışının duyarlılığı %50-60'dır, bakteriyel kültür ise 4-6 haftalık bir süreç gerektirmektedir (4).

Tüberküloz hastalığının tanısında iki temel yaklaşım vardır. Bunlardan birincisi direkt yaklaşım olup mikobakteri veya ürünlerinin tespit edilmesi, ikincisi ise indirekt yaklaşımla TB'ye karşı konakta gelişen hümmoral ve hümmresel immün yanıtların tespit edilmesidir (5, 6).

İndirekt yaklaşım metodlarından, TB'nin bilinen ilk immünolojik tanı aracı TDT'dir. TDT'de TB basiline saflaştırılmış protein türevi (PPD), *M. Tuberculosis*, *M. Bovis*, Bacillus-Calmette-Guerin (BCG) suşu ve pek çok tüberküloz dışı mikobakterilerce [non-tüberküloz mikobakteri (NTM)] paylaşılan kaba bir antijen

karışımı kullanılmaktadır. Pozitif sonuç kişinin TB basili ile infekte olduğunu düşündürmektedir. Daha çok epidemiyolojik çalışmalarda önemli olmakla birlikte TDT, latent olarak infekte kişilerde aktif hastalık riskini öngörebilmesi nedeniyle, bugün için hala önemini korumaktadır. Ancak, TDT klinik tanıda birçok yönden kısıtlı bir öneme sahiptir. TDT, PPD ile uygulanmaktadır. Bu nedenle BCG aşısı da sonucu etkilemektedir. Aktif akciğer TB'si olduğu halde, ileri yaş, aşı, kilo kaybı, yaygın hastalık durumlarında negatif sonuçlar görülebilmektedir (7, 8).

TDT'nin uygulaması ve yorumlamasındaki sorunlar araştırmacıları yeni arayışlara yöneltmiştir. TB ile infekte kişilerin daha önce TB antijeni ile sensitize olmuş T-hücreleri mikobakteriyel antijen ile yeniden karşılaştığında interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) üretirler. Daha önceleri kullanılan PPD'nin yerine *M. Tuberculosis* için daha spesifik antijenlerin kullanıldığı bu *in vitro* testler kullanıma girmiştir. Bu antijenler [early secreted antigen target 6 (ESAT-6), culture filtrate protein 10 (CFP-10), TB7.7 antijenleri], *M. Tuberculosis* ve patojen *M. Bovis*'te bulunan; BCG ve birçok NTM'de bulunmayan (*M. Kansasii*, *M. Szulgai* ve *M. Marinum* hariç) antijenlerdir. BCG ve NTM'lerde bulunmayan *M. Tuberculosis* genomunun region of difference-1 (RD1) bölgesindeki genler tarafından kodlanırlar. Son 10 yılda T-hücrelerinden salınan IFN- $\gamma$  esasına dayanan dört ticari *in vitro* test geliştirilmiştir: Başlangıçta enzyme linked immunospot (ELISPOT) yöntemiyle bakılan T-SPOT-TB (Oxford Immunotec, Abingdon UK) testi ve ELISA esasına dayanan Quantiferon TB testi (QFT-TB) (Cellestis, Victoria Australia); ardından QFT-TB testinin yerine son zamanlarda Quantiferon TB Gold (QFT-G) ve Quantiferon TB-Gold-In tube (QFT-GIT) metodu geliştirilmiştir. Bu serolojik testlerin TB infeksiyonunu saptamada TDT'ye oranla BCG ve birçok NTM ile etkilenmeden daha spesifik sonuç verdiği konusunda çalışmalar vardır (5, 7).

Latent TB infeksiyonunun tanısında da yıllardır kullanılmakta olan TDT, *in-vivo* uygulanan, tek bir antijene karşı duyarlılığın ölçüldüğü, kalıcı antijenik etki bırakan, uygulanışında ve 72 saat sonra hastanın iki kez görülmesini gerektiren ve değerlendiren kişiye göre sonuçların değişebildiği subjektif bir testtir (8). QFT-TB, hastanın tam kan örneğine çoklu antijen uyarımı yapılarak 24 saat içinde immün efektör hücrelerden TB'ye özgül IFN- $\gamma$  salınımının miktarını ELISA ile ölçen bir testtir (9).

Bu çalışmada aktif ve latent TB'si olan hastalarda QFT-GIT ve TDT testinin tanısallık değerinin araştırılması ve bu iki testin etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## **1.1. Genel Bilgiler**

Tüberküloz insanlığı tarih ve tarih öncesi dönemlerden beri etkileyen bir hastalıktır. Günümüzde de tüm dünyada TB'nin neden olduğu ölüm oranı herhangi bir organizmanın neden olduğu ölüm oranından daha fazladır. Koch 1882 yılında TB basili ve etken ajanını bulana kadar dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinin TB basiliyle enfekte olduğu, dünyada her yıl 8 milyon yeni vakaya rastlandığı ve her yıl 3 milyon kişinin TB'den öldüğü tahmin edilmektedir (10).

### **1.1.1. Tüberkülozda Bulaşma**

TB bulaş, hasta bireylerin öksürük, hapsirme, konuşma ve şarkı söyleme gibi derin solunum hareketleriyle basil yüklü damlacıkların çevre havasına dağılması ve buharlaşma ile daha küçük partiküller haline geçen damlacık çekirdeklerinin sağlam bireyler tarafından solunum yoluyla alınmasıyla olur. TB'nin yiyecek ve içecekler ile bulaşması çok nadirdir (11).

Ağız ve burundan solunumsal sekresyonlar aerosolize olduktan sonra, hızla sıvı kapsamlarını kaybederek küçük solid bir maddeden ibaret kalırlar. Bu küçük solid maddeye damlacık çekirdeği adı verilir. Damlacık çekirdeği oluşturmada en etkin mekanizma öksürüktür. Hemen hemen bütün olgularda, TB enfeksiyonu; havada asılı halde bulunan ve 1-2 canlı basil içeren 1-5 mikron büyüklüğündeki partiküllerin alveollere ulaşmasıyla meydana gelir. Boyutları 10 µm'den büyük olan partiküllerin çoğu, üst nazal geçişler sırasında tutulur ya da alt solunum yollarının mukosilier mekanizması tarafından farekse atılarak yutulur ve zararsızca sindirilirler (11).

Bulaşıcılıkta en önemli diğer faktör, kaynak olgunun akciğerlerinde bulunan basil sayısıdır. Cannetti'nin bulgularına göre, TB lezyonundaki basil sayısı tamamen lezyonun morfolojisine dayanmaktadır. Solid nodüllerdeki basil sayısı  $10^2$ - $10^4$  arasında değişirken, kaviter lezyonlarda bu sayı  $10^7$ - $10^9$ 'a ulaşmaktadır (11). Solunum sekresyonlarının karakteri ve hacmi de bulaştırıcılığı etkileyen faktörlerdir. İnce ve sulu sekresyonlar, visköz müküse göre daha kolaylıkla solunabilir büyüklükte partiküllere parçalanabilirler. Bulaşmayı etkileyen diğer faktörler Tablo 1'de özetlenmiştir (4).



**Tablo 1.** Tüberküloz basilinin bulaşmasını etkileyen faktörler

---

### 1-KAYNAK OLGUNUN ÖZELLİKLERİ

- Aside dirençli basil pozitif balgam çıkarma miktarı
- Aerosol oluşturma potansiyeli (öksürük, aksırık, konuşma, nebülizör kullanımı)
- TB'nin klinik formu
- TB tedavisi alıp almadığı

### 2- ÇEVRESEL FAKTÖRLER

- Havalandırma (havanın hacmi artınca basiller seyreltilir)
- Havalandırma sisteminin aynı havayı vermesi
- Ultraviyole, güneş ışığı
- Kaynağa yakın olma

### 3- KARŞILAŞMA SÜRESİ VE BASİL YOĞUNLUĞU

### 4- MİKROORGANİZMANIN ÖZELLİKLERİ

### 5- HEDEF KİŞİNİN ÖZELLİKLERİ

- Geçirilmiş TB öyküsü
  - Riski artıran faktörlerin varlığı (HIV pozitifliği, Silikozis, Kortikosteroid kullanımı, Diabetes mellitus vs.)
  - BCG aşısının olup olmadığı
- 

#### 1.1.2. Tüberküloz Basili

*Mycobacterium* Yunanca 'fungus' (myces) ve 'küçük çubuk' (bakterion) kelimelerinden türemiştir. İsmi fungus kısmı bu mikroorganizmanın sıvı besi yerlerinde büyüme paterninin mold benzeri olmasından kaynaklanmaktadır.

Tüberküloz basili 1882 yılında Robert Koch tarafından boyanarak mikroskopta gösterilmiş, 1884'te de koagüle sığır serumlu besi yerinde üretilmiştir. TB basili, bulucusunun ismine göre Koch basili ve boyanma özelliğine göre de asidorezistan basil 'ARB' olarak adlandırılmıştır. Daha sonraları *Actinomycetales* soyundan geldiği belirlenerek '*Mycobacterium Tuberculosis*' olarak adlandırılmıştır (12, 13).

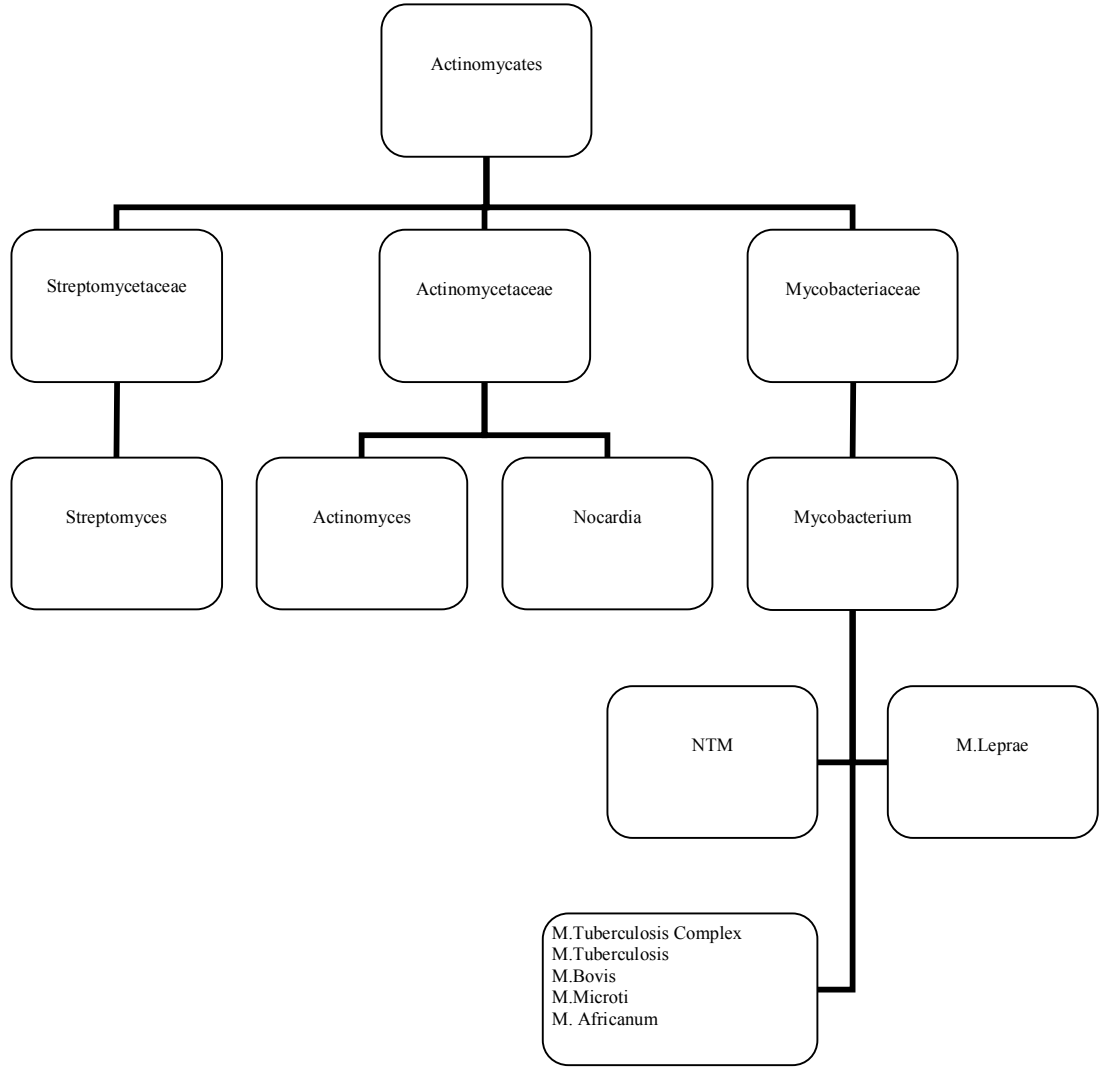
Tüberküloz basilinin soyağacı şekil-1'de sunulmuştur (13).

Soy: *Actinomycetales*

Aile: *Mycobacteriaceae*

Cins: *Mycobacterium*

Tür: *Mycobacterium Tuberculosis*



NTM: Non-tuberculosis mycobakteriler

**Şekil 1.** Mikobakterilerin toksonomik ağacı

### 1.1.2.1. Tüberküloz Basilinin Özellikleri

Tüberküloz basili 2-4  $\mu$  boyunda ve 0,2-0,5  $\mu$  genişliğindedir. Kültür ortamında birbirine paralel veya kordlar oluşturacak şekilde dizilir. Solid veya likid özel besi yerinde çoğalır, 3-4 haftada koloniler oluşturur. Yumurtalı besiyerinde (Loewenstein-Jensen) ve oleik asid albumin agar besiyerinde optimal ısı 33-39°C'de, ph 6.5-6.8'de, % 5-10 CO<sub>2</sub> 'li ortamda çoğalır.

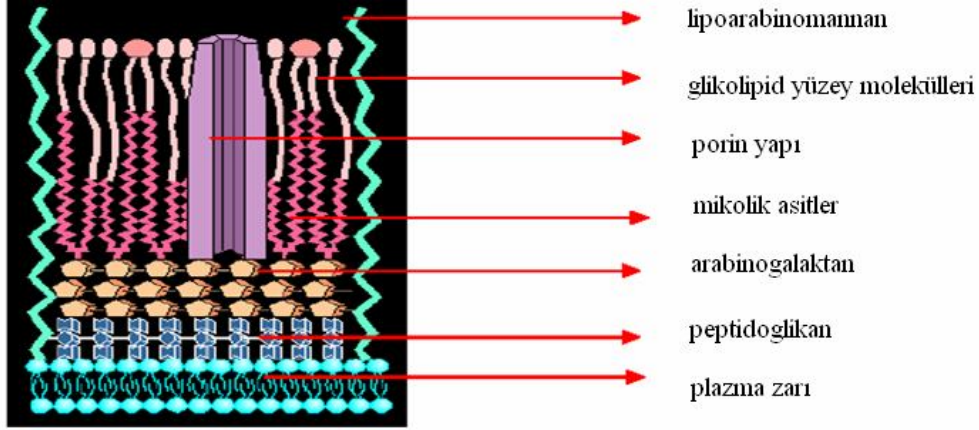
Tüberküloz basilleri zor boyanır, ancak boyandıktan sonra boyasını kolay bırakmaz, aside alkole dayanıklıdır. Ziehl-Neelsen boyası ile boyanır, ayrıca floresan boyalarla auramin-rhodamin ile de güçlü floresan verir. Ziehl Neelsen boyası ile

pembe-leylak rengi görünüm alır. Kuru yerlerde 2-8 ay canlı kalabilir, direkt güneş ışığında 2 saatte ölürler. Balgam içindeki basil güneş ısısında 20-30 saat dayanır (14). TB basili, kültürlerde uzun süre saklı kalabilir; buzdolabında ise yıllarca yaşamını sürdürür. TB basilinin bu özelliği patojenite açısından çok önemlidir; primer TB infeksiyonundan sonra makrofajlar içinde yaşamlarını sürdürebilmeleri ve yıllarca sonra reaktivasyonla hastalık geliştirebilmeleri bu özelliklerinden kaynaklanır. TB basili hareketsiz, tam aerop ve istemli intrasellüler bir mikroorganizmadır. Bu nedenle oksijen parsiyel basıncının yüksek olduğu organ veya dokularda yerleşmeyi yeğler. TB basilinin ekzotoksini ve endotoksini yoktur (15).

### **1.1.2.2. Bakterinin Yapısı**

Mikobakterilerin hücre membranı iki tabaka polar fosfolipid içerir. İçteki tabaka hidrofobik, dıştaki tabaka ise hidrofiliktir. Mikobakterinin lipofilik lipidden zengin ve kalın hücre duvarı vardır, Bu yapı bakterinin aside dayanıklılığını, hücrelerin bir araya toplanmasını, konakçı hücreleri tarafından yapılan litik enzimlere ve bakterisidal ilaçlara direncini ve antibiyotiklerin hücre içine girişini engellenmesini sağlar. Lipidler hücre duvar ağırlığının %60'ını oluştururlar, hücre duvarındaki lipidlerin bir kısmı bakteriye özgüdür (16).

Plazma membranının üstünde bulunan en iç tabaka peptidoglikandan (murein) oluşmuştur ve bu tabaka hücrenin şeklini ve rijiditesini sağlar. Peptidoglikanlara bitişik tabaka arabinogalaktan tabakasıdır. Mikobakteriyel duvar kitlesinin %35'ini oluştururlar. Peptidoglikana fosfodiester köprüleri ile bağlıdır. Arabinogalaktanın yapısında mikolik asit bulunur, bu asitler hücre duvarının kalınlığından ve büyük oranda hücrenin aside dirençli oluşundan sorumludur. Mikolik asitler, trehalose gibi şekerlerle bağlanarak "kord faktör" oluşturabilirler (16). 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, toksik etkisi de vardır (17). Mikobakterilerin hücre duvar yapısı şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Mikobakteri hücre duvarı yapısı

### 1.1.3. Tüberkülozun Patogenezi

Tüberküloz hastalığının doğal gelişimiyle ilgili çeşitli teoriler ileri sürülmüştür. Bu teorilerde TB basili ile bireyin immun yanıtı ve bu etkileşimin sonuçlarına dayalı sınıflamalar yapılmıştır.

Günümüzde TB'nin iki aşamalı bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Birinci aşamada basil akciğere ulaşmakta ve primer TB infeksiyonu veya hastalık kliniği oluşturursa saptanan primer TB hastalığı ortaya çıkmaktadır. Primer TB infeksiyonunun genelde sessiz seyretmesi ve latent döneme girmesi veya primer TB hastalığının iyileşmesinden sonra bireyin yeniden hastalandığı ikinci aşama da postprimer TB olarak kabul edilmektedir (18).

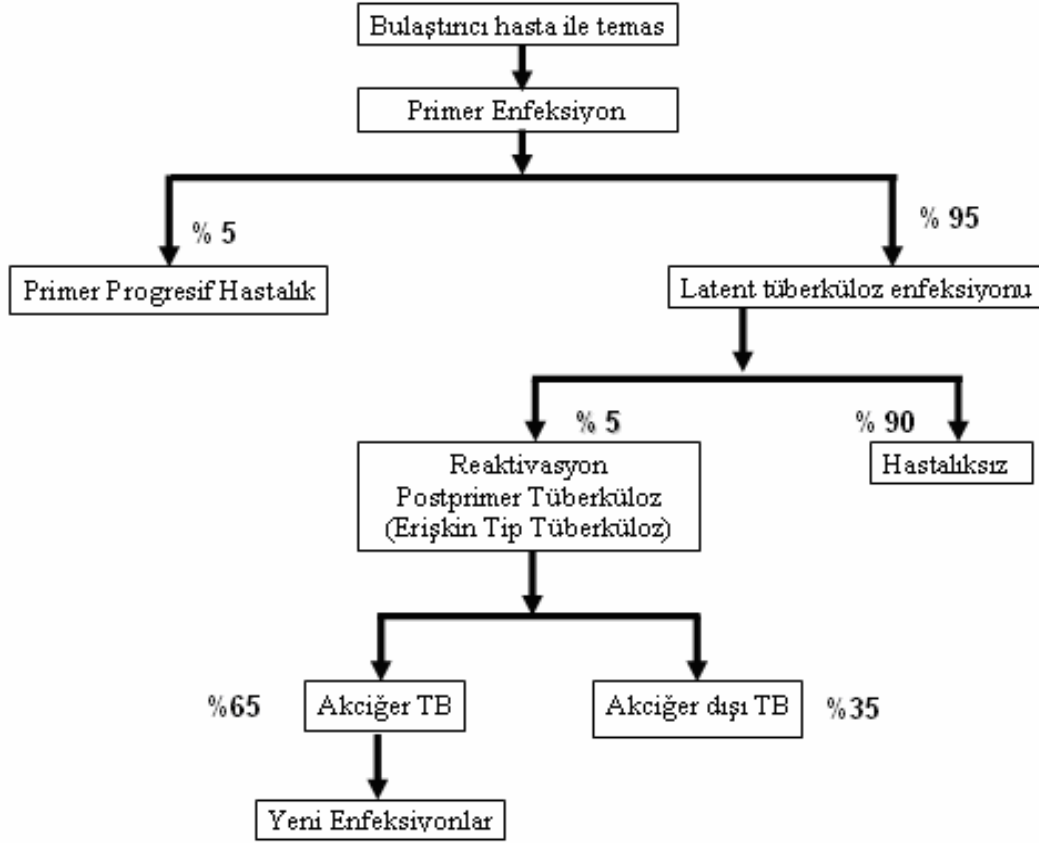
TB hastalığının gelişimi şekil 3'te sunulmuştur (4).

#### 1.1.3.1. Primer İnfeksiyon ve Primer Tüberküloz

##### 1.1.3.1.1. Evre I: Başlangıç Evresi (Birinci Hafta)

Daha önce hiç TB basili ile karşılaşmamış bir bireyin solunum yolu ile aldığı ve içinde 1-3 basil bulunan "damlacık çekirdekleri" alveollere kadar ulaşır. TB hücre içi bir infeksiyondur. Organizmaya giren TB basili hücrel immün yanıtla karşılaşır. Bu basiller genellikle akciğerlerin alt ve orta alanlarında, plevraya yakın alveollere ulaştıklarında makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Bu nonspesifik bir yanıtıdır ve bu yolla basilleri öldürebilirler. Fakat basillerin sayısı ve/veya virulansı fazla ise makrofajlar tarafından öldürülemeyen bazı basiller makrofaj sitoplazmasındaki fagozomlarda çoğalmaya başlarlar. Virulan basiller makrofajın lizozom-fagozom fizyonunu azaltarak ve fagozom membranını harap ederek makrofajı yok ederler.

Cord faktör ve sülfolipid gibi basilin virulansını artıran özelliklere sahip basiller inaktive makrofaj ile karşılaştığında makrofaj harabiyeti daha çabuk olmaktadır.



Şekil 3. Tüberküloz hastalığının gelişimi

Makrofajların parçalanması ile basiller alveoler alana yayılırlar. Genel olarak TB basilinin organizmaya girdiği ve başlangıçta aktive olmamış makrofaj ve nötrofil lökositler tarafından fagosite edildiği bu evrede primer TB infeksiyonu başlamıştır. Primer TB infeksiyonunun bu akut aşaması başlangıç veya I. evre olarak nitelenir (19).

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

Alveollere yayılan basiller kan damarlarından lezyon alanına gelen yeni inaktif makrofajlar tarafından fagosite edilirler ve onlar içinde çoğalmaya devam ederler. Makrofaj içinde logaritmik büyüme gösteren ve onu parçalayan basiller nonspesifik nötrofilik alveolit yapar ve lenfatikler yoluyla sistemik dolaşıma katılır. Basilin ilk yerleştiği odağa primer odak adı verilir. Bağışıklığın yeterli olması

durumunda bu dönemde hiçbir klinik belirti vermeden lezyonlar iyileşmiş olur. Basilin organizmaya girdiği ilk 2-3 haftasındaki bu aşamada basillerin logaritmik çoğalması devam etmekte olduğu için logaritmik çoğalma evresi, simbiotik evre veya II. evre olarak isimlendirilmektedir. Hücresel immün yanıt tam olarak ancak 6-8 haftada gelişeceğinden bu sırada basil yüklü makrofajlar bölgesel lenf bezlerine (özellikle hiler ve mediastinal) ulaşabilir ve hematojen yolla yayılabilirler (Lenfo-hematojen yayılım) (19).

### **1.1.3.1.3. Evre III: Hücre Aracılı İmmün Yanıt ve Geç Tip Aşırı**

#### **Duyarlılığın Gelişimi (3–9 hafta)**

Bu evre basillerin logaritmik çoğalmaları durduğu zaman başlar, artık immunolojik koruma mekanizması harekete geçmiştir. Basillerin çoğalmaları iki immünolojik mekanizma ile durdurulur. Makrofajların kendi içlerinde işledikleri basilin antijenik yapılarını T helper (CD4+) lenfositlere sunması ile, lenfositlerden salınan bazı lenfokinler [İnterlökin (IL)1, IL-6, IL-8 ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi] hem makrofajları aktive eder hem de hafıza T lenfositlerinin oluşmasını sağlarlar. Makrofajlar IL sentez edip salgılamaya başlamışlardır. IL-1'de TB immünesinde belirleyici olan T lenfositlerinin aktivasyonunda rol oynamaktadır. T lenfositleri TB basilin antijeni ile karşılaştığı andan itibaren IL-2 salgılayarak CD4 hücrelerinin çoğalmasını sağlar. CD4 lenfositlerinin de iki alt grubu mevcuttur. CD4 Th1 alt grubu hücreler immünesinde, yani TB immünesinde rol oynar. CD4 Th1 IFN- $\gamma$  salgılayarak makrofajı aktif hale getirir. Aktive olan makrofajların basilleri yok edebilme gücü artar. Aktif makrofaj ve lenfositlerden salgılanan sitokinler hücreler immün yanıtın gelişmesini sağlarlar. Bu aşama da immünolojik kontrol evresi veya III. evre olarak isimlendirilir. Bu aşamada TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-12'nin etkisiyle granulom formasyonu gelişir ve tüberkül denilen spesifik bir lezyon gelişir (20). Aktif makrofajlar, epitelooid histiositler ve lenfositlerin oluşturduğu tüberkülün amacı basilleri sınırlamak, çoğalma ve yayılmalarını önlemektir. Böylelikle konakçıda basile karşı hücreler immünesinde gelişmiş olur. Bu süreçte gelişen ikinci immünolojik cevap olan geçikmiş tip aşırı duyarlılık ise inaktif makrofajların elimine edilmesini ve kazeöz nekroz odaklarının ortaya çıkmasını sağlar. Basiller bu kazeöz nekroz alanlarında kolayca çoğalamazlar fakat dormant halde kalırlar. Tüberkülün ortasında gelişen kazeifikasyon nekrozu

TB'nin patognomonik özelliğidir. Kazeifikasyonun oluşması organizmanın basili tanıdığı ve yapılan immünolojik mücadelenin başarılı olduğunun bir ifadesidir.

#### **1.1.3.1.4. Evre IV: Erime ve Kavite Oluşumu**

Hücrel immünite hasta için yararlı olurken, gecikmiş tipte aşırı duyarlılık basillerle birlikte etraf dokularda da nekroza, kaviteleşmeye yol açan bir reaksiyon olarak ortaya çıkar. Genelde postprimer TB sonrası gelişen yetişkin tip akciğer TB'de görülmektedir. Hücrel immünite, primer TB'yi kontrol edemez ise progresyon sonucu kaviteleşme olur. Kavite gelişiminin nedeni tam bilinmemekle birlikte lezyon bölgesine gelen makrofajlardan salınan hidrolitik enzimlerin etkisiyle geç tip aşırı duyarlılığın sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Kaviteleşme post primer TB'nin özelliği olmakla birlikte primer infeksiyon geçiren yetişkinlerin %5-10'unda görülebilir.

Basilin normerjik organizmaya girdikten sonra geçen 3-8 haftalık bu süreç sonunda hücrel immünite (cell-mediated immunity- CMI) ve geç tip aşırı duyarlılık (delayed-type hypersensitivity- DTH) gelişmiştir (21). Bu aşamada en önemli özellik kişinin TDT reaksiyonunun pozitif olmasıdır, yani tüberkülin allerjisi gelişmesidir. Primer TB infeksiyonunun en önemli tanı bulgusu daha önce negatif olan TDT'nin pozitifleşmesidir. Bu olaya tüberkülin virajı denmektedir. Radyolojik olarak hiler veya paratrakeal lenfadenomegali görülmesi patognomoniktir. Primer odak (Gohn odağı) görülmesi şart değildir. Bazı olgularda primer odak ve lenfadenomegali birlikte görülebilir. Bu olaya primer kompleks (Ranke kompleksi) denilmektedir. Primer TB infeksiyonunun ilk iki evresinde basiller kan yoluyla vücudun oksijenden zengin noktalarına taşınarak burada çoğalmaya devam ederler. Akciğerlerin apeks bölgesi, oksijenden zengin ve kan-lenf akımı yavaş olduğu için hematojen yolla yayılan basillerin en çok oturduğu bölümdür. Akciğerin apikal ve subapikal bölgelerinde erken hematojen yayılım sırasında yerleşen bu odaklar eğer kalsifiye olmuşsa Simon, hyalinize ise Hubschmann odakları adını alırlar. Bu odaklarda basiller dormant, yani uykudadırlar. Gelecekte ortaya çıkabilecek postprimer TB'nin endojen kaynaklarıdır. Aynı zamanda meninkste Rich foküsleri, büyük damarların intimalarında Weigert foküsleri, kemiklerin epifizinde, böbrek korteksinde, epididimde, overlerde, lenf bezlerinde ve vücudun kanla beslenen ve oksijen konsantrasyonu yüksek tüm odaklarında basil oturup yukarıda anlatılan tüberkül

formasyonu gelişmektedir. Bu odaklar da ileride, buldukları organlarda ekstrapulmoner TB veya hematojen TB formları gelişmesinde rol oynayacaklardır (22).

Primer TB infeksiyonu, olguların %90-95'inde sessiz seyreder ve immünite tarafından kontrol edilirler. Bu olguların primer infeksiyon geçirdiği TDT (+) olması ile saptanır. Hastalık belirtisi saptanmaz. Ancak primer TB infeksiyonu geçiren olguların %5-10'unda primer TB hastalığı gelişir. Primer TB hastalığının gelişmesinde kısmen immün yanıtın zayıflığı veya basilin virulan oluşu rol oynar. Primer infeksiyon en sık 5-7 yaşında ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle primer TB hastalığına çocukluk tipi TB de denmektedir.

Primer TB'de balgamda veya mide suyunda basil bulma olasılığı %20'den azdır. Ancak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile tanı koyma olasılığı primer infeksiyonda %39, hastalıkta %83'dür. A 60 antijeni ile yapılan serolojik testlerle %68 oranında tanı konduğu bildirilmektedir (23).

Primer TB hastalığının en sık rastlanan komplikasyonu lenfadenopatilerin bronşa bası yapması veya fistülize olması sonucu gelişen atelektazi, epitüberküloz gibi bronş komponentleridir. Primer TB sonrası gelişen en önemli formlardan biri de plörezi. Plörezi gelişmesi için tüberkülin allerjisinin oluşması şarttır. Bu nedenle primer TB infeksiyonundan sonraki allerjik dönemde basilin veya basilin protein komponentinin plevraya ulaşması ile ortaya çıkmaktadır. Erken çocukluk çağında %14 oranında görülür. 14-30 yaşlarında primer infeksiyon geçirenlerde ise %70 oranında plörezi görülmektedir (18).

Tüberküloz basili organizmaya girip yukarıda anlatılan immünolojik olaylar sonucu hastalık yapmadan veya asemptomatik olarak kontrol altına alınabildiği gibi hastalık sonrası tedavi edilip yine immünolojik korunma ile kontrol altına alınmaktadır. Böylece T lenfositlerinin CD4 tipinin oluşturduğu hücrel immünite ve CD8 tipinin kontrol ettiği geç aşırı duyarlılık sayesinde basiller makrofajlar içinde uzun süre dormant olarak kalabilirler. Bu noktada artık primer infeksiyon aşaması bitmiştir (18).



Tüberküloz patogenezinde 4 evre modeli tablo 2’de gösterilmiştir (24).

**Tablo 2.** Tüberkülozda patogenezi: dört-evre modeli

1) Başlangıç	İnaktif makrofajlar içinde basillerin çoğalması
2) Simbiozis	Basillerin logaritmik çoğalması ve makrofajların aktivasyonun başlaması
3) İmmünolojik kontrol	İnfeksiyonun gerilemesi veya hastalığa neden olması sürecinde hücrel immünitenin ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılığın gelişmesi
4) Kavite oluşumu	Doku yıkımı ve basillerin kazeöz lezyonlar içinde çoğalarak, diğer odaklara ve organizma dışına ulaşması

### 1.1.3.2. Postprimer Tüberküloz

Primer infeksiyon sonrası dorman halde kalan basillerin çoğalmaya başlaması ile geç reaktivasyon hastalığı (sekonder TB-postprimer TB) gelişir. Primer infeksiyon döneminde lenfo-hematojen yolla akciğerin apikal veya subapikal bölgelerine gelip yerleşen Simon ve Hubschman odaklarındaki düşük metabolizma ile yaşamlarını sürdüren dormant basillerin yıllar sonra yeniden reaktif olması sonucu hastalık oluşur. Eğer reaktivasyon akciğer dışındaki odaklarda olursa ekstrapulmoner TB tipleri ortaya çıkmaktadır.

G. Canetti yaptığı çalışmalarda ekzojen reinfeksiyonun da mümkün olduğunu savunmuştur (15). Genelde immün yanıtı olan kişiler ekzojen basili aldıkları halde aktif makrofajlarının bu basili harap ettiği bilinmektedir. Ancak diabet, renal yetmezlik, malignite, kortikosteroid ve immunsupressif tedavi, silikozis, HIV gibi immüniteyi düşüren durumlarda endojen reaktivasyon gibi ekzojen reinfeksiyonun da ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Özellikle ilaçlara dirençli basillerle (multidrug resistant-MDR) ekzojen bulaşma söz konusu olabilmektedir. İster endojen ister ekzojen olsun postprimer TB’nin patognomonik özelliği likefaksiyon ve kavite oluşmasıdır. Burada basiller kavite içinde çoğalmakta ve bronş yolu ile diğer akciğer alanlarına yayılmakta, fakat genellikle lenfohematojen yayılım olmamaktadır. Oluşan immünitenin bu dönemdeki tavrı IV. evre veya likefaksiyon ve kavite formasyonu olarak belirmektedir.

Akciğer TB’nin başlangıç lezyonuna erken infiltrasyon (early infiltrate, Früh Infiltrat) denilmektedir. Akciğerlerin üst lob apikal, posterior ve alt lob superior segmentlerinden başlar. Radyolojik olarak üç tipi vardır:

1. Nebülöz (dumansı) infiltrat
2. Assman infiltratı
3. Pnömonik infiltrat

En sık görülen nebülöz formudur. Postero-anterior filmde üst alanda klavikula alt veya üstünde, plevraya yakın bölgede asiner nitelikte nonhomojen opasite şeklinde görülür.

Assman infiltratı daha çok primer infeksiyonu geç yaşta geçirenlerde görülen, hematojen olduğu kabul edilen nodüler lezyon tarzındadır. İnce cidarlı, hava-sıvı seviyesi olmayan bir kavite şeklindedir. Daha sonra bronkojen yayılım olur ve kronik akciğer TB'si ortaya çıkar. Reaktivasyon genellikle tek taraflı olabildiği gibi her iki akciğerin üst loblarında aynı anda da görülebilirler. Sağ üst lobda daha sık görülür (14, 18).

#### **1.1.4. Tüberküloz Tanı Yöntemleri**

##### **1.1.4.1. Bakteriyolojik Tanı Yöntemleri**

Tüberküloz tanısında en önemli konu TB basilini saptamaktır. TB tanısında kullanılan bakteriyolojik çalışmaların en başında numunelerin toplanması gelmektedir. Birbirini takip eden 3 gün sabah 5-10 cc koyu yapışkan kıvamlı balgam, mide açlık suyu, beyin omurilik sıvısı, plevra, periton sıvıları, eklem içi sıvılar, idrar ve dışkı numuneleri alınır, örnekler direkt muayene ve kültür olmak üzere iki şekilde incelenir (25-27).

Direkt mikroskopik inceleme: TB savaşında direkt pozitif vakaları bulmak oldukça önemlidir. Bulaşta en önemli faktör balgam direkt pozitif vakalardır. Balgamın 1cc'sinde 5000 basil bulunursa yaymada basil tespit edilebilir. Boyama Ziehl-Neelsen ile yapılır. Mycobacteriler fuchsine sıkıca bağlanır ve asit alkolle dekolarizasyonda boyayı bırakmazlar. Bu yüzden ARB diye adlandırılırlar. Sonra metilen mavisiyle boyanarak mavi zeminde kırmızı olarak görülürler. Fluoresan mikroskop kullanıldığında yayma preparat auramin' le boyanır (28, 29).

Yaymalar nekrotik ve kanla karışık partikülleri içeren balgamın bir lama doğrudan yayılmasıyla direk materyalden hazırlanabileceği gibi, dekontaminasyon işlemi sonrası örnek santrifüj edildikten sonra (homojenizasyon) teksif hazırlanabilir. Steril bölgelerden alınan materyallere dekontaminasyon işlemi uygulamaya gerek yoktur. Mikobakteriler kimyasal ajanlara daha dayanıklı olduklarından, bu özellikleri

kullanılarak dekontaminasyon işlemi gerçekleştirilir. En sık kullanılan yöntem, N-asetil-L-sistein %2 NaOH (NALC – NaOH) yöntemidir (30).

Işık mikroskobunda, immersiyon objektifi ile muayene edilir. Preparatlarda en az 300 alan muayene edilmeli, bu da alışmış bir göz için 10 dakikalık bir süre gerektirir. Balgamin hemen yayılıp boyanıp bakılması ile, tespit edilip, 3-4 hafta sonra laboratuara gönderilip orada boyanıp bakılması arasında herhangi bir fark görülmemiştir.

Testin tanısal duyarlılığı incelenen hasta popülasyonunun özelliğine (kavite, immün yetmezlik varlığı vb) göre %50-80 arasında değişmektedir. Testin özgüllüğü %99'un üstündedir.

#### **1.1.4.1.1. Mikroskopik Değerlendirme**

1- Kurumuş preparatların üzerine bir damla immersiyon yağı (sedir yağı) damlatılarak mikroskopta 1000x objektifle incelenir. Mikobakteriler, mavi zeminde pembe boyanmış olarak görülürler.

2- Mikroskobun immersiyon objektifi her incelemeden önce ve sonra tek kullanımlık objektif silme kağıdı ile ya da tek kullanımlık hazırlanmış ince gazlı bez ile silinmelidir. Aksi halde bir önceki pozitif preparattan kopup objektife yapışan ARB'ler yanlış pozitifliğe neden olabilir.

3- İmmersiyon yağı damlatılan damlalıklar kesinlikle lama değdirilmemelidir. Çünkü bu, basil transferi ile yanlış pozitifliklere yol açabilir.

4- Preparat incelenirken taranan saha sayısının çokluğundan ziyade dikkatli ve özenle bakmak önemlidir. Bir yaymaya negatif diyebilmek için en az 300 saha taranmış olmalıdır. Tarama esnasında aynı alanlarda dönüp durmamak için lam üzerinde yatay ve uzun eksene paralel dört hayali çizgi takip edilmelidir.

5- Bir preparata pozitif diyebilmek için 300 sahada en az 3 basil görmek gerekir. 1-2 basil şüphelidir. Bu durumda yeniden örnek istenir. Yeni örneklerde de 1-2 basil görülse bile pozitif yayma olarak değerlendirilir.

6- Basil görülmediği takdirde 15 dakikadan sonra incelemeye devam edilmez. Her sahada bol basil görüldüğü durumlarda da daha fazla taramaya gerek yoktur (4, 31).

Boyalı preparatta ARB'lerin raporlanması tablo 3'de gösterilmiştir (4).

**Tablo 3.** Boyalı preparatta aside dirençli basillerin raporlanması

<b>Basil sayısı Raporlama</b>	
300 alanda hiç basil yok	Negatif
300 alanda 1-2 basil	şüphelidir, testi tekrarlayın
100 alanda 1-9 basil	+
10 alanda 1-9 basil	++
1 alanda 1-9 basil	+++
1 alanda 10 ya da daha fazla basil	++++

Balgamın direkt mikroskopik incelemesinde yanlış pozitif ve negatiflikler görülebilir yanlış pozitif ve negatiflik nedenleri tablo 4' te gösterilmiştir (24).

**Tablo 4.** Balgam mikroskopisinde yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçların nedenleri

<b>Yanlış pozitif sonuç nedenleri</b>	<b>Yanlış negatif sonuç nedenleri</b>
Balgamdaki artıklar (yemek vb)	Balgam örneğinin yetersizliği
Boya parçacıkları, boyanın ve lamin yabancı cisimler ile kontaminasyonu, lamdaki çizikler	Balgam veya boyanan preparatın iyi korunmaması
Atipik mikobakteriler veya nokardia	Okuma hataları
Laboratuarda bulaşma	Kayıt hataları

#### 1.1.4.2. Kültür

Kesin tanıyı sağlar fakat *M.Tuberculosis* geç üreyen bir basildir. Bölünmesi 18-22 saatte olur bu yüzden koloniler Löwenstein-Jensen besiyerinde 14-21 günde gözle görülebilir hale gelebilir (32).

*M. Tuberculosis'* i üretmek için;

1-Genel besiyerleri

2-Sıvı besiyerleri

3-Seçici besiyerleri kullanılır.

1. Genel Besiyerleri: Löwenstein-Jensen, Petragnani, Amerikan Toraks Derneği'nin [(American Thoracic Society' nin (ATS)] yumurtalı besiyeri, Midlebrook'un 7H 10 ve 7H 11 gibi agarlı besiyerleri mevcuttur.

2. Sıvı besiyerleri: Dekontaminan olarak Tween 80 deterjanı kullanılmaktadır.

3. Seçici besiyerleri: Yukarıdaki besiyerlerine gereğine göre antibiyotik, vitamin, kimyasal maddeler ilave edilmektedir. Mikobakteriler besi yerlerindeki pek çok toksik maddeye karşı hassastır. Bu nedenle patates unu, gliserin, yumurta ilave

edilerek vasatın toksisitesi giderilir ve mikobakterilerin üremeleri için gerekli maddeler temin edilir. Dekontaminan olarak malaşit yeşili kullanılır.

Kültürler ekildikten sonra bir gün yatık olarak 37°C'de bekletilir. Ertesi gün ağzı iyice kapatıldıktan sonra 37°C'de enkübasyona devam edilir. Bütün kültürler haftada bir muayene edilmek kaydı ile 6-8 hafta 37°C'de tutulur.

Tüm mikobakteri türleri asite dirençli olduğu için, balgamda ve diğer klinik örneklerde asite dirençli basillerin saptanması, basilin tipi ve canlılığı konusunda bilgi vermez. O nedenle TB'de kesin tanı saf kültürlerde *M.tuberculosis*'in izolasyonu ile konulur.

Yaymada ARB pozitif bulunan hastaların balgamları, Löwenstein-Jensen besiyerine ekildiğinde 2-3 haftada üreme gerçekleşir, fakat yayma negatif örneklerin kültürlerinde 6-8 haftalık enkübasyondan sonra üreme gerçekleşir.

BACTEC 460TB, Middlebrook7H12 (BACTEC 12B) veya Middlebrook 7H13 (BACTEC 13A) sıvı besi yerleri karbon kaynağı olarak C14 işaretli palmitik asit içeren radyometrik sistemlerdir. BACTEC sisteminde yayma pozitif balgam örnekleri ortalama 8 günde, yayma negatif balgam örnekleri ise ortalama 14 günde üreme göstermektedirler (32-37).

#### **1.1.4.3. Tüberkülin Deri Testi**

Robert Koch 1800'lü yıllarda *M. tuberculosis* kültür filtratının ısı ile inaktivasyonu yoluyla elde ettiği tüberkülini cilt içine uygulandığında enfekte kişilerde reaksiyon oluşturduğunu gözlemiştir. TDT mikroorganizmanın bazı antijenik bileşenlerine karşı oluşan gecikmiş tipte aşı duyarlılık reaksiyonunu belirler. TDT latent TB infeksiyonunun tanısında yıllardır kullanılmaktadır. Bu yöntem yeni veya asemptomatik *M. tuberculosis* infeksiyonunun saptanmasında tarama testi olarak kullanılmaktadır.

Pozitif bir test sonucu, hastalığın varlığını veya yokluğunu göstermez, sadece o kişinin TB basili ile daha önce karşılaştığını ve enfekte olduğunu gösterir.

Tüberküloz basili ile enfekte kişilerin %90'ında, basille karşılaşmadan 3 hafta ile 3 ay içinde gecikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonu oluşur. Mantoux deri testi standart tüberkülin deri testidir. Ön kolun volar yüzüne, 0.1 mm, 5 tüberkülin ünitesi saflaştırılmış PPD, intradermal olarak enjekte edilir. Tüberküline reaksiyon tipik olarak 5-6 saat sonra başlar ve 48-72 saatte maksimuma çıkar. Bazı kişilerde

reaksiyon 72 saatten sonra pik yapabilir. Endürasyon çapı (eritem değil), deneyimli sağlık çalışanları tarafından 48-72 saat sonra değerlendirilmelidir. TDT'nin kullanımında bazı sınırlamalar vardır. TDT, *invivo* uygulanan, tek bir antijene karşı duyarlılığın ölçüldüğü, kalıcı antijenik etki bırakan, uygulandığında ve 72 saat sonra hastanın iki kez görülmesini gerektiren ve değerlendiren kişiye göre sonuçların değişebildiği subjektif bir testtir (38-41).

TDT duyarlılığı ve özgüllüğü düşük bir testtir. Çünkü yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranları oldukça yüksektir. Yalancı pozitif yanıt genellikle PPD antijeni ile paylaşılan diğer mikobakteri antijenlerinden kaynaklanmaktadır. Bu da NTM ile enfeksiyona bağlı çapraz reaksiyon veya BCG aşılmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (42). Bu çapraz reaksiyonların hangi mikobakteri türüne bağlı olduğunun ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Endürasyon çapı ne kadar büyükse bunun *M. tuberculosis*'e bağlı olma olasılığı o kadar yüksektir. BCG aşısına bağlı çapraz reaksiyonun ayırt edilebilmesi de zordur. Endürasyon çapının büyük olduğu, TB'li birey ile temas, ailede TB hastalığı öyküsü olan, aşı ile test arasında uzun bir süre olan durumlarda TB'ye bağlı pozitiflik düşünülebilir. Aşıya bağlı tüberkülin yanıtı zamanla azalma gösterir ve 10 yıldan daha uzun sürmesi beklenmez (43-45).

Tüberkülin deri testinin yorumlanması tablo 5'de gösterilmiştir (4).

**Tablo 5.** Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı'na göre tüberkülin deri testinin yorumlanması

---

<b>BCG skarı olmayan bireyler:</b>
0-5 mm ise: negatif olarak kabul edilir.
6-9 mm ise: şüpheli kabul edilir, 1 hafta sonra test tekrarlanır, yine 6-9mm bulunursa negatif kabul edilir; 10 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.
10 mm ve üzeri: pozitif kabul edilir.
Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri: pozitif kabul edilir.
<b>BCG skarı bulunan bireyler:</b>
0-5 mm: negatif kabul edilir.
6-14 mm: BCG'ye bağlı kabul edilir.
15 mm ve üzeri: pozitif kabul edilir, infeksiyon olarak değerlendirilir.

---

Yalancı negatif test sonuçlarına yol açan durumlar Tablo 6'da gösterilmiştir (4).

**Tablo 6.** TDT'nin yalancı negatif olduğu durumlar

---

**Test edilen bireye bağlı faktörler**

**İnfeksiyonlar**

Viral (kabakulak, kızamık, su çiçeği, HIV)

Bakteriyel (tifo, brusella, boğmaca)

Fungal (Güney Afrika blastomikozu)

Canlı virüs ile aşılması (kızamık, kabakulak, polio)

Metabolik dengesizlikler (kronik böbrek hastalığı)

Protein düşüklüğü ile ilgili durumlar (afibrinojenemi, ciddi protein kayıpları)

Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (Hodgkin lenfoma, kronik lösemi, sarkoidoz)

İlaçlar (kortikosteroidler, immünosupresif ilaçlar)

Yakın dönemde edinilen veya ciddi tüberküloz enfeksiyonu

Stres (cerrahi, yanık, mental hastalıklar)

**Kullanılan tüberküline bağlı olarak**

Uygun olmayan depolama

Uygun olmayan sulandırma

Kimyasal denatürasyon

Kontaminasyon

**Uygulama metoduna bağlı olarak**

Düşük doz antijenin verilmesi

Cilt altına enjeksiyon

Diğer deri testlerinin çok yakınına enjeksiyon yapılması

**Testin değerlendirilmesine bağlı**

Deneyimsiz kişilerce testin değerlendirilmesi

---

**1.1.4.3.1. Booster Fenomeni (Hatırlatma fenomeni):**

Uzun süre TB antijeniyle karşılaşmayan bellek hücreleri antijeni unuttur. Bu bireyler enfeksiyondan yıllar sonra tekrar test edildiklerinde negatif yanıt verebilirler. Yapılan ilk TDT antijeni hatırlatır. Bir hafta sonra yapılan TDT gerçek reaksiyonun oluşmasına neden olur. Fakat TDT 1-3 hafta sonra tekrarlandığında tip 4 aşırı duyarlılık reaksiyonunu uyarabilir. Booster etkisi NTM ile enfekte olmuş bireylerde veya BCG aşısı ile aşılanmış bireylerde de görülebilir. İki aşamalı TDT booster etkisini ortadan kaldırmak için yapılır. Eğer ikinci test sonucu negatif ise birey enfekte olmamış anlamına gelir. Bu bireyde takip eden diğer testler pozitif olarak ortaya çıkarsa yeni bir enfeksiyonu gösterebilir.

Bu test birçok durumda yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuç verebilmekte ve testin TB enfeksiyonu için prediktif değeri incelenen popülasyonun enfeksiyon prevalansı, BCG aşılması ve NTM enfeksiyonu prevalansına göre değişkenlik göstermektedir (46).

#### 1.1.4.4. Mikobakterilerin Tanısında Moleküler Yöntemlerin Kullanılması

Birçok nükleik asit çoğaltma yöntemi arasında halen (PZR) ve transkripsiyona bağlı çoğaltma (transcription mediated amplification -TMA-) *M.tuberculosis*'in klinikte saptanması için en yaygın olarak kullanılan moleküler tanı yöntemleridir (47). Uygun koşullar sağlanacak olursa bu yöntemlerin özgüllüğü ve duyarlılığı iyidir. Ancak karmaşık ve pahalı yöntemler oldukları ve deneyimli çalışanlar gerektirdikleri için mikroskop ile incelemenin yerini alacak durumda değillerdir. Tanıda kullanılan moleküler yöntemlerin başında PZR gelmektedir. PZR yönteminin ticari olarak üretilmiş şekli (COBAS AMPLICOR PCR) solunum yolu örnekleri için önerilmekte ve genel olarak duyarlılık %66.7-85.2, özgüllük %98.8-99.7 olarak bildirilmiştir. Mikroskopi pozitif olan örneklerde duyarlılık %92.6-96.1'e çıkmakta, negatif olanlarda ise %48-71.7'ye düşmektedir (48-50).

Solunum yolu örneklerinde kullanılmak üzere üretilmiş diğer bir kit "Gen-Probe Amplified Mycobacterium Direct Test" (Gen-Probe)'tir. Bu testte, hedef molekül olarak her hücrede yaklaşık 2000 kadar bulunabilen rRNA seçilerek, duyarlılığı artırmak hedeflenmiştir. Kültür pozitif solunum yolu örneklerinde yöntemin duyarlılığı %91-98.4 iken, özgüllük %98.5-98.9 olarak saptanmıştır (51).

Diğer bir moleküler yöntem, zincir ayrıştırma amplifikasyon (strand displacement amplification=SDA) ile solunum yolu örneklerinden TB basillerinin araştırılmasıdır; bu testin özgüllüğü %85-94 arasında bildirilmiştir. Yöntemin bir versiyonu olan "BDProbeTec-SDA" ile kültür pozitif örneklerin %94.7'sinden pozitif sonuç alınırken, özgüllük % 99.8 olarak bildirilmiştir (52).

Tüberkülozun tanısında alternatif bir DNA amplifikasyon yöntemi olan Ligaz zincir reaksiyon (Ligase chain reaction=LCR) ticari kit halinde üretilmiştir. Bu yöntemle yapılan çalışmalarda; klinik örneklere göre değişmekle birlikte duyarlılık %84-97.5, özgüllük %95.8-100 olarak bulunmaktadır (53, 54).

Tüberküloz laboratuvarlarında fazla sayıda değişik moleküler tanı yöntemleri denenmiş olmakla birlikte, bu yöntemlerin hiç biri henüz mikroskopi ve kültür gibi konvansiyonel yöntemlerin yerini alamamışlardır (55). Amplifikasyona dayalı yöntemlerin genel pozitiflik oranları ve duyarlılığı kültürden düşüktür. Bu durum; balgam, idrar ve beyin omurilik sıvısı gibi örneklerde bulunan inhibitörlere veya uygun olmayan örnek alma ve işleme koşullarının kullanılmasına bağlıdır. İyice



homojenize edilmemiş örneklerde çalışılan hacim azaldıkça duyarlılık da azalmaktadır (56).

#### **1.1.4.5. Serolojik Tanı Yöntemleri**

##### **1.1.4.5.1. Tüberkülozun Serolojik Tanısında Kullanılan Testler**

Tüberküloz tanısında serolojik testlerin kullanılmasına uzun zaman önce başlanılmış olmasına rağmen, bu testler rutin olarak kullanılabilecek performansı göstermemiştir. Son yıllarda, humoral bağışıklık ve HIV çalışmalarından elde edilen bilgiler sonucu, özgül ve duyarlı serolojik kitler geliştirilmiştir. Piyasada bulunan testler, özellikleri bilinen immünodominant antijenler kullanılarak hazırlanmış ve dipstik veya ELISA şeklinde, IgG veya diğer immünglobulinleri tespit edecek şekilde sunulmuştur (57-59).

Tüberkülozun serolojik olarak tanımlanması amacıyla geliştirilen testler üç grupta toplanabilir. Bunlar; mikobakterilere özgül antijenler veya bunlara karşı oluşan antikorları tespit eden testler ve TB enfeksiyonu sırasında üretimi artan IFN- $\gamma$  ölçüm testlerinden oluşur (57, 58).

##### **1.1.4.5.1.1. Antijen Tespitine Dayanan Testler**

*M. tuberculosis*'in, karbonhidrat ve glikolipit kısımları bulunan çeşitli protein antijenleri gösterilmiş ve detaylı yapısal özellikleri tanımlanmıştır. TB'li hastaların serumunda, mikobakterilerin plazma membranında bulunan, antijen 5, lipoarabinomannan (LAM), sitoplazmik antijenler ve diğer antijenleri tespit edilebilmekte ve bunların mikobakteri enfeksiyonu sırasında antikor yanıtını indükledikleri bilinmektedir (60, 61).

##### **1.1.4.5.1.2. Antikor Tespitine Dayalı Tüberküloz Tanı Yöntemleri**

Tüberkülozlu hastaların serumunda mikobakteri antijenlerine karşı oluşan antikorlar monoklonal veya poliklonal antikorlar kullanılarak tespit edilebilir. Çevredeki mikobakterilere çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış pozitif test sonuçları alınabilmektedir. LAM, Rekombinant protein peptit, 38 kDa (rekombinant antijen) ve LAM, 38 kDa ve 16 kDa (rekombinant antijen), Antijen – 60, 38 kDa (rekombinant) ve Süperoksit dismutaz antijenlerine karşı oluşan antikorlar tespit edilebilir.

#### 1.1.4.5.1.3. İnterferon Gamma (INF- $\gamma$ ) Üretiminin Ölçülmesi

Tüberkülin testinin özgüllüğünün az olması nedeniyle, antijenleri tespit edebilen ve mikobakterilerle infekte ve aktif TB'li hastalar arasında ayırım yapabilen yeni testlere ihtiyaç vardır.

Tüberküloz infeksiyonunu hızlı ve doğru bir şekilde tespit edebilmek için *M. tuberculosis* 'e karşı duyarlılaşmış T lenfositlerinin, *in vitro* kan testleri ve *in vivo* deri testleri ile tespit edilmesine dayalı testler geliştirilmiştir. Perifer kanından elde edilen mononükleer hücreler, *in vitro* şartlarda uyarılır ve duyarlılaşan T lenfositlerinden salınan INF- $\gamma$  üretimi ELISA ile ölçülür. TDT yanıtından sonra, kanda INF- $\gamma$  tespiti yapan testler (CSL/QFT-TB testi) geliştirilmiş ve TB hastalığı tanısında yayma ve kültür yerine kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu testte; *M. tuberculosis*, *M. avium* ve *M. Bovis* 'den elde edilen PPD'lerle stimülasyondan sonra, tam kandaki T lenfositleri tarafından üretilen INF- $\gamma$  ölçülür. INF- $\gamma$  ELISA sonuçları ile hasta ve kontrol grubundan elde edilen TDT sonuçları arasında iyi bir korelasyon vardır. TB hastalarında QFT-TB testinin duyarlılığı %90 ve özgüllüğü %95-98'dir (62-64).

*In vivo* deri testlerinde TDT'ye alternatif olarak kullanılan ESAT 6 (erken salınan TB antijeni, early secretory antigen TB) ve CFP 10 (koloni oluşturan protein, colony forming protein) gibi antijenler de, INF- $\gamma$  indüksiyonu amacıyla kullanılmıştır. ESAT 6, özgül bir antijen ve TB'li hastalarda T lenfositleri tarafından üretilen INF- $\gamma$ 'nın güçlü bir indükleyicisidir. *M. Tuberculosis* genomunda, RD ile gösterilen farklı bölgeler bulunur. *M. bovis* genomundaki RD bölgesi silinmiştir. Bu bölgelerde kodlanan antijenlerden bazıları tanı veya infeksiyondan korunma amacıyla kullanılır. RD1 bölgesi, TB'ye bağışıklık yanıtı sırasında ortaya çıkan ESAT 6 salınımını sağlar. TB'li hastaların T lenfositleri ESAT 6 antijenlerini tanıırken, BCG ile aşıllı veya aşısız sağlıklı kişilerin T lenfositlerince tanınmamaktadır. Tedavi edilmeyen hastalara göre, tedavi edilen TB'li hastalarda INF- $\gamma$  düzeyi artar ve TB'ye bağışıklık yanıtını gösterir. Bu nedenle, TB'li hastaların izlenmesinde yararlı olabilir (65).

Jelleşme testi, TB'li hastalardan alınan tam kanda, yüksek miktarda fibrinojen bulunması ve eşit hacimde %1.25 glutaraldehid eklenip karıştırıldıktan 10 dakika sonra koagüle olması gözlemine dayanır.

Seroloji, özellikle klinik ve radyolojik TB bulguları olmayan hastaların hızlı tanısını sağlar. Röntgen bulguları doku hasarından sonra ortaya çıkarken, hastalığın başında üretilen antikorlar serolojik olarak erkenden tespit edilebilir. Ayrıca, çocuklarda, serumun elde edilmesi balgamdan daha kolay olduğu için tercih edilmektedir. Seroloji, akciğer dışı TB tanısına da yardım eder. BCG ile aşılarında gelişen hücresel yanıtlardan etkilenmemesi de önemli bir avantajdır. Serolojik kitler, humoral yanıt sonunda üretilen antikorları tespit ettiğinden BCG'den etkilenmez. Tedavi sırasındaki titre değişimleri hastaların izlenmesinde kullanılabilir.

Bu testlerin dezavantajları; yüksek infeksiyon hızı olan ülkelerdeki hastalarda, AIDS'li ve yayma negatif hastalarda duyarlılığının düşük olmasıdır. Ayrıca pahalı, deneyimli personel gerektiren ve *M. tuberculosis* ile NTM'leri her zaman birbirinden ayırt ettiremeyen testlerdir (65).

#### **1.1.4.5.1.4. Quantiferon-TB Gold /İnterferon-Gamma (IFN- $\gamma$ )**

Tüberküloz basillerini tanıyan T-lenfositlerin saptanması, özellikle mikroskopla inceleme ve kültür ile tanı konamayan olgularda önemlidir. "Gamma interferon salınım deneyi" adı verilen bu yöntem vücutta *M.tuberculosis* ile karşılaşmış T-lenfositlerin saptanması için kullanılmaktadır. Bu testte hasta kanından ayrıştırılan beyaz küreler arasında yer alan T-lenfositler ESAT-6 gibi *M.tuberculosis*'e özgül antijenler ile uyarılırlar. Eğer T-lenfositler daha önce *M.tuberculosis* ile karşılaşmışlar ise INF- $\gamma$  yapmaya başlarlar. INF- $\gamma$  yapımı bunu tanıyan enzim ile işaretli antikorlar kullanılarak, enzim bağlı immün nokta (Enzyme linked immunospot-ELISPOT-) veya ELISA ile (QFT-GIT) saptanır. Test BCG aşısından etkilenmediği için tanı değeri daha yüksektir. Sadece aktif infeksiyon geçirmekte olan hastalarda dolaşımdaki kanda yeterli sayıda özgül antijenleri tanıyan T-lenfositler bulunduğu için testin taşıyıcı olguları aktif infeksiyon geçirenlerden de ayırt edebildiği düşünülmektedir. Özellikle mikroskop ile inceleme ve kültür ile TB basilinun saptanamadığı durumlarda INF- $\gamma$  salınım deneyi çok yararlıdır (66).

Son yıllarda BCG suşları, *M. bovis* ve birçok NTM'de bulunmayan, sadece *M.tuberculosis* genomunda yer alan Fark-1 bölgesi (Region of Difference) (RD1) gen segmentinin saptanması ve bu segment ürünlerine özgün immün yanıtların ölçülebilir olması dayalı testlerin kullanılmasını gündeme getirmiştir (67). Bu DNA bölgesinde iki protein kodlanmaktadır; ESAT-6 ve CFP-10. Bu proteinler, *M.*

*tuberculosis* infeksiyonuna sahip kişilerde T helper tip 1 hücrelerinin güçlü hedefleridir. Buradan yola çıkılarak, teorik olarak bu antijenlere karşı IFN- $\gamma$  salgılanması ile sonuçlanan T hücre yanıtının *M. tuberculosis* infeksiyonu için spesifik belirteç olabileceği düşünülmüştür ve son yıllarda antijen spesifik T hücre yanıtını ölçen üç test kullanıma girmiştir (68).

Hızlı “In Vitro Enzyme-Linked Immunospot” (ELISpot) testi antijen spesifik T hücrelerinin sayılması esasına dayanmaktadır. *M. tuberculosis* infeksiyonuna sahip bireylerin T hücreleri ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerine karşı *in vivo* olarak duyarlılık kazanmaktadır. ELISpot testinde, periferik kan mononükleer hücreleri tam kandan ayrıştırıldıktan sonra, *in vitro* ortamda bu antijenlerle bir gece inkübe edilmektedir. Böylece spesifik antijenlerle tekrar karşılaşan T hücreleri IFN- $\gamma$  salgılamaktadırlar. Ertesi sabah koyu spot veren IFN- $\gamma$  salgılayan T hücreleri büyütücü lens ya da otomatik okuyucuyla sayılıp test değerlendirilmektedir (69).

Diğer bir yöntem, tam kan ELISA’dır. Bu testin ilki QFT-TB testinde tam kan PPD ile *in vitro* olarak inkübe edilmekteyken, daha sonra geliştirilen QFT-G testinde, spesifik antijenler olan ESAT-6 ve CFP-10 ile inkübe edilen tam kan süpernatantında, 24 saat sonra, T hücrelerinin salgıladığı IFN- $\gamma$  konsantrasyonu ölçülmektedir (70). Son yıllarda üçüncü bir antijen (TB7.7) eklenerek QFT-GIT testi geliştirilmiştir.

Hastalardan kan doğrudan heparinli, vakumlu ve bu teste özel olarak geliştirilmiş tüplere konularak, 37°C de 16 saatlik inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sırasında latent veya aktif TB infeksiyonu taşıyan kişilerde, mikobakteriyel antijenler tarafından T lenfositler uyarılır ve IFN- $\gamma$  salgılamaları sağlanır. Dolayısıyla TB infeksiyonu olmayan kişilerde T lenfositler uyarılmaz. Bu nedenle, infekte olmayan kişilerin kan örneklerinden IFN- $\gamma$  salınımı olmaz. Daha sonra kan örneklerinden elde edilen plazmalarda inkübasyon sonrasında T hücrelerinin antijen ve kontrollere karşı ürettikleri IFN- $\gamma$  miktarının kantitatif olarak ELISA yöntemiyle ölçülmesine dayanmaktadır (68-71).

Testte kullanılan ESAT 6, CFP-10 ve TB 7.7 (p4) antijenleri, BCG suşlarında ve *M.tuberculosis* kompleks dışındaki suşlarda bulunmadığı için, test *M.tuberculosis*’e spesifiktir. Ayrıca BCG antijenleri ile reaksiyon vermediği için aşuya bağlı immün yanıtta etkilenmez. QFT-GIT TB tanısında, klinik, radyolojik ve

diğer bulgulara yardımcı olarak kullanılan önemli bir tamamlayıcıdır. TDT gibi yalancı pozitiflik göstermediği, BCG aşısı ve non spesifik mikobakterilere karşı da reaksiyon vermediği için taramalarındaki özgüllüğü TDT'ye göre çok yüksektir (69-71).

QFT-GIT testinin latent TB infeksiyonunu doğrulamada bazı sınırlamaları olduğu bildirilmiştir. QFT-GIT testi için tam kan alınması, kan alındıktan sonra en geç 12 saat içinde antijenlerle işlem yapılması gerekmesi bu testin kullanımını zorlaştırmaktadır. QFT-GIT testinin avantajları ise, birden fazla antijen kullanılması, uygulanan kişilerde kalıcı antijenik etki bırakmaması, sonuçların değerlendiren kişiye göre değişmemesi, spektrofotometrik olarak saptanması ve hastanın bir daha görülmesinin gerekli olmamasıdır (8). QFT-GIT testinin reaktivasyon TB'si olan hastalarda mitojen uyarımı çoğu kez gerçekleşmediği için başarısız olduğu ve bu yüzden kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir. Reaktivasyon TB'si olan hastalarda IFN- $\gamma$  yanıtının baskılandığı ve baskılanmanın derecesinin hastalığın ciddiyeti, ilerlemesi ve hastanın tedavi almamasıyla doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (8).

### **1.1.5. Tüberküloz Aşısı**

#### **1.1.5.1. BCG**

BCG, yani Bacille Calmette-Guérin, TB basilinin bütün yapısal özelliklerini taşıyan, ancak hastalık oluşturma yeteneği yok edilmiş bir *M.Bovis* suşudur. Virülansı düşük, canlı bir aşıdır. Sıvı veya dondurulmuş kuru formda bulunur.

BCG aşısı ülkemizde yaşamın ikinci ayında genellikle sol omuz deltoid kas bölgesine uygulanır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tek doz aşı önermektedir. BCG aşısı, buzdolabında 2-8 °C'de liyofilize formda 1-2 yıl saklanmaktadır.

Aşı daha önce TB basili ile karşılaşmamış bir insanın vücuduna verildiğinde, timus kökenli lenfositlerde duyarlılığa neden olur. Bu duyarlı lenfositler, vücuda virulan TB basili girdiğinde basili tanıyarak, monositlerin makrofaja dönüşümüne yardımcı olarak basillerin fagosite edilerek öldürülmelerine yol açar (72). Lenfositteki bu değişiklikler, eğer vücuda aynı antijen tekrar girerse, gecikmiş bir hipersensitivite reaksiyonuna yol açar (Koch fenomeni).

Türkiyede 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 (4).

BCG aşısının çocuklarda sıklıkla fatal seyreden erken post-primer TB infeksiyonlarını önleyebildiği görüşü kabul edilmektedir. BCG aşısı programlarından sonra miliyer ve menenjal TB insidansının azaldığı bildirilmiştir (72-74).

#### **1.1.5.1.1. BCG Aşısının Yan Etkileri**

Aşının ciddi komplikasyonları oldukça nadirdir. Farklı aşı suşuna bağlı yan etkiler değişmekte hatta aynı suşa bağlı yan etkiler zamanla yapılan pasajlardan sonra farklı olabilmektedir. En sık görülen yan etki %1-10 oranında aşı yerinde görülen ve uzun süren ülserasyon, lenfadenit ve lupus vulgaristir. Yan etki riski, diğerlerine göre daha güçlü olan aşı suşlarında daha fazla görülmektedir.

#### **1.1.5.1.2. BCG Aşısının Kontrendikasyonları**

BCG aşısının konjenital immün yetmezliği, semptomatik HIV infeksiyonu, lösemi ve lenfoması olan hastalar yanında steroid, antineoplastik ve radyasyon tedavisi alan hastalara verilmemesi gerektiği söylenmektedir (75, 76).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız Elazığ Verem Savaşı Dispanseri ve Fırat Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran aktif TB'li ve latent TB'li olgular da yapıldı. Çalışma Üniversitemiz etik kurulu tarafından onaylandı. Çalışma grupları aşağıda belirtildiği şekilde oluşturuldu.

Grup I (aktif TB'li olgular, n=16); Aktif akciğer TB tanısı klinik ve radyolojik bulgular eşliğinde en az bir balgam ARB pozitifliğine göre konuldu. ARB'si pozitif olan olguların tümünün balgam ARB kültür sonuçları da pozitif. ARB boyanması Ziehl-Nielsen ile yapıldı, TB tedavisi başlanmadan önce bu olgulardan QFT-GIT testi için kan örnekleri alındı ve daha sonra TDT uygulandı.

Hastalık bulgusu olmayan, fizik muayeneleri normal olan 50 olgudan önce QFT-GIT için kanları alındı sonra TDT'leri yapılarak TDT sonuçları  $\geq 15$  mm olanlar Grup II'ye, TDT < 15 mm olanlar Grup III'e dahil edildi. QFT-GIT testi yapılan 3 olgu TDT sonuçlarını okutmaya gelmemeleri üzerine çalışmadan çıkarıldı.

Grup II (latent TB'li olgular, n=26); Latent TB enfeksiyonu olan, hastalık bulgusu olmayan, fizik muayeneleri normal olan olgulardan oluşturuldu.

Grup III (sağlıklı kontrol, n=21); TDT'si negatif olan aktif ve latent TB'li olgulara uygun yaş grubunda, herhangi bir hastalığı olmayan, fizik muayenesi normal olan gönüllülerden oluşturuldu.

Çalışma sırasında immün yetmezliği veya malnütrisyonu olan olgular çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya alınan tüm bireylerin yaşı, cinsiyeti, hastane dışı TB temas öyküsü, BCG skar sayıları ve daha önce yaptırılmış TDT'i sorgulanarak anket formuna kaydedildi. Rutin akciğer grafileri çektirildi, daha sonra fizik muayenelerini içeren klinik değerlendirmeleri tamamlandı.

Çalışmaya alınan tüm olgular çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onayları alındı.

### 2.2. Tüberkülin Deri Testi Uygulanması

Sol ön kol volar yüzüne Montoux yöntemi ile 0.1 ml 5 TU RT TWEEN 80 içeren Tüberkülin solüsyonu intradermal olarak 24 numara iğneyle uygulandıktan 48-72 saat sonra transvers endürasyon çapı hem palpasyon ile hem de 'ball point'

kalem yöntemi ile ölçüldü (77). TDT negatif olanlara ilk testten en az bir hafta sonra Booster fenomeni nedeni ile TDT tekrarlandı ve ikinci yapılan cilt testleri değerlendirilmeye alındı. Her iki testte aynı doktor tarafından yapıldı ve değerlendirildi.

### **2.3. Quantiferon-TB Gold In-Tube testinin uygulanması**

Bu test için QuantiFERON-TB Gold (In-Tube Method) (Cellestis Limited, Australia) kiti kullanıldı;

Testte;

- Nil kontrol tüpleri,
- TB spesifik antijen tüpleri (antijen olarak ESAT 6, CFP 10, TB7.7) ve
- QTF TB kan alma tüpleri (Mitojen Kontrol) kullanılarak kanlar alındı.

Çalışmaya katılan kişilerden her üç tüpe 1'er ml kan alındı. Tüpler 8-10 kez ters çevrilerek karıştırıldı (Bu şekilde tüplerin iç yüzeylerinin tamamen kan ile kaplanması sağlandı) ve 37°C'de etüvde 16-24 saat dik olarak inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler 2000-3000 RCF de 15 dakika santrifüj edilerek plazmanın (jel tabakası ile) hücrelerden tamamen ayrılması sağlandı. Steril ependorf tüplerden ayrılan plazmalar -80°C'de çalışılincaya kadar saklandı.

Elisa kit içeriğinde yer alan konjugat hariç diğer antihuman IFN murine monoklonal antikorla kaplı mikropaklar, IFN  $\gamma$  standardı, green dilüent, yıkama tamponu, enzim substrat ve stop solüsyonu çalışmaya başlanmadan 1 saat önce oda ısısına gelmesi sağlandı.

Standart etiketinde belirtilen miktardaki distile su ile sulandırıldı ve sulandırılan standart prospektüste belirtildiği şekilde green diluent ile sulandırılarak 4 farklı IFN  $\gamma$  konsantrasyonu elde edildi. Konjugat, 0.3 ml distile su ile sulandırıldı. Prospektüste yer alan şemaya göre çalışma solüsyonu hazırlandı (Konjugat x 100 Kons + Green Dil). Taze hazırlanan konjugat çalışma solüsyonu tüm kuyucuklara 50  $\mu$ l olacak şekilde pipetlendi. Konjugat çalışma solüsyonu içeren mikropaklarda belirlenen pozisyonlara 50  $\mu$ l plazma örnekleri ve 50  $\mu$ l standart solüsyonları pipetlendi. Pipetleme öncesinde örnek tüpleri karıştırılarak, plazma örneklerinin homojen hale gelmesi sağlandı her bir ELISA çalışmasında standart solüsyonları çift olarak çalışıldı. ELISA Shaker ile mikropaklar kuyular arasında bir kontaminasyon olmayacak şekilde 1 dk karıştırıldı, mikropaklar üzeri kapatılarak gün ışığı



görmeyecek şekilde oda sıcaklığında 120 dk inkübe edildi. Yıkama tampon solüsyonu distile su ile sulandırılarak hazırlandı, otomatik ELISA yıkayıcı ile kuyular 400 µl yıkama solüsyonu ile 7-8 kez yıkandı. Her bir kuyuya 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu pipetlendi. ELISA Shaker ile mikropaklar kuyular arasında bir kontaminasyon olmayacak şekilde 1 dk karıştırıldı. Plate'in üzeri kapatılarak gün ışığı görmeyecek şekilde 30 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon ilk kuyuya substratın pipetlenmesi ile başlatıldı ve süre sonunda her bir kuyuya 50 µl Stop Solüsyon pipetlendi. Stop solüsyonunun pipetlenmesinden sonra 5 dk içinde 450 nm ana dalga boyunda (620 / 650 nm referans filtreleri kullanılarak) mikropakların optik dansiteleri (OD) okutuldu. Sonuçlar EXCEL'de bir tabloya girildi. Cellestis firması tarafından hazırlanan QFT-GIT Analysis yazılımı kullanılarak bulunan sayısal değerlerden kalibrasyon eğrisi ve sonuçların hesaplanması gerçekleştirildi.

Quantiferon-TB Gold In-Tube testi Fırat Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarında çalışıldı.

**Tablo 7.** QFT-GIT testinin değerlendirilmesi

<b>TB- Spesifik Antijen- Nil (IU/mL)</b>	<b>Sonuç</b>
QFT-GIT pozitif	$\geq 0.35$
QFT-GIT negatif	$< 0.35$

#### **2.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 12.0 bilgisayar programı kullanıldı. Ölçülebilir verilerin dağılımı ortalama  $\pm$  standart sapma ( $X \pm SD$ ) olarak sayılabilir verilerin dağılımı ise yüzde (%) olarak tanımlandı.  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Niceliksel verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ve anlamlılık saptanan parametrelerde grupların ikili karşılaştırılmasında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve tanı tarama testleri (duyarlılık, özgüllük vb) kullanıldı. TDT ile QFT-GIT testi arasındaki uyumun belirlenmesi için Kappa ( $\kappa$ ) istatistiği uygulandı. Parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Pearson korelasyon testi kullanıldı.

### 3. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen aktif akciğer TB'li 16 olgunun 11'i erkek (%68.8), 5'i kadın (%31.2), 26 latent TB'li olgunun 13'ü erkek (%50), 13'ü kadın (%50) ve 21 sağlıklı olgunun 9'u erkek (%42.9), 12'si kadın (%57.1) dı.

Çalışmamızda 3 erkek latent TB'li olgunun QFT-GIT testi sonucu indeterminate bulunduğu için bunlar değerlendirmeye alınmadı ve istatistiki analizler 60 olgu üzerinden yapıldı.

Aktif akciğer TB'li olguların yaş ortalaması  $38.7 \pm 21.2$ , latent TB'li olguların  $43.3 \pm 13.4$  ve kontrol grubunun  $39.8 \pm 11.7$  idi. Gruplar arasında yaş ortalaması ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

Çalışmamızda aktif akciğer TB'si saptanan hastaların 8'inde (%50) (ort. TDT:  $17.8 \pm 1.5$  mm), latent TB enfeksiyonu olan bireylerin %100'ünde (ort. TDT:  $19.0 \pm 2.8$  mm) TDT pozitifdi. Aktif akciğer TB olgularının 8'inde (%50) TDT 15 mm altında idi ve ortalama TDT  $10.9 \pm 2.5$  mm olarak saptandı.

Ortalama TDT endürasyon çapı latent TB'li olgularda aktif akciğer TB'ye göre ( $p:0.001$ ) ve aktif akciğer TB'li olgularda kontrol grubuna göre ( $p: 0.001$ ) istatistiksel olarak yüksek saptandı. Ayrıca latent TB'li olgularda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ( $p: 0.001$ ) (Tablo 8).

QFT-GIT testi, aktif akciğer TB olgularında ortalama  $1.9 \pm 2.6$  IU/mL, latent TB olgularında ortalama  $4.6 \pm 4.6$  IU/mL ve kontrol grubunda ortalama  $0.2 \pm 0.4$  IU/mL olarak bulundu. Ortalama QFT-GIT testi düzeyleri hem aktif hem de latent TB olgularında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek (sırasıyla  $p:0.003$ ,  $p:0.005$ ) ve latent TB'li grupta aktif TB'li olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p:0.197$ ) (Tablo 8). QFT-GIT testi aktif akciğer TB hastalarının 12 (%75.0), latent TB olgularının 15'inde (%65.2) pozitif iken, kontrol grubunda 3 (%14.3) olguda pozitif sonuç elde edildi.

**Tablo 8.** Olguların QFT-GIT testi ve TDT sonuçları

	<b>Aktif akciğer TB (n:16)</b>	<b>Latent TB (n:23)</b>	<b>Kontrol (n:21)</b>
QFT-GIT (IU/mL)	$1.9 \pm 2.6$	$4.6 \pm 4.6$	$0.2 \pm 0.4$
TDT (mm)	$14.3 \pm 4.1$	$19.0 \pm 2.8$	$9.4 \pm 2.6$

Aktif akciğer TB olgularının BCG skar sayısına bakıldığında; 3 (%18.8) olguda hiç BCG skarı olmadığı, 10 hastada (%62.5) yalnızca bir BCG skarı olduğu, 3'ünde (%18.8) ise iki skar olduğu görüldü. Olguların BCG sıklık sayıları ve TB temas öyküleri tablo 9'da verilmiştir.

**Tablo 9.** Olguların BCG sıklık sayısı ve TB temas öyküsü

	<b>Aktif akciğer TB (n:16)</b>	<b>Latent TB (n:23)</b>	<b>Kontrol (n:21)</b>
<b>Skar sayısı</b>			
0	3 (%18.8)	0	0
1	10 (%62.5)	3 (%13.0)	11(%52.4)
2	3 (%18.8)	16 (%69.6)	10 (%47.6)
3	0	4 (%17.4)	0
<b>Temas öyküsü</b>			
var	12 (%75)	22 (95.7)	8 (38.1)
yok	4 (%25)	1 (4.3)	13 (61.9)

QFT-GIT pozitiflik oranı açısından aktif akciğer TB'li olgular ile latent TB'li olgular karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $X^2= 0.424$ ,  $p= 0.515$ ) (Tablo 10).

Aktif akciğer TB'li olguların latent TB'li olgulardan ayırımında QFT-GIT testinin duyarlılığı %75, özgüllüğü %34.8 olarak saptandı (tablo 10).

**Tablo 10.** Aktif ve latent TB'nin ayırımında QFT-GIT tanı değeri

<b>Grup</b>	<b>QFT-GIT Pozitif n (%)</b>	<b>QFT-GIT negatif n (%)</b>	<b>Toplam</b>
Aktif akciğer TB	12 (75.0)	4 (25.0)	16 (100.0)
Latent TB	15 (65.2)	8 (34.8)	23 (100.0)
Toplam	27 (69.2)	12 (30.8)	39 (100.0)

Aktif akciğer TB'li olgularda QFT-GIT pozitiflik oranı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (tablo 11). ( $X^2= 13.887$ ,  $p= 0.000$ ).

Aktif akciğer TB'nin saptanmasında QFT-GIT testinin duyarlılığı %75, özgüllüğü %85.7 olarak saptandı (tablo 11).

**Tablo 11.** Aktif TB tanısında QFT-GIT'in tanı değeri

<b>Grup</b>	<b>QFT-GIT Pozitif n (%)</b>	<b>QFT-GIT Negatif n (%)</b>	<b>Toplam</b>
Aktif akciğer TB	12 (75.0)	4 (25.0)	16 (100.0)
Kontrol	3 (14.3)	18 (85.7)	21 (100.0)
Toplam	15 (40.5)	22 (59.5)	37 (100.0)

Latent TB'li olgularda QFT-GIT pozitiflik oranı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $\chi^2= 11.780$ ,  $p=0.001$ ) (tablo 12). Bu durumda latent TB'nin saptanmasında QFT-GIT testinin duyarlılığı %65.2, özgüllüğü %85.7 olarak saptandı (tablo 12).

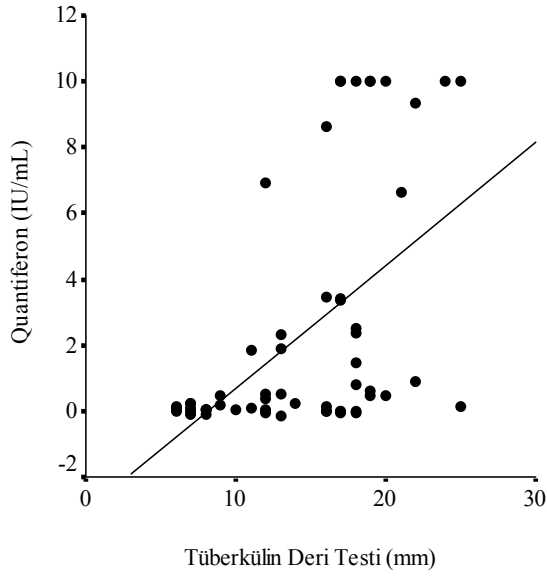
**Tablo 12.** Latent TB tanısında QFT-GIT'in tanı değeri

<b>Grup</b>	<b>QFT-GIT Pozitif n (%)</b>	<b>QFT-GIT Negatif n (%)</b>	<b>Toplam</b>
Latent TB	15 (65.2)	8 (34.8)	23 (100.0)
Kontrol	3 (14.3)	18 (85.7)	21 (100.0)
Toplam	18 (40.9)	26 (59.1)	44 (100.0)

Tüm olgular dikkate alındığında TDT ve QFT-GIT testi arasında orta derecede bir uyum olduğu görüldü (% 71.66,  $\kappa= 0.433$ ) (tablo 13).

**Tablo 13.** Tüm olgularda TDT ve QFT-GIT sonuçları arasındaki uyumluluk

<b>TDT</b>	<b>QFT-GIT Pozitif n (%)</b>	<b>QFT-GIT Negatif n (%)</b>	<b>Toplam</b>
Negatif	8 (27.6)	21 (72.4)	29 (100.0)
Pozitif	22 (71.0)	9 (29.0)	31 (100.0)
Toplam	30 (50.0)	30 (50.0)	60 (100.0)



**Şekil 4.** QFT-GIT testi ile TDT arasındaki ilişki

QFT-GIT testi ile TDT arasında pozitif korelasyon saptandı ( $r:0.527$ ;  $p:0.000$ ).

Tüm gruplarda BCG skar sayısına göre TDT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ), benzer şekilde gruplar arasında BCG skar sayısına göre QFT-GIT düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 14.** Skar sayısına göre QFT-GIT ve TDT değerleri

Skar sayısı	Aktif akciğer TB		Latent TB		Kontrol	
	TDT (mm)	QFT-GIT (IU/mL)	TDT (mm)	QFT-GIT (IU/mL)	TDT (mm)	QFT-GIT (IU/mL)
0	13.0±1.1	1.0±1.1	-	-	-	-
1	14.9±4.0	2.3±3.0	19.0±2.0	8.8±1.9	8.4±2.6	0.08±0.18
2	13.7±2.9	1.2±1.9	18.9±2.8	4.1±4.7	10.5±2.3	0.29±0.6
3	-	-	19.8±3.8	3.4±4.7	-	-

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmamızda aktif TB'li hastalarda, latent TB olgularında ve sağlıklı kontrol olgularında TDT ve QFT-GIT testleri karşılaştırıldı. Latent TB'lilerde TDT ortalaması ve QFT-GIT ortalamaları aktif TB'lilere göre daha yüksekti. Latent TB'lilerde aktif TB'lilere göre ve aktif TB'lilerde kontrol grubuna göre QFT-GIT pozitiflik oranı daha yüksekti. Sağlıklı kontrollere göre TB enfeksiyonu veya hastalığının saptanmasında QFT-GIT testinin özgüllüğü yüksek fakat aktif ve latent TB'nin ayırımında özgüllüğü düşük olarak saptandı.

Özgüllük ve duyarlıktaki bilinen kısıtlamalara rağmen, TDT latent TB enfeksiyonunun tanısında halen standart olarak kullanılmaktadır. Değerlendirmeyi yapanlar arasındaki farklılıklar nedeniyle bu testin uygulanması ve okunması kolay değildir, eğitilmiş personel ve hastaların testin okunması için ikinci kez görülmesi gerekmektedir. Bu sınırlandırmalara rağmen TDT, latent olarak infekte kişilerde aktif hastalığı öngörebilmesi ve TDT sonuçlarına göre tanı konmuş latent TB'li olguların profleksisi ile aktif hastalık riskinin %60 kadar azaltılması nedeniyle bugün hala yaygın olarak kullanılmaktadır. TDT'nin önemli bir avantajı da düşük maliyetli olması ve ek laboratuvar donanımına gerek olmamasıdır (42-44).

TDT yanıtından sonra, kanda INF  $\gamma$  tespiti yapan testler (CSL/ QFT-TB testi) geliştirilmiş ve TB tanısında yayma ve kültür yerine kullanılabilmesi bildirilmiştir. Bu testte; *M. tuberculosis*, *M. avium* ve *M. bovis*'den elde edilen TDT'lerle stimülasyondan sonra, tam kandaki T lenfositleri tarafından üretilen INF-  $\gamma$  ölçülür. INF-  $\gamma$  ELISA sonuçları ile hasta ve kontrol grubundan elde edilen TDT sonuçları arasında iyi bir korelasyon vardır. Aktif TB'li olgularda QFT-GIT testinin duyarlılığı %90 ve özgüllüğü %95-98 bulunmuştur (78). Centers for Disease Control and Prevention (CDC)'nin 2005'de yayınladığı son rehberde önceki rehberden farklı olarak TB enfeksiyon tarama testi olarak TDT'nin yanında kanda INF-  $\gamma$  düzeyini ölçen QFT-GIT testide önerilmektedir. Tarama testi olarak TDT kullanıldığında bazı durumlarda 2 adımlı TDT testinin kullanılması gerektiği belirtilmiştir (25).

Çalışmamızda latent TB'li olgularının hepsinde TDT 15 mm üzerinde olmasına rağmen olguların 15'inde (% 65.2) QFT-GIT pozitif saptandı. TDT'de yalancı pozitif yanıt genellikle TDT antijeni ile paylaşılan diğer mikobakteri antijenlerinden kaynaklanmaktadır. Bu da NTM ile enfeksiyona bağlı çapraz

reaksiyon veya BCG aşılmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu apraz reaksiyonların hangi mikobakteri türüne bağlı olduğunun ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Ancak endürasyon çapı ne kadar büyükse bunun *M. tuberculosis*'e bağlı olma olasılığı o kadar yüksektir. Aynı Şekilde BCG aşısına bağlı çapraz reaksiyonun ayırt edilebilmesi de zordur. Endürasyon apı büyük olanlarda, TB'li birey ile temas öyküsü olanlarda, ailede TB hastalığı öyküsü olanlarda veya TB infeksiyonu prevalansının yksekk olduğu yerlerde yaŐayanlarda, aşı ile test arasında uzun bir süre geçmiŐ olanlarda reaksiyonun *M. Tuberculosis* infeksiyonuna bağlı olma olasılığının daha yksekk olduğu bildirilmiştir (79). Çalışmamızda TDT pozitif latent TB'li olgularda ortalama TDT değerlerinin yksekk olması, olguların %95.7'sinde TB temas öyküsü olması nedeniyle pozitifliğinin yksekk olasılıkla *M.Tuberculosis*'e bağlı olduğunu düşündürmüştür ancak ülkemizde rutin BCG aşısının uygulanması nedeniyle çapraz reaksiyonların ve yalancı pozitifliklerin olabileceği de gözardı edilmemelidir. Çalışma sonuçlarına göre bu olgularda QFT-GIT testi duyarlılığı düşüktür.

Sağlıklı kişilerden farklı olarak aktif TB'li hastaların %10-25 kadarı başlangıçta TDT'ye reaksiyon vermemektedir. Çalışmamızda aktif TB hastalarının % 50'sinde TDT negatif olarak saptandı.

Çalışmamızda aktif TB'nin saptanmasında sağlıklı kontrol grubu ile aktif TB'li grup karşılaştırıldığında QFT-GIT'in duyarlılığı %75, zğllğ %85.7, latent TB saptanmasında ise latent TB'li grup ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında duyarlılığı %65.2, zğllğ %85.7 olarak bulundu. Ancak aktif ve latent TB ayırımında QFT-GIT testinin zğllğnn çok dŐkk olduğu saptandığından aktif ve latent TB'li olguların ayırımında testin katkısının az olduğu dŐnld (duyarlılıkk %75, zğllkk %34.7).

Saracino ve ark.'nın (80) 279 gmende QFT-GIT ile TDT arasındaki uyumu değerlendirdiği çalışmalarında 279 göçmenin 72'sinde (%25.8) TDT pozitif, 107'sinde (38.3%) ise QFT-GIT pozitif saptanmıştır. Bu çalışmada göçmenlerin 58'inde (21%) QFT-GIT pozitif olduğu halde TDT negatif ve 23 olguda (8%) QFT-GIT negatif iken TDT pozitif olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre QFT-GIT+/TDT- arasında önemli bir uyumsuzluk bildirilmiştir. Çalışmamızda TDT pozitif olan latent TB'li olguların 8'inde (% 34.8) QFT-GIT negatif olarak saptandı.

TDT negatif olan kontrol grubundan 3 (%14.3) olguda ise QFT-GIT pozitif olarak bulundu.

TDT pozitif ve QFT-GIT testi negatif olan sonuçlar; NTM ile maruziyet ya da BCG aşılması lehine değerlendirilebilir. TDT negatif QFT-GIT testi pozitif olan sonuçlar ise; QFT testinin cilt testine göre daha duyarlı oluşuna bağlanabilir. İki test arasındaki uyumsuzluk TDT okumalarındaki subjektiviteye de bağlanabilir (81).

Brock ve ark. (78) 125 (40 BCG aşılı, 85 BCG aşısız) TB temaslı olguyu, latent TB enfeksiyonu açısından QFT-G ve TDT'yi kullanarak değerlendirmişlerdir. Bu araştırmacılar latent TB enfeksiyonu açısından QFT-G ve TDT'nin uyumunun iyi olduğunu bildirmişler (%94) ve aşılı olan bireylerde QFT-G testinin daha önceki BCG aşılmasından etkilenmediğini göstermişlerdir.

Katial ve ark.'nın (7) çalışmasında 40 kişinin TDT (20 olgunun negatif, 20 olgunun pozitif) ile QFT testi sonuçları değerlendirilmiştir, *invivo* ve *invitro* olan bu iki testin uyumu iyi bulunmuştur.

Çiçek ve ark.'nın (82) çalışmasında da düşük riskli latent TB'si olan kişilerde ve TDT testi negatif olan sağlıklı gönüllülerde QFT testi ile TDT test sonuçları uyumlu bulunmuştur. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda aynı uyum saptanmasına karşın, CDC'nin yaptığı çok merkezli çalışmalarda latent TB'si olan kişilerde, QFT ve TDT sonuçlarında orta derecede uyum olduğu bildirilmiş ve TDT ve QFT testlerinin aynı immünolojik parametreleri ölçmediği ve birbirinin yerine kullanılmaması gerektiği konusunda bir kılavuz hazırlanmıştır (8). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise, TDT'si negatif olan kişilerde QFT test sonuçlarının daha uyumlu olduğu (83) ve test uygulanan kişiler daha önce BCG ile aşılanmamışlarsa QFT sonuçlarının daha doğru bulunduğu (BCG yapılanlarda uyum %41.5, yapılmayanlarda uyum %80.3,  $p<0.0001$ ) bildirilmiştir (84).

Çalışmamızda ortalama QFT-GIT değerleri, aktif TB olgularında  $1.9\pm 2.6$  IU/mL, latent TB olgularında  $4.6\pm 4.6$  IU/mL, kontrol grubunda  $0.2\pm 0.4$  IU/mL olarak bulundu. Ortalama QFT-GIT değerleri en yüksek olarak latent TB'li olgularda saptanmıştır. Ancak latent TB'li hastalar ile aktif TB'liler arasında QFT-GIT pozitifliği açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Ayrıca QFT-GIT testi aktif TB hastalarının 12'sinde (%75), latent TB olgularının 15'inde (%65.2) pozitif iken, kontrol grubunda 3 (%14.3) olguda pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre



aktif TB veya latent TB'yi saptamada QFT-GIT testinin özgüllüğü ve duyarlılığı hesaplandığında testin özellikle özgül olduğu kabul edilebilir ve *M. Tuberculosis*'in saptanmasında önerilebilir bir test olduğu söylenebilir. Fakat aktif ve latent TB'yi ayırmada özgüllüğün belirgin azalmasından dolayı QFT-GIT pozitifliğinin hastalık veya infeksiyon ayırımında faydalı olmayacağı şeklinde yorumlanmıştır.

Birden fazla antijen kullanılması, uygulanan kişilerde kalıcı antijenik etki bırakmaması, sonuçların değerlendiren kişiye göre değişmemesi, spektrofotometrik olarak saptanması ve hastanın bir daha görülmesinin gerekli olmaması QFT-GIT testinin avantajlarıdır. QFT testi için tam kan alınması, kan alındıktan sonra en geç 12 saat içinde antijenlerle işlem yapılması gerekmesi bu testin kullanımını sınırlamaktadır (8). QFT-GIT testinin reaktivasyon TB'si olan hastalarda tanı amaçlı kullanımını konusundaki çalışmalar çelişkilidir. Literatürde QFT testinin reaktivasyon TB'si olan hastalarda mitojen uyarımı çoğu kez gerçekleşmediği için başarısız olduğu ve bu yüzden kullanılmaması gerektiği belirtilen yayınlar mevcuttur. Reaktivasyon TB'si olan hastalarda IFN- $\gamma$  yanıtının baskılandığı ve baskılanmanın derecesinin hastalığın ciddiyeti, ilerlemesi ve hastanın tedavi almamasıyla doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (8). Çiçek ve ark. (82), reaktivasyon TB'si olan hastaların tedavisi başlanmadan önce QFT-GIT testi için örnek almıştır. QFT-GIT testi bu hastaların sadece yedisinde (7/21, %33.3) olumlu sonuç vermiştir. Bizim çalışmamızda da QFT-GIT testi için örnekler tedavi öncesi alınmış ve aktif TB'si olan hastaların %25' inde QFT-GIT testi negatif olarak saptanmıştır.

Kinyoun boyama skorlamasında, hastada basil miktarı arttıkça QFT-GIT testinin IFN- $\gamma$  yanıtını ölçme olasılığının düştüğü bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada ise, tedavi öncesi aktif TB'li hastalarda QFT-GIT'in duyarlılığı TDT'den daha yüksek bulunmuş, ancak bu kişiler daha önceden BCG ile aşılanmışlarsa özgüllük ve duyarlılığın çok düştüğü bildirilmiştir (85). Ülkemizde rutin BCG aşısı yapıldığından dolayı ve çalışmamızda da aktif, latent TB'nin ayırımında QFT-GIT'in özgüllüğünün düşük saptanmasından dolayı bu testin aktif TB'li olgularda tanı açısından ülkemizde kullanımının çok da uygun olmayacağını düşündürmüştür.

Mori ve ark. (86) 118 kültür pozitif TB hastasında QFT-GIT duyarlılığı %89 ve TB riski düşük aşıli popülasyonda özgüllüğünü %98.1 olarak bildirmiştir.

Lalvani ve ark. (69) kültür ile doğrulanmış aktif TB hastalarında ve TB dışı hastalığı olan bireylerde RD1-ELİSPOT testi ile TDT'yi karşılaştırmışlar ve aktif TB

hastalığı olan bireylerde ELİSPOT testinin duyarlılığını %96 bulurken, TDT'nin duyarlılığını %69 olarak saptanmışlardır.

Kunimoto ve ark. (87) 1446 TDT pozitif olgunun 566'sında (%39.6) QFT'yi pozitif olarak saptamıştır. Multivariate analizde yaşlı olmanın, TDT çapının büyük olmasının, TB sık görülen bölgede doğmanın, TB öyküsü olmasının ve X-ray incelemede geçirilmiş TB bulguları varlığının QFT pozitifliği ile birlikte olduğu bildirilmiştir.

Mazurek ve ark. (88) 1226 kişinin TDT ve QTF-GIT testi değerlerini, TB riskine göre dört gruba ayırdıkları bir çalışmada karşılaştırmışlardır. TDT ve QTF-GIT testinin uyumunu iyi (%83, 1,  $\kappa=0,60$ ) olarak bulmuşlardır. Ancak TDT testi pozitif olanlarda uyum (QFT testinin de pozitif olması) %65 iken, TDT testi negatif olanlarda uyum (QTF-GIT testinin de negatif olması) %90 olarak saptanmıştır. Bu araştırmacılar, BCG aşılmasının TDT' de yalancı pozitifliğe yol açtığı ve IFN- $\gamma$  ölçümlerinin daha önceki aşılardan daha az etkilendiğini belirtmişlerdir. Johnson ve ark. ise (9) tıp öğrencilerinde yaptıkları bir çalışmada aşılardan 5 ay önce ve sonra yaptıkları IFN- $\gamma$  ölçümlerinde aşılama ile IFN- $\gamma$  değerinin değiştiğini bildirmişlerdir. Ancak bu etkinin hayvan deneylerinde gösterildiği gibi kısa süreli olabileceği de bildirilmektedir (89).

Mazurek ve ark.'nın (79) yaptıkları başka bir çalışmada TDT negatif olan, IFN- $\gamma$  ölçümleri ise pozitif olan latent TB olguları da saptanmıştır. Bu çalışmada yalancı pozitif TDT sonuçları olmasına rağmen yalancı IFN- $\gamma$  ölçüm pozitifliği için risk faktörleri gösterilemediğini bildirilmiştir. Converse ve ark.'nın (90) uyuşturucu bağımlılarında ve HIV pozitif olgularda yaptıkları çalışmalarında IFN- $\gamma$  ölçümlerinin TDT' den daha duyarlı olduğu saptanmış ve iki test arasındaki uyumun zayıf olduğu ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise TDT negatif sağlıklı bireylerin %14,3'ünde QFT-GIT pozitifliği. Bizim araştırmamız kapsamında literatürde QFT-GIT için yalancı pozitif durumun bildirilmediği görülmüştür. Bu nedenle bu durum yüksek olasılıkla TDT'nin yalancı negatifliğine bağlanmıştır.

Streeton ve ark. (91) 952 kişilik bir çalışmada, QFT testinin tanı değerini TDT ile karşılaştırdıklarında QFT'nin duyarlılığını %90, özgüllüğünü %98 olarak saptamışlardır. QFT'nin latent TB infeksiyonunu erken saptamada (BCG aşılı popülasyon da dahil olmak üzere), TDT'ye göre daha yüksek özgüllüğü ve

duyarlılığı olduğu sonucuna varmışlardır. Bu araştırmacılar testi, aktif TB hastalığı olan ve daha önce tedavi edilmiş TB olgularında uygulamışlar; aktif hastalıkta %83, daha önce tedavi edilmiş olgularda %59 pozitiflik saptamışlardır ve bu sonuçlara göre INF- $\gamma$  düzeyinin tedavinin etkinliğini izlemede faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, latent TB infeksiyonunun ve aktif TB'li hastaların saptanmasında QFT-GIT'in kullanılabileceği düşünülebilir. Ancak testin aktif hastalık ve latent infeksiyon ayırımında özgüllüğünün düşük olmasından dolayı faydalı olamayacağı sonucuna varılmıştır. Ayrıca QFT-GIT ile TDT arasında pozitif korelasyon saptanmış olması ve QFT-GIT'in maliyetinin yüksek olması nedeniyle özellikle ülkemiz şartlarında TDT'ye daha üstün gibi görülmemektedir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA 1999; 282: 677–686.
2. Bilgiç H. Tüberküloz epidemiyolojisi. Kocabaş A (ed). Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü, Adana. Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991; 401-438.
3. Corbett EL, Watt CJ, Walker N, Maher D, Williams BG, Raviglione MC, et al. The growing burden of tuberculosis: Global trends and interactions with the HIV epidemic. Arch Intern Med 2003; 163: 1009–1021.
4. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı. T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı, 1. Baskı, Ankara: Rekmay Ltd. Şti, 2003: 1-122.
5. American Thoracic Society and Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic standarts and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 1376-1395.
6. Shinnich MT, Good RC. Diagnostic mycobacteriology laboratory practices. Clin Infect Dis 1995; 2: 291-299.
7. Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, Engler RJ. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 8: 339-345.
8. Mazurek GH, Villarino ME. Recommendation and reports. MMWR 2003; 52: 15-8.
9. Johnson PD, Stuart RL, Grayson ML, Olden D, Clancy A, Ravn P, Andersen P. Tuberculin-purified protein derivative, MPT-64-, and ESAT-6-stimulated gamma interferon responses in medical students before and after Mycobacterium bovis

BCG vaccination and in patients with tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6: 934-937.

10. Fışman Gögüs Hastalıkları Kitabı. Erkan L. (Çeviren) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. 1. Baskı, 2005: 763-819.
11. Doğanay A. Tüberkülozda Bulaşıcılık. Kocabaş A. (Eds) Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü 1. Baskı. Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991: 63-67.
12. Kocabaş A. Akciğer Tüberkülozu. Willke TA, Söyletir G, Doğanay M (Eds). İnfeksiyon Hastalıkları. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2002: 538-591.
13. Iseman MD. Klinisyenler İçin Tüberküloz Klavuzu. Ş. Özkara. (Çeviren): 1. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti 2002: 21-49.
14. Çobanlı B. Akciğer Tüberkülozu. Numanoglu N. (Ed) Solunum Sistemi ve Hastalıkları. 2. Baskı, Ankara: Antıp Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları 2001: 306-332.
15. Canetti G, Sutherland I, Svandova E. Endogenous reactivation and exogenous reinfection. Their relative importance with regard to the development of non primary tuberculosis. Bull Int Un Tuberc 1972; 47: 116-122.
16. Kocabaş A. Mikobakterilerin Yapısal ve Antijenik Özellikleri. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü 1. Baskı. Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi. 1991: 47-55.
17. Young D, Garbe T, Lathigra R. Characterization of prominent protein antigens from mycobacteria. Bull Int Union Tuberc Lung Dis 1991; 66: 47-52.
18. Yaman M. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri erişkin ve çocukta tüberküloz sempozyumu, İstanbul. 1999: 15-20.
19. Zellweger SP. Patogenesis and transmission of tuberculosis. Wilson R. Tuberculosis. European Respiratory Monograph 1997: 1-13.

20. Munk ME, Ernoto M. Functions of T-cells subsets in mycobacterial infections. *Eur Respir J* 1995; 8: 675-688.
21. Moulding T. Fizyopatoloji ve immünoloji: Klinik bakış. Schlossberg D. (ed). Tetikkurt C. (çeviri ed.) *Tüberküloz* 3. baskı, İstanbul: Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri vakfı, 1995: 31-37
22. Adler SS, Rose DN. Transmission and pathogenesis of tuberculosis. Davies PAD. (ed). *Clinical Tuberculosis*. London: Chapman and Hall Medical. 1995: 19-32.
23. Scheinmann P, Refabut L, Delacout C, Bourgeois M. Paediatric Tuberculosis. Wilson R. *Tuberculosis European Respiratory Monography* 1997; 4: 144-174.
24. Kılıçaslan Z. Türk Toraks Derneği 1. Kış Okulu ders notları. [www.toraks.org.tr](http://www.toraks.org.tr) 2002; 83-94.
25. National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systems approach: recommendations from CDC and the Association of Public Health Laboratories Task Force on Tuberculosis Laboratory Services. *MMWR Recomm Rep* 2005; 54: 1-12.
26. Trinker M, Hofler G, Sill H. False-positive diagnosis of tuberculosis with PCR. *Lancet* 1996; 348: 1388.
27. Özkara Ş. Klinisyen için Tüberküloz Kılavuzu. 1. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 22-46.
28. Siddiqi K, Lambert ML, Walley J. Clinical diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in low-income countries: the current evidence. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 288–296.
29. Attorri S, Dunbar S, Clarridge JE. III. Assessment of morphology for rapid presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1426–1429.

30. Çöplü N. Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı. İnfeksiyon Hastalıkları serisi. 1. Baskı, Ankara: Güneş Yayınevi, 2002: 30-40.
31. WHO Tuberculosis Research Office. Further studies of geographic variation in naturally acquired tuberculin sensitivity. Bull World Health Organ 1955; 22: 62-83.
32. Keleşoğlu N. Tüberküloz Tanısında Bakteriyolojik Yöntemler. Kocabaş A. (Ed) Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. 1. Baskı, Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991: 211-217.
33. Piersimoni C, Scarparo C, Callegaro A, Tosi CP, Nista D, Bornigia S, et al. Comparison of MB/Bact alert 3D system with radiometric BACTEC system and Lowenstein-Jensen medium for recovery and identification of mycobacteria from clinical specimens: a multicenter study, J Clin Microbiol 2001; 39: 651-657.
34. Tortoli E, Mandler F, Tronci M, Penati V, Sbaraglia G, Costa D, et al Multicenter evaluation of mycobacteria growth indicator tube (MGIT) compared with the BACTEC radiometric method, BBL biphasic growth medium and Lowenstein-Jensen medium. Clin Microbiol Infect 1997; 3: 468-473.
35. Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S, et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. J Clin Microbiol 1999; 37: 748-752.
36. Abe C, Hosojima S, Fukasawa Y, Kazumi Y, Takahashi M, Hirano K, Mori T. Comparison of MB-Check, BACTEC, and egg-based media for recovery of mycobacteria. J Clin Microbiol 1992; 30: 878-881.
37. Welch DF, Guruswamy AP, Sides SJ, Shaw CH, Gilchrist MJ. Timely culture for mycobacteria which utilizes a microcolony method. J Clin Microbiol 1993; 31: 2178-2184.
38. Daniel TM. The immunology of tuberculosis. Clin Chest Med 1980; 1: 189-201.

39. Stuart RL, Bennett N, Forbes A, Grayson ML. A paired comparison of tuberculin skin test results in health care workers using 5 TU and 10 TU tuberculin. *Thorax* 2000; 55: 693–695.
40. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. American Thoracic Society. *MMWR Recomm Rep* 2000; 49: 1–51.
41. Pouchot J, Grasland A, Collet C, Coste J, Esdaile JM, Vinceneux P. Reliability of tuberculin skin test measurement. *Ann Intern Med* 1997; 126: 210–214.
42. Kwamanga DO, Swai OB, Agwanda R, Githui W. Effect of non-tuberculous *Mycobacteria* infection on tuberculin results among primary school children in Kenya. *East Afr Med J* 1995; 72: 222–227.
43. Sokal JE. Measurement of delayed skin-test responses. *N Engl Med J* 1975; 293: 501-502.
44. Snider DE Jr. Bacille Calmette-Guerin vaccination and tuberculin skin tests. *JAMA* 1985; 253: 3438-3439.
45. Huebner RE, Schein MF, Bass JB Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 968–1075.
46. Thompson NJ, Glassroth JL, Snider DE Jr, Farer LS. The booster phenomenon in serial tuberculin testing. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119: 587- 597.
47. Bonington A, Strang G, Klapper PE. *Mycobacterium tuberculosis* PCR in early diagnosis of tuberculosis meningitidis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1251- 1254.
48. Bogard M, Vincelette J, Antinozzi R, Alonso R, Fenner T, Schirm J, et al. Multicenter study of a commercial, automated polymerase chain reaction system for the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens in routine clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 724- 731.



49. Reischl U, Lehn N, Wolf H, Naumann L. Clinical evaluation of the automated Cobas Amplicor MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2853-2860.
50. D'amato RF, Wallman AA, Hochstein LH, Colaninno PM, Scardamaglia M, Ardila E, et al. Rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis by using Roche AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis PCR test. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1832- 1834.
51. Vlaspolder F, Singer P, Roggeveen C. Diagnostic value of an amplification method (Gen-Probe) compared with that of culture for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2699-2703.
52. Ichiyama S, Ito Y, Sugiura F, Linuma Y, Yamori S, Shimojima M, et al. Diagnostic value of the strand displacement amplification method compared to those of Roche Amplicor PCR and culture for detecting mycobacteria in sputum samples. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3082-3085.
53. Ruiz-Serrano MJ, Albadalejo J, Martinez-Sanchez L, Bouza E. LCx: a diagnostic alternative for the early detection of Mycobacterium tuberculosis complex. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 32: 259-264.
54. Palacios JJ, Ferro J, Ruiz Palma N, Roces SG, Villar H, Rodriguez J, Prendes P. Comparison of the ligase chain reaction with solid and liquid culture media for routine detection of Mycobacterium tuberculosis in nonrespiratory specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect* 1998; 17: 767-772.
55. Durmaz R. Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinde sorunlar ve standardizasyon. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2001: 45-56.
56. Yajko DM, Wagner C, Tevere VJ, Kocagöz T, Hadley WK, Chambers HF. Quantitative culture of Mycobacterium tuberculosis from clinical sputum specimens and dilution end points of its detection by the Amplicor PCR assay. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1944-1947.

57. Bothamley GH. Serological diagnosis of tuberculosis. *Eur Respir J Suppl* 1995; 20: 676–688.
58. Gounder C, Queiroz Mello FC, Conde MB, Bishai WR, Kritski AL, Chaisson RE, Dorman SE. Field evaluation of a rapid immunochromatographic test for tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1989–1993.
59. Al Zahrani K, Al Jahdali H, Poirier L, Rene P, Gennaro ML, Menzies D. Accuracy and utility of commercially available amplification and serologic tests for the diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1323–1329.
60. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet* 2003; 361: 1168-1173.
61. Gounder C, Queiroz Mello FC, Conde MB, Bishai WR, Kritski AL, Chaisson RE, et al. Field evaluation of a rapid immunochromatographic test for tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1989-1993.
62. Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: A systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 761-776.
63. Dockrell HM, Weir RE. Whole blood cytokine assays-a new generation of diagnostic tests for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 441-442.
64. Lalvani A. Spotting latent infection: The path to better tuberculosis control. *Thorax* 2003; 58: 916-918.
65. Lein AD, Von Reyn CF. In vitro cellular and cytokine responses to mycobacterial antigens: Application to diagnosis of tuberculosis infection and assessment of response to mycobacterial vaccines. *Am J Med Sci* 1997; 313: 364-371.

66. Pai M, Menzies D Interferon-gamma release assays: what is their role in the diagnosis of active tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 74-77.
67. Morosini M, Meloni F, Bianco AM. The assessment of IFN- $\gamma$  and its regulatory cytokines in the plasma and bronchoalveolar lavage fluid of patients with active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7: 994-1000.
68. Berktaş M, Guducuoglu H, Bozkurt H, Onbasi KT, Kurtoglu MG, Andic S. Change in serum concentrations of interleukin-2 and interferon- $\gamma$  *J Int Med Res* 2004; 32: 324-330.
69. Lalvani A, Brookes R, Hambleton S, Britton WJ, Hill AVS, McMichael AJ. Rapid effector function in CD8<sup>+</sup> memory T cells. *J Exp Med* 1997; 186: 859–865.
70. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, 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.
71. Mahairas GG, Sabo PJ, Hickey MJ, Singh DC, Stover CK. Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J Bacteriol* 1996; 178: 1274–1282.
72. Fine PEM. BCG vaccination against tuberculosis and leprosy. *Br Med Bull* 2001; 44: 704-716.
73. Comstock GW. Identification of an effective vaccine against tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 479-480.
74. Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, Wilson ME, Burdick E, Fineberg HV, Mosteller F. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta analysis of the published literature. *JAMA* 1994; 271: 698-702.
75. Aronson JD, Aronson CF, Taylor HC. A twenty year appraisal of BCG vaccination in the control of tuberculosis. *Arch Intern Med* 1958; 101: 881-893

76. Yaramis A, Gurkan F, Elevli M, Soker M, Haspolat K, Kirbas G, Tas MA. Central nervous system tuberculosis in children: a review of 214 cases. *Pediatrics*. 1998; 102: 49.
77. Elsie L, SH. Robert Evolution and Current Use of the Tuberculin Test. *Clinical Infect Dis* 2002; 34: 365-370.
78. Brock I, Weldingh Karin, Lillebaek T. Comparison of Tuberculin Skin Test and New Specific Blood Test in Tuberculosis Contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 65-69.
79. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* Infection, United States. *MMWR Recomm Rep* 2005; 54: 49-55.
80. Saracino A, Scotto G, Fornabaio C, Martinelli D, Faleo G, Cibelli D, et al. QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-GIT) for the screening of latent tuberculosis in recent immigrants to Italy. *New Microbiol* 32, 369-376, 2009
81. Converse PJ, Jones SL, Astemborski J. Comparison of a tuberculin interferon-gamma assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1997; 176: 144-150.
82. Çicek C, Cok G, Ozhan M, Yaygın YE, Bilgi A. Latent ve aktif tüberkülozu olan hastalarda tüberkülin deri testi ile quantiferon tb testinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2006; 20: 15-18.
83. Codecasa LR, Ferrarese M, Penati V, Lacchini C, Cirillo D, Scarparo C, et al. Comparison of tuberculin skin test and Quantiferon immunological assay for latent tuberculosis infection. *Monaldi Arch Chest Dis* 2005; 63: 158-162.
84. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, 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: 631-635.

85. Dockrell HM, Weir RE. Whole blood cytokine assays-a new generation of diagnostic tests for tuberculosis *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 441-442.
86. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, 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.
87. Kunimoto D, Der E, Beckon A. Use of the QuantiFERON-TB Gold test to confirm latent tuberculosis infection in a Canadian tuberculosis clinic. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13: 726-730.
88. 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: 1740-1747.
89. Buddle BM, De Lisle GW, Pfeffer A, Aldwell FE. Immunological responses and protection against Mycobacterium bovis in calves vaccinated with a low dose of BCG. *Vaccine* 1995; 13: 1123-1130.
90. Converse PJ, Jones SL, Astemborski J, Vlahov D, Graham NM. Comparison of a tuberculin interferon- $\gamma$  assay with the tuberculin skin test in high-risk adults: effect of human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1997; 176: 144-150.
91. Streeton JA, Desem N, Jones SL. Sensitivity and Specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 26: 443-450.

## **6. ÖZGEÇMİŞ**

16.03.1978 tarihinde Malatya'da doğdum. İlkokulu Namık Kemal İlkokulunda, ortaokulu Hasan Varol Ortaokulunda liseyi ise Malatya Lisesinde okudum. 1995'de İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne girdim ve 2002 yılında mezun oldum.

2003-2005 yılları arasında Kastamonu ili Daday ilçesinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 28.11.2005 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dal'ında uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.