

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

TÜRKİYE
BİLİMSEL VE TEKNİK
ARAŞTIRMA KURUMU
KÜTÜPHANESİ

TÜBERKÜLOZ HASTALIĞININ SEROLOJİK TANISI

UZMANLIK TEZİ

Dr. ÜMİT BİLGE DOĞAN

ADANA-1989

128985

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	4
Etiyoloji.....	4
Bulaşma.....	5
Tüberkülozun doğal gelişimi.....	8
Tüberkülozda immün yanıt.....	12
Tüberküloz epidemiyolojisi.....	14
Akciğer tüberkülozu tanı yöntemleri.....	20
Tüberkülin deri testi.....	20
Tüberkülozda bakteriyolojik tanı yöntemleri.....	24
Bronkoskopi ve histopatolojik inceleme.....	28
Serolojik inceleme.....	28
Deneme tedavisi.....	30
Tüberküloz savaşı programları.....	30
MATERYAL VE METOD.....	34
BULGULAR.....	37
TARTIŞMA.....	51
SONUÇ.....	54
ÖZET.....	55
KAYNAKLAR.....	56

G İ R İ Ő

"Mikobakterium tuberculosis" kompleksinin neden olduğu tüberküloz, yalnız insanlara özgü olup insandan insana geçen bir enfeksiyon hastalığıdır.

Yüzyıllar boyunca hastalığın kalıtsal olduğu görüşü benimsenmiş, ancak geçen yüzyılın ikinci yarısında bulaşıcı olduğu deneysel olarak kanıtlanabilmiş ve yüzyıl sonunda da tüberküloza neden olan mikrop bulunmuştur.

1930'lardan bu yana BCG aşısı ile yapılan korumayla, 1950'lerden sonra da birbiri ardınca bulunan ilaçlarla hastalığın kesin tedavisi yapılabilmış ve enfekte kişilerin ilaçla hastalıktan korunmaları sağlanabilmiştir.

Koruyucu hekimlikteki ve kemoterapideki ilerlemelere rağmen, bugün bütün dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tüberküloz hastalığı önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Buna ek olarak mikobakteriyel hastalıkların yeni şekilleri gittikçe artmakta ve immün yetmezliği olan hastalarda mikobakterilerin nontüberküloz formları da sıklıkla görülmektedir. Klasik olarak bu tip hastalıkların tanısında temeli oluşturan mikobakterilerin gösterilmesi, Ziehl-Neelson ve Auramine boyaları ile çoğunlukla mümkün olmaktadır. En iyi kültür koşullarında bile pozitif sonuç alınma yüzdesi düşük ve en az 3-6 haftalık sürelerle ihtiyaç göstermektedir. Yeni bazı tekniklerle bu süre 7-10 güne inebiliyorsa da mikobakterilerin üremesi ve türlerinin ayırımı için referans laboratuvarla-

ra ihtiyaç vardır(34,35).Bütün bunların yanında özellikle santral sinir sistemi tüberkülozunda prognoz,spesifik tedavinin erken başlanabilmesiyle yakından ilişkilidir.

Bilindiği gibi serolojik testler,infeksiyon hastalıklarının tanısında bu yüzyılın sonlarından itibaren yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır(4,21).Bu arada araştırmacılar tüberküloz hastalığının tanısında kullanılabilecek serolojik testlerin geliştirilmesiyle uğraşmışlar ve bugüne değin önemli aşamalar gerçekleştirmişlerdir.Bu alanda kullanılan serolojik testlerde,başlangıçta görülen en önemli sorun tüberkülozu olmayanlarda görülen yanlış pozitif sonuçlardır.Bugüne değin geliştirilen testlerde hemagglutinasyon,radioimmunoassay,enzim immunoassay,lateks agglutinasyon,DNA hibridizasyon teknikleri kullanılmış ve mikobakteriyel antijenlere karşı oluşan antikorların,mikobakteriye ait antijenik yapıların ve mikobakteriyel DNA'nın gösterilmesi amaçlanarak değişik spesifiklikte ve duyarlılıkda testler ortaya konmuştur(39).

Başlangıçta,mikobakteriyel antikorların gösterilmesi amacıyla kullanılan antijenlerin heterojen olması,gram negatif bakterilerle ve non-patojenik mikobakterilerle kros reaksiyonların görülmesine yol açmıştır.Daha sonra saf antijenik yapıların kullanılmasıyla tanıda değerli olabilen testlerin geliştirilebileceği gösterilmiştir(2,5,17,27,28,31,33,37,41).Bu yeni testlerde duyarlılığın %89,spesifikliğin ise %94'e ulaştığı bildirilmektedir(5,17,31).

Vücut sıvılarında ve dokularda mikobakteriyel antijenlerin gösterilmesine yönelik testler lateks agglutinasyon,enzim immunoassay teknikleri ile gerçekleştirilmiş(12,18,22,30,38) ve bu testlerde polivalan antikorlar(25,34,36,40) ile spesifik antijenik yapılara karşı monovalan antikorlar(8,19) kullanılmıştır.Bu testlerde ulaşılan duyarlılık ve spesifikliğin %81-90 ve %95-100 arasında olduğu bildirilmiştir(2,19,25,34,36,40).Vücut sıvılarında ve dokularda mevcut çok az sayıdaki mikobakteriyel DNA yapılarınının gösteril-

mesi için, mikobakteriyel DNA'ya karşı hazırlanan probe'ların kullanılması başarı şansını arttırmaktadır(35).

Bu çalışmayla biz pulmoner ve extrapulmoner tüberkülozda, tarama ve tanı amacıyla kullanılabilecek spesifik bir serolojik test geliştirmeyi amaçladık. Bunun için de Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastahanesi ile Adana Verem Savaş Dispanseri'nde pulmoner tüberküloz tanısı konan hastalardan serum örnekleri; extrapulmoner tüberküloz tanısı konan hastalardan ise hem serum hem de ilgili organ tüberkülozuna ait sıvı örnekleri aldık. Kontrol grubu olarak da sağlıklı öğrenci, hemşire ve personelden aldığımız serum örnekleri ile; tüberküloz dışı hastalığı olanlardan aldığımız serebrospinal sıvı (BOS) örneklerini kullandık. "Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" yöntemiyle, ilgili serum ve sıvılarda mikobakteriyum tüberkülozise karşı oluşmuş İmmünglobulin (Ig) G vasfındaki antikorların seviyelerini ölçerek sonuçları karşılaştırdık.

GENEL BİLGİLER

Tüberküloz, mikobakterium tüberkülosis ile oluşan ve enfekte dokuda granulom gelişimiyle karakterize kronik bir bakteriyel enfeksiyondur. Genellikle akciğerlerde görülmekle birlikte diğer organları da tutabilir. Etkili bir tedavi yapılmadığı takdirde hastalık kronikleşebilir ve ölüme sonuçlanabilir.

ETİOLOJİ

Mikobakterium tüberkülosis ilk kez Robert Koch tarafından 1882 yılında bulunmuş ve bulucusunun ismine bağlanarak "KOCH basilli" veya boyanma özelliğine göre "Asidorezistan Basil (ARB)" olarak adlandırılmıştır. Aynı gruptan diğer bir basil, mikobakterium bovis insanda hastalık yapabilir fakat oldukça seyrek (%1-3) ve bunların 2/3'ü akciğer dışı organ tüberkülozudur. Atipik mikobakteriler ya da nontüberküloz mikobakteriler adı altında toplanan diğer tip mikobakterilerin pek azı insanda patojendir, ancak bazı koşullarda hastalık yaparlar ve insandan insana bulaşmazlar.

Mikobakterium tüberkülosis 2-4 mic uzunluğunda, 0.3-0.6 mic eninde gram pozitif, düz veya eğri çubuklar şeklindedir. Alışılmış anilin boyaları ile kolaylıkla boyanmaz, fakat özel yöntemlerle boyanmış olanlar da asit, alkol gibi kuvvetli renk giderici maddelerle boyayı geri vermezler.

Yapısında yüksek oranda lipid materyal bulunur. Basil hücresi kuru ağırlığının hemen hemen %60'ı yüksek moleküllü yağ asitleri ile yağ ve karbonhidrat karışımı olan "peptidoglycolipid"den

yapılmıştır. Bunların büyük kısmı da basil hücrelerinin duvarında bulunur. Bu nedenle sıvılara geçirgin olmadığı gibi bazı fizik alanlara, asit ve alkalen biokimyasal maddelere, birçok antibakteriyel ilaçlara ve antikorlara karşı etkin şekilde korunmaktadır. Makrofağların intrasellüler sindirimine ve komplemanın bakterisit etkisine de dirençlidir. Kültürlerde uzun süre, buzdolabında yıllarca yaşamını sürdürür.

Tüberküloz basili hareketsiz, tam aerop ve istemli intrasellüler bir parazittir. Bu nedenle oksijen basıncının yüksek olduğu organ veya dokularda yerleşmeyi sever. Genellikle çok yavaş ürer ekzotoksini ve endotoksini yoktur. Ancak bol miktarda basil hücrelerinin parçalanmasıyla oluşmuş antijenlere karşı gelişen aşırı duyarlılık (hipersensibilite) olgusu, progressif destrüktif akciğer tüberkülozuna özgü patolojik gelişmelere neden olabilir (1,7,20).

BULAŞMA

Tüberkülozun bulaşıcı olduğu ilk kez A. Villemin tarafından 1865 yılında kanıtlandı. 1882 yılında R. Koch'un tüberküloz basili bulması ile de kesinlik kazandı. Daha önceki yıllarda tüberkülozun kalıtsal olduğu ve genlerle kuşaktan kuşağa geçtiği kabul edilmekteydi.

1897 yılında enfeksiyonun "Flügge damlacıkları" aracılığı ile bulaştığı ileri sürüldü. 1934 yılında da Wells ve arkadaşları tüberkülozda bulaşmanın damlacıklarla değil "damlacık çekirdekleri" ile ve hava yoluyla geçtiği teorisini geliştirdiler (1).

Damlacık çekirdeği öksürme, aksırma, hapşurma, sarkı söyleme ve konuşma sırasında akciğerlerdeki hastalık odaklarından kopup gelen basil yüklü damlacıkların aerosol halinde çevre havasına yayılmaları ve havada hemen buharlaşarak parçalanmasından oluşan küçük partiküllerdir. 1-10 mic büyüklüğündedir ve basit gaz maskelelerinden geçebilir. Ağız ve burnun elle kapatılması damlacıkların çevreye saçılmalarını önleyemez, ancak birkaç kez katlanmış bez ve-

ya kağıt mendillerle önlenebilir.

Çevreye yayılan damlacık çekirdekleri kapalı oda havasında asılı kalırlar,yere çökmezler;ancak hava akıntısı ile kapalı yerlerden dışarı atılır ve böylece hem dilüe olurlar,hem de dışarı havasında radyasyonla ölürlür.

Her damlacık çekirdeğinde 1-3 basil bulunur.Buna göre tüberküloz enfeksiyonu genellikle bir ve en fazla üç basille başlar.

Damlacık çekirdekleri ile çevreye yayılan basillerin %99' u ağızdan çıkar çıkmaz ölürlür,ancak %1'i havaya dağılır ve birkaç saat canlı kalır.Normal bir öksürükle yaklaşık 3500,bir aksırıkla da 1 milyon kadar damlacık çekirdeği çevreye yayılır.

Tüberküloz enfeksiyonu,basillerin alveollere yerleşerek tutunmaları ve çoğalmaya başlaması ile gelir.10 mic dan büyük partiküller alveollere kadar inemez,yukarı hava yollarında tutulur ve muko-silier aktivite ile dışarı atılırlar.

Kobay,fare ve sıçanlarda yapılan araştırmalarda tek bir mikrobun inhalasyonu halinde hemen daima basilin alveollere kadar inerek 4 hafta içinde akciğerlerde 3 mm çapında tüberkül oluşturduğu saptanmıştır.Buna karşılık birden fazla basil içeren partiküllerin inhalasyonunda,bunların solunum yolunda takılıp kalmalarından dolayı enfeksiyon önlenebilmektedir.Araştırmalarda insanlarda da genellikle tek bir basille enfeksiyonun başlayabileceği gerçeklik kazanmıştır(1).

Bu gelişmelerin ışığında enfekte tozların inhalasyonu veya enfekte materyalle direkt temas ile bulaşmanın geliştiği görüşü tamamen terk edilmiştir.Çünkü yere düşen balgamın kapsadığı basiller canlılıklarını sürdüremedikleri gibi,materyal genellikle büyük partiküller halinde olduğundan bunların alveollere incek kadar aerosol haline geçmeleri olası değildir.Enfekte materyalin direkt temasla alınmasında ise materyalin hava ile alveollere girmesi zaten olası değildir.Bu nedenle tüberkülozdan korunmada yemek kapla-

rının, mendil, peçete, yatak çarşafı gibi eşyaların ayrılması ve bunların dezenfekte edilmesi gerekmez. İki yıl süreyle yapılan bir çalışmaya göre, sürekli enfekte ortamda enfeksiyon gelişme çansı aylık olarak ortalama %2.6 bulunmuştur(1).

Tüberkülozda bulaşımı etkileyen faktörler üç grupta toplanabilir:

1-Hastaya ilişkin faktörler: Direkt yaymada basili müsbet olup ayrıca kavitesi, larenks tüberkülozu veya öksürüğü bulunan hastalar bulaşıcılık açısından en tehlikeli hastalardır. Kavite bol oksijen içerdiğinden, basillerin hızla ve bol miktarda üredikleri bir ortamdır. Balgamın fiziksel niteliği de önemli olabilir. Katı ve yapışkan balgama oranla sulu balgamda daha fazla damlacık çekirdeği olduğu saptanmıştır.

2-Tedaviye ilişkin faktörler: Yapılan çalışmalar 15 günlük tedavi süresinde hastalığın bulaşıcı niteliğini yitirdiğini göstermektedir. Çünkü etkin tedavide basil sayısında logaritmik azalma yanında öksürük sayısı ve gücü de azalır. Genel görüş tedavinin 2-3 haftasından sonra hastaların izolasyonuna gerek kalmadığıdır. Buna karşılık tedavi görmeyen hastalar yılda en az 10 kişiyi enfekte veya süperenfekte ederler. İyileşmeyip kronikleşen hastalar ise tedavi görmemiş hastalar kadar olmasa bile basil saçmaya ve enfeksiyonu yaymaya devam ederler.

3-Çevreye ilişkin faktörler: Havalandırma ve ultraviyole ışınları bulaşımı önlemede çok önemli birer araçtır. Günümüzde bir kısım batı ülkelerinde, tüberküloz hastaları sanatoryumlarda değil genel hastahanelerde tedaviye alınmaktadır. Sadece basil müsbet olan vakaların başlangıçta 2-3 hafta ultraviyole ile ışınlanan bir odada tedavi alınmaları ile basillerin yayılması önlenmekte ve sonra tedavi diğer hastalarla birlikte sürdürülmektedir.

Tüberkülozda bulaşımın seyrek şekilleri:

1-Barsak yoluyla bulaşım: Primer tüberküloz enfeksiyonu gastroentes-

tinal yoldan da alınabilir.Bu bulaşım volu başlıca sığır tipi tüberküloz basili enfeksiyonlarında geçerlidir.Hasta ineklerin bol miktarda basil içeren sütlerinin çiğ içilmesi ile ve özellikle bebeklerde ileumda primer enfeksiyon gelişebilir.

2-Tonsil yoluyla bulaşma:Primer enfeksiyon seyrak olarak tonsillerde de sığır tipi basillerle gelişebilir.Çoğu kez servikal lenfadenit de bulunur.

3-Deri yoluyla bulaşım:Bu olgu ancak patoloğ,laboratuvar işçisi ve tıp öğrencilerinin enfekte materyali çıplak elle incelemelerinde görülebilir.

4-İnsan-hayvan arasında tüberkülozun bulaşımı:Tüberküloz basilinin en büyük rezervuarı insan olmakla beraber,özel koşullarda başka enfeksiyon rezervuarları da bulunabilmektedir.Örneğin sığırlar,kedi ve köpekler,akciğer tüberkülozlu hastalarla yakın temaslarında enfeksiyonu alabilirler.Eğer bunlarda aktif hastalık gelişirse,yakın temasda buldukları hassas kişilere enfeksiyonu bulaştırabilirler.

TÜBERKÜLOZUN DOĞAL GELİŞİMİ

Gelişim açısından tüberküloz iki devreli bir hastalıktır:

1-Primer enfeksiyon devri

2-Reenfeksiyon devri

Primer enfeksiyon ve primer tüberküloz:Daha önce tüberküloz basili almamış ya da BCG ile asılanmamış bir kişinin ilk kez basil alması ve onu izleyen gelişmeler "primer enfeksiyon" veya "inisiyal enfeksiyon" olarak tanımlanır.Primer enfeksiyon süresince klinik ve/veya radyolojik belirtiler veren hastalık gelişmesi de "primer tüberküloz" olarak tanımlanır.Primer enfeksiyon ve primer tüberküloz çocukluk çağında sık görüldüğünden bu olgu "çocuk tüberkülozu" olarak da tanımlanır.

1-3 basil taşıyan damlacık çekirdeğinin muko-silier barajı geçerek alveole yerleşmeleri ve çoğalmaları ile gelişir.

Basiller akciğerlere inhalasyonla ulaştıklarından,solunum

havasının en çok dağıldığı orta ve alt zonlarda ve plevra altında yerleşir. Genç erişkinlerde ise (15-35 yaş) primer enfeksiyon odağı üst zonlarda daha sık görülmektedir.

Basilin yerleştiği yerde kapiller dilatasyon ve eksudasyon ile nötrofil lökosit infiltrasyonu gelişir. 24 saat sonrasında da makrofajlar enfeksiyon alanına göç etmeye başlarlar. Gerek nötrofiller, gerekse makrofajlar basilleri lokalize etmek amacıyla fagosite ederler; ancak fagositoz olayı virulan olmıyan basillere etkili olabilmekte ise de tüberküloz basili gibi virulan basilleri bu dönemde sindiremediklerinden basiller fagosite edildikleri hücreler içinde üremelerini sürdürürler. Makrofajların ve nötrofillerin parçalanması ile içerdikleri basiller komşu alveollere yayılırlar; ancak bunlar da yayıldıkları yerlerde tekrar makrofajlar tarafından fagosite edilir ve böylece basil yüklü makrofajlar alveollerde birikmeye başlarlar.

İlk basil alınmasından sonraki 2-4 haftalık süre içinde bir seri olaylar gelişir.

1-İlk odakta toplanan makrofajlar, karakter değiştirerek epiteloid hücre niteliğini alırlar. Epiteloid hücrelerden birkaçının kaynaşması ile Langhans tipi dev hücreler ve çevresinin lenfositlerle çevrilmesi sonucu özgül bir pnömoni odağı gelişir. Böylece epiteloid hücre, dev hücre ve lenfositlerden oluşan granulom veya tüberkül olarak tanımlanan özgül tüberküloz dokusu gelişir. Odak bu dönemde toplu iğne başı büyüklüğündedir ve ancak mikroskopta görülebilir. Bu oluşumdan yaklaşık iki hafta sonra tüberkülün ortasında kazeifikasyon oluşmaya başlar.

2-Basiller buldukları yerlerden ya doğrudan ya da makrofajlar içinde lenf akımı ile bölgesel lenf bezlerine taşınır ve bezlerde yerleşerek benzer reaksiyonlara neden olurlar. Primer odak ve bölgesel lenfadenit ikilisi primer kompleks olarak tanımlanır.

3-Bölgesel lenf bezlerinden basiller lenf akımı ile sistemik dola-

şıma karışarak vücudun bütün organ ve dokularına yayılırlar.

4-Dokulara yayılan basiller özellikle akciğerlerin üst zonlarında, böbrek parankimasında, uzun kemiklerin epifizlerinde, beyin korteksinde ve periferik lenf bezlerinde yerleşerek üremelerini sürdürür ve küçük granulomlar geliştirirler. Akciğer apekslerinde gelişen küçük granulom odakları "Simon odağı" olarak da tanımlanır. Bu süre içinde genellikle kişilerde hiç bir semptom yoktur ve tüberkülin testi de menfidir.

Enfeksiyonun 4-8'inci haftasında tüberkülin testinin müsbete dönüşmesi yani immün yanıt gelişmesi ile birlikte;

1-Primer odağı oluşturan pnömoni ve bölgesel lenf bezleri ile diğer yayım odaklarındaki lezyonlar rezorbe olmaya ve gerilemeye başlarlar.

2-Basil çoğalması büyük oranda kontrol altına alınır.

3-Basillerin lenfo-hematojen yayımı durur.

Vakaların büyük çoğunluğunda immün yanıt gelişmesinden sonraki dönemde enfeksiyon tümünden kontrol altına alınır ve hastalık gelişmez. Granülomatöz enfeksiyon odakları rezolusyon veya nedbeleşme ile şifa bulur. Kazeifikasyon nekrozu gelişen bölgeler de gene nedbeleşme veya kireçlenme ile iyileşir. Ancak bütün bu iyileşmelere karşın gerek primer kompleks odaklarında-hatta kireçlenmiş odaklarda-gerek akciğer dışı diğer yayılım odaklarında bir kısım basiller makrofajlar içinde yaşamlarını sürdürürler.

Enfeksiyonun immün yanıt tarafından kontrol altına alınmadığı vakalarda ise ilerleyen yıkıcı "progressif destrüktif primer tüberküloz" gelişir. Primer tüberkülozun gelişmesi yaş, genetik, alınan basil sayısı, hasta ile temas sıklığı ve enfekte kişinin duyarlılığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmekle beraber bebeklerde ve özellikle genç erişkinlerde oldukça sıktır. Bazı araştırmalara göre taze enfekte kişilerde ilk beş yıllık sürede akut hastalık gelişme şansı %20'dir, bu oran sonraki yıllarda gide-

rek azalır.

Ağır hematojen yayılım gelişen kişilerde akut ve virulan bir hastalık olan milier tüberküloz gelişir. Milier tüberküloz seyrek olarak başlangıçtaki lenfo-hematojen basil yayılımından, daha sonraları da genellikle kazeöz bir odağın kan damarına açılmasından ileri gelir. Özellikle bebeklerde hem sık gelişir ve hem de çok tehlikelidir.

Primer enfeksiyondan sonra kişilerin genellikle iyileşmelerine ve etkin bir immün yanıt kazanmış olmalarına karşın önemli bir kısmında basiller tümden yok edilemez. Bir kısmı konakçıda makrofağlar içinde canlı olarak varlıklarını yıllarca hatta yaşam boyu sürdürürler. Bu nedenledir ki bu kişilerde enfeksiyonun reaktivasyon riski devam eder. Primer enfeksiyondan basillerin reaktivasyonuna kadar geçen süre "latent dönem" olarak adlandırılır.

Reenfeksiyon devri: Primer enfeksiyonun iyileşmesinden veya enfeksiyonun latent döneme girmesinden sonraki yıllarda enfeksiyonun yeniden gelişmesine "reenfeksiyon" ya da "postprimer enfeksiyon" denir. Genellikle hastalık da geliştiğinden, bu devre "reenfeksiyon tüberkülozu" veya "postprimer tüberküloz" ya da ileri yaşta görüldüğünden "erişkin tüberkülozu" olarak da tanımlanır.

Postprimer enfeksiyon iki yoldan kaynaklanır:

1-Endojen reenfeksiyon: Latent dönemde bulunan basillerin primer kompleks alanlarında ya da sıklıkla akciğer üst zonlarındaki yayılım odaklarında yeniden çoğalmaya, yani aktif duruma geçmeleri ile gelişir. Akciğer dışı organlarda yerleşen latent dönemdeki basillerin reaktivasyonu ile de "akciğer dışı organ tüberkülozu" gelişir.

2-Eksojen reenfeksiyon: Enfekte bir kişinin basil saçan bir hastadan yeniden enfekte olması, yani tekrardan basil alması sonucu gelişen postprimer tüberküloz seklidir.

Gençlerde primer tüberküloz, yaşlılarda ise eksojen veya endojen postprimer tüberküloz daha sık görülür.

Bir araştırmada doğal primer enfeksiyonla gelişen bağışıklığın %63 oranında erkekleri,%81 oranında kadınları postprimer tüberkülozdan koruduğu saptanmıştır.Buna göre enfekte erkeklerin yaklaşık 2/5 inde,kadınların 1/5 inde hastalık gelişmektedir(1).

İmmün yanıtı olumsuz yönde etkiliyerek postprimer tüberküloza neden olan başlıca faktörler şunlardır:

- Yaş:Genç erişkinler(15-35) ve ileri yaşlılık
- Yaşam tarzı:Ağır işlerde çalışma,kişisel sosyal ve ekonomik durum, asosyal yapı
- Aşırı alkol alımı
- Ağır besi eksikliği
- Kortikosteroid ve immünosupressif ilaç alımı
- Ruhsal sıkıntılar ve bunalımlar
- Diabet,slikozis,mide rezeksiyonlu ve böbrek transplantasyonlu hastalar.

TÜBERKÜLOZDA İMMÜN YANIT

Primer tüberküloz enfeksiyonunun 4-8 inci haftasında immünolojik iki olgu gelişir.

1-Hücresel hipersensibilite(gecikmiş allerji):Tüberkülin deri testinin müsbete dönüşmesi olgusudur.Tüberküloz basili kapsamında bulunan birtakım antijen niteliğindeki maddelere karşı gelişen reaksiyonu veya gecikmiş allerjiyi belirler.Tüberküloz enfeksiyonunu kontrol altında tutan immün yanıtın varlığını vansıtan bu reaksiyon tüberküloza karşı koymanın garantisi değildir.

2-Hücresel immünite(bağışıklık):Enfeksiyonun başlangıcında virülen tüberküloz basillerine karşı yeterince etkili olamıyan makrofajların,basillerin üremelerini sınırlamak ve onları yoketmek yeteneğini kazanma olgusudur.

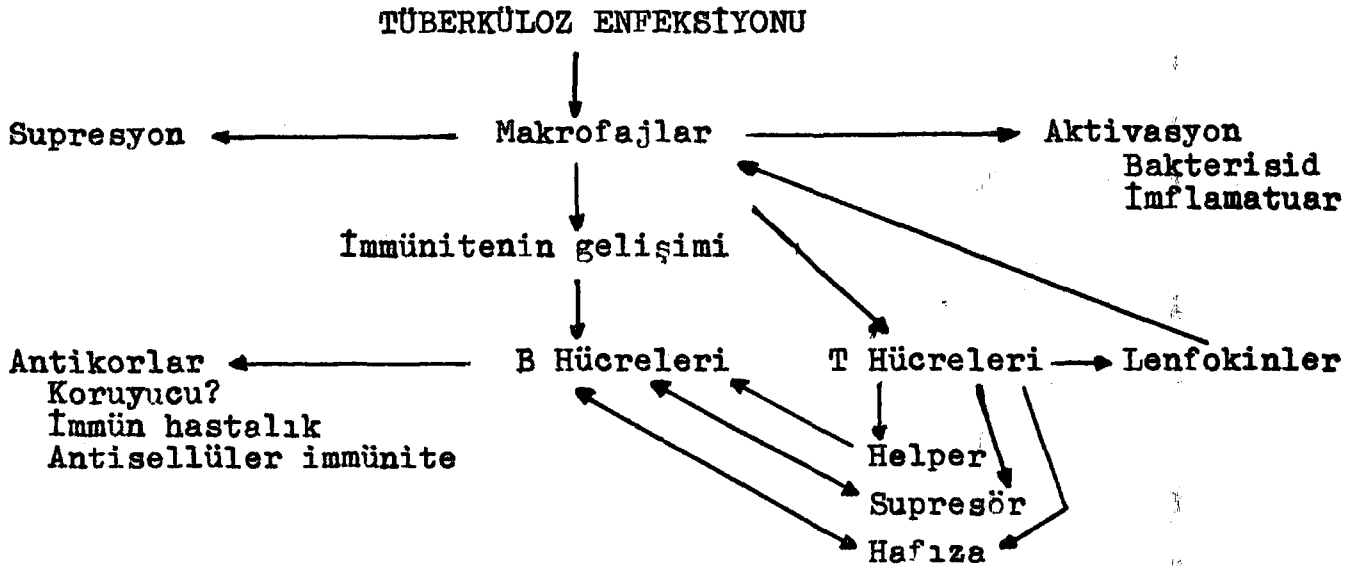
Son yıllarda tüberkülozda hücresel immünite yanında humoral yanıtın da geliştiğinin belirlenmesi ile tüberkülozda immün yanıt kompleks bir olgu niteliğini almıştır.Humoral immün yanıtın

hücrel immün yanıtı olumlu ve olumsuz yönlerden etkilemek suretiyle tüberküloz enfeksiyonunun hastalığa dönüşüp dönüşmemesinde, hastalığın ağırlığında ve anerji gelişmesinde önemli payı bulunmaktadır. Ayrıca teşhis için de humoral immüniteden geniş ölçüde faydalanılabilmektedir.

Basile karşı ilk reaksiyon makrofajlardan gelir. Makrofajlar, tüberküloz basili antijenlerini T lenfositlerine tanıtır, onları antijenlere ve dolayısıyla basile karşı duyarlı hale getirirler. Duyarlılık kazanmış T lenfositleri, tekrar basille veya antijenle karşılaştıklarında mediatörler salarak makrofajları aktive ederler. Aktive olmuş makrofajlar basil çoğalmasını önlemek, onları yok etmek eylemlerine girişerek enfeksiyonu kontral altına almaya çalışır.

Böylece immün yanıtta spesifik hücre lenfosittir. T lenfositleri yetersiz olan hayvanlarda ve insanlarda, gerek hücrel hipersensibilitede ve gerekse hücrel immünitede bozukluk vardır.

Makrofajlar, basil antijenini B tipi lenfositlere de taşırlar, onlar da plazma hücrelerine dönüşerek antikor üretirler. Dolayısıyla makrofajlar nonspesifik nitelikte fonksiyon yapmakla birlikte immün yanıtı başlatan ve sonuçlandıran hücrelerdir (Şekil 1).



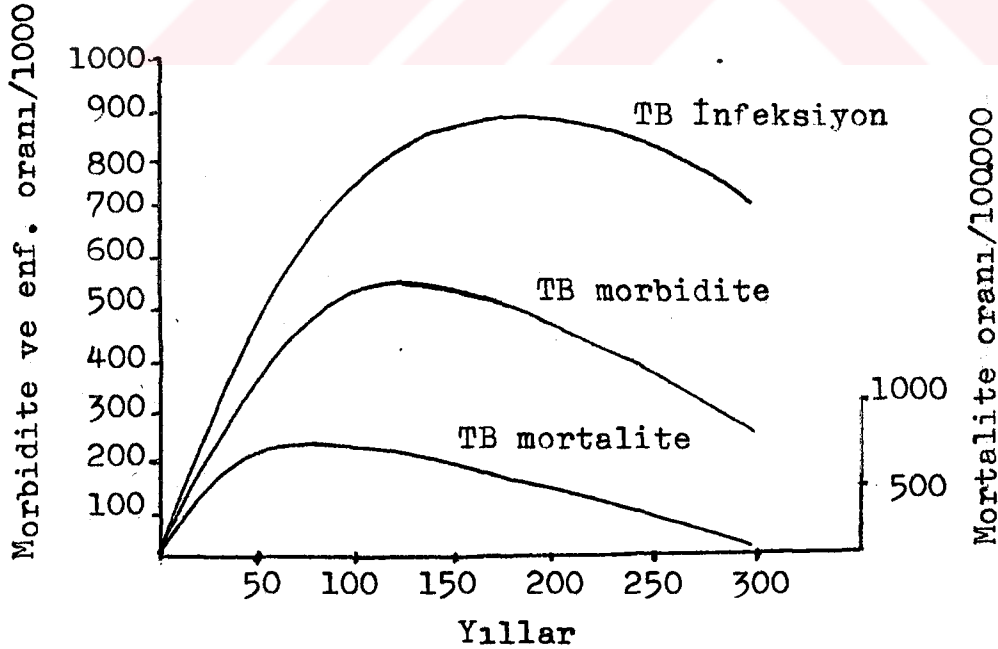
ŞEKİL-1: Tüberkülozda immün yanıt şeması

TÜBERKÜLOZ EPİDEMİYOLOJİSİ

Tüberküloz epidemik dalgalar halinde seyredip, gelişmekte olan ve hatta gelişmiş ülkelerde hala en başta yer alan bir hastalıktır.

Tüberküloz iki devreli bir hastalıktır. Bu iki devre birbirini kesiksiz izleyebildiği gibi, çoğu kez bu iki devre arasında bütün bir yaşam boyu sürebilen kuluçka devri de vardır. Ortam ve koşullar elverişli olduğu takdirde, enfeksiyon bir toplumda veya bölgede hızla yayılabilir. Buna karşılık enfekte olanların sadece %5-15'inde hastalık gelişir ve bunların da ancak bir kısmı hastalıktan kurtulamaz(1,7).

Geçmiş yıllarla ilgili olarak tüberkülozun bakir toplumlarda gelişmesi ve yayılması Grigg tarafından üç eğri ile demonstrate edilmiştir(Şekil 2)(24).



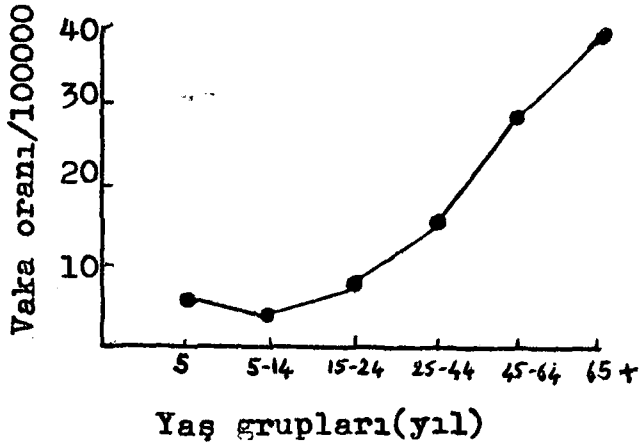
ŞEKİL-2: Tüberküloz basilinin ilk kez girdiği hayali bir toplumda, tüberküloz epidemisinin sıfırdan başlayarak kuramsal gelişmesi. Ölüm, hastalık ve enfeksiyon oranları yaşayan toplumla oranlanmıştır.

Tüberküloz basilinin ilk kez girdiği bakir bir toplumda ölüm, hastalık ve enfeksiyon oranları önce yükselir ve belirgin bir düzeye ulaştıktan sonra uzun bir sürede giderek düşmeye başlar. Böylece şekilde görüldüğü gibi her eğri üç bölüm gösterir. Başlangıç, doruk ve düşme bölümleri. Önce ölüm eğrisi doruğuna varır, onu hastalık ve sonra enfeksiyon doruğu izler. Her eğrinin doruğu bir öncekini 50-100 yıllık aralıklarla izler. Örneğin ölüm doruğundan 100-200 yıl sonra enfeksiyon doruğuna ulaşır. Balgamı müspet hastaların sayısı, tek bir enfeksiyöz hasta oluşturamayacak düzeye indiğinde de epidemi düşmeye başlar.

Tüberküloz epidemisinin böylesine dalgalar halinde seyri, toplumda bulunan dirençli kişilerin doğal seleksiyonu ile açıklanmaktadır. Hastalık toplumun duyarlı bireylerini yok ederken, nispeten dirençli olanlar epidemiyi atlatır ve yaşamlarını sürdürürler. Şekilde de görüldüğü gibi, bir ülke veya bölgede gelişen epideminin seyrini tamamlıyabilmesi için yaklaşık 300 yıl gerekmektedir.

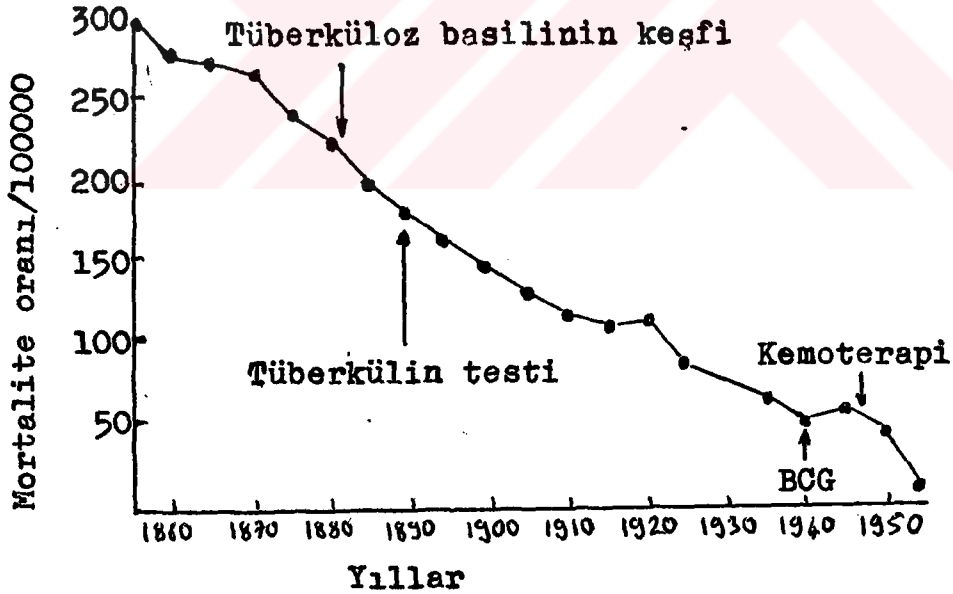
Tüberkülozun epidemik seyri yanında bir önemli husus da, ölümlerin yaş ve cinsiyetle ilişkisidir. Gerek kadınlarda ve gerekse erkeklerde ölüm oranı 20 yaşa kadar hafif bir artış gösterirken, 20-29 yaşları arasında oran birdenbire artmaktadır ve artış erkeklere oranla kadınlarda daha fazladır.

Günümüzde tüberküloz epidemisinin sonuna yaklaştığı birçok gelişmiş batı ülkesinde, tüberküloz artık yaşlılık hastalığı haline gelmiştir. Nitekim 1975 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan, tüberküloz hastalığının yaş gruplarına göre dağılımı aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 3)(1).



ŞEKİL-3: Amerika Birleşik Devletlerinde, 1975 yılında tüberküloz hastalığının yaş gruplarına göre oranlanması.

Kıtalarda tüberküloz epidemisi: Tüberküloz epidemisi 16'ncı yüzyılda İngilterede hastalığın epidemik karakter alması ile tanındı. 1750'lerde endüstri devri ile yaşam şeklinin değişmesi ve şehirleşme sonucu tüberküloz İngiltere'de epidemik bir karakter aldı (Şekil 4) (1,7).



ŞEKİL-4: İngiltere ve Gallerde akciğer tüberkülozu yıllık ortalama hastalık oranı.

Şekilde görüldüğü gibi kemoterapiden önceki devirlerde tüberküloz ölüm oranında 100 yıllık bir sürede giderek belirgin bir düşüş bulunmaktadır. Bu düşüş Grigg'in eğrilerinde belirtildiği gibi tüberküloz epidemisinin doğal seyrinden kaynaklanmaktadır.

Epidemi İngiltere'den sonra 1800'lerde Avrupa ve daha sonraları da Amerika ülkelerine yayılmaya başladı.Yirminci yüzyılın bu son bölümünde de,bu ülkelerde epidemi devam etmektedir.Ancak son 30 yıl içinde,başta antibakteriel tedavi olmak üzere gelişen tüberküloz kontrol yöntemleri hastalığın doğal seyrini önemli derecede etkilemiştir.Bu ülkelerde,enfeksiyon düşme hızına bakarak 2020 yılında tüberkülozda eradikasyon beklenmektedir.Diğer taraftan Asya ve Afrika'da epidemi henüz doruğa ulaşmamıştır.

1984'de Amerika'da toplam 22255 tüberküloz vakası rapor edilmiş ve yeni vaka oranı da yılda 100000'de 9.4 olarak bildirilmiştir.Bu oran son yıllarda 5-6'ya düşürülmüştür.Dünyada ise genel olarak 30 milyon aktif tüberkülozlu bulunmaktadır.Her yıl 10 milyon yeni vaka bulunmakta ve 3 milyon kişi de tüberkülozdan ölmektedir.Muhtemelen dünyadaki bütün ölümlerin %6'sı tüberkülozdandır (20).

Türkiyede tüberküloz epidemisi:

1-Mortalite durumu:900 yıl önce,Selçuklular devrinde,Kayseri'de Sultan Alaattin Keykubat ve kız kardeşi Gevher Nesibe Sultan'ın tüberkülozdan öldükleri bilinmektedir.Nitekim şifaiye medresesi veremli hastaların tedavisi için kurulmuştur.Demek ki o devirde Anadolu'da tüberküloz bulunmaktadır.

Osmanlı İmparatorluğunda da Sultan ikinci Mahmut'un 1839'da 53 yaşında,birinci Abdülmecit'in 1861'de 38 yaşında tüberkülozdan öldükleri bilinmektedir.Buna göre 150 yıl önce tüberküloz hastalığı Osmanlı Sarayı'na kadar girmiş bulunmaktadır(1).

Onat'ın araştırmalarına göre İkinci Sultan Abdülhamit devrinde başlatılan hastalık istatistiklerinde 1905-1906 yıllarında İstanbul'un nüfusu 1200000'dir ve bu yıllarda tüberkülozdan ölüm tüm ölümlerin %18.2'sini oluşturmaktadır.Yıllık ölüm sayısı 2836 olduğuna göre o yıllarda tüberküloz mortalite oranı 283/100000'dir. Bu bulgu 1860'larda İngiltere'de bulunan orana uymaktadır(29).

İzmirde de 1892-1914 yıllarında nüfus 200000'dir ve ölüm oranı da hemen hemen İstanbulda'ki ölüm oranına eşittir. Bu veriler yirminci yüzyılın başlarında, tüberkülozun bu iki büyük şehrimizde doruğa tırmanmakta olduğunu göstermektedir. Diğer şehirlerimizde ve özellikle kırsal kesimde tüberkülozun durumu hakkında o yıllara ait başka bir bilgi bulunmamaktadır.

Cumhuriyet devrinde 1931-1940 yılları arasında 25 Anadolu şehrinde tüberküloz mortalitesinin 243-520/100000 arasında değiştiği bildirilmiştir. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı Verem Savaşı Genel Müdürlüğü yayınlarında 1945 yılında tüm Türkiye'de tüberkülozdan ölüm oranı 262/100000'dir. Oranın 1978 de 9 a ve hatta Ankara, İstanbul gibi illerde 5 e kadar düştüğü bildirilmiştir(1).

Modern, etkin tüberküloz tedavisi ile mortalite oranı epidemiyolojik geçerliliğini yitirmiştir.

2-Morbidite durumu: Türkiyede morbidite yani aktif hasta araştırması ilk kez 1960 yıllarında Ankara, İstanbul, Yozgat, Çorlu, Çatalca ve Yalova'da yapıldı. Bölgesel ve örnekleme yöntemi uygulanan çalışmalarda ortalama 28/1000 oranında hasta saptandı. Gene örnekleme araştırmalarda oranın 1969-1970 yıllarında 5/1000 ve 1980 de 3.5/1000 e düştüğü bildirildiği bu yıllar, Türkiye'de yoğun tedavi ve koruyucu tedbirlerin uygulandığı bir dönem olduğundan hastalık prevalansı araştırmalarının gerçeği yansıtmayacağı aşikardır. Ancak şu hususu belirtmek gerekir ki ikinci dünya savaşının yoklukları yanında, bütün yurdu kaplıyan sıtma salgınının etkisi ve ondan sonraki yıllarda kırsal bölgelerden büyük şehirlere göçlerin başlaması ve sanayileşmeye bağlı olarak, Türkiye'de tüberküloz epidemisinde çok belirgin bir artış olmuştur. Şehirlerde hastalananların köylere dönmeleri ile epidemiyoloji kırsal kesime de sıçramış ve yayılmıştır(1).

3-Enfeksiyon durumu: 1953-1959 yılları arasında Dünya Sağlık Örgütü ile Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı'nın birlikte uyguladıkları

tüberkulin taramalarında enfeksiyon prevalansı şöyle bulunmuştur. 0-6 yaş grubunda 130/1000, daha yukarı yaş gruplarında 800/1000 ve tüm yaş gruplarında ortalama 560/1000(1).

Bu bulgu ikinci dünya savaşı sonrası yıllarda tüberkülozun Türkiye'de gerçek bir epidemi yaygınlığında olduğunu göstermektedir. Bu veriler Grigg'in eğrileri ile karşılaştırıldığında, Türkiye'de 1960 lara kadar tüberkülozun doruğa doğru tırmanmakta olduğu açıkça görülmektedir.

Türkiye'de o yıllardan bu yana yoğun BCG aşısı uygulaması nedeni ile enfeksiyon prevalansı veya insidansı hakkında kesin bir oran vermek mümkün değildir. Ancak elde mevcut iki araştırmanın sonuçları bu hususa bir ışık tutabilecek niteliktedir(1).

1-Re-test grubu tarafından BCG'siz bırakılan köylerde yapılan tüberkulin testi sonuçlarına göre enfeksiyon oranı şöyledir(Tabla-1).

YAŞ GRUPLARI			
YILLAR	0-3	0-6	5-7
1973	8	-	-
1974	3	-	-
1975	14	-	-
1977	3	10	-
1978	6	10	20.7
1979	16	29	58
1980	8	16	42.8
1981	8	18	34.6
1982	8.9	17	35.1

TABLO-1:1973-1982 yılları arasında, BCG'siz bırakılan köy çocuklarında görülen tüberkulin müspetliği/1000.

Bu çalışma değişik bölgelerde yaşayan ve 150 bin nüfusu kaplıyan toplumlarda, enfeksiyonun 10 yıllık sürede azalmadığını ve hatta arttığını göstermektedir.

2-Ankara, Abidinpaşa, Tuzluçayır, Samanlıkbağları ve Akdere bölgesi ilkokul birinci sınıf öğrencilerinde 1974-83 yıllarında SSB ile

AÜTF Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kürsüsü işbirliği ile BCG'siz çocuklarda uygulanan tüberkülin tarama sonuçlarına göre 1974'-den bu yana 20'den fazla ilkokulun birinci sınıf BCG'siz öğrencilerinde(6-7 yaş) tüberkülin müspetliği yıllara göre sırasıyla 34,70, 42,50,60,41,49,48,52,48,50 ve 55/10000 oranlarında bulunmuştur.

Buna göre sosyal yapı olarak kısmen kent ve kısmen yarıkon-
dudan oluşan bu bölgelerde saptanan tüberkülin müspetlik oranları yüksek olduğu gibi,9 yıllık sürede de belirgin bir değişiklik görülmemektedir.Sadece bazı yıllarda hafif artışlar kaydedilmiştir.

Bu iki çalışma en azından Türkiye'de son 10 yıl içinde tüberküloz enfeksiyon oranının hemen hemen sabit kaldığını,bir düşüş eğilimi görülmediği gibi bazı yıllarda muhtemelen bölgesel enfeksiyöz vaka sayısının artmasına bağlı olarak enfeksiyon oranında sporadik artışlar olduğunu göstermektedir.Bu olgu gelişmekte olan ülkelerde gözlenen durumu yansıtır.Bunun anlamı yurdumuzda tüberküloz savaş programlarımızın etkili olmayışıdır.

AKCİĞER TÜBERKÜLOZU TANI YÖNTEMLERİ

- 1-Tüberkülozun kliniği
- 2-Tüberkülin deri testi
- 3-Akciğer radyografisi
- 4-Bakteriyolojik inceleme
- 5-Bronkoskopi ve Histopatolojik inceleme
- 6-Serolojik inceleme
- 7-Deneme tedavisi olarak sıralanabilir.

TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ

Tüberkülin,tüberküloz basilinin keşfinden 8 yıl sonra(1890) R. Koç tarafından tüberküloz basil kültürlerinin filtrasyonundan elde edilmiş bir maddedir."Tüberkülin" olarak adlandırılan bu maddede uzun yıllar "Old tüberkülin" adı altında ve enfekte kişileri saptamada bir tanı yöntemi olarak kullanılmıştır.

Ancak tüberküline bağlı yalancı pozitif reaksiyonların gö-

rülmesi üzerine 1934 yılında Amerika'da Florence Seibert tarafından saf, dayanıklı ve etkin bir tüberkülin türeviden olan "Pürified-Protein-Derivative(PPD)" elde edildi. PPD, insan tipi tüberküloz basili kültürlerinin amonyumsülfatla çöktürülmesinden elde edildi ve uluslararası standart tüberkülin olarak kabul edilerek "PPD-S" olarak adlandırıldı.

Türkiye'de kullanılmakta olan tüberkülin maddesi (PPD Tween 80), Dünya Sağlık Örgütü'nün kontrolü altında Kopenhag/Danimarka Devlet Serum Enstitüsünde hazırlanarak özel solüsyon ile birlikte Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsüne gönderilmektedir. Enstitüde tüberkülin maddesi gerektiği miktarlarda Tween 80 içeren özel solüsyonunda eretilerek cam veya plastik şişelerde uygulama alanlarına gönderilir. Tüberkülin solüsyonuna Tween 80 eklenmesinin nedeni, cam ve plastik kaplarla enjektörün camı tarafından tüberkülin maddesinin absorpsiyonunun önlenmesidir.

Genellikle 5 Tu PPD (0.0001 mg) kullanılması tercih edilmektedir. Bu doz enfekte kişileri enfekte olmayanlardan ayırt etmede yeterlidir. Hemen hemen hiçbir olumsuz etkisi yoktur; hipersensibilite uyandırmaz, latent enfeksiyonu aktive etmez.

Tüberkülin testi uygulanması: Mantoux tekniğinde tüberkülin testi, ön kolun dış veya iç yüzünde deri içine 0.1 ml de 5 Tu PPD-Tween 80 zerkisi ile uygulanır. Zerkde özel enjektör ve 26-27 kalibreli platin iğne kullanılır. Zerk iğne ucunun kesik kısmı yukarı gelmek üzere deri yüzeyinin hemen altına yapılır. Böylece 0.1 ml'lik dozun enjeksiyonunda deride 6-10 mm çapında soluk renkte bir kabartı gelişmesi beklenir. Kabartının gelişmemesi, tüberkülinin deri içine değil, deri altına zerk edildiğini belirler.

Test, enjeksiyondan sonraki 48-72 saat arasında okunur. Reaksiyon hacminde 5 gün içinde pek az değişiklik olur. Test sonucu, zerk yerinde gelişen indurasyonun horizontal çapının milimetrik ölçülmesi ile okunur.

7 01 1974
BİLİMSEL VE TEKNİK
ARAŞTIRMA MERKEZİ
R. D. İ. M. A.

Aşırı derecede duyarlı pek az kişide zerk yerinde vezikül ülserasyon gibi lokal reaksiyonlar ya da bölgesel adenopati ve ateş olabilir. Lokal reaksiyonlarda enfeksiyonu önlemek için kuru bandaj yapılır; antibiyotikli ya da steroidli pomadlar yararlı değildir. Tüberkülin testi uygulamasında geç tipte Arthus reaksiyonu da gelişebilir; testten sonra 72 saate kadar zerk yerinde hiçbir reaksiyon görülmez fakat testten 7-10 gün sonra tüberkülin antijenlerine karşı antikor gelişmesine bağlı olarak zerk yerinde imflamatuvar, ödemli bir reaksiyon olur. Bu olgu hiç bir şekilde hastalık belirtisi olarak yorumlanmamalıdır.

Tüberkülin reaksiyonunun değerlendirilmesi: Tüberkülin reaksiyonunun değerlendirilmesinde başlıca iki problem bulunmaktadır.

1-Yalancı pozitif reaksiyon: Tüberküloz dışı mukobakteri enfeksiyonlarına bağlı reaksiyonlardır. %100 spesifik olmamakla birlikte 10 mm ve daha büyük indürasyonlar, kişinin tüberküloz basili ile enfekte olduğunu belirliyen bir kriter olarak kabul edilmiştir.

2-Yalancı negatif reaksiyon (anergi): Kesin tüberküloz tanısı almış hastalarda tüberkülin testinin menfi oluşunu tanımlar. Bazı araştırmalarda, bakteriyolojik müspet hastalarda %21-30 oranına kadar yükselen anergi saptanmıştır. Bir araştırmada da, daha önce tedavi görmemiş tüberkülozlularda 5 Tu PPD ile tüberkülin testi %17 oranında menfi bulunmuştur. Yalancı negatif tüberkülin reaksiyonuna neden olan faktörler 4 grupta toplanabilir(1).

1-Test yapılan kişiye ilişkin faktörler: Enfeksiyonlar, canlı virüs aşılıları, metabolizma bozuklukları, besinsel faktörler, lenfoid organ hastalıkları, ilaçlar, yaş, yeni ya da çok ağır tüberküloz enfeksiyonları vs.

2-Tüberkülin maddesine ilişkin faktörler: Hatalı koruma, tüberkülin solüsyonunun hatalı hazırlanması, kimyasal bozulma, kontaminasyon ve absorpsiyon.

3-Testin uygulama yöntemine ilişkin faktörler: Çok az mik-

tarda antijen zerk edilmesi, tüberkülinin enjektörde bekletilmesi ve deri altına zerk.

4-Testin okuma ve kaydına ilişkin faktörler: Okuyucunun acemi olması, yanlış raporlama ve hatalı kayda geçme.

Kişinin tümden anerjik olması pek sık değildir. Çok ilerlemiş tüberkülozda ve özellikle milier tüberkülozda ve beslenme eksikliği bulunanlarda görülebilir. Bir araştırmada milier tüberkülozlu hastalarda 5 Tu PPD ile %48 oranında negatiflik bulunmuştur(1).

Tüberkülin testinin menfi bulunmasına karşın diğer testlerden bir veya birkaçının müspet bulunması şeklindeki anerji ise daha sık görülmektedir.

Booster etki: Birinci tüberkülin testinden bir hafta sonra uygulanan ikinci bir testde reaksiyonun belirgin bir şekilde artması booster etki olarak tanımlanır. Bu etki 2 yıl kadar sürebilir.

Enfekte olmıyan kişilerde tekrarlanan tüberkülin testleri ile duyarlılık gelişmez. Herhangi bir mikobakteri enfeksiyonu ile ya da BCG aşısı ile gelişen tüberkülin hipersensibilitesi ise yıllar geçtikçe zayıflar ve giderek kaybolur. Bu durumda yıllar sonra yapılan testte reaksiyon gelişmiyebilir. Diğer taraftan bir hafta sonra tekrarlanan ikinci testte, birinci testin uyarımına bağlı olarak büyük çapta reaksiyon gelişebilir. Booster etki herhangi bir yaşta görülebilirse de 55 yaşın üstündekilerde sıktır. Bu nedenle özellikle yaşlılarda, tekrarlanan ikinci testte tüberkülin müspetliği 10 mm den yukarı ise ya da birinci testte saptanan indürasyon çapından en az 6 mm büyükse PPD müspet kabul edilmelidir.

Diğer taraftan booster testine 10 mm den küçük tüberkülin reaksiyonu veren bir kişide 2 senelik bir sürede reaksiyon hacmi 10 mm den büyük olursa ya da en az 6 mmlik bir artış gösterirse kişinin bu geçmiş sürede enfekte olduğu kabul edilir.

BCG'lilerde tüberkülin müspetliği 8-15 mm (ortalama 12 mm) olarak bulunmuştur(1). Bununla beraber BCG açısından sonra tüberkü-

lin müspetliği gelişme oranı %100'den çok aşağıdadır. Aşıya bağlı olan reaksiyon hacmi çoğu kez oldukça küçüktür ve reaksiyon hızla kaybolur. Bu nedenle BCG ile aşıllılarda büyük tüberkülin reaksiyonlarını (20 mm ve daha yukarı olanlar) tüberküloz basili ile enfekte olmanın bir ölçütü olarak yorumlamak olumlu bir davranış olacaktır.

TÜBERKÜLOZDA BAKTERİYOLOJİK TANI YÖNTEMLERİ

Tarihsel açıdan tüberküloz tanısında bakteriyolojik incelemenin önemi, 1882 de R. Koch'un tüberküloz basilini bulması ile başladı. Bunu 1893'de balgamda ve biolojik sıvılarda Ziehl-Neelson tarafından geliştirilen karbolfuksin tekniği ile basil aranması ve daha sonra kültürlerde tüberküloz basili üretme tekniğinin geliştirilmesi izledi.

Tüberkülozda kesin tanı, tip ve aktivite tayini ancak bakteriyolojik incelemelerle saptanır.

Başlıca iki yöntem uygulanır:

- 1-Mikroskopide, boyalı yayma preparatta basil araştırılması
- 2-Tüberküloz kültürlerinde basil üretilmesi.

Mikroskopi: Boyalı yayma preparat inceleme yönteminde iki teknik vardır:

- 1-Balgamın veya patolojik materyalin hiçbir işleme tabi tutulmadan lama yayılması ve doğrudan boyanarak basil araştırılması (Direkt yayma yöntemi).
- 2-Balgamın veya patolojik materyalin işlenmesinden sonra konsantre edilmiş sedimentin boyanmasıyla basil araştırılması (Konsantrasyon yöntemi).

Her iki teknikte de, lam üzerine yayılmış preparatın boyanmasında ya Ziehl-Neelson ya da fluorochrome boyama metodu kullanılır.

Birçok ülkede ve Türkiye'de rutin olarak kullanılan metod

Ziehl-Neelson tekniğidir. Aslında fluorokrom metodu daha hassastır, kısa zamanda geniş bir alanı tarama imkanı verir ve böylece müspetlik oranı da yüksektir. Nitekim 1 cc balgamda 10 bin basil bulunan olgularda bu metodla müspetlik beklenirken, Ziehl-Neelson metoduyla ancak 1 cc balgamda 1000000 basil bulunduğu durumlarda müspetlik saptanır. Ne var ki fluorokrom metodu özel mikroskop, özel teknik ve boyama gerektiren bir methodur.

Mikroskopide basil türünü tayin etmek mümkün olmadığından muayene sonucu asido-rezistan basil (ARB) müspet veya menfi olarak rapor edilir (Tablo 2).

Basil Sayısı	Rapor
0	ARB bulunmadı
Yaymanın tümünde 1-2 tane	Saptanan basil sayısı verilir ve yeni materyal istenir.
Yaymanın tümünde 3-9 tane	Seyrek veya 1 müspet
Yaymanın tümünde 10 dan fazla	Birkaç tane veya 2 müspet
Her immersiyon alanında 1 tane veya daha fazla	Çok veya 3 müspet

Tablo-2: Mikroskopi sonucunun yorumlanması

Balgamda ya da mide sıvısında az sayıda ARB bulunması, materyalin hava, toz ve musluk suyunun patojen olmıyan mikobakterilerle kontamine olduğunu gösterir. Buna karşılık, eksojen bakteri florası içermeyen doku ve sıvılardan alınan materyalde ARB bulunmasının büyük bir tanı değeri vardır. Bununla beraber tip tayini için kültür zorunludur.

Tüberküloz kültürü: Tüberküloz basili kültürlerde yavaş ürer; Balgam ya da patolojik materyalden basil izolasyonunda başlı-iki solid besi yeri kullanılır.

1-Löwenstein-Jensen kültürü (Yumurtalı besi yeri)

2-Middlebrook kültürü (Ağaçlı besi yeri)

Yumurtalı besi yerinde uzun bir inkübasyon devresinde, ağaçlı besi yerine oranla daha fazla müspet kültür elde edilir. Bu tek-

miğin tek olumsuz yönü, gram negatif kontaminasyon ajanlarının bazen yaşamlarını ve üremelerini sürdürerek yumurtayı sulandırmaları ve böylece mikobakterilerin toparlanmalarını olumsuz yönde etkilemeleridir.

Tüberküloz basili iyi adapte olduğu kültürlerde en uygun koşullarda 17-18 saatte bir bölünme yapar; oysa ki diğer mikobakteri türleri bu süre içinde 20-60 bölünme yaparlar. Bu nedenle birçok mikobakteri türleri 2-6 haftadan önce kültürlerde belirlenirken, tüberküloz basili kolonileri yumurtalı besi yerlerinde genellikle 3 haftada, agarlı besi yerlerinde 2 haftada görünür hale gelirler; bazen de ancak 6-8 haftalık bir inkübasyondan sonra üreme görülür. %5 CO₂ li ortamda kültürlerin üreme süresi 5 gün kısalmaktadır. Bu süre sonunda üreme olmazsa kültür menfi olarak rapor edilir (Tablo 3).

Koloni Sayısı	Rapor
Koloni yok	Üreme olmadı
50 koloniden az	Koloni sayısı bildirilir
50-100 koloni	1 müspet
100-200 koloni	2 müspet
Bol üreme (200-500)	3 müspet
Silme üreme (500 den fazla)	4 müspet

TABLO-3: Kültür sonuçlarının yorumlanması

Tüberkülozun başlıca bir akciğer hastalığı olması nedeniyle en sık işlenen bakteriyolojik materyal balgamdır. Yeterince balgam çıkarmıyan hastalarda mide aspirasyonu uygulanır. Buna karşılık akciğer dışı organ veya dokuların hastalığında idrar, cerahat, omurga sıvısı, plevra, periton, perikard ve eklem sıvıları incelenir. Gerektiği hallerde dokulardan alınan materyallerde de bakteriyolojik incelemeler yapılır.

Balgam hastalardan iki yöntemle alınır; biri öksürükle kendiliğinden çıkan balgamdır; sabah çıkarılan taze balgam veya 24 saat-

lik biriktirilmiş balgam incelenir. Taze balgamda kültürde üreme daha hızlıdır. 24 saat biriktirilmiş balgamda üreme yavaştır, fakat basıl sayıca fazla olduğundan gerek mikroskopi gerekse kültür müspetliği daha fazladır. Diğer yöntem de balgam tükürmeyen hastalarda özel teknikle balgam söktürülerek gene öksürükle balgam alınmasıdır. Bu yöntemin en basit şekli ya doğrudan sıcak su buharı ya da %10 tuzlu su buharının hastaya uzunca süre aerosol halinde inhale ettirilmesinden sonra zorlanmış öksürükle çıkarılan balgamın alınmasıdır. Bu yöntemle %28-57 oranında müspet sonuç alındığı bildirilmektedir. Balgam söktürmede bir diğer özel yöntem de larenks frottisi tekniği ile öksürük refleksi doğurma yöntemidir ki bu yöntemle %25 oranında müspet sonuç alınabilir. Öksürük şuruplarının ve sigara içmeyenlere sigara içirilmesinin balgam söktürmede belirgin bir etkisi yoktur.

Tetkike alınacak balgamın miktarı en az 5 cc olmalı ve birbirini izleyen 3-6 gün inceleme yinelenmelidir.

Mide lavajı balgam alınmasının mümkün olmadığı durumlarda ve özellikle çocuklarda uygulanır. Sabah, uykudan uyanır uyanmaz ve steril su kullanılarak yapılmalıdır. Mide aspirasyonunda ise onar dakikalık aralıklarla alınan mide sıvısı içinde tampon solüsyon bulunan kaplara konur. Materyalin sedimente olabilmesi için 24 saat buzdolabında tutulması uygundur. Taze materyalde homojenizasyonla çalışmak da mümkündür. Mide lavajının tekniğine uygun uygulanmasından %10-34 olumlu sonuç alınmaktadır. Gerek balgam, gerekse mide sıvısı ağzı geniş ve kapalı, temiz yıkanmış cam veya plastik kaplara konarak hemen laboratuvara gönderilmelidir. Alınan mide sıvısında müküs veya müköpürülen materyal sıyun yüzünde toplanırsa, bunların hemen lama yayılarak boyanması ve incelenmesi yararlı olabilir. Materyalin laboratuvara ulaşmasının gecikmesi durumunda buz dolabında +4 derecede saklanması uygundur. Materyal, mikobakterilerin çoğalmasını engellediğinden güneş ışığından uzak tutulmalıdır.

BRONKOSKOPI VE HISTOPATOLOJİK İNCELEME

Balgam çıkaramıyan hastalardan bakteriyolojik inceleme için bronkopulmoner sekresyon almak, endobronşial tüberküloz lezyonunu araştırmak ve bronş obstrüksiyonu alanından ya da ülserasyon sahasından biopsi yapmak amacıyla rijit bronkoskopi eskiden beri kullanılmaktadır.

Son yıllarda bu indikasyonlar dışında akciğer radyofreminde tüberküloz şüphesi veren lezyon bulunmasına ve tüberkülin testinin kuvvetle müspet olmasına karşın bakteriyolojik incelemelerin menfi bulunduğu durumlarda fiberoptik bronkoskopi uygulanmaktadır.

Fiberoptik bronkoskopide materyal almada iki teknik uygulanır:

1-Bronş fırçalama

2-Transbronşial akciğer biopsisi

Bronş fırçalama yönteminde hastalıklı akciğer alanından alınan materyal normal tuzlu su solüsyonuna konur ve Ziehl-Neelson boyanmasından sonra mikroskopta incelenir. Ayrıca materyal doğrudan besi yerine de ekilebilir.

Transbronşial yöntemle alınan biopsi materyali %10 tuzlu suya konur ve ardısıra hematoksilen, eozin ve Ziehl-Neelson boyaları ile boyanarak mikroskopta incelenir.

Bu teknik özellikle endobronşial tüberkülozda ve milier tüberküloz tanısında çok yararlı bulunmuştur.

Fiberoptik bronkoskopi materyalinde granülom dokusu ile birlikte ARB bulunması tanı açısından en değerli kriterdir. Biopsi materyalinde nekrozla birlikte granülom bulunması da değerlidir. Ancak epiteloïd/dev hücreli granülom, sarkoidosis, brucella ve beriliosisite de görüleceğinden dikkatli olmak gerekir.

SEROLOJİK İNCELEME

Mikobakteriden elde edilen antiijenler klinisyenler ve immunolojistler tarafından 20 yıldan beri tanınmaktadır. Bilinen en

az 11 antijen mevcuttur(3,16).Bu antijenlerden bir kısmı cinse spesifikdir ve tanı amacıyla kullanılabilir.Örneğin antijen 5 sadece mikobakteriyum tüberkülozis ve bovisde bulunan tipe spesifik bir antijendir(9,11,13,14).Çoğu hücre duvarı menseeli bu antijenlerin ayırımı için immünoelektroforez ve acrylamide gel elektroforez kullanılmaktadır(6,10,15).

Seibert immün elektroforez yöntemi kullanarak farklı fizikokimyasal yapıda 4 protein ve 2 polisakkarit tanımlamıştır(16,23). Bunlar protein A,B,C,D ile polisakkarit 1 ve 2 dir.Protein A,PPD'den daha etkili bir şekilde deri reaksiyonu oluşturur.1,2,5,6 ve muhtemelen 4 nolu antijenleri içerir.Protein B de PPD'den daha etkili olarak deri reaksiyonu oluşturur ve 1,2,5,6 ve 7 nolu antijenleri içerir.Protein A'dan farkı,daha az miktarda antijen 6 ve çok daha fazla miktarda antijen 7 içermesidir.Protein C deri reaksiyonu vermez.Elektroforezde protein D'den daha hızlı hareket eder.Antijen 2,6 ve 7 yi içerir.Polisakkarid 1 arabinoz,galaktoz ve mannoz içeren bir heteropolisakkarittir.Sellüler hipersensivite cevaplarını arttırdığı saptanmıştır.Polisakkarit 2 ise bir makromoleküler glukandır.Mikobakteriyum tüberkülozise ait antijenlerin ve tipe spesifik antikorların kullanılmasıyla hem kısa bir sürede,hem de büyük oranda tüberküloz tanısı mümkün olabilir.

Kompleks antijen kullanılarak geliştirilen testlerde,aktif tüberkülozlu hastalar ile sağlıklı kontrollerden alınan sonuçların tüberküloz tanısında tek başına değerlendirilebilecek bir test olup olmadığı tartışmalıdır.Bu konuda değişik sonuçlar bildirilmiş, testin PPD ve Auramine boyama tekniği ile birlikte değerlendirilmesinin anlamlı olacağı belirtilmiştir(27,28,41).Pürifiye glikolipid antijenle hemaglutinasyon yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada,PPD pozitif sağlıklı kontrollerde ve nontüberküloz mikobakteri enfeksiyonlarında %5'e varan pozitiflik yüzdesi saptanmıştır (31).Spesifik mikobakteri antijeni(mikobakteriel antijen 5) kulla-

nılan ve ELISA yöntemi ile yapılan bir çalışmada testin spesifikliğinin %89.3 olduğu gösterilmiştir(5). Aynı araştırmacının, aynı yöntemleri kullanarak Çin'de uyguladığı tarama testi çalışmalarında, kontrol grubu ile birlikte alınan sonuçlarda, testin spesifikliğinin %94, öte yandan çalışmanın yapıldığı bölgede tüberküloz prevalansının %0.456 olduğu bildirilmiştir(17). Aynı yayında, testin tüberkülozlu hastalara ve sağlıklı kontrollere uygulanmasından sonra pozitif kontrollerde %0.4 yalancı negatiflik, negatif kontrollerde ise %0.1 oranında yalancı pozitiflik gösterilmiştir. Araştırmacılar bu testin Çin'de tarama ve tanı amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

DENEME TEDAVİSİ

Modern antibakteriyel tedavide tüberküloz semptomları kısa zamanda düzelir ve bazı lezyonlarda radyolojik gerileme de olur. Bu nedenle diğer tanı yöntemleri ile kesin tanı konmadığında, çok ağır ya da menenjitli veya menenjitless milier tüberkülozlu hastalarda, akciğer lezyonunun çok sınırlı olduğu ve lezyonun tüberkülozu düşündürdüğü olgularda deneme tedavisi uygulanabilir. Bu tip vakalarda, tedavi uygulanmadan önce bir seri kültür yapılması yararlıdır.

İki aylık deneme tedavisi süresinde hastanın genel durumunda ve göğüs lezyonlarında düzelme olursa sonuç olumludur, tanı tamdır, tedaviye devam edilir.

Diğer taraftan bu gibi olgularda kanser ya da başka hastalık şüphesi varsa ve tanının gecikmesinde zarar söz konusu ise deneme tedavisi uygulanmamalı, örneğin torakotomi ile kesin tanı olanakları araştırılmalıdır.

TÜBERKÜLOZ SAVAŞI PROGRAMLARI

1-Tedaviye yönelik programlar: Vaka bulma, tedavi

2-Koruyucu programlar: Aşılama, kemoprofilaksi

Tüberküloz savaşında vaka bulma en etkin yöntemdir. Vaka bulma programlarında başlıca üç yöntem uygulanır:

1-Tüberkülin testi:Oldukça zayıf bir yöntemdir,yalancı müspet veya menfi reaksiyonlar olabilir.BCG aşısı veya atipik mikobakteri enfeksiyonları müspet reaksiyon vererek yanıltıcı olabilmektedir.Atipik mikobakteri enfeksiyonu bulunmayan ortamlarda ve aşısızlarda 5 ünite tüberküline 10 mm ve daha yüksek endurasyon ya da tüberkülozlu ile yakın teması bulunan çocuklarda veya gençlerde 5-10 mm endurasyon bulunması doğal enfeksiyonu kanıtlar.Yalancı menfi reaksiyon aktif tüberkülozlularda %10-15 oranında bulunabilmektedir.

2-Radyolojik inceleme:Kesin tanı açısından oldukça zayıf,fakat bakteriyolojik incelemeye öncülük açısından yararlıdır.Kütlesel araştırmalarda balgam müspet hastaların ancak %15 inde mikrofilmle tanıya varılabildiği gösterilmiştir.

3-Bakteriyolojik inceleme:Gerçek enfeksiyon kaynaklarının tanımını sağlayan bir yöntemdir.Balgamın direkt yaymada incelenmesi kolay,ucuz ve zaman almıyan bir işlemdir.Balgam kültürü ise çok hassas bir yöntem olmakla birlikte laboratuvar ve teknik eleman gerektirir,ayrıca kültür sonucu 1.5-2 ayda alınır.

Son zamanlarda mikobakteriyel antikorların gösterilmesine yönelik ELISA testlerinin,özellikle balgam menfi hastalarda tanı ve tarama testi amacıyla kullanılabileceği bildirilmektedir.

Kemoprofilaksi,bireylerin tüberküloz enfeksiyon ve hastalığından korunmalarını tanımlıyan bir terimdir.İsoniazid(INH) ile yapılır.Kemoprofilaksi önerilen gruplar şunlardır:

1-Yeni hastaların ev içi ve yakın temaslıları

2-Taze enfekte kişiler

3-İnaktif parankim lezyonları:PPD müsbet,bakteriyoloji menfi,yeterli tedavi görmemiş kişiler

4-Fibrotik lezyonlar:Etiolojisi belli olmıyan minimal akciğer lezyonları ile aktivite belirtisi olmıyan veya geçmişte aktif akciğer tüberkülozu geçirdiğine ilişkin bilgi ve kanıt bulunmayan lezyonlar

5-Özel klinik durumlu tüberkülin testi müspetler:Uzun süre steroid

alanlar,immunosüpressif tedavi görenler,diabet,silikozis,mide rezeksiyonu,lösemi ve Hodgkin gibi retikülo-endotelyal hastalığı olanlar.

6-Tüberkülin testi müspet ,35 yaştan küçük olanlar:Bu grupta risk faktörü aranmadan koruyucu tedavi uygulanır.

7-Tüberkülin testi müspet,35 yaştan büyük olanlarda koruyucu tedavi ancak özel koşullarda uygulanmalıdır.Örneğin yeni doğmuş bebek servisinde çalışan hemşire gibi.

Kemoprofilaksi için erişkinlerde günlük INH dozu 300 mg, çocuklarda 10 mg/kg dır.Günlük doz bir defada alınmalıdır.Tedavi süresi genellikle 12 aydır.Çapı 2 cm den küçük,stabil fibrotik lezyonlarda 6 aylık koruyucu tedavi de etkili bulunmuştur.

M A T E R Y A L v e M E T O D

HASTALAR:

Bu çalışma için,1986-1989 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları kliniğinde,Çocuk Hastalıkları kliniğinde ve Adana Verem Savaş Dispanseri'nde pulmoner ve extrapulmoner tüberküloz tanısı konan hastalardan serum ve ilgili organ sıvıları alındı.Kontrol grubu olarak da sağlıklı kişilerden serum ve serebrospinal sıvı(BOS) örnekleri alınarak,bütün serum ve sıvılar -30°C 'da saklandı.

Çalışma serumlarda ve organ sıvılarında olmak üzere iki grupta yapıldı:

- 1-Birinci grupta pulmoner ve extrapulmoner tüberküloz tanısı konan hastaların serumlarıyla,kontrol serumlar kullanıldı.
- 2-İkinci grupta extrapulmoner tüberküloz tanısı konan hastaların ilgili organ sıvılarıyla,kontrol BOS'lar kullanıldı.

Hastalara tüberküloz tanısı klinik bulgular,rontgen,pozitif Ziehl-Neelson boyası ve histopatolojik inceleme ile kondu.Kontrol serumlar PPD'si 10 mm üstünde(Kontrol grubu-1) ve PPD'si 0-10 mm arasında(Kontrol grubu-2) olan toplam 50 sağlıklı gönüllü kişiden(hemsire,personel,tıp öğrencileri) sağlandı.Kontrol BOS'lar ise,ayırıcı tanı için lomber ponksiyon yapılan ve kesinlikle hasta olmadığı saptanan kişilerden elde edildi.

Birinci ve ikinci grupta,hastaların dağılımları aşağıdaki tabloda gösterildi(Tablo 9).

Grup	Tanı	Sayı			Yaş Ortalaması
		Erkek	Kadın	Toplam	
1	Akciğer Tbc	42	15	57	35.79
	Eski Tbc	12	8	20	39.80
	Kontrol-1	19	6	25	27.44
	Kontrol-2	19	6	25	24.84
	Tbc Menenjit	7	4	11	9.05
	Tbc Plörezi	4	4	8	32.00
	Tbc Peritonit	-	1	1	30.00
	Tbc Lenfadenit	2	1	3	31.00
	Kolon Tbc	1	1	2	30.00
	Renal Tbc	2	1	3	24.67
2	Tbc Menenjit	8	5	13	18.00
	Tbc Plörezi	2	1	3	25.67
	Tbc Peritonit	-	2	2	55.00
	Renal Tbc	1	-	1	24.00
	Kontrol BOS	9	1	10	15.95

TABLO-4:Hastaların gruplara göre dağılımı.

Birinci grupta toplam 155 serum, ikinci grupta ise toplam 29 sıvı kullanıldı. Akciğer tüberkülozu (Tbc) geçirip, tedavisi tamamlanmış; şikayeti bulunmayan ve sedimentasyonu normal olan kişiler eski tüberkülozlular grubunu oluşturdu.

ANTIJEN:

Her iki grupta da mikobakteriyel antijenlere karşı spesifik antikorların gösterilmesi amacıyla "Mikobakteriyel Glikolipid Antijeni (Metanol ekstraktı)" kullanıldı. Antijen aşağıdaki yöntemle hazırlandı (32).

Löwenstein-Jensen besiyerinden öze ile toplanan M. tüberkülozis kolonileri, içinde 20 ml aseton bulunan erlen içine toplandı. Asetonda, oda ısısında 24 saat bekletildi ve böylece inaktivasyonu sağlandı. Bakteri hücreleri 3 kez 20 ml asetonda yıkandı ve Buchner hunisinden süzüldü. Bakteriler 50 ml. lik, ağzına geri çevirmeli soğutucu takılmış bir balon içine alındı. Bakteri hücreleri 3 kez kay-

nıyan aseton ile ekstrakte edildi(ısıtma işlemi su banyosu yardımıyla 80-90°C da yapıldı).Aseton ekstrakt,Buchner hunisinde süzülerek ayrıldı.Bakteri hücreleri 3 kez kaynıyan metanol ile ekstrakte edildi ve metanol ekstrakt toplandı.Bir kez kloroform ekstrakt ve kloroform-metanol(2:1) karışımı ekstraktları,kloroform ekstrakt olarak toplandı.Ekstraksiyonlarda solvan miktarları 20 ml olarak alındı.Kloroform ve metanol ekstraktların ince tabaka kromatografisi yapıldı.Bunun için 0.25 mm kalınlığında Silikagel G hazır plakları kullanıldı(E.Merck,Darmstadt,W.Germany).Kullanılmadan önce plaklar 100°C da 1 saat aktive edildi.Solvan sistemi olarak kloroform:metanol:su(65:35:8) kullanıldı.Solvan sistemi tanka konduktan sonra doyması için 5 saat bekletildi.Plaklara standart referans bileşik ile kloroform ve metanol ekstraktlar 10 mikrolitre olarak tatbik edildi.Standart referans bileşik olarak Cardiolipin(Bovine,Sigma,USA) kullanıldı.Plaklar tatbik yapıldıktan sonra,yürütme solvanı ile doyurulmuş tanka konularak sürüklenmeye bırakıldı.Solvan tatbik yerinden itibaren 12 cm yürütüldükten sonra plak tanktan çıkartıldı,havada kuruması için bir süre bekletildikten sonra lipitleri belirlemek için Orsinol reaktifi püskürtüldü.Reaktif püskürtüldükten sonra plak 150°C daki etüve konarak 15 dakika bekletildi.Süre sonunda lipit lekeleri sarı zeminde kahverengi,UV₃₆₆ ışık altında ise mor lekeler halinde görüldü.Kloroform ekstraktında 1 leke,metanol ekstraktında ise 5 leke görüldü.Bunların Rf değerleri sırasıyla 0.93(kloroforma ait),0.79,0.80,0.84, 0.87 ve 0.93 idi.Referans olarak uygulanan çardiolipinin Rf değeri ise 0.87 dir.Reggiardo ve Middlebrook,mikobakteriyel cardiolipin ile bovin cardiolipininin Rf değerlerinin ve serolojik aktivitelerinin aynı olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir.Bizim çalışmamızda metanol ekstrakt ince tabaka incelenmesinde(aynı solvan sisteminde) 4. lipit lekesi ile cardiolipinin lekesinin aynı

Rf(0.87) olduğu görülmektedir.Yine Reggiardo ve Middlebrook'un çalışmasında ince tabakada belirlenen glikolipid antiijenlerinin çok az miktarlarının bile serolojik olarak aktif oldukları,hemaglutinasyon inhibisyon testlerinde gösterilmiştir(32).

KONJUGAT:

Horse radish-peroxidase(HRPO) işaretli anti-insan IgG(IgG fraksiyonu,tavşan) konjugatı Nakane(26) yöntemiyle hazırlandı.

ELISA YÖNTEMİ:

Bu çalışma için solid faz(aktive microplate'ler) glikolipid antiijenle kaplandı.Kaplama için 200 mikrolitre antiijen süspansiyonu(PBS içinde),microplate'deki her çukura aktarıldı ve +4°C'da bir gece inkübe edildi.Antijen kaplı microplate'ler PBS(%1 Bovine Serum Albumin-%1 Tween 20) yıkama solüsyonu ile yıkandı.Sonra taze hazırlanmış %0.1 lik jelatin solüsyonu(PBS içinde) ile inkübe edildi.İnkübasyon nemli bir ortamda oda ısısında yapıldı.Microplate'ler tekrar yıkama solüsyonu ile yıkandı.Yıkamalar her defasında altı kez yapıldı.

Serumlar PBS ile 1:200 oranında,sıvılar ise PBS ile 1:100 oranında sulandırıldı.Her birinden,glikolipid antiijenle kaplı microplate çukurlarına 100'er mikrolitre kondu.37°C'da iki saat bekletildi.İnkübasyon sonrası yıkama solüsyonu ile microplate'ler yıkandı.HRPO-işaretli anti-human IgG 1:1000 dilüsyonu(PBS içinde) 100'er mikrolitre olarak her çukura pipetlendi.37°C'da 1 saat bekletildi.

Yıkama sonrası,reaksiyonu başlatmak için substrat solüsyonu(O-fenilendiamin %0.04 + H₂O₂ %0.012 + fosfat sitrat tampon(pH 5.0))ndan her çukura 100'er mikrolitre kondu.Oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildikten sonra,her çukura 100 mikrolitre 2N sülfirik asit eklenerek reaksiyon durduruldu.Absorbans değerleri 490 nm'da okundu.

B U L G U L A R

Bu çalışma ile toplam 155 serumda(Grup 1) ve 29 sıvıda (Grup 2) glikolipid antijene karşı oluşmuş antikor miktarı,490 dalga boyundaki absorbands değerine göre ölçüldü.Birinci grupta toplam 50 kontrol,20 eski tüberkülozlu ve 85 aktif akciğer ve organ tüberkülozlu hasta bulunmaktaydı.İkinci grupta ise 10 kontrol (Normal BOS) ve 19 organ tüberkülozlu hasta mevcuttu.

Sadece serumlarında antikor bakılan birinci grubun %70'i erkek,%30'u ise kadındı.Ortalama yaş 30.68'di.Sadece ilgili organ sıvılarında antikor bakılan ikinci grubun ise %69'u erkek ve %31'i kadındı.Ortalama yaş 20.84'dü.Çalışma gruplarının hastalıklarına göre dağılımları,cinsleri ve yaş ortalamaları Tablo-4'de gösterildi.

Tablo 4'den de anlaşılabilceği gibi,özellikle akciğer tüberkülozu erkeklerde daha sık görülmektedir.Bu durum erkeklerin kapalı ve kalabalık yerlerde(işyeri,kahvehane vs.) daha fazla kalmasına bağlanabilir.Organ tüberkülozunda bu fark belirgin değildir.Tüberküloz menenjitin daha ziyade gençlerde ve çocuklarda görülmesi de tabloda dikkati çeken diğer bir hususdur.

Serumlarında antikor bakılan birinci grubun sonuçları (Tablo 5) ile ilgili organ sıvılarında antikor bakılan ikinci grubun sonuçları(Tablo 6) aşağıda gösterildi.

Sıra No	Adı Soyadı	Yaşı Cinsi	Tanı	Çalışılan Materyal	IgG Absorbans Değeri
1	SY	17 E	AC Tbc	Serum	2.290
2	FK	30 K	"	"	2.586
3	RÇ	19 E	"	"	2.055
4	HA	28 E	"	"	2.563
5	İY	65 E	"	"	2.230
6	İA	35 E	"	"	2.456
7	HB	53 E	"	"	2.542
8	NA	35 E	"	"	2.097
9	AI	22 E	"	"	2.010
10	AI	22 E	"	"	1.984
11	SA	19 E	"	"	2.162
12	AZ	41 E	"	"	2.541
13	ZE	40 K	"	"	2.209
14	NŞ	35 K	"	"	2.041
15	HK	32 K	"	"	2.041
16	İP	42 E	"	"	2.370
17	ŞA	45 E	"	"	1.909
18	YY	44 E	"	"	2.054
19	HA	37 E	"	"	2.161
20	HK	34 E	"	"	1.630
21	MŞ	23 E	"	"	2.094
22	FŞ	16 E	"	"	2.157
23	DAB	24 E	"	"	2.235
24	NE	35 K	"	"	2.256
25	CA	22 E	"	"	2.073
26	ÜÇ	28 K	"	"	2.447
27	Oİ	37 E	"	"	1.945
28	EU	80 K	"	"	2.299
29	CS	37 E	"	"	1.984
30	ZÖ	30 K	"	"	1.984
31	MAÖ	30 E	"	"	2.332
32	AÜ	44 E	"	"	2.109
33	MG	55 E	"	"	0.850
34	MB	48 E	"	"	2.350
35	HA	32 E	"	"	2.348
36	AB	30 K	"	"	1.885
37	KK	35 E	"	"	1.687
38	AK	24 E	"	"	1.957

Sıra No	Adı Soyadı	Yaşı Cinsi	Tanı	Çalışılan Materyal	IgG Absorbans Değer
39	OÇ	29 E	AC Tbc	Serum	2.002
40	MT	30 E	"	"	1.752
41	AU	60 E	"	"	1.661
42	AM	24 E	"	"	1.874
43	HİZ	58 E	"	"	1.934
44	HB	35 K	"	"	1.905
45	FC	32 K	"	"	1.798
46	ZO	52 E	"	"	1.857
47	AK	40 E	"	"	1.811
48	İK	38 E	"	"	1.987
49	YÇ	23 E	"	"	1.801
50	HÇ	45 K	"	"	1.839
51	ND	46 K	"	"	1.975
52	AG	27 K	"	"	1.757
53	BAÇ	61 E	"	"	2.299
54	BM	32 E	"	"	2.242
55	İB	50 E	"	"	2.346
56	FÇ	30 K	"	"	1.965
57	AB	23 E	"	"	1.182
58	MG	57 K	Eski Tbc	"	1.273
59	ZÖ	21 K	"	"	1.448
60	RÖ	35 E	"	"	1.227
61	YK	44 E	"	"	1.693
62	SG	17 E	"	"	1.041
63	MM	61 E	"	"	1.494
64	HY	60 K	"	"	1.053
65	SD	40 K	"	"	1.551
66	SB	32 K	"	"	1.143
67	AT	30 E	"	"	1.533
68	AA	34 K	"	"	1.453
69	AŞ	25 E	"	"	1.014
70	EG	30 E	"	"	1.788
71	GT	52 E	"	"	1.175
72	AE	48 E	"	"	1.286
73	AU	52 E	"	"	1.545
74	NY	20 K	"	"	1.124
75	AT	38 E	"	"	1.009
76	AD	70 E	"	"	1.510
77	HS	30 K	"	"	1.406

Sıra No	Adı Soyadı	Yaşı Cinsi	Tanı	Çalışılan Materyal	IgG Absorbans Değeri
78	AY	23 E	Kontrol-1	Serum	1.515
79	NT	20 K	"	"	1.423
80	RA	25 E	"	"	1.158
81	HHS	24 E	"	"	1.311
82	MG	48 E	"	"	1.085
83	NE	24 K	"	"	1.342
84	ABB	24 E	"	"	1.477
85	HB	25 E	"	"	1.493
86	AA	35 E	"	"	1.285
87	CB	30 E	"	"	1.328
88	GE	24 E	"	"	1.518
89	AK	23 E	"	"	1.235
90	BD	24 K	"	"	1.302
91	GV	30 K	"	"	1.336
92	AZ	24 E	"	"	1.801
93	MK	24 K	"	"	1.224
94	MT	44 E	"	"	0.683
95	NG	25 K	"	"	1.221
96	VK	23 E	"	"	1.533
97	RE	23 E	"	"	1.375
98	BB	24 E	"	"	1.400
99	MŞ	26 E	"	"	1.315
100	AK	26 E	"	"	1.198
101	OA	25 E	"	"	1.173
102	MD	40 E	"	"	1.288
103	HMD	24 E	Kontrol-2	"	1.857
104	KS	23 E	"	"	1.747
105	SY	20 K	"	"	1.078
106	AT	24 E	"	"	1.361
107	FS	30 K	"	"	1.220
108	AG	24 E	"	"	1.416
109	AB	24 E	"	"	1.644
110	ZD	30 K	"	"	1.052
111	DB	25 K	"	"	1.555
112	MC	23 E	"	"	1.393
113	MC	26 E	"	"	1.157
114	ANG	24 E	"	"	1.312
115	HB	28 E	"	"	1.205
116	SC	30 K	"	"	1.205

Sıra No	Ad Soyad	Yaş Cins	Tanı	Çalışılan Materyal	IgG Absorbans Değeri
117	HŞ	25 E	Kontrol-2	Serum	1.071
118	FY	24 E	"	"	1.197
119	AU	23 E	"	"	1.324
120	HA	27 E	"	"	1.240
121	HY	24 E	"	"	1.524
122	KE	25 E	"	"	1.556
123	İE	27 E	"	"	0.901
124	RŞ	30 E	"	"	1.466
125	TD	25 K	"	"	1.196
126	ÖD	23 E	"	"	0.836
127	MA	23 E	"	"	1.413
128	YK	5 K	Tbc Menenjit	"	1.875
129	GY	6 E	"	"	1.562
130	MS	4 E	"	"	1.955
131	MK	20 K	"	"	0.855
132	MA	24 E	"	"	1.768
133	ÇD	0.5K	"	"	2.281
134	VK	23 E	"	"	1.600
135	MK	4 E	"	"	2.239
136	ST	5 E	"	"	1.537
137	NP	6 K	"	"	1.245
138	HS	2 E	"	"	0.451
139	DA	45 E	Tbc Plörezi	"	1.802
140	BA	30 K	"	"	1.732
141	YS	30 E	"	"	1.725
142	OB	25 K	"	"	1.567
143	İB	28 E	"	"	2.267
144	EM	30 K	"	"	2.023
145	EY	28 K	"	"	1.815
146	FA	40 E	"	"	1.549
147	AY	30 K	Tbc Peritonit	"	1.795
148	FA	28 E	Tbc Lenfadenit	"	1.691
149	OY	35 E	"	"	2.091
150	ZA	30 K	"	"	2.172
151	DK	30 K	Kolon Tbc	"	2.342
152	AK	30 K	"	"	2.563
153	Lİ	25 K	Renal Tbc	"	1.847
154	KÖ	25 E	"	"	1.317
155	ŞK	24 E	"	"	1.155

TABLO-5 :Serumlarında antikor bakılan birinci grup

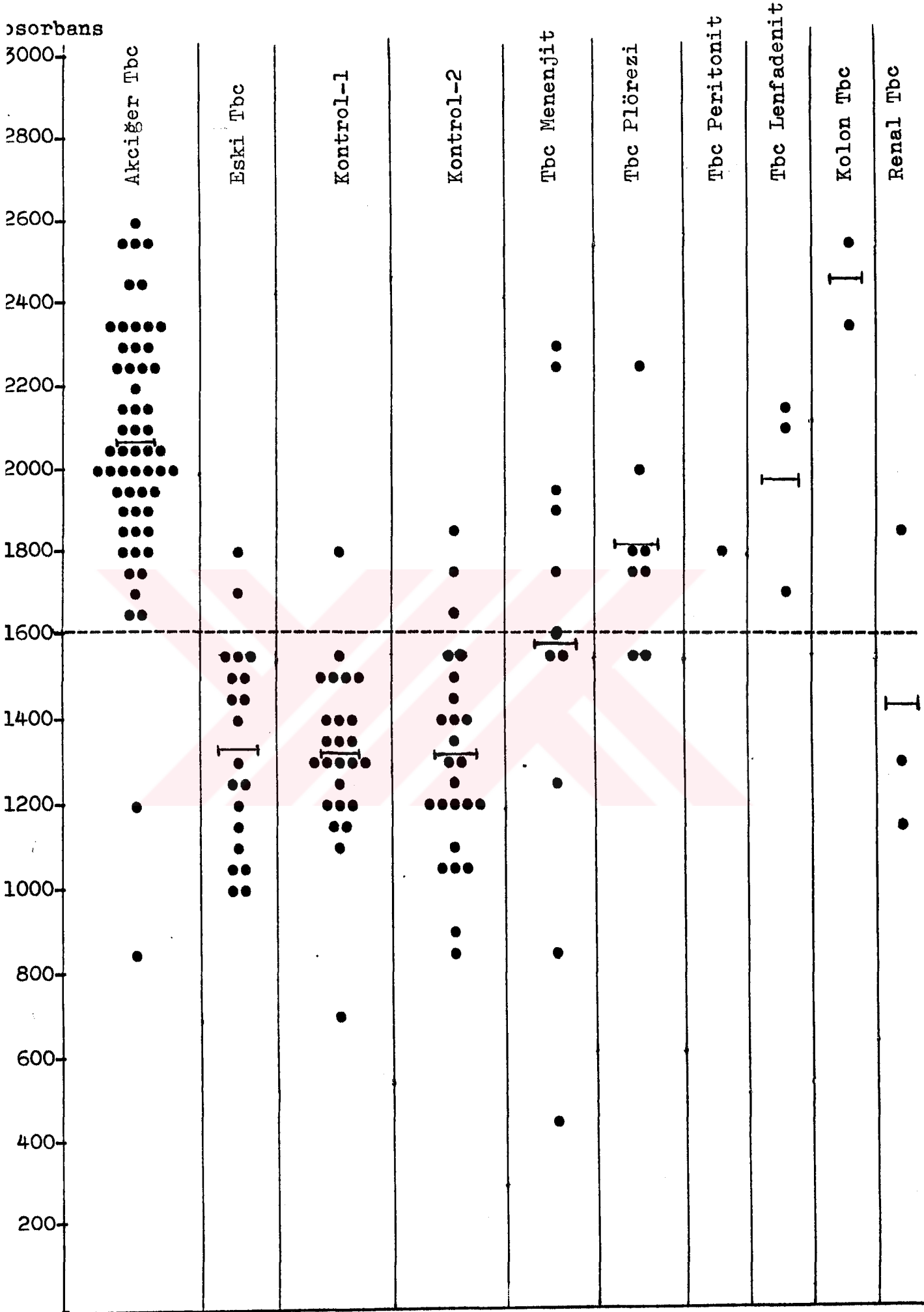
Sıra No	Ad Soyad	Yaş Cins	Tanı	Çalışılan Materyal	IgG Absorbans Değeri
1	YK	5 K	Tbc Menenjit	BOS	1.472
2	Hİ	27 E	"	"	1.062
3	EK	22 E	"	"	1.586
4	MV	5 E	"	"	1.705
5	YS	26 K	"	"	2.241
6	CG	1.5E	"	"	1.435
7	NK	20 E	"	"	1.992
8	ÇD	0.5K	"	"	2.043
9	AP	4 K	"	"	0.883
10	MT	30 E	"	"	0.830
11	ST	5 E	"	"	0.975
12	YÖ	0.5E	"	"	0.923
13	EÜ	10 K	"	"	0.689
14	İE	25 E	Tbc Plörezi	Plevral sıvı	2.378
15	BA	30 K	"	"	2.443
16	SG	22 E	"	"	1.376
17	AY	30 K	Tbc Peritonit	Ascites	2.027
18	FC	80 K	"	"	2.341
19	ŞK	24 E	Renal Tbc	İdrar	2.769
20	HG	0.5E	Kontrol BOS	BOS	0.286
21	BT	20 E	"	"	0.168
22	CY	2 E	"	"	0.185
23	AG	25 E	"	"	0.320
24	AD	6 E	"	"	0.418
25	NB	4 K	"	"	0.302
26	NÇ	4 E	"	"	0.798
27	MK	28 E	"	"	0.632
28	İÜ	40 E	"	"	0.184
29	AA	30 E	"	"	0.209

TABLO-6 :İlgili sıvılarında antikor bakılan ikinci grup

Glikolipid antiijeniyle birinci grupta elde edilen absorbans değerlerinin tanılara göre dağılımı şekil 5'de gösterildi. Absorbasyon değerlerinin ortalamaları aktif tüberkülozlu hastalarda 2.051, eski tüberkülozlu hastalarda 1.338, birinci kontrol grubunda (PPD si 10 mm üstünde olanlar) 1.321, ikinci kontrol grubunda (PPD si

0-10 mm arasında olanlar) 1.317,tüberküloz menenjitisi olan hastalarda 1.578,tüberküloz plörezisi olan hastalarda 1.810,tüberküloz peritoniti olanlarda 1.795,tüberküloz lenfadeniti olan hastalarda 1.985,kolon tüberkülozu olanlarda 2.453,renal tüberkülozu olan hastalarda ise 1.440 olarak bulundu.

"Cut off" absorpsiyon değeri 1.600 olarak alındığında,glikolipid antijeni kullanılarak birinci grupta elde edilen test sonuçları Tablo 7'de gösterildi.



ŞEKİL-5:Glikolipid antiğeni ile bulunan IgG düzeyleri(Grup 1).

Hastalık grubu (serumda)	Test sonucu			Duyarlılık %	Spesifite %	Yalancı	
	+	-	toplam			+	-
Akciğer Tbc	55	2	57	96	-	-	4
Eski Tbc	2	18	20	-	90	10	-
Kontrol 1	1	24	25	-	96	4	-
Kontrol 2	3	22	25	-	88	12	-
Tbc Menenjit	6	5	11	55	-	-	45
Tbc Plörezi	6	2	8	75	-	-	25
Tbc Peritonit	1	-	1	100	-	-	0
Tbc Lenfadenit	3	-	3	100	-	-	0
Kolon Tbc	2	-	2	100	-	-	0
Renal Tbc	1	2	3	33	-	-	67
Toplam	79	76	155	87	91	9	13

TABLO-7 :Glikolipid antiijeni kullanılarak,ELISA yöntemiyle birinci gruptan alınan sonuçlar.Değerlendirmeler sırasında eski tüberkülozlular grubu kontrol grubuna dahil edilmiştir.

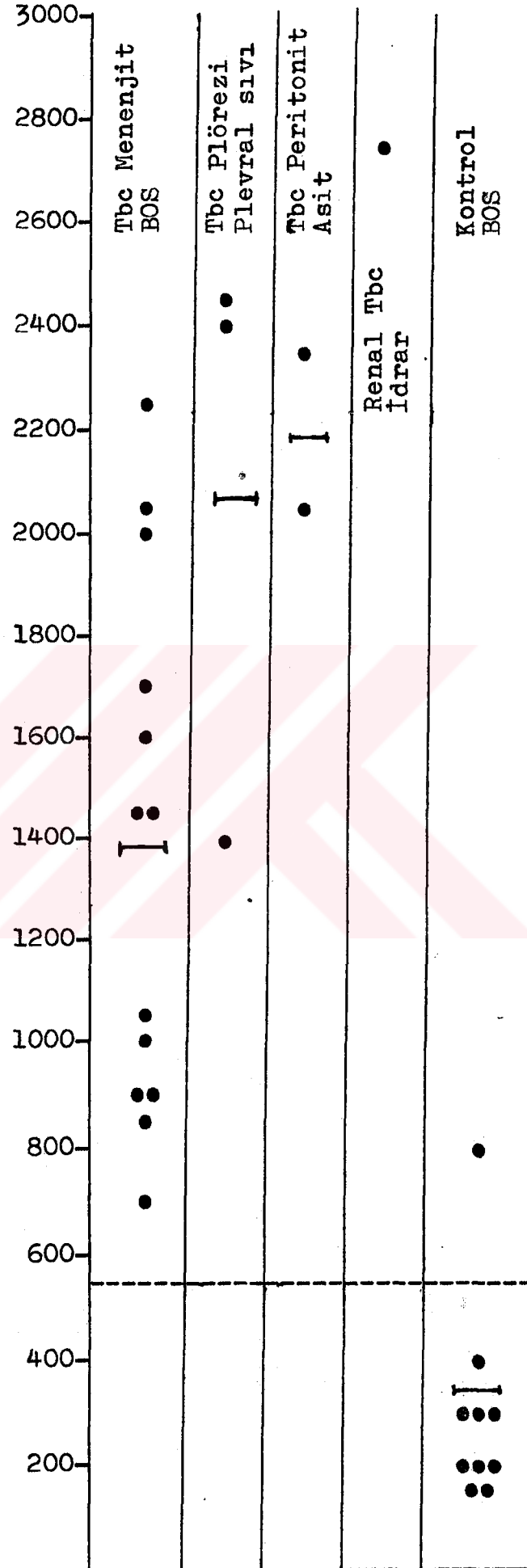
Glikolipid antiijeni ile ikinci grupta elde edilen IgG absorbans değerlerinin tanılara göre dağılımı şekil 6'da gösterildi. İlgili sıvıda çalışılan absorbsiyon değerlerinin ortalamaları tüberküloz menenjitli olanlarda 1.372,tüberküloz plörezi olanlarda 2.066,tüberküloz peritoniti olanlarda 2.184,kontrol BOS'larda ise 0.350 olarak bulundu.

"Cut off" absorbsiyon değeri 0.550 olarak alındığında,mikobakteriyel glikolipid antiijeni kullanılarak ikinci grupta elde edilen test sonuçları Tablo 8 'de gösterildi.

Hastalık grubu (ilgili sıvıda)	Test sonucu			Duyarlılık %	Spesifite %	Yalancı	
	+	-	toplam			+	-
Tbc Menenjit	13	-	13	100	-	-	0
Tbc Plörezi	3	-	3	100	-	-	0
Tbc Peritonit	2	-	2	100	-	-	0
Renal Tbc	1	-	1	100	-	-	0
Kontrol BOS	1	9	10	-	90	10	-
Toplam	20	9	29	100	90	10	0

TABLO-8 :Glikolipid antiijeni kullanılarak,ELISA yöntemiyle ikinci gruptan alınan sonuçlar.

Absorbans



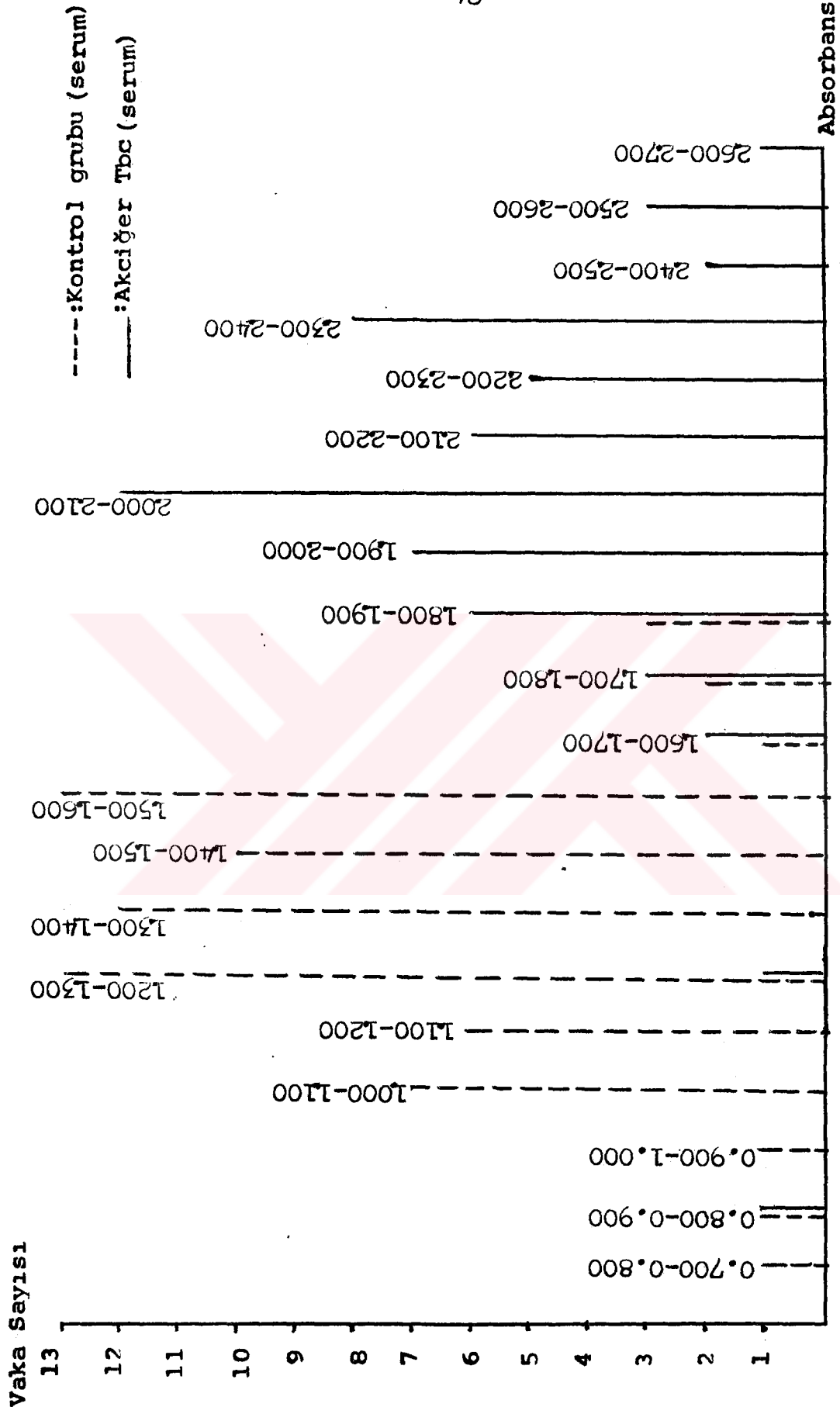
ŞEKİL-6:Glikolipid antijeni ile bulunan IgG düzeyleri(Grup 2).

Şekil 5'de ve Tablo 7'de görüldüğü gibi kontrol-1'in, kontrol-2'nin ve eski tüberkulozluların IgG absorbands değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu nedenle bu üç grubu birleştirerek, karşılaştırmalarda toplam kontrol grubu olarak kullandık.

Birinci gruptaki akciğer tüberkülozu grubu ile toplam kontrol grubun karşılaştırmalı histogramları şekil 7'de gösterildi. Her iki histogramın birbirinden iyi bir şekilde ayrıldığı ve cut off absorbands değeri 1600 olarak alındığında ayırımın oldukça iyi olduğu bu şekilde açıkça görülmektedir.

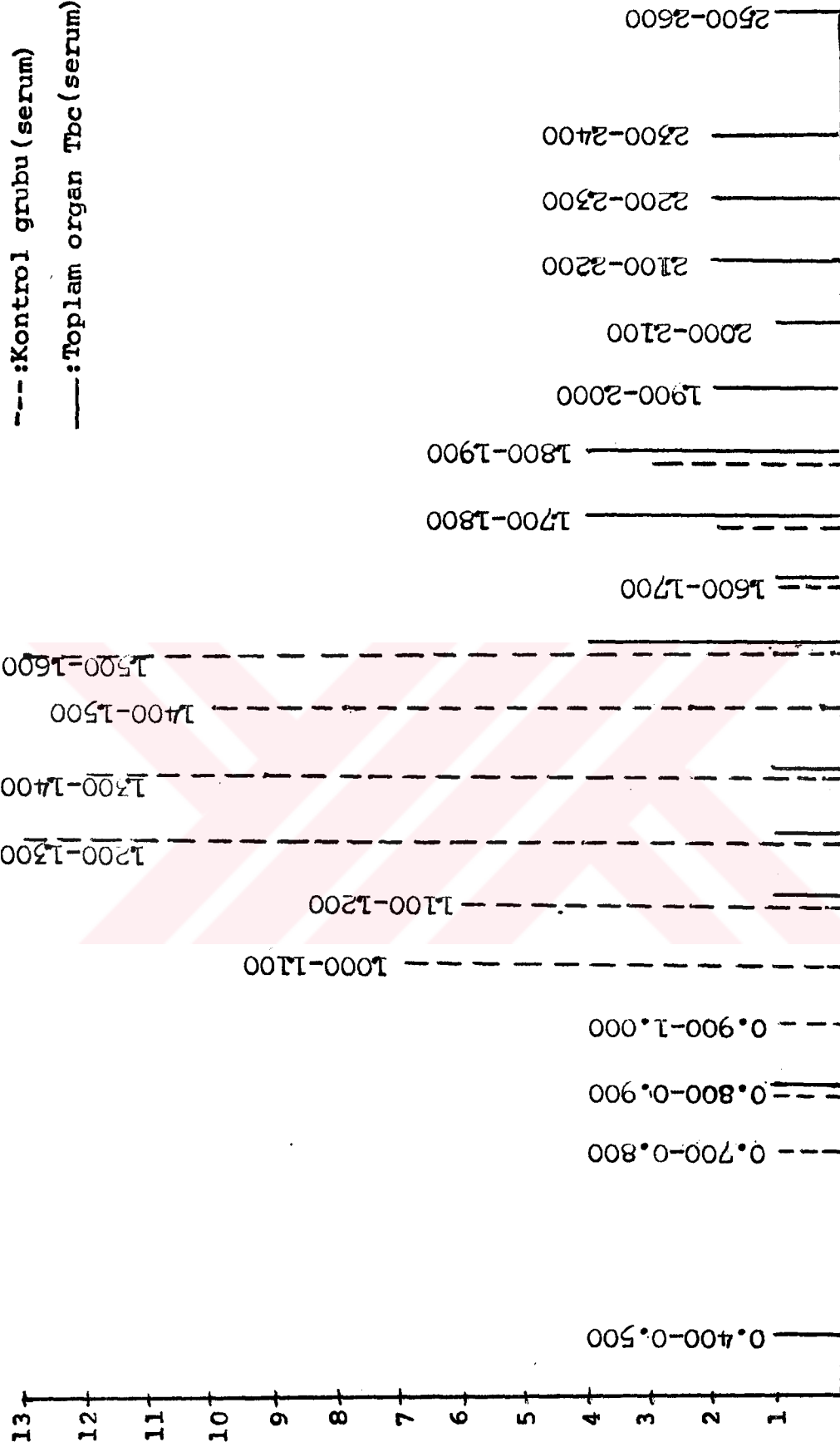
Birinci gruptaki organ tüberkülozu (toplam) grubu ile toplam kontrol grubun karşılaştırmalı histogramları şekil 8'de gösterildi. Burada her iki histogram birbirini içine girmiş gözükmeyle birlikte, yalnızca negatif sonuç veren dokuz hastadan beş tanesinin tüberküloz menenjitli hasta olduğu dikkati çekmektedir. Yine renal tüberkülozu olan üç hastanın iki tanesinde de negatif sonuç alınmıştır. Bunlar çıkartıldığı takdirde histogramlar birbirinden çok iyi ayrılmakta ve test organ tüberkülozu ile kontrol grubu arasında çok iyi bir ayırım göstermektedir.

İkinci gruptaki organ tüberkülozu (toplam) grubu ile kontrol grubun karşılaştırmalı histogramları ise şekil 9'da gösterildi. Burada histogramların birbirinden tamamen ayrı olduğu ve sınırlarda çalışıldığı takdirde testin çok iyi bir ayırım gösterdiği görülmektedir.



ŞEKİL-7: Birinci gruptaki akciğer tüberkülozu grubu ile kontrol grubu (kontrol-1, kontrol-2, eski Tbc) mün karşılaştırmalı histogramları. Veriler her 0,100 absorbans değerinde gruplandırılmıştır.

Vaka Sayısı



Absorbans

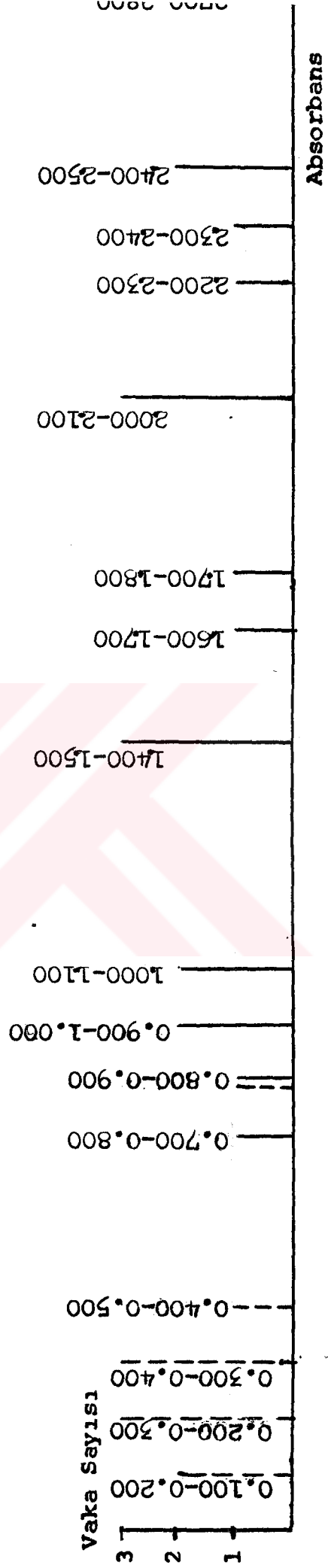
ŞEKİL-8: Birinci gruptaki organ tüberkülozu (toplam) grubu ile kontrol

grubu (kontrol-1, kontrol-2, eski Tbc) nın karşılaştırılması. Veriler

her 0.100 absorbans değerinde gruplandırılmıştır.

---:Kontrol grubu (BOS)

—:Toplam organ Tbc(sıvı)



ŞEKİL-9:İkinci gruptaki organ tüberkülozu (toplam) grubu ile kontrol grubunun karşılaştırmalı histogramları. Veriler her 0,00 absorbans değerinde gruplandırılmıştır.

T A R T I Ő M A

Tüberküloz tanısı halen büyük ölçüde klinik, radyolojik ve bakteriyolojik bulgularla konmaktadır. Tanıdaki güçlükler nedeniyle ve tarama testi amacıyla son yirmi yıldır mikobakteriyel antikorların gösterilmesine yönelik testler geliştirilmiştir. Fluorosan antikor testi oldukça duyarlı ve spesifik olmakla birlikte, özel eleman gerektirdiği ve kantitatif ölçüm yapamadığı için uygun bir test değildir. Radio-immünoassay en duyarlı test olmakla birlikte yarı ömrü 60 gün olan bir isotop ve radyoaktif sıvı gerektirdiği için yaygın kullanmaya elverişli değildir. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ise yaygın kullanmaya elverişli, oldukça duyarlı ve kantitatif ölçüm yapabilen bir test olduğu için çalışmamızda tercih edilmiştir.

Tüberküloz prevalansının yüksek olduğu bölgelerde, mikobakteriyel antikorların gösterilmesine yönelik testlerde, mikobakteriyel antikorların düşük titrelerde yaygın olarak bulunabileceği, BCG ve PPD uygulamaları ile de mikobakteriyel antijenlere karşı immüntenin değişebileceği düşünülebilir. Kontrol grubu ile yapılan çalışmada bu sakıncanın büyük ölçüde giderilmesi mümkündür.

Tüberküloz prevalansının %0.456 olduğu toplumlarda tanı ve tarama testi amacıyla kullanılabileceği bildirilen mikobakteriyel antikorların gösterilmesine yönelik ELISA testlerinin (17), ülkemizde de yaygın bir şekilde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle çalışmamızda, değişik organ tüberkülozlarının tanısında, mikobak-

teriyel antikorların gösterilmesine yönelik testlerin değerini ortaya koymaya çalıştık.

Tüberkülozlu hastalarda IgM antikorları çok düşük miktarlarda bulunduğu için(5), çalışmamızda IgG vasfındaki antikorları göstermeye çalıştık. Bunun için de değişik organ tüberkülozları bulunan hastaların hem serumlarında hem de ilgili organ sıvılarında mikobakteriyel glikolipid antijen kullandık.

Pürifiye glikolipid antijeni kullanarak serumlarda(birinci grupta) yaptığımız çalışmada, akciğer tüberkülozu için testin duyarlılığını %96, spesifikliğini ise %91 olarak bulduk. Yalancı pozitiflik %9, yalancı negatiflik ise %4'dü. Sadece PPD'si 0-10 mm arasında olan sağlıklı kontroller kullanıldığında testin spesifikliği %96'ya yükselmekte, yalancı pozitiflik oranı ise %4'e düşmekteydi. Testte yalancı negatif sonuç veren akciğer tüberkülozlu iki hastadan MG(Tablo 5'de 33 no'lu hasta) nin tüberküloz sepsisi bulunmaktaydı ve kemik iliğinde tüberküloz basili Erlich-Ziehl-Neelson boyasıyla gösterilmişti. AB(Tablo 5'de 57 no'lu hasta) nin ise hem tedaviye rezistan bir akciğer tüberkülozu hem de kreatin klerensi 4 ml/dak olan bir böbrek yetmezliği mevcuttu. Bu şartlar altında her iki hastada da yeterli immün yanıtın gelişmemiş olduğu aşıkardır. Bu hastalar test dışı bırakıldıkları takdirde duyarlılık %100'e ulaşmaktadır.

Ayrıca yine bu testte 20 adet eski tüberkülozlu hastadan sadece iki tanesinde yalancı pozitiflik saptanmış ve testin aktif tüberkülozu, sadece normal bireylerden değil aynı zamanda geçirilmiş inaktif tüberkülozu bulunan kişilerden de ayırt etmede kullanılabileceği görülmüştür.

Aynı testte akciğer dışı organ tüberkülozu olan hastalara baktığımızda, tüberküloz menenjit ve renal tüberküloz dışında testin duyarlılığının oldukça yüksek(%75-100) olduğunu söyleyebiliriz.

riz(Tablo 7).

Yine glikolipid antiijeni ile organ tüberkülozu bulunan hastaların ilgili sıvılarında(ikinci grupta) yaptığımız çalışmada ise testin duyarlılığını %100,spesifikliğini de %90 olarak bulduk(Tablo 8).Bu çalışmada "Cut off" absorpsiyon değerini 0.550 den 0.800'e yükselttiğimiz taktirde testin duyarlılığı %92,spesifikliği ise %100 olmakta;yani 0.800'ün üzerinde absorbans değeri veren her sıvıya kesin olarak tüberküloz tanısı konulabilmektedir.

Glikolipid antiijenle,tüberküloz menenjitli ve renal tüberkülozlu hastaların sıvılarında çok iyi sonuç alındığı halde, serumlarında benzer sonucun alınamaması enteresandır.Ancak renal tüberkülozlu hasta sayısı değerlendirme için yetersizdir.Tüberküloz menenjitli hastaların sıvılarında test iyi işlemekle birlikte değerler diğer organ tüberkülozlu hasta sıvılarıyla karşılaştırıldığında düşüktür(Şekil 6).Tüberküloz prevalansının yüksek olduğu ülkemizde kontrol serumlarda daha yüksek antikör düzeyleri bulacağımız aşıkardır.Bu da serumlarda çalışıldığı taktirde tüberküloz menenjitin ayırımındaki zorluğu açıklıyabilir.

Bütün sonuçlarıyla birlikte testi değerlendirdiğimizde, ELISA yöntemiyle ve glikolipid antiijeni kullanarak;ilgili sıvıda çalışılmak kaydıyla ekstrapulmoner tüberkülozu olan bütün hastalara,ayrıca serumda çalışıldığı taktirde akciğer tüberkülozu ile tüberküloz menenjit ve renal tüberküloz dışında kalan ekstrapulmoner tüberkülozlu diğer hastalara rahatlıkla tanı koyabileceğimiz kanaatine vardık.

Yine de kesin bir sonuç için,özellikle ekstrapulmoner organ tüberkülozu olan hastaların ilgili sıvılarıyla,kontrol sıvıların sayıca arttırılmasıyla yapılacak daha geniş bir çalışmanın da cerekli olduğu düşüncesindeyiz.

S O N U Ç

Tüberküloz prevalansının yüksek, bakteriyolojik olarak pozitif sonuç elde etme olanağımızın ise kısıtlı olduğu ülkemizde güvenilir bir serolojik teste ihtiyaç duyulmaktadır. ELISA yöntemiyle mikobakteriyel antikor ölçümü, pulmoner ve ekstrapulmoner tüberkülozlularda tarama ve tanı amacıyla kullanılabilen kolay ucuz ve güvenilir bir serolojik test olarak dikkati çekmektedir.

Başlangıçta heterojen antijen kullanılarak yapılan serolojik çalışmalarda kros reaksiyonlar görülmüşse de sonradan saf antijenik yapıların kullanılmasıyla tanıda değerli testler geliştirilebilmiştir. Çalışmada kullandığımız pürifiye glikolipid antijenle elde ettiğimiz değerler literatürle uyumlu olup, özellikle kontrol grubu kullanılarak yapıldığı takdirde oldukça güvenilir sonuçlar vermektedir.

Gerek pulmoner gerekse ekstrapulmoner tüberkülozda yüksek duyarlılık ve spesifiklik gösteren ayrıca pulmoner tüberkülozu geçirilmiş inaktif tüberkülozdan ayırt edebilen bu çalışma özellikle ülkemizde tanı ve tarama amacıyla kullanılabilen güvenilir bir test görünümündedir.

Ö Z E T

Bu çalışmada 1986-1989 yılları arasında pulmoner ve ekstrapulmoner tüberküloz tanısı konan hastaların serumlarında ve ilgili sıvılarında pürifiye mikobakteriyel glikolipid antijene karşı oluşmuş IgG vafındaki mikobakteriyel antikorlara ELISA yöntemiyle bakıldı ve kontrol grubundan elde edilen değerlerle karşılaştırıldı.

Serumlarda testin spesifikliği %91 olarak bulundu. Duyarlılık toplam %87, akciğer tüberkülozunda ise %96 idi. İlgili sıvılarda testin duyarlılığı %100, spesifikliği ise %90 olarak bulundu.

Bu sonuçlar literatürle uyumlu olup, testin ülkemizde güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

K A Y N A K L A R

- 1-Akkaynak S:Tüberküloz.Ayyıldız Matbaası A.Ş,Ankara 1986
- 2-A new test for tuberculous meningitis.The Lancet,Dec.1984:1254
- 3-A Reference System for Antigens of Mycobacterium Tuberculosis.
Am Rev Resp Dis,vol 104,1971:602-604.
- 4-Avrameas S:Coupling of enzymes to proteins with gluteraldehyde.
Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies.Immunochemistry,6. 1969:43-52.
- 5-Benjamin RG and Daniel TM:Serodiagnosis of Tuberculosis using
the Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay(ELISA) on Antibody to
mycobacterium tuberculosis.antigens.Am Rev Resp Dis,126,1982:
1013-1016.
- 6-Chaparas SD and Hedrick SR:Comparison of strains of BCG.1.Anti-
genic Analysis and Tuberculin Reactivity.Infection and Immunity
7.(5),1973:777-780.
- 7-Citron KM,Girling DJ:Tuberculosis in the Oxford Textbook of Me-
dicine,ch 5,second edition,edited by Weatherall DJ,Ledingham JG,
Warrell DA.Oxford medical publications 1986:278-303.
- 8-Coates ARM,Hewitt J,Allen BW et al:Antigenic Diversity of Myco-
bacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis detected by means
of Monoclonal antibodies.The Lancet,July 25,1981:167-169.
- 9-Daniel TM,Anderson PA:The Isolation by Immunosorbent Affinity
Chromatography and Physicochemical Characterization of Mycobac-
terium tuberculosis Antigen 5.Am Rev Resp Dis,117,1978:533-539.

- 10-Daniel TM, Anderson PA: The use of immunosorbents for the purification of mycobacterial antigens. *J Lab Clin Med* 90(2), 1977:355-60.
- 11-Daniel TM, Balestrino EA, Balestrino OC et al: The Tuberculin Specificity in Human of Mycobacterium tuberculosis Antigen 5. *Am Rev Resp Dis* 126, 1982:600-606.
- 12-Daniel TM and DeMuth RW: Immunochemical Analyses of a Major Antigen of Mycobacterium Szulgai. *The J Infect Dis* 135, May 1977:5.
- 13-Daniel TM, Ellner JJ, Todd LS et al: Immunobiology and Species Distribution of Mycobacterium tuberculosis Antigen 5. *Infection and Immunity*, Apr 1979:77-82.
- 14-Daniel TM, Gonchoroff NJ, Katzmann JA et al: Specificity of Mycobacterium tuberculosis Antigen 5 determined with Mouse Monoclonal Antibodies. *Infection and Immunity* 45(1), 1984:52-55.
- 15-Daniel TM, Good RC, Janicki BW: Immuno-electrophoresis of Mycobacterium tuberculosis Antigens. Comparative Analysis of Cell Extract and Culture Filtrate Antigens. *Am Rev Resp Dis* 112, 1975:639-644.
- 16-Daniel TM, Janicki BW: Mycobacterial Antigens; a Review of Their Isolation, Chemistry and Immunological properties. *Microbiological Reviews* 42(1), 1978:84-113.
- 17-Daniel TM, Ma Y: Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using mycobacterium tuberculosis antigen 5 for serodiagnosis of Tuberculosis in China. *Am Rev Resp Dis* 3(Suppl) 131, Part 2 Apr 1985:4.
- 18-Daniel TM, Misaki A: Carbohydrate Analysis of Concanavalin A-reactive and concanavalin A-nonreactive mycobacterial polysaccharides. *Am Rev Resp Dis* 113, 1976:705-706.
- 19-Daniel TM, Olds ER: Demonstration of a shared epitope among mycobacterial antigens using a monoclonal antibody. *Clin Exp Immunol* 60, 1985:249-258.

- 20-Daniel TM:Tuberculosis, ch 119 in the Harrison's Principles of Internal Medicine 2, eleventh edition, edited by Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG et al. Mc Graw Hill book company, Tokyo 1986:625-633.
- 21-Engvall E and Perlmann P:Enzyme linked immunosorbent assay. Elisa. III. Quantitation of specific antibodies by Enzyme labelled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. The Journal of Immunology 109(1), 1972:129-135.
- 22-Goding JW:Use of Staphylococcal protein A as an Immunological reagent. J Immun Meth 20, 1973:41-253.
- 23-Goren MB:Immunoreactive substances of mycobacteria. Am Rev Resp Dis 125(3), March 1982:50-69.
- 24-Grigg ERW:Arcana of tuberculosis. Am Rev Resp Dis 78, 1958:151-172.
- 25-Krambovitis E, McIlmurray MB, Lock PE et al:Rapid diagnosis of Tuberculous meningitis by latex particle agglutination. The Lancet, Dec 1, 1984:1229-1231.
- 26-Nakane PK, Kawaoi A:Peroxidase-labelled antibody. A new method of conjugation. The J Histochem Cytochem 22(12), 1974:1084-91.
- 27-Nassau E, Parsons ER:Detection of Antibodies to Mycobacterium tuberculosis by solid phase radioimmunoassay. J Immun Methods 6, 1975:261-271.
- 28-Nassau E, Parsons ER, Johnson GD:The Detection of Antibodies to Mycobacterium Tuberculosis by Microplate Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA). Tubercle 57, 1976:67-70.
- 29-Onat EK:Osmanlı imparatorluğunun son 40 yılında Türkiye'nin tüberküloz tarihçesi üzerine. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi 10, 1979:273-284.
- 30-Paul RC, Stanford JL:Multiple skin testing of Kenyan schoolchildren with a series of new tuberculins. J Hyg Com 75, 1975:303-313.
- 31-Reggiardo Z, Aber VR, Mitchison DA et al:Hemagglutination tests

- for Tuberculosis with Mycobacterial Glycolipid Antigens. *Am Rev Resp Dis* 124, 1981:21-25.
- 32-Reggiardo Z, and Middlebrook G: Serological active glycolipid families from *Mycobacterium bovis* BCG. I. Extraction, purification and Immunological studies. *Am J Epidemiol* 100, 1974:469-476.
- 33-Reggiardo Z and Middlebrook G: Serologically active glycolipid families from *Mycobacterium Bovis* BCG. II. Serologic studies on human sera. *Am J Epidemiol* 100, 1974:477-486.
- 34-Sada E, Palacios GMR, Vidal YL et al: Detection of *Mycobacterium* antigens in cerebrospinal fluid of patients with Tuberculosis meningitis by Enzyme linked immunosorbent assay. *The Lancet*, Sept 17, 1983:651-652.
- 35-Shoemaker SA, Fisher JH and Scoggin CH: Techniques of DNA Hybridization Detect small Numbers of *Mycobacteria* with No cross-Hybridization with nonmycobacterial Respiratory Organisms. *Am Rev Resp Dis* 131, 1985:760-763.
- 36-Thoen CO, Malstrom C, Himes EM et al: Use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detecting Mycobacterial Antigens in Tissues of *Mycobacterium bovis*. *Am J Vet Res* 42(10), 1981:1814-1815.
- 37-Thoen CO, Mills K, Hopkins MP: Enzyme-linked protein A; An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reagent for Detecting Antibodies in Tuberculous Exotic Animals. *Am J Vet Res* 41(5), 1980:833-835.
- 38-TLC of Mycobacterial lipids as an aid to classification; Technical procedures *Mycobacterium fortuitum*. *Tubercule* 46, 1965:400.
- 39-Winters WD, Cox RA: Serodiagnosis of tuberculosis by radioimmunoassay. *Am Rev Resp Dis* 124, 1981:582.
- 40-Yanez MA, Russo DA, Coppola M et al: Mycobacterial antigens; Determination in respiratory secretions by immunosorbent assay. *Am Rev Resp Dis* 3(suppl), 131(4), Part 2 Apr, 1985:224.
- 41-Zeiss CR, Kalish SB, Erlich KS et al: IgG Antibody to Purified Protein Derivative by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Di-

agnosis of Pulmonary Tuberculosis. Am Rev Resp Dis 130,1984:845-848.

