

Tüberkülozun Mikrobiyolojik Tanısı

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU



CELAL BAYAR
ÜNİVERSİTESİ

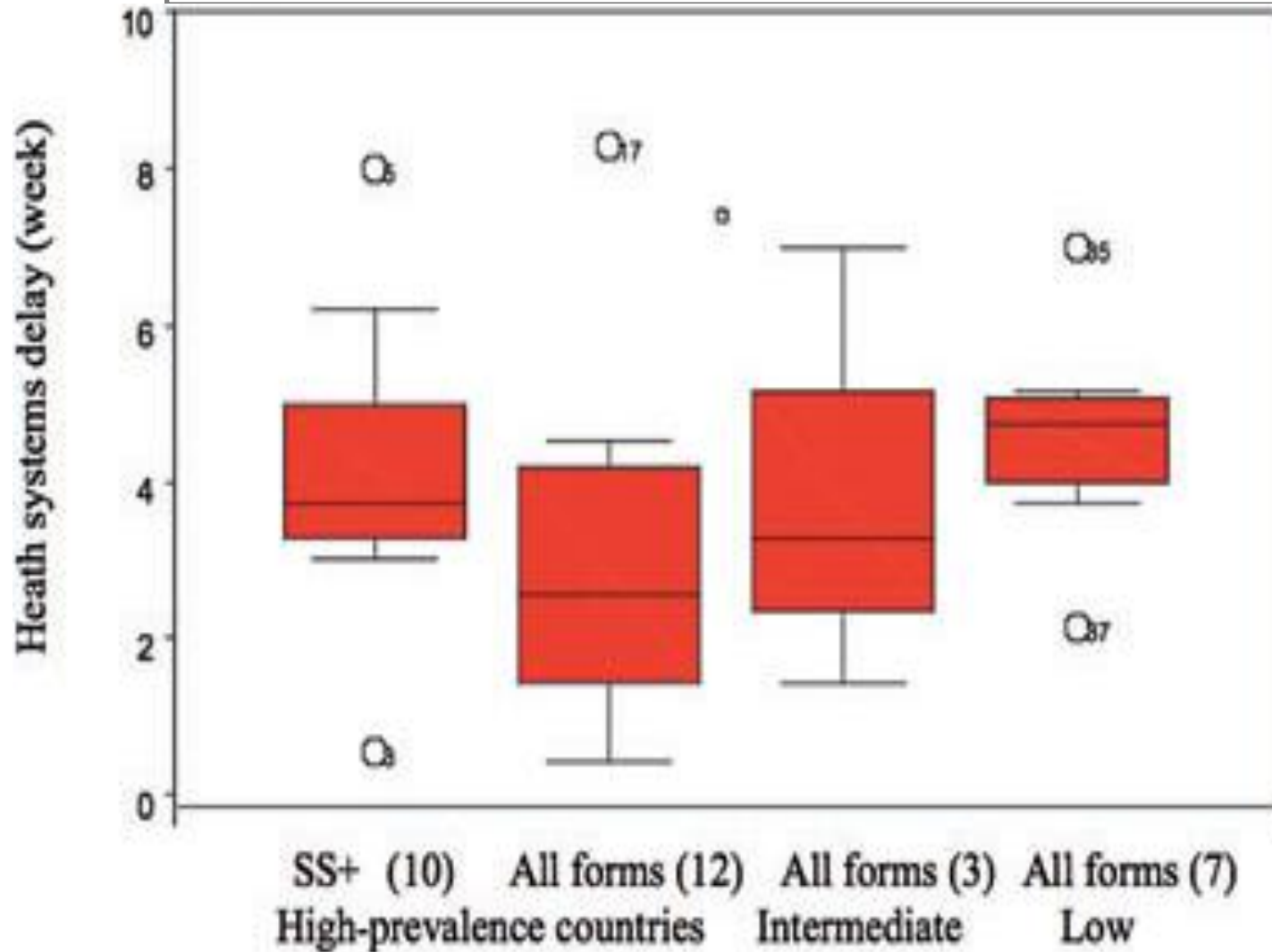
Tüberkülozun etkin kontrolü için;

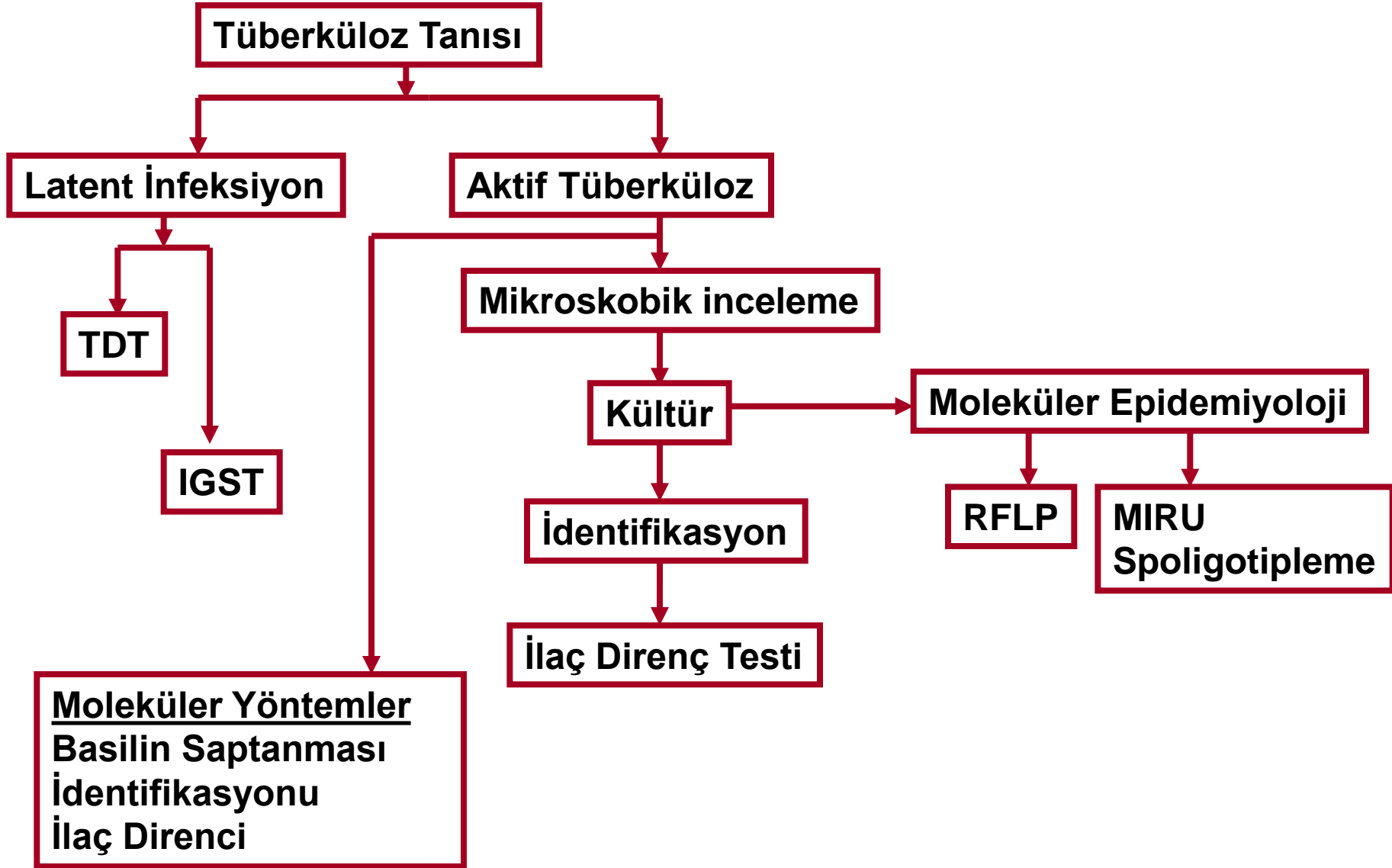
Yayma sonuçları	; 24 saat
Kültür ve identifikasyon	; 21 gün
Duyarlılık testleri	; 30 günde bildirilmeli

CDC, 1995

«hızlı ve güvenilir yöntemler kullanılmalıdır»

Tüberküloz Tanısında Gecikme





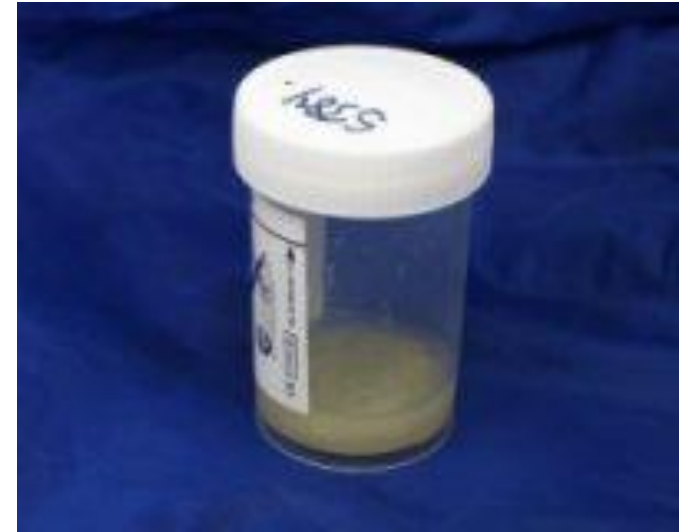
Diğer Tanı Yöntemleri

- ❑ Histopatolojik tanı
- ❑ Vücut sıvılarında enzim ölçümü; ADA, lizozim
- ❑ Kanda antikor aranması
- ❑ Vücut sıvılarında antijen aranması
 - ❑ İdrarda LAM antijeni

Mikrobiyolojik tanı yöntemlerinin tamamlayıcılarıdır

İnceleme Örnekleri

- **Steril / steril olmayan örnekler**
 - 2 balgam örneği yeterli (DSÖ, 2007)
 - 3. örneğin tanıya katkısı %2-5
- **Örneklerin işlenmesi**
 - Kubica yöntemi, 1985 Nalc-NaOH



Mikroskobik İnceleme



Temel Tanı, 1882

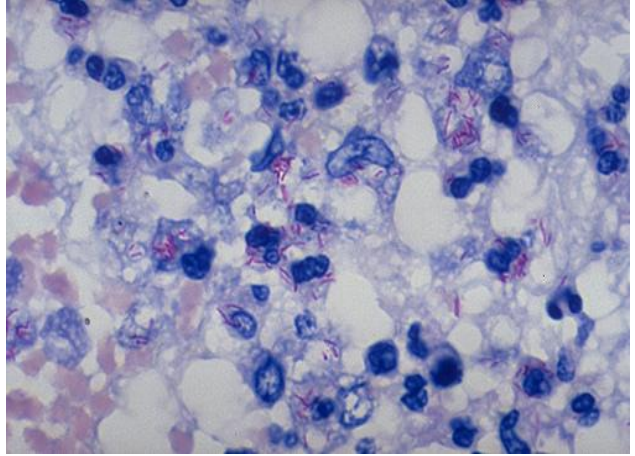


Temel Tanı, 2013

Mikroskopik İnceleme



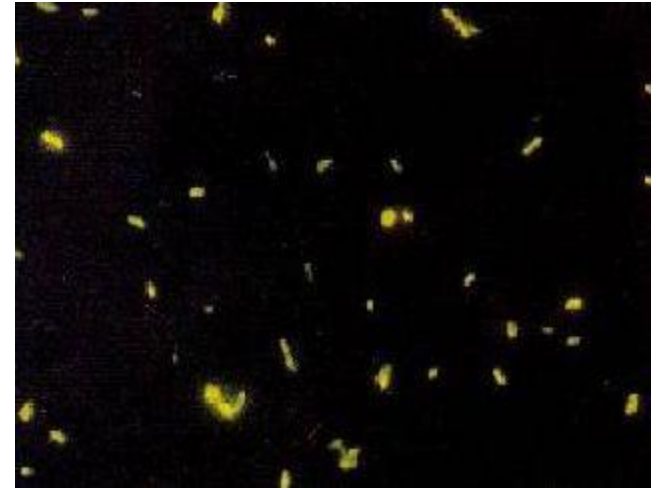
- Hızlı, ucuz, kolay
- Tedavi takibi yapılabilir
- Bulaştırıcılığı gösterir
- Özgüllüğü yüksek >%90



Ziehl-Neelsen Boyası



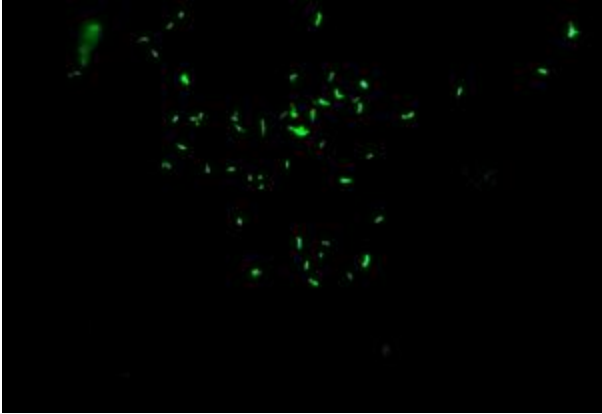
- Canlı / Ölü basil ayıramaz
- MTB / TDM ayıramaz
- Dirençli / Duyarlı ayıramaz
- Duyarlılığı düşük %25-65



Auramin O Boyası

LED Floresans Mikroskop, 2002

(Light Emitting Diodes)



- Taşınabilir – pil
- Lamba ömrü 50.000 saat
- Isınması/soğuması için beklemek gerekmez
- Karanlık oda gerektirmez
- Daha az (1/10) elektrik tüketimi
- Gözü yormaz, net görünüm
- Işık mikroskobundan ve floresan mikroskoptan %5-6 daha duyarlı
- DSÖ tarafından önerilmektedir, 2009

Katı ve Sıvı Besiyerinde Kültür



**Sıvı besiyeri
6-16 gün**



**Katı besiyeri
20-26 gün**

**İdentifikasyon
Fenotipik
Genotipik**



**İlaç Direnç Testi
Fenotipik
Genotipik**

İdentifikasyon

- **Fenotipik Yöntemler**

- Kord oluşumu 1 saat
- İnhibisyon testleri 4-6 gün
- Biyokimyasal testler 3 hafta
- MBT65 antijen testi 15 dakika



- **Genotipik Yöntemler**

- Prob hibridizasyon
- Amplifikasyona dayalı – LPA, GeneXpert...
- DNA dizi analizi



Duyarlılık %98
Özgüllük %100
Yu MC. JCM 2011

Tüberküloz Tanısında Moleküler Yöntemler

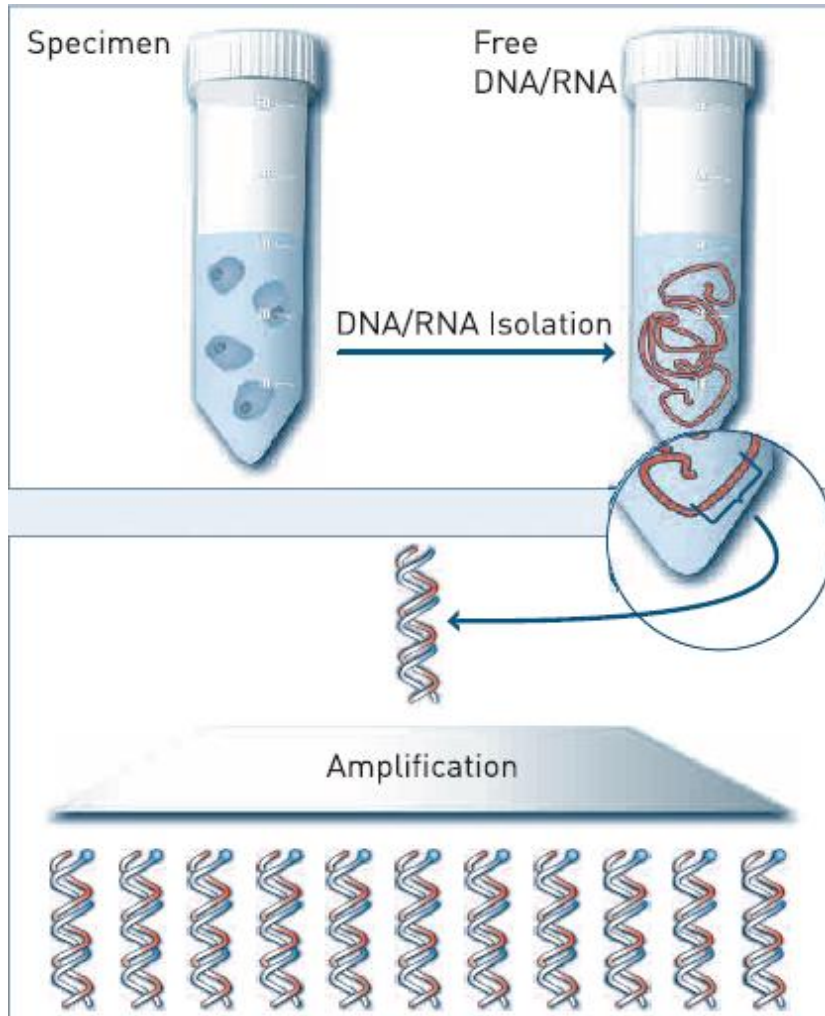
- Özgüllükleri yüksek olmakla birlikte duyarlılıkları örnek çeşidine ve basil yüküne göre değişir
 - Solunum yolu örneğinde ve ARB + örneklerde duyarlılık %96
 - Diğer örneklerde duyarlılık %66-72
 - Tüm örnekler için duyarlılık %85, özgüllük %97

Nyendak MR, Curr Opin Infect Dis 2009

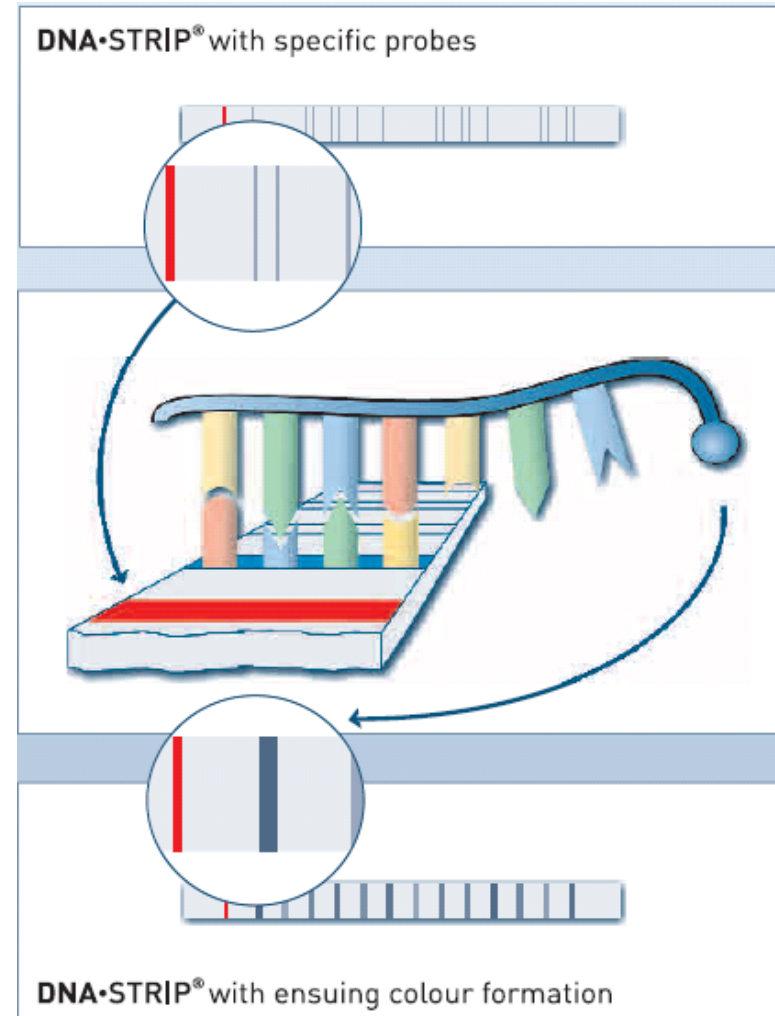
- Moleküler testler tüberkülozun rutin tanısında tek başına yeterli değildir, ancak kültür ile birlikte tanıyı destekler
- Laboratuvar yapımı testlerde standardizasyon sorunu yaşanabilir

Ticari Moleküler Testler

Line Probe Assay, DSÖ 2008

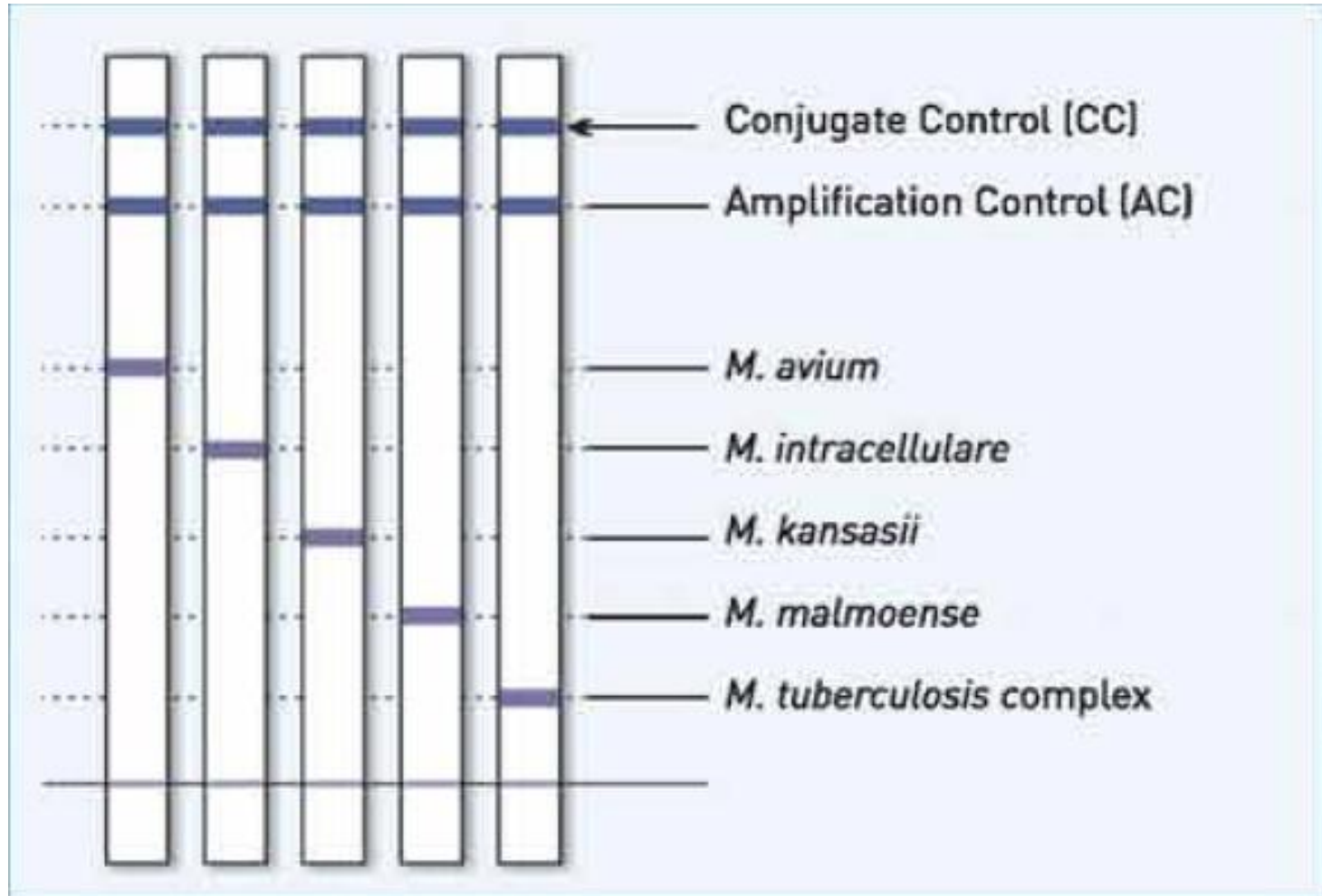


Amplifikasyon (NASBA)

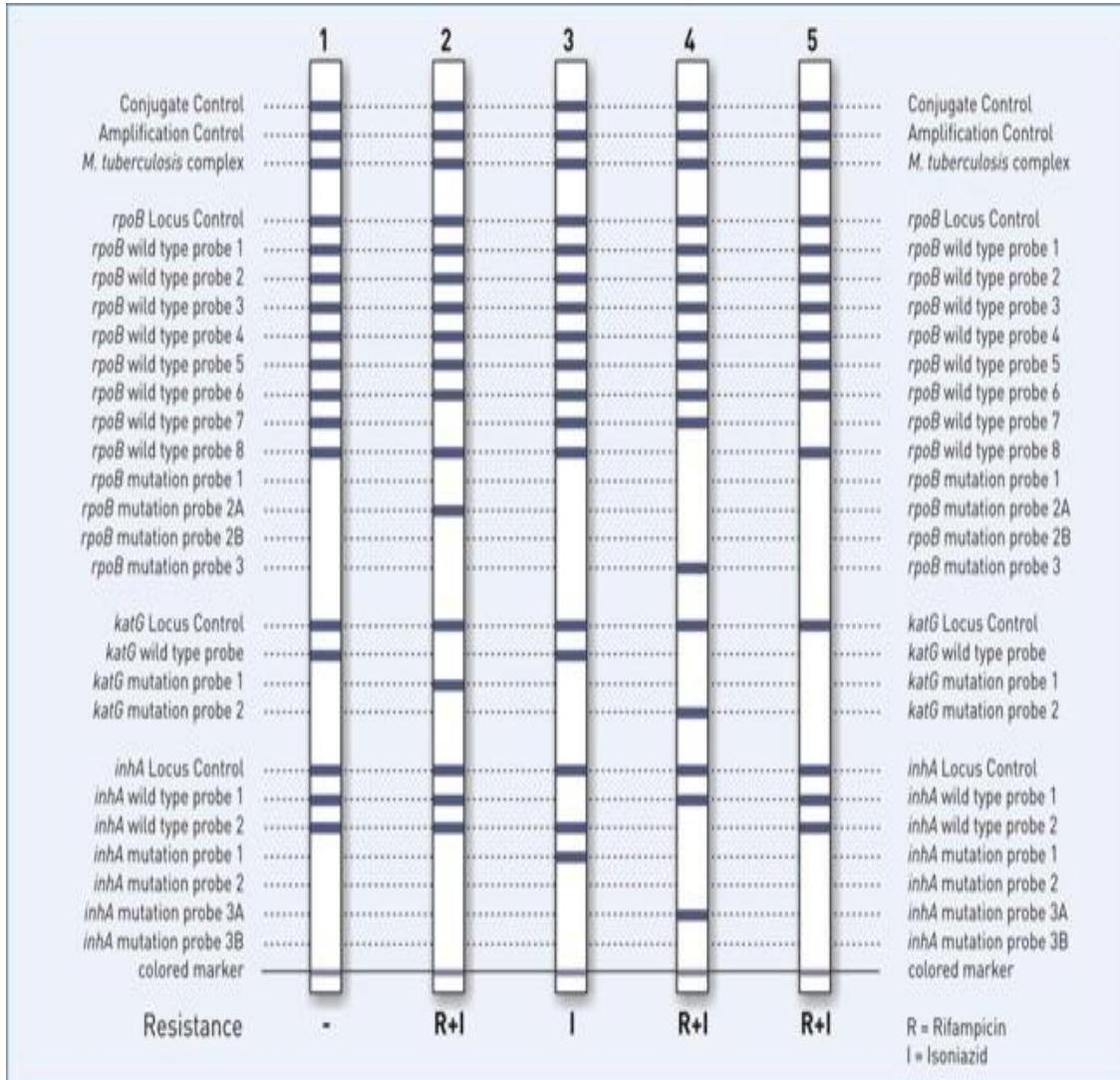


Ters Hibridizasyon

GenoType MycobacteriaDirect ile saptanan bant kalıpları



GenoType MTBDR



- *rpoB*, *KatG*, *inhA* gen mutasyonları
- Duyarlılık;
 - Rifampisin için kùltùre eşdeęer
 - İzoniyazid için %85

Xpert MTB/RIF Testi

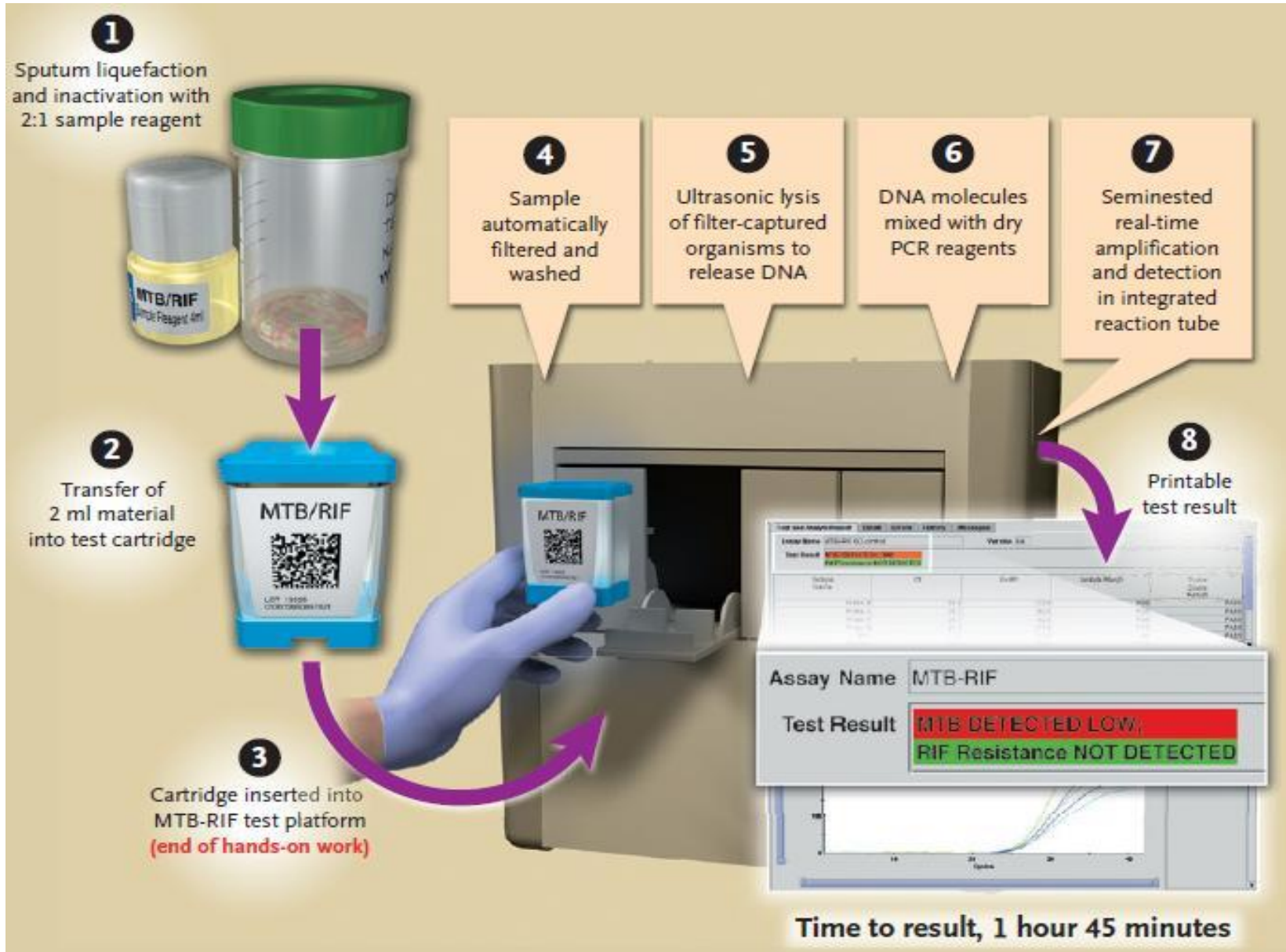
- Üniversite (New Jersey), DSÖ (FIND), özel kuruluş (Cepheid) işbirliği ile geliştirilmiştir
- 3 primer ve 5 prob setinin kullanıldığı gerçek zamanlı PZR yöntemi
- 2 saatte sonuç verir
- Kapalı sistem
- Tek kartuş içinde ekstraksiyon, amplifikasyon ve saptama



24.10.2013 KLİMİK Toplantısı, İzmir



GeneXpert (Xpert MTB/RIF Test)



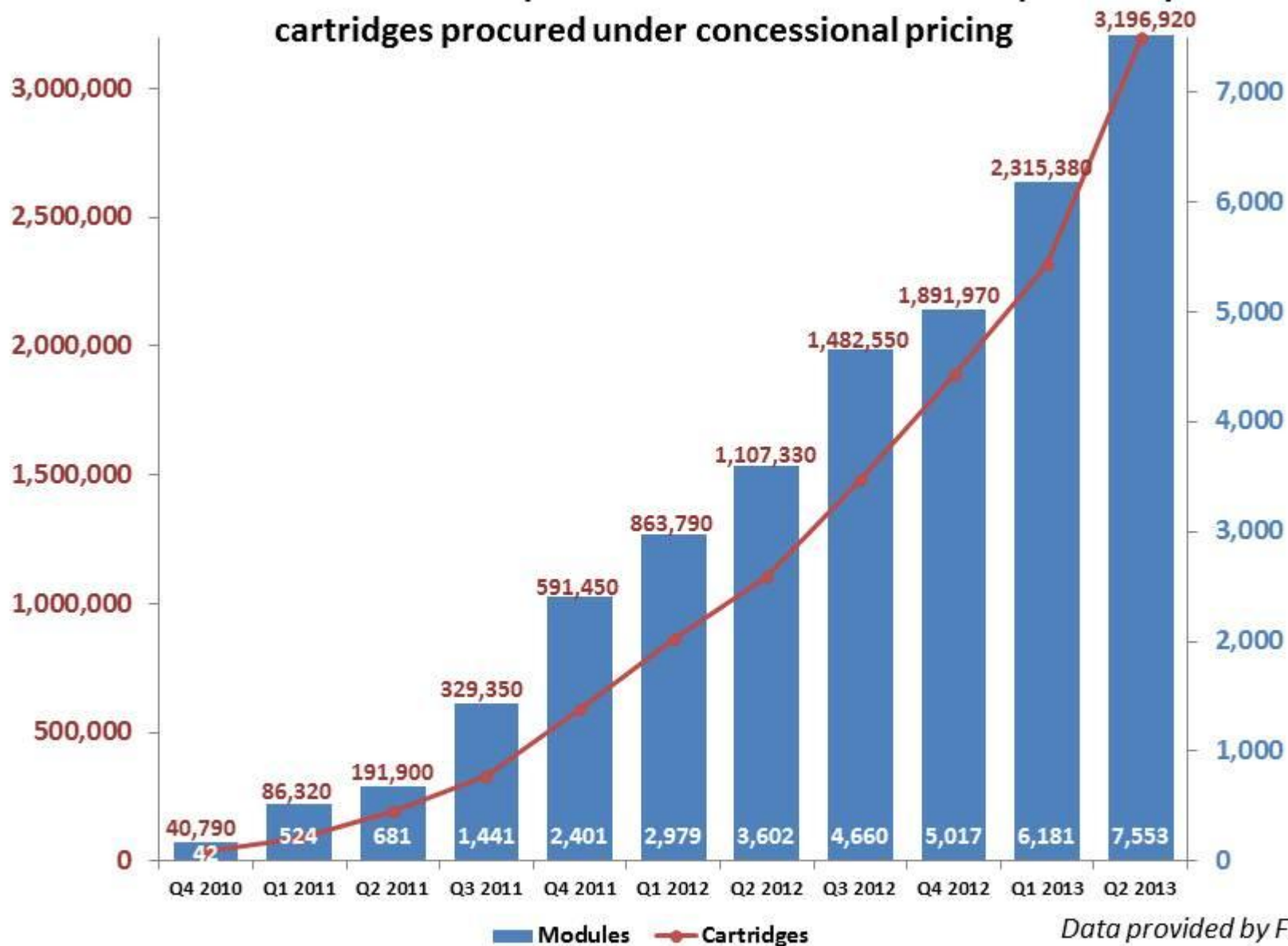
Xpert MTB/RIF Testi

- DSÖ tarafından kullanımı önerilmiştir, 2010
- DSÖ ÇİD-TB kuşkulu olgularda ve HIV+ TB kuşkulu olgularda başlangıç testi olarak kullanımını desteklemektedir, 2011
- Meta analiz; 18 çalışma, 10.224 örnek

Chang K, J Infect 2012

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Akciğer TB	90	98
Akciğer Dışı TB	80	86
Rifampisin R	94	97

Cumulative number of GeneXpert instrument modules and Xpert MTB/RIF cartridges procured under concessional pricing



Data provided by FIND

As of 30 June 2013, a total of 1,402 GeneXpert instruments (comprising 7,553 modules) and 3,196,920 Xpert MTB/RIF cartridges had been procured in the public sector in 88 of the 145 countries eligible for concessional pricing.

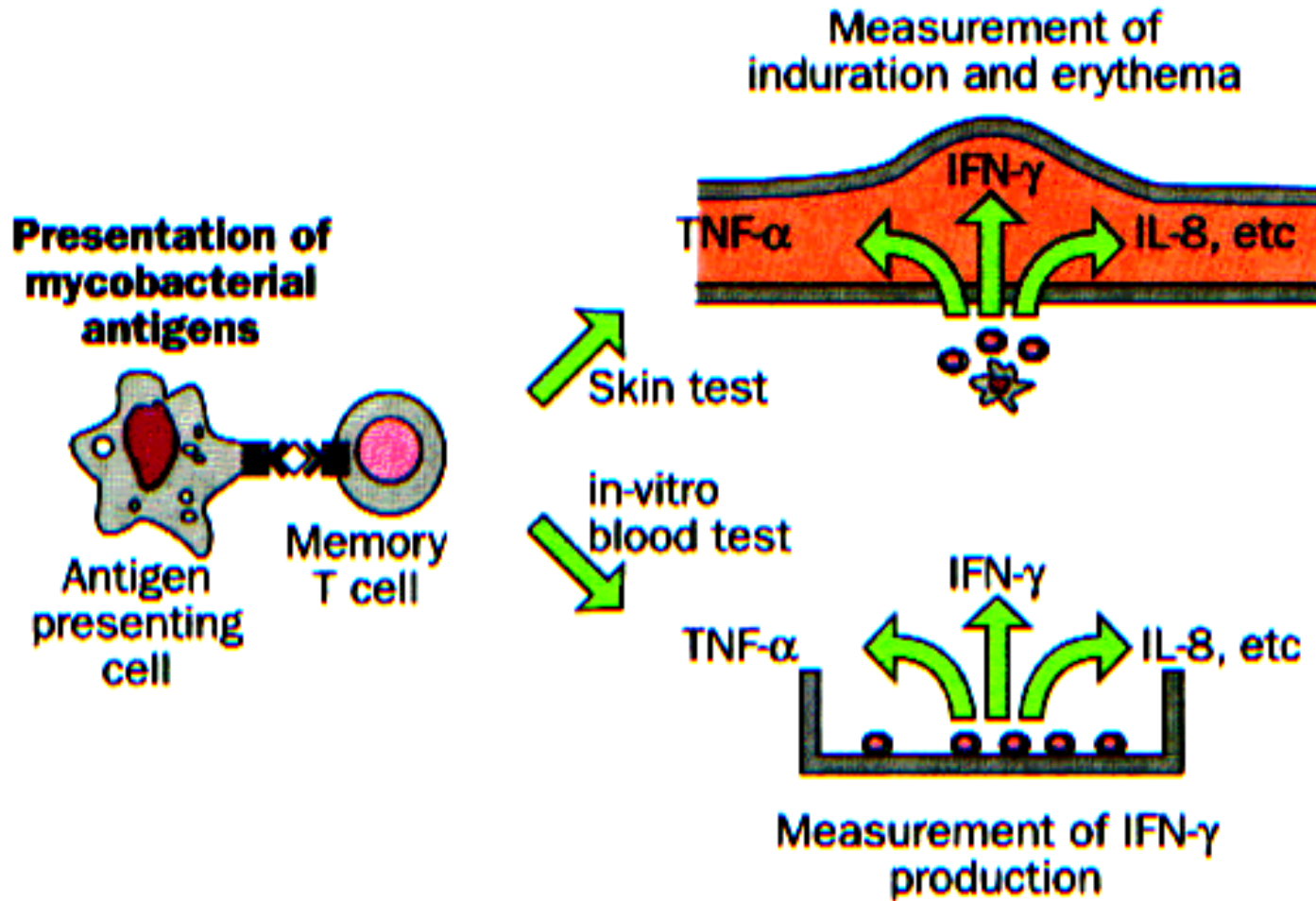
Xpert MTB/RIF Testi

- **Mikroskopik inceleme, kültür ve ilaç direnç testinin yerini alamaz**
 - Rif R kökenlerin %5'inde mutasyon incelenen gen bölgesinin dışındadır
- **Pahalı**
- **Sahada kullanıma uygun değil, pille çalışmaz**
- **Kitlerin raf ömrü 14 aydan uzun deėil**
- **Cihaz yıllık bakım gerektirir**

İnterferon Gama Salınım Testleri

- **Tüberküloz infeksiyonunun tanısı amacı ile geliştirilen T hücre temelli testlerdir**
- **Deri testine en önemli üstünlükleri *M. tuberculosis*'e özgü antijenlerin kullanılmasıdır**
 - ESAT 6
 - CFP10
 - TB7.7

Interferon Gama Salınım Testleri



iGST

- QuantiFERON-TB gold in tube (Cellestis, Avustralya)
- T spot TB test (Oxford Immunotec, İngiltere)



Figure 1. The T-SPOT.TB test for tuberculosis screening.

İGST Kullanım Alanları

- Kullanım endikasyonlarını belirlemek için 25 ülkeden ve 2 supranasyonel kuruluştan (DSÖ ve Avrupa CDC) 33 rehber yayınlanmıştır
- DSÖ düşük gelirli ülkelerde deri testi yerine İGST kullanımını önermemektedir, 2011
- Sağlık Bakanlığı tarafından TDT'nin sürdürülmesi, İGST testlerinin ancak TDT negatif olan (booster ile) ve kuvvetle LTBI düşünülen bağışıklığı baskılanmış ya da baskılayıcı tedavi alan kişilerde yapılması önerilmiştir

Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2011

İGST Kullanım Alanları

- **Aktif TB ile infeksiyonu ayırt edemez**
- **Tedaviye yanıtı izlemede kullanılmamalıdır**
- **İnfeksiyondan hastalığa geçişi göstermez**
- **Aktif hastalıkta duyarlılık %70-80, özgüllük %60-70**
- **Düşük insidanslı bölgelerde TDT'nin doğrulanması için kullanılabilir**

Sonuç

- **Mükemmel yöntem yoktur**
- **Son yıllarda mikrobiyolojik tanıda umut verici gelişmeler olmakla birlikte, duyarlı, özgül ve ucuz yöntemlere olan gereksinim sürmektedir**
- **Yeni tanı yöntemlerini rutinde kullanmadan önce kanıta dayalı değerlendirmeleri yapılmalıdır**