BÖLÜM 10

Çocuklarda Tüberküloz Tanı Yöntemleri

İ. Zafer Ecevit

Dünya genelinde tüberküloz (TB) hastalık yükünün önemli bir kısmını çocukluk çağındaki tüberküloz vakalarının oluşturmasına karşın çocukluk çağında tüberküloz tanısı, hastalığın posibasiler olması ve balgam örneği alınmasındaki güçlük nedeniyle zordur.

Tüberküloz hastalığının tanısı aşağıdaki 5 öğeden oluşur (1-4):

1. Tıbbi öykü
2. Fizik muayene
3. *M. tuberculosis* enfeksiyonu için testler
4. Akciğer grafisi
5. Klinik örneklerin bakteriyolojik olarak incelenmesi

Bu bölümde TB hastalığı ile ilgili tanı yöntemlerinden bahsedilecektir.

M. tuberculosis Enfeksiyonu İçin Testler

M. tuberculosis enfeksiyonu tanısında kullanılan 2 test,

- Tüberkülin deri testi (TDT) ve
- İnterferon-gamma salınım testidir (IGST).

Bunlar *M. tuberculosis* ile enfekte olan kişilerin enfekte olmayanlardan ayırt edilmesinde yardımcı olan testlerdir. Bu testler genel olarak latent TB tanısında kulla-

nılmakta ise de, latent TB tanısı için "altın standart testler" değildir. Tek başına bu testlerin pozitifliği söz konusu kişide TB hastalığı olduğunu göstermez. Aynı şekilde negatif olması da TB hastalığını ekarte ettirmez. TB hastalığı tanısı hiçbir zaman tek başına bu testlerle konulamaz, ancak klinik ve radyolojik bulguları TB ile uyumlu olan hastalarda tanıya yardımcı olarak kullanılırlar. Bu nedenle TB'den şüphe edilen hastalarda bu testlerin sonucu beklenilmeden, aynı anda diğer tanısal yöntemlere de başvurulması gerekir (1-4).

Tüberküloz Tanısında Tüberkülin Deri Testi (TDT)

M. tuberculosis ile enfekte kişilerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan test TDT'dir. Tüberkülin deri testi, mikroorganizmanın kültür filtratından elde edilen ve "tüberkülin" olarak adlandırılan antijenik komponentlere karşı (PPD: Purified Protein Derivative), *M. tuberculosis* enfeksiyonu olanların geçikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonu vermesi esasına dayanan bir testtir (1-4). TDT'de daha önce *M. tuberculosis* ile karşılaşmış (enfekte) kişilerde duyarlı hale gelmiş olan T lenfositler, tüberkülin uygulanan bölgeye yerleşerek lenfokin salımına, sonuç olarak da lokal vazodilatasyon, ödem, fibrin birikimi ve enflamasyona neden olurlar. TDT enfeksiyon alındıktan 2-8 hafta sonra pozitifleşir.

TDT (PPD) Uygulaması ve Okunması

Tüberkülin testinde standart olarak Mantoux yöntemi uygulanır. Bu yöntemde 5 tüberkülin ünitesi (TU) PPD içeren 0.1 ml PPD solüsyonu, tercihen ön kol iç (volar) yüzüne veya ön kol dorsal yüzüne, lezyonsuz, kılsız ve venlerden uzak bir bölgeye, intradermal olarak enjekte edilir. Enjeksiyon işlemi için 1 ml'lik 27-G iğnesi olan tek kullanımlık tüberkülin veya insülin enjektörü kullanılmalıdır. Doğru intradermal enjeksiyon için enjeksiyon sırasında iğnenin kesik ucunun yukarıya gelecek şekilde tutulmasına dikkat edilmelidir. Enjeksiyon doğru şekilde yapıldığında deride 6-10 mm çapında kabarıklık oluşması gerekir.

TDT'nin Değerlendirilmesi

Tüberküline reaksiyon enjeksiyondan 5-6 saat sonra başlar ve 48 - 72 saatte maksimum düzeye ulaşır. Bu nedenle testin değerlendirilmesi (veya okunması) eğitimli sağlık personeli tarafından enjeksiyondan 48 - 72 saat sonra yapılmalıdır. Eğer hasta enjeksiyondan 72 saat sonra değerlendirme için gelmemiş ise tüberkülin testi tekrarlanmalıdır (1,2). Bazı hastalar hızlı bir şekilde hipersensitivite reaksiyonu gösterebilir ve bu reaksiyon 24 saat içinde kaybolabilir; bu durum gecikmiş hipersensitivite reaksiyonu olarak değerlendirilmemelidir. Tüberkülin testine reaksiyon enjeksiyon yerinde endürasyon oluşmasıdır. Bu nedenle değerlendirmede yalnızca endürasyon ölçülür, eritemli alan ölçülmez. Endürasyon ışık altında ve palpasyonla değerlendirilebilirse de, bu şekilde okuma hatalarına sık rastlanılmaktadır. Okuma hatalarını

en aza indiren yöntem Sokal tarafından tanımlanmış olan "tükenmez kalem" yöntemidir.[5] Bu yöntemde tükenmez kalem kullanılarak her iki taraftan ön kolun uzun aksına paralel veya transfer olarak dışarıdan endürasyona doğru çok bastırılmadan deri tükenmez kalemle çizilir; kalemin ucunun takıldığı nokta endürasyon sınırı olarak belirlenir (1,2,5). İdeal olarak TDT okunması negatif veya pozitif şeklinde değil, rakamsal milimetre olarak belirtilmelidir. Endürasyon olmaması negatif olarak değil "0 mm" olarak rapor edilmelidir.

TDT'nin Yorumlanması

TDT, milimetre olarak ölçülen endürasyon ve hastadaki risk faktörlerine göre 5 mm, 10 mm, 15 mm ve üzerinde olması göz önünde bulundurularak, pozitif olarak değerlendirilir (**Tablo 1**). Negatif TDT latent TB enfeksiyonu veya tüberküloz hastalığını

Tablo 1: TDT'nin yorumlanması* (1-4)

TDT'nin > 5 mm olmasının pozitif kabul edildiği durumlar
- HIV pozitif hastalar
- Organ nakli yapılmış olanlar
- Bilinen veya şüpheli açık TB hastası ile yakın teması olan çocuklar
- Tüberküloz hastalığından şüphe edilen çocuklar:
  - Akciğer grafisi aktif veya geçirilmiş TB hastalığı ile uyumlu olanlar
  - Tüberküloz hastalığı ile uyumlu klinik bulguları olanlar
- İmmünosuprese hastalar veya immünosupresif tedavi** almakta olanlar
- Yakın zamanda enfeksiyöz TB hastası ile temas öyküsü olanlar
- Akciğer grafisinde iyileşmiş TB ile uyumlu fibrotik değişiklikleri olan hastalar
- Daha önceden TB hastalığı tanısı almış olanlar

TDT'nin > 10 mm olmasının pozitif kabul edildiği durumlar
- 4 yaşından küçük çocuklar
- Hodgkin hastalığı, lenfoma, diabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, malnütrisyon varlığı
- TB prevalansı yüksek bölgede/ülkede doğan çocuklar
- HIV enfekte erişkinler, evsizler, uyuşturucu kullananlar, bakım evlerinde yaşayanlar ile sık teması olan çocuklar
- Yüksek prevalansı olan bölgelere seyahat edenler
- İntravenöz uyuşturucu kullananlar
- Mikobakteri ile çalışan laboratuvar personeli

TDT'nin > 15 mm olmasının pozitif kabul edildiği durumlar
- Herhangi bir risk faktörü olmayan 4 yaşındakiler ve daha büyükler

** BCG aşısı yapılmış olanlarda da aynı kriterler geçerlidir*
***İmmünosupresif tedavilere kortikosteroid ve TNF-α antagonisti kullanımı da dahildir. Kortikosteroid kullanımının immünosupresif olarak kabul edilmesi için, günde 2 mg/kg veya daha yüksek dozda ya da vücut ağırlığı 10 kg'dan fazla olan çocuklar için 20 mg/gün ve üzerinde prednizon veya eşdeğerde diğer bir kortikosteroidin en az 14 gün veya daha uzun süreli kullanımı gereklidir.*

ekarte ettirmez. Kültür pozitif tüberkülozu olan ve immünosuprese olmayan çocukların %10-40'ı başlangıçta TDT'ye reaksiyon vermeyebilir.

TDT testi pozitif olanların radyolojik ve klinik olarak değerlendirilmesi gerekir. Semptomatik kişilerde TDT pozitifliği kuvvetle TB hastalığından şüphe ettirir. Semptomatik olmayan ve akciğer grafisinde TB ile uyumlu bulgu saptanmayan kişilerde TDT pozitifliği latent TB enfeksiyonu bulgusu olarak değerlendirilir (1-4).

Çocuklarda TDT Uygulama Endikasyonları (1-4)

- Kesin ya da şüpheli TB hastası ile temas öyküsü
- TB ile uyumlu klinik veya radyolojik bulguların varlığı
- TB enfeksiyonunun endemik olduğu ülkelerden gelenler/göç edenler ya da bu ülkelere seyahat etmiş olanlar (son 5 yıl içinde)
- HIV enfeksiyonu olanlar (bu hastalara yıllık olarak TDT yapılmalıdır)
- Latent TB enfeksiyonunun TB hastalığına ilerleme riski olan durumlar:
  - Diabetes mellitus
  - Kronik böbrek yetmezliği
  - Malnütrisyon
  - Konjenital ya da kazanılmış immün yetmezlik
  - İmmünosupresif tedavi alacak olanlar (uzun süreli/yüksek doz steroid, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) antagonisti)
  - Organ nakli yapılacak hastalar
- Aile fertlerinden birinde TDT pozitifliği saptanması durumunda diğer aile bireylerine TDT yapılmalıdır

TDT, TB tanısında değerli bir test olmasına karşın deri testindeki reaksiyon bazı faktörlerden etkilenebilmekte, yanlış pozitif veya negatif sonuç (**Tablo 2**) verebilmektedir.

TDT ile Aşı Etkileşimi

BCG, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, sarı humma, suçiçeği, oral tifo aşısı ve oral polio aşısı gibi canlı aşılar TDT ile etkileşerek yanlış negatif sonuç oluşmasına neden olabilirler (1-3). İnaktif aşıların TDT'yi etkilediğini gösteren herhangi bir kanıt yoktur. Genel kural olarak canlı aşılar ile TDT aynı anda uygulanabilir. Canlı aşı yapılmış olanlarda TDT 4-6 hafta geçtikten sonra uygulanmalıdır.

BCG Aşısı Yapılmış Olanlarda TDT Yorumu

Genel kural olarak, bilinen TB hastası ile teması olan ya da TB hastalığı için yüksek riske sahip olup daha önce BCG aşısı yapılmış olanlarda TDT'nin yorumlanması, BCG aşısı yapılmamış olanlar ile aynıdır. BCG aşısı yapılmış olanlarda TDT pozitifliğinin aşıya mı yoksa *M. tuberculosis* enfeksiyonuna mı bağlı olduğunun ayırımı zordur.

Tablo 2: Tüberkülin deri testine yalancı pozitif veya negatif yanıta neden olan faktörler (1-4)

Reaksiyon Tipi	Olası Nedenler
Yanlış pozitif	• Nontüberküloz mikobakteri enfeksiyonu • BCG aşısı yapılmış olması • Yanlış TDT uygulaması • Yanlış okuma
Yanlış negatif	• Anerji • Küçük yaş (6 aylıktan küçük) • İleri yaş • Kötü beslenme • İmmünosupresyon • Yakın zamanda TB enfeksiyonu geçirmiş olmak (temastan sonra ilk 8 hafta içinde) • Yaygın TB hastalığı • Canlı-virüs aşıları (aşağıdaki açıklamaya bakınız) • Son 6 hafta içinde kızamık aşısı yapılmış olması • Renal yetmezlik/hastalık • Eşlik eden viral, bakteriyel, fungal enfeksiyonlar • Lenfoid hastalıklar • Serum protein düşüklüğü • Yanlış TDT uygulaması • PPD solüsyonunun uygun olmayan şartlarda saklanması • Stres (cerrahi, yanık vb)

BCG aşısından sonra TDT'ye reaksiyon aşı yapılanların hepsinde görülmez, reaksiyon görülenlerde ise bu reaksiyon (endürasyon büyüklüğü) aşılama yaşı, aşıda kullanılan suş, aşılama sayısı, immünolojik durum ile beslenme durumu, aşılamadan sonra geçen zaman ve TDT sıklığına göre değişiklik gösterir. İnterferon gamma salınım testi BCG aşısı ile çapraz reaksiyon göstermediğinden TDT pozitif latent TB düşünülen 4 yaşından büyük hastaların ayrımında bu testin kullanılması tercih edilir (1-4).

İnterferon Gamma Salgı Testi Testi (IGST)

IGST, TDT gibi bir deri testi olmayıp kan testidir ve prensip olarak *M. tuberculosis*'e özgü ESAT-6, CFP-10 veya TB7.7 antijeni ile inkübe edilen T hücrelerin interferon gamma (IFN-γ) salgılaması esasına dayanır (6-10). Bu testlerin en önemli avantajı TDT'de olduğu gibi hastanın test sonucunu okumak için tekrar gelmesine gerek olmaması ve *M. tuberculosis* antijenine daha spesifik olmalarıdır. Bu nedenle BCG aşısı yapılmış olanlarda TDT'de olduğu gibi yalancı pozitiflik görülmez. IGST'nin en önemli dezavantajı ise maliyetinin yüksek olmasıdır. Kültür pozitif tedavi edilmemiş tüberkülozu olan çocuklarda TB enfeksiyonunu göstermede IGST ve TDT sensitivitesi benzerdir.

Ancak IGST'de kullanılan antijenler BCG ve *M. avium* kompleks'te bulunmadığından, IGST spesifitesi TDT'den yüksektir (5-9). Beş yaşından küçük çocuklarda IGST ile ilgili yeterli veri olmadığından, IGST'nin 5 yaş ve üzerindeki çocuklarda kullanılması önerilmektedir (9). Ancak kuvvetle TB hastalığından şüphe ediliyor ise 4 yaş ve daha küçük çocuklarda da kullanılabilir. Dünya Sağlık Örgütü IGST'nin düşük ve orta gelir düzeyli ülkelerde TDT yerine kullanılmasını önermemektedir (4). IGST'nin negatif prediktif değeri tam olarak bilinmemekle birlikte, TDT pozitif olan asemptomatik bir çocukta IGST'nin negatif olması o çocukta latent TB enfeksiyonu olasılığını uzaklaştırır. TDT ve IGST'nin karşılaştırmalı özellikleri **Tablo 3**'te gösterilmiştir.

Ticari olarak üç IGST mevcuttur. Bunlar QuantiFERON-TB Gold testi (QFT-G); QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT-GIT) ile T-SPOT TB testidir ve bu testler sırasıyla 2005, 2007 ve 2008 yıllarında kullanıma girmiştir.

QuantiFERON-Gold ve QuantiFERON-TB Gold in Tube testi spesifik *M. tuberculosis* antijeni ile inkübe edilen T-hücrelerin salgıladığı IFN-γ miktarını ELİSA yöntemi ile kantitatif olarak ölçer. Bu testte heparinli tüpe alınan kan örneği 16-24 saat süreyle spesifik *M. tuberculosis* antijeni ile inkübe edilir: eğer hasta *M. tuberculosis* ile enfekte ise kan hücrelerinin antijeni tanıması IFN-γ salımına neden olur. *M. tuberculosis* için TDT'ye göre daha spesifiktir fakat aynı sensitiviteye sahiptir.

T-SPOT TB testi diğerinden farklı olarak doğrudan IFN-γ miktarını değil, spesifik *M. tuberculosis* antijenine yanıt olarak IFN-γ salgılayan T-hücre sayısını ELISPOT (Enzyme-Linked Immunospot Assay) yöntemi ile gösterir. Sensitivite ve spesifitesi QuantiFERON Gold testi ile aynıdır.

IGST Yorumu

IGST sonucu pozitif, negatif veya *intermediate* (ne pozitif ne de negatif) olarak rapor edilir (**Tablo 4**). TDT'de olduğu gibi IGST de tek başına latent TB enfeksiyonu ile aktif TB hastalığını ayırt ettirmez. Aktif TB hastalığı tanısında TDT gibi yardımcı test olarak kullanılabilir. Diğer taraftan pozitif IGST, pozitif TDT'de olduğu gibi yalnızca enfeksiyonu gösterir ve hiçbir zaman TB hastalığını doğrulayıcı bir test olarak kullanılmaz (4,6-10). Aynı şekilde negatif IGST de negatif TDT'de olduğu gibi TB tanısını dışlamaz. IGST'de karşılaşılan önemli bir problem, özellikle küçük çocuklarda ve immünosuprese hastalarda *intermediate* sonuca sık rastlanılmasıdır.[7]

M. tuberculosis İçin Bakteriyolojik İnceleme

TB hastalığının bakteriyolojik tanısında klinik örneklerin incelenmesi tanının doğrulanması açısından çok önemlidir. TB için bakteriyolojik inceleme 5 temel kısımdan oluşur (1,2,4,11,12):

Tablo 3: TDT ve IGST'nin karşılaştırmalı özellikleri (6-10)

	TDT	**Tüpte QuantiFERON-TB Gold Testi (QFT-G veya QFT-GIT)**	**T-SPOT TB Testi**
Test prensibi	PPD'ye karşı gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu	Spesifik *M. tuberculosis* antijenine karşı salgılanan IFN-γ miktarı	Spesifik *M. tuberculosis* antijenine karşı IFN-γ salgılayan T-hücre sayısı
Ne gereklidir?	2 vizit Deneyimli personel, doğru uygulama ve ölçüm	1 vizit 3 ml kan (heparinli tüpe)	1 vizit 2, 4 veya 8 ml kan (testte kullanılan tüp büyüklüğüne göre)
Sensitivite	Genel olarak: %89-95 Çocuklarda: ~%90	Genel olarak: %70-83 Çocuklarda: ~%90	Genel olarak: %90-91 Çocuklarda: ~%90
Spesifite	Genel olarak: %85-86	Genel olarak: ~%90	
Kullanılan antijen	PPD (birçok antijen içerir)	ESAT-6, CFP-10 (QFT-GIT de TB 7.7)	
BCG ile çapraz reaksiyon	Var	Yok	
Non-TB mikobakteri ile çapraz reaksiyon	Var	*M. kansasii* *M. marinum* *M. szulgai* ile verebilir	
Boster Fenomen	Var	Yok	
Tek başına latent TB ile aktif TB hastalığını ayırt ettirici özellik	Yok	Yok	
Uygulama yaşı	Tüm yaş grupları	≥5 yaş	
Test maliyeti	Düşük	Yüksek	

1. Örnek toplanması ve hazırlanması
2. Aside dirençli basil (ARB) varlığının mikroskopik olarak araştırılması
3. Kültür ve identifikasyon
4. Klinik örneklerden nükleik asit amplifikasyonu (NAA) ile *M. tuberculosis'*in direkt tespiti
5. Anti-tüberküloz ilaç duyarlılık testleri

Tablo 4: QuantiFERON-TB Gold Testi Yorumu (6-10)

Sonuç	Yorum
Pozitif	*M. tuberculosis* enfeksiyonunu destekler
Negatif	*M. tuberculosis* enfeksiyonu tanısını desteklemez, Ancak, – Hastada TB belirti ve bulguları varsa veya – *M. tuberculosis* ile enfekte olduktan sonra TB hastalığı gelişme riski yüksek olan hastalarda tanı negatif sonuç ile dışlanamaz
İntermediate	Yorum yapmak için yeterli değildir. Bu durumda seçenekler şunlardır: – Testin tekrarlanması – TDT yapılması veya – Başka ek test yapılması gereklidir.

Örnek Toplanması ve Hazırlanması

Tüberküloz hastalığının doğru bakteriyoloik tanısında başlangıç noktası uygun örnek toplanması ve bu örneklerin uygun şartlarda laboratuvara naklinin sağlanmasıdır. Tüberkülozun bakteriyolojik tanısı için yeterli laboratuvarlarda bile iyi örnekleme yapılmamış ise bakterinin izole edilmesi ya da tanısal testlerde pozitif sonuç oranı çok düşüktür. Bu nedenle tanı için uygun şekilde örnek toplanması, tüberkülozun bakteriyolojik tanısında en önemli adımdır. Bakteriyolojik tanıda kullanılabilecek örnekler aşağıda sıralanmaktadır (1,2,4,12-14):

Pulmoner TB'de:

- Balgam
- Gastrik aspirasyon materyali (açlık mide sıvısı)
- Balgam indüksiyonu
- Bronkoskopik örnekler (yıkama, fırçalama, biyopsi)
- Akciğer biyopsi materyali

Ekstrapulmoner TB'de (anatomik lokalizasyonuna göre, pulmoner TB ile birlikte ya da olmadan):

- İdrar
- Kan
- Abse materyali
- Beyin omurilik sıvısı
- Biyopsi materyali
- Plevral sıvı ve diğer vücut sıvıları

- Sinovyal sıvı
- Kemik iliği
- Doku biyopsileri

Pulmoner tüberküloz tanısı için en uygun örnek balgam veya küçük çocuklarda açlık mide sıvısıdır (1-4). Aşağıda belirtilen dört örnek toplama yöntemi pulmoner TB hastalığı tanısında kullanılabilir:

Pulmoner TB Hastalığının Tanısı İçin Balgam Örneği Toplanması

Pulmoner TB tanısı için dört tip örnek toplama yöntemi vardır (1-4,13,14):

- Öksürterek balgam örneği alınması
- İndüklenerek balgam örneği alınması
- Bronkoskopik örnek alımı (yıkama, fırçalama, biyopsi)
- Gastrik aspirasyon

Balgam örneği alınması küçük çocuklarda uygun bir yöntem olmamakla birlikte, büyük çocuk ve adolesan yaş grubunda uygulanabilir bir yöntem olduğundan kısaca değinilecektir.

Balgam Örneği Alma Endikasyonlar (1-4,13,14)

1. TB'nin başlangıç tanısını koymak
2. Hastanın bulaştırıcılığını takip etmek
3. Tedavi etkinliğini değerlendirmek
   1. *TB tanısı için:* Tüberküloz tedavisine başlanmadan önce, en az birisi erken sabah örneği olmak üzere, 8-24 saat aralıklarla en az 3 balgam örneği alınmalıdır. Balgam örneği ideal olarak antimikrobiyal ilaç başlanmadan önce alınmalıdır. Balgam örneği alınırken önce hasta ağzını suyla çalkalamalı ve daha sonra derin öksürükle çıkardığı balgamı steril bir kap içine koymalıdır.
   2. *Bulaştırıcılığı takip ve hastayı izolasyondan çıkarmak için:* Eğer başlangıç balgam veya gastrik aspirasyon yayması pozitif ise, tedavi almakta olan hastanın en az ardı sıra alınan 3 yayma negatif oluncaya kadar izolasyonuna devam edilmelidir.
   3. *Tedavi etkinliğini değerlendirme (Monitörizasyon):* Başlangıçta kültür pozitif hastalarda kültür sonucu negatifleşinceye kadar ayda en az bir kez balgam veya gastrik aspirasyon kültürü alınmalıdır.

Balgam Örneği Alınırken Dikkat Edilmesi Gereken Durumlar (1-4,14,15)

- En iyi balgam örneği akciğerlerden çıkarılan örnek olduğundan, balgam örneği alınırken burun ve boğazdan çıkarılan mukus, tükürük veya nazal sekresyonların alınmamasına dikkat edilmelidir.

- Test sonucunu etkilediğinden, balgam örneği içinde besin maddeleri bulunmamalıdır.
- Yeterli kalite ve hacimde örnek alınmasına dikkat edilmelidir. En iyi sonuç için alınan balgam örneği pürülan/mukoid özellikte ve 1-5 ml hacimde olmalıdır.

Tüberküloz için balgam örneği alınırken çevredekilere bulaşmanın önlenmesine çok dikkat edilmesi gerekir, aşağıda belirtilen önlemler bulaşmanın önlenmesinde çok önemlidir (1-4,14)

- Hasta öksürürken ağzını kapatmalıdır.
- Laboratuvarda kesinlikle balgam örneği alınmamalıdır.
- Balgam örneği sıkı hava yolu izolasyonu olan odada (negatif basınçlı oda) veya açık havada alınmalıdır.
- Örnek almaya yardımcı olan ve aynı odada bulunanlara hava yolu izolasyon önlemlerinin uygulanması ve bu kişilerin N-95 respiratör tip maske kullanmaları gerekir. Bu işlem TB şüphesi bulunan hastalara yapılan bronkoskopi sırasında da uygulanmalıdır.
- Balgam örneği alınması sırasında yardımcı olan kişiler –varsa– kesinlikle hastanın önünde durmamalıdır.
- TB şüpheli hastalardan alınan örnekler sızıntı yapmayan steril, tek kullanımlık kaplar içinde ve kapağı sızıntı yapmayacak şekilde iyi kapatılmış olarak, 1 saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Örnek toplamada 50 ml'lik steril, polipropilen santrifüj tüpünün kullanılması tercih edilir.

Öksürterek Balgam Örneği Alınması (1-4,13)

Hastaya, öksürerek akciğerinden çıkaracağı balgamın tanı için iyi bir örnek olduğu anlatıldıktan sonra, hastanın öksürerek balgamını çıkarması sağlanmalıdır. İdeal örnekleme şu şekilde yapılmalıdır:

1. Hastanın ağzı suyla çalkalatılarak besin artıklarının ve diğer partiküllerin uzaklaştırılması sağlanır.
2. Hasta 2-3 defa derin nefes alır ve her nefes almadan sonra kuvvetle ekspiryum yapar.
3. Derin bir öksürük ile balgam çıkarır.
4. Balgam doğrudan doğruya kap içine konulur ve kapağı sıkıca kapatılır. Bu işlem sırasında kabın dışına balgam bulaştırılmamalıdır.
5. Örnek alımından sonra eller iyice yıkanır.

İndüksiyon ile Balgam Örneği Alınması

Öksürerek balgam çıkaramayan hastalarda uygulanır. İndüksiyonla balgam örneği

alınması küçük çocuklarda ve infantlarda güçtür. Büyük çocuklarda uygulanabilir (2-4,12,13).

- Bu işlemde önce ıslak bir diş fırçasıyla yanak mukozası, diş etleri ve dil nazikçe fırçalandıktan sonra ağız suyla çalkalanır.
- Ultrasonik nebulizer kullanılarak hastaya 20-30 ml ılık steril hipertonik sodyum solüsyonu (%3-%5) inhale ettirilir, ardından öksürtülerek balgam örneği alınır.
- Bu şekilde alınan örnekler sulu olup tükürüğe benzerlik gösterdiğinden, laboratuvarda uygun olmayan örnek olarak kabul edilerek atılmaması için, indüklenerek alınmış balgam örneği olduğu belirtilmelidir.

Bronkoskopik Örnek Alımı

TB tanısında bronkoskopi asla balgam toplama yerine kullanılmamalıdır (1,2,12). Ancak ilave bir tanısal yöntem olarak yararlanılabilir. Tanının şüpheli olduğu durumlarda bronkoskopi, en az 3 balgam/gastrik aspirasyon sıvısı yaymasında direkt ARB (aside rezistan bakteri) negatifliği saptanarak hastanın nonenfeksiyöz olduğu saptanıncaya kadar geciktirilmelidir. Bronkoskopi ile bronşiyal yıkama, fırçalama ve biyopsi materyali tanı için kullanılabilir. TB şüphesi olan hastaya bronkoskopi yapılırken sağlık personeli bulaşmadan korunmak için N95 respirator kullanmalı ve bronkoskopi odası hava yolu izolasyonuna uygun olmalıdır.

Gastrik Aspirasyon (Açlık Mide Suyu):

Küçük çocukların çoğu balgam çıkarmayı beceremediği için, çocukluk çağında TB hastalığı tanısında gastrik aspirasyon sıvısı sık kullanılır. Klinik olarak tüberkülozdan şüphe edilen çocuklarda gastrik aspirasyon materyalinden kültür pozitifliği oranı yaklaşık %10-50 arasındadır. Gastrik aspirasyonda en yüksek pozitiflik oranı küçük bebeklerde ve genellikle ilk gastrik aspirasyon örneğinde saptanmaktadır.

İdeal olanı gastrik aspirasyonun, en az 6 saat uyumuş çocuklarda sabah uykudan uyandıktan sonra, aç karnına yapılmasıdır. Gastrik aspirasyon için hastanın hastanede yatırılması gerekmez, ayaktan takip edilen hastalarda da bu işlem yapılabilir. Tanı için gastrik aspirasyon örneği alınacak ise, günde bir kez olmak üzere birbirini takip eden 3 günde 3 örnek alınmalıdır (1-4,13,14).

Gastrik Aspirasyon İçin Hastanın Hazırlanması

1. Gastrik aspirasyon yapılacak hasta, midenin boşalmasını önlemek için gece yarısından sonra ağızdan bir şey almamalıdır.
2. Hastaya en az 6 saatlik uyku sonrası uyandıktan sonra, herhangi bir şey yiyip içmeden önce, burnundan nazogastrik (NG) tüp yerleştirilir. Bu işlemde burun ile mide arasındaki mesafe ölçülerek kateter bu uzunlukta yerleştirilmelidir. Mümkün olduğu kadar büyük ölçüde NG tüp kullanılmalı (minimum 10F), NG

tüpün pilordan öteye geçmemesine dikkat edilmelidir. Aspirasyon sırasında kullanılacak ideal enjektör en az 30 ml'dir.

Gastrik Sıvının Alınması

- NG tüp yerleştirildikten sonra 30-60 ml gastrik sıvı aspire edilir. Eğer 10 ml'den az mukus aspire edildiyse 20-30 ml steril su (steril distile su olabilir) NG tüple mideye gönderilir ve hızla geri çekilir.
- TB basilinin canlılığını yitirmesine neden olacağından gastrik aspirasyonda kesinlikle serum fizyolojik kullanılmaz (1,14).
- Aspire edilen gastrik sıvı bikarbonat içeren özel gastrik aspirasyon tüpüne konulur, kapağı sıkıca kapatıldıktan sonra hızlı bir şekilde, zaman kaybetmeden mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilir. Eğer bikarbonat içeren özel gastrik aspirasyon tüpü temin edilemiyorsa, alınan gastrik sıvı, steril bir tüp (en az 50 ml'lik kapaklı plastik santrifüj tüpü) içine konularak hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılır. Alınan örnek bir saatten kısa sürede oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu şekilde gönderilen gastrik sıvının laboratuvarda yarım saat içinde bikarbonat ile işlemden geçirilerek mide asidinin nötralize edilmesi gerekir (1,14).

Diğer Yöntemler

Nazofaringeal aspirasyon kültürü: Nazal kanül öksürük refleksini uyardığından, nazofaringeal aspirasyon ile alınan örneklerden kültür ve ARB aranmasında Peru'lu çocuklarda %30 pozitif sonuç elde edilmiştir ama sonraki çalışmalarda kültür pozitifliği çok düşük olduğu saptandığından bu uygulama önerilmemektedir (15,16).

Dışkı kültürü: Küçük çocuklar balgamı yuttuğundan TB için dışkı kültürü yapılması solunum yolu sekresyonlarının indirekt analizi olarak düşünülmüştür ancak bu yöntemin duyarlı olmadığı anlaşılmıştır.[3]

String Test (İp Testi): Orijinal olarak giardiazis tanısı için geliştirilmiş bir testtir. Bu testte hastalara, içinde katlanmış naylon iplik bulunan ve mide asidiyle eriyen bir jelatin kapsül yutturulur. Yutulduktan 4 saat sonra ip ağızdan geri çekilerek mikobakteri için kültür yapılır. Bu test HIV enfekte erişkinlerde TB tanısında indüksiyon ile balgam örneği alınmasından daha iyi sonuç vermektedir ama çocuklarda yeterli derecede çalışılmamıştır (1,3,17).

Ekstrapulmoner TB İçin Örnek Alınması

Ekstrapulmoner TB tanısında lokalizasyona göre değişik örnekler (idrar, plevral sıvı, beyin omurilik sıvısı gibi) alınabilir. **Tablo 5**'te bu örneklerin alınma özellikleri gös-

terilmektedir. Histolojik inceleme için formalin içine alınan örneklerin kültüre uygun olmadığı özellikle akılda bulundurulmalıdır.

Örnekler Laboratuvara Gönderilirken Dikkat Edilmesi Gerekenler
Örneklerin kaplarının üzerine
- Örneğin alınma tarihi ve saati
- Ne örneği olduğu
- Hasta bilgileri (yaş, cinsiyet, kayıt numarası)
- Takip ve tedavi eden bölüm
- Ne istendiği (kültür, ARB aranması vb)
- Gönderen hekimin adı okunur şekilde yazılmalıdır
- Örnekler oda sıcaklığında, bir saatten kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalıdır.

ARB Varlığının Mikroskopik Olarak Araştırılması
Mikroskopik Olarak ARB Aranması
Mikroskopik olarak ARB aranmasının amacı klinik örnekler ve kültürlerde aside dirençli basilin saptanmasıdır. Mikroskopik olarak hem canlı hem de canlılığını yitirmiş basiller ARB boyaması ile görülür. Bütün mikobakteriler aside dirençli olduğundan mikroskopik olarak *M. tuberculosis* ile diğer tipler ayırt edilemez. Erişkinlerde ve çocuklarda balgam örneklerinin ARB için sensitivitesi %34 ile %80 arasında değişir. Gastrik aspirasyon sıvısı alınan küçük çocukların ise <%20'sinden azında mikroskopik incelemede ARB saptanmaktadır (1-4,11,16,21).

Balgam ve diğer respiratuar örnekler ile gastrik aspirasyon sıvısı yaymasında mikroskopik olarak ARB aranması TB tanısında standart test olarak kullanılır (1-4). Boyanmış yaymalarda ARB aranmasında sonuçlar, takipteki yayma sonuçları ile karşılaştırılabilmeleri için, aşağıda belirtildiği şekilde standardize edilmiş olarak raporlanır. Yaymaların mikroskopik incelenmesinde ARB, genellikle basil sayısı mililitrede 5000 ile 10,000 olduğunda görülmektedir (1-4,15).Yaymalarda görülen ARB, *M. tuberculosis* dışındaki diğer aside dirençli bakterilere de bağlı olabileceğinden (Nokardiya gibi), yaymanın ARB için pozitif olması kesin TB'yi değil yalnızca TB olasılığını gösterir. Diğer taraftan yaymanın ARB negatif olması ile de TB tanısı dışlanamaz. Mikroskopide saptanan ARB'nin *M. tuberculosis* veya diğer non-tüberküloz mikobakteriler olduğunun ayırımı da yapılamaz (1-4).

Mikroskopik olarak ARB aranmasında direkt mikroskop veya floresan mikroskop kullanılabilir. Buna göre kullanılan boyama farklılık gösterir. Direkt mikroskopla ARB aranacak ise Kinyoun veya Ziehl-Neelsen boyaması, floresan mikroskop kullanılacak ise florokrom boyamalar; auramin-O veya auramin-rodamin boyaması kullanılır. Ziehl-Neelsen boyaması yaymalardan direkt ARB aranmasında kullanılması dışında, pozitif kültürlerde ARB varlığının doğrulanması için de kullanılmaktadır (1-4).

Tablo 5: Ekstrapulmoner TB tanısında örnekleme (1-4,12,14,17-20)

Örnek	Önerilen alınma zamanı	Volüm	Örnek alma sıklığı	Transport	MTBC* için önerilme
İdrar	Sabah ilk idrar örneği (orta idrar örneği veya kateter ile alınan idrar)	Minimum 10-15 ml, 40 ml kadar örnek tercih edilir	Günde bir örnek olmak üzere 3 gün	1 saat içinde laboratuvara ulaştırılamayacaksa buzdolabında saklanmalıdır	Evet
Dışkı	Öneri yok	Minimum volüm 1 gram	Öneri yok	1 saat içinde laboratuvara ulaştırılamayacaksa buzdolabında saklanmalıdır (dondurulmamalıdır)	AIDS'li hastalarda dissemine mycobacterium avium complex (MAC) tanısı için kullanılabilir
Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)	Yok	Minimum 2-3 ml; optimum 10 ml	Öneri yok	Örnek alındıktan sonra hızla laboratuvara ulaştırılmalı, buzdolabında saklanmamalıdır	Kültür sensitivitesi düşüktür
Plevral, peritoneal, perikardiyal, sinovyal sıvılar	Yok	Minimum 10 ml, optimal olarak 10-15 ml	Öneri yok	Laboratuvara ulaşması gecikecekse buzdolabında saklanmalıdır	Evet
Dokular ve Lenf nodu	Yok	Doku örneği alınır alınmaz 2-3 ml steril SF ilave edilmelidir	Öneri yok	En kısa zamanda oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır, (formalin, fiksatif veya prezervatif kullanılmamalıdır)	Evet

Kan	Yok	Minimum 5 ml, 10 ml tercih edilir. EDTA'lı tüpe konulmamalıdır, heparin veya normal steril tüp içine alınmalıdır	Öneri yok	Oda sıcaklığında laboratuvara ulaştırılmalıdır, buzdolabında saklanmamalı veya dondurulmamalıdır	Başlıca AIDS'li hastalarda dissemine mycobacterium avium complex (MAC) tanısında kullanılır

MTBC: *Mycobacterium tuberculosis complex

Auramin–O boyamada basil parlak sarı floresan verir, zemin siyahtır; auramin-rodamin boyamada basil sarı-kırmızı floresan verir, zemin siyahtır. Florokrom boyamalar Ziehl-Neelsen boyamaya göre daha sensitiftir. Bunun başlıca nedeni basilin parlak renkte görülmesi nedeniyle daha kolay fark edilmesi ve floresan mikroskopta küçük büyütme kullanılması nedeniyle daha geniş bir alanın taranmasıdır (1-4).

Ziehl-Neelsen yöntemiyle boyamada ARB kırmızı renkte görülür, zemin mavidir (**Şekil 1**).

Yaymada ARB pozitifliği, 1000x büyütmedeki ARB sayısına göre 1 ile 4 pozitif arasındaki değerler ile rapor edilir. Rakam büyüdükçe hastanın daha fazla bulaştırıcı olduğunu gösterir. Bu değerlerin yorumlanması ve ne anlama geldiği **Tablo 6**'da gösterilmiştir.

TB Tanısında Kültür

TB tanısında bütün örneklerden ARB ve NAA test sonucuna bakılmaksızın TB kültürü yapılmalıdır.

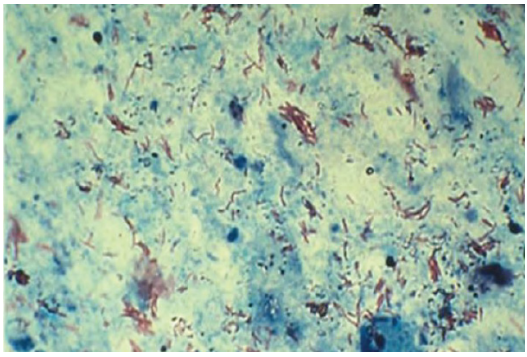
TB tanısında kültür için sıvı (likit) veya katı (solid) besiyerleri kullanılabilir. Sıvı besiyerlerine ekimin en önemli avantajı kültürlerin daha kısa sürede sonuçlanmasıdır.

Kültürlerde *M. tuberculosis* izole edilmesi tanıyı doğrular ancak negatif kültür sonucu TB hastalığı tanısını ekarte ettirmez; klinik belirti ve bulgular ile TB hastalığı tanısı konulan bazı hastalarda, özellikle de çocukluk çağında kültürlerin negatif olabileceği akılda tutulmalıdır.

Sıvı (Likid) Kültür (MGIT:Mycobacteria growth indicator tube):

Sıvı kültürlerin temel amacı *M. tuberculosis'*in sıvı kültür ortamında (MGIT) üremesini kolaylaştırarak pozitif örneklerin hızla tanınmasını sağlamaktır. Değişik sıvı kültür sistemlerinde (BACTEC, MGIT, VersaTREK, MBBACT gibi) 4-14 günde üreme saptanır (3,17,19,22,23).

BACTEC MGIT 960 sıvı kültür sisteminde üreme



Şekil 1: Ziehl-Neelsen boyamada ARB

Tablo 6: ARB için yayma sınıflaması ve yorumu (1)

Yayma sonucu (1000x büyütme ile; objektif 100x, oküler 10x olarak)	Yorum	Bulaştırıcılık
4+ (>9 basil/bir mikroskop alanında)	Kuvvetli pozitif	Çok bulaşıcı
3+ (1-9 basil/bir alanda)	Kuvvetli pozitif	Çok bulaşıcı
2+ (1-9 basil/10 alanda)	Orta derecede pozitif	Bulaşıcı
1+ (1-9 basil/100 alanda)	Orta derecede pozitif	Bulaşıcı
+/- (1-2/300 alanda)	Zayıf pozitif/Şüpheli	Bulaşıcı
ARB görülmüyor	Negatif	Muhtemelen bulaşıcı değil

sinyali alınıncaya kadar geçen zamana göre bakteri yükü semikantitatif olarak hesaplanabilir. Sıvı kültür sistemleri içerdikleri zenginleştirilmiş besi ortamında mikobakterinin hızla çoğalmasını sağlarken, örneği kontamine etmiş olan diğer bakterilerin üremesini inhibe edici antibiyotik kokteyli içerirler. Bu sistemlerde prensip olarak mikobakteri varlığının saptanması, üreme sırasında tüp içinde oksijenin azalmasına bağlı olarak tüp içeriğinde bulunan floresanın belirginleşmesinin UV ışığı ve kompleks bilgisayar algoritimleri kullanılarak otomatik olarak saptanmasına dayanır.[1-4]

Solid Kültür, Lowenstein Jensen (LJ) Besiyeri

Çeşitli solid kültür ortamları arasında, hazırlanmasının kolay ve ucuz olması ve üreyen mikroorganizmanın karakteristik koloni morfolojisi göstermesi nedeniyle, en sık kullanılanı LJ besiyeridir. Gerekli işlemlerden geçirilen örnekler (dekontaminasyon, konsantrasyon gibi) LJ besiyerine ekilir. Solid kültürlerde 3-6 haftada üreme saptanır (1,2).

Sıvı veya katı besiyerinde üreme saptandıktan sonra ikinci aşama üreyen bakterinin tipinin belirlenmesidir. Bu işlem için nükleik asit amplifikasyon testi kullanılırsa 2-4 saatte, biyokimyasal testler kullanılırsa 6-12 haftada sonuç alınır (3,18).

Tedaviye Başlandıktan Sonra Takip Kültürleri
Başlangıçta kültür pozitifliği olan hastalarda, TB tedavisine başlandıktan sonra hastanın bulaştırıcılığını ve tedaviye yanıtını değerlendirmek için takip kültürleri yapılmalıdır. Bu kültürler aylık olarak peş peşe alınan 2 kültür negatif çıkıncaya kadar tekrarlanmalıdır. Pozitif kültürlerin tedavi almakta olan hastada negatifleşmesi, tedaviye yanıtın en objektif bulgusudur (1,2).

Klinik Örneklerden Nükleik Asit Amplifikasyon Testi (NAAT) ile *M. tuberculosis*'in Direkt Tespiti

Nükleik Asit Amplifikasyon Testi (NAAT)
NAAT genellikle kültür ve mikroskopi negatif örneklerde TB saptanmasında ya da kültürde üreyen *M. tuberculosis*'in atipik mikobakterilerden ayırt edilmesi ile tiplendirilmesinde ve antitüberküloz ilaçlara dirence neden olan genetik mutasyonların saptanmasında kullanılmaktadır (3,12,17,18).

Klinik örneklerde bulunan bakterinin DNA veya RNA segmentini amplifiye ederek *M. tuberculosis*'in direkt olarak kültür yapmadan saptanmasını sağlayan bir testtir. Kan, balgam, gastrik aspirasyon sıvısı, idrar, beyin omurilik sıvısı, plevral sıvı ve diğer vücut sıvıları ile doku örneklerinden çalışılabilir. Değişik nükleik asit amplifikasyon testleri vardır. Bu testlerin çoğunda mikobakteriyel IS6110 DNA saptanır (3,12,17,18).

NAAT'nin avantajları: TB hastalığına daha erken tanı konularak tedavinin erken dönemde başlamasını sağlaması, sonuç olarak hastaların prognozunda iyileşme ve hızlı tanı sayesinde solunum yolu izolasyonu ve koruyucu önlemlerin erken alınmasını sağlayarak bulaşmanın azaltılmasına yardımcı olması, Nükleik Asit Amplifikasyon testinin en önemli avantajını oluşturmaktadır. En önemli dezavantajı ise yüksek maliyet, özel ekipman gerektirmesi ve ancak iyi standardize edilmiş laboratuvarlarda deneyimli kişiler tarafından yapılabilmesidir (3,12,17,18).

NAAT Yorumu (3,12,17,18)
- Eğer NAAT pozitifliği ile birlikte yaymada ARB pozitif ise, hastanın TB olduğu kabul edilerek tedaviye başlanmalıdır.
- NAAT negatif, ama yaymada ARB pozitif ise, hasta nontüberküloz mikobakteri enfeksiyonu yönünden değerlendirilmelidir.
- Klinik olarak TB hastalığı şüphesi orta veya yüksek derecede ise, tek bir negatif NAA test sonucu TB hastalığını dışlamada kullanılmamalıdır.

– Prensip olarak bu test, yaymada ARB aranması, kültür veya klinik değerlendirme ile tanı için karar verme yerine kullanılmaz.

Antitüberküloz İlaç Duyarlılık Testi

TB tedavisinde uygun anti-TB ilacın seçilerek hastaların etkili şekilde tedavisinin yapılması ve direnç gelişiminin önlenmesi için, bütün hastalardan başlangıçta izole edilen *M.tuberculosis* izolatlarının birinci basamak anti-TB ilaçlar olan streptomisin, izoniazid, rifampisin, etambutol ve pirazinamid duyarlılığı belirlenmelidir. Duyarlılık sonucuna göre de klinisyenlerin, hastalarının tedavisi için uygun olan ilaçları seçmesi gerekir. Anti tüberküloz ilaç duyarlılık testi için en çok MIGT 960 sistemi kullanılır. İlaç duyarlılık testleri, en az 3 ay süreyle uygun tedavi almasına karşın tedaviye yanıtı olmayan ve kültür pozitifliği devam eden hastalarda tekrarlanmalıdır.

İkinci seçenek olan anti-tüberküloz ilaçların (florokinolonlar; gatifloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, ofloksasin ve enjektabl ilaçlar; amikasin, kapreomisin, kanamisin) duyarlılık testleri referans laboratuvarında yapılmalıdır.

Aşağıdaki durumların varlığında ikinci seçenek anti-TB ilaçlara duyarlılık testi yapılması gerekir:

– Daha önce TB tedavisi almış olan hastalar
– Birinci seçenek ilaçlara direnci olan hastalar
– En az 3 ay tedaviden sonra kültür pozitifliği devam edenler
– Tedavi ile klinik iyileşme gözlenmeyen hastalar
– Anti-TB ilaçlara dirençli hasta ile temas öyküsü olan hastalar

Anti-TB ilaç direnç tipleri **Tablo 7**'de gösterilmektedir.

Tablo 7: Tüberküloz ilaçlarına direnç tipleri

Direnç tipi	Tanımlama
Tek ilaca direnç (Mono-resistant)	Tek bir anti-TB ilaca direnç olması
Poli-direnç (Poly-resistant)	İzoniazid ve rifampisin dışındaki diğer anti-TB ilaçlardan en az ikisine direnç olması
Multi-direnç (MDR TB; Multidrug resistant)	Rifampisin ve izoniazidin ikisine birden direnç olması
İleri derecede ilaç direnci (Extensively drug-resistant; XDR TB)	Rifampisin ve izoniazide direnç ile birlikte florokinolonlardan birine direnç ve üç enjektabl ikinci seçenek ilaçtan (amikasin, kanamisin, kapreomisin) en az birine direnç olması

Anti-TB İlaç Direncinin Moleküler Testlerle Gösterilmesi

TB ilaçlarına direnç, moleküler yöntemlerle bakterinin DNA sekansında dirence neden olan spesifik mutasyonların gösterilmesi ile de saptanabilir. Anti-TB ilaç direnci ile ilgili mutasyonları saptamada kullanılan değişik testler vardır (25). Bunlardan biri olan *Line-probe assay*'de ilaç direncine neden olan gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu ile (PCR) amplifiye edildikten sonra, bu bölgeye spesifik prob ile bağlanıp bağlanmadığına bakılarak mutasyon saptanır.[24] PCR amplifikasyonun sonrası DNA sekans analizi ile mutasyon saptanması diğer bir yöntemdir. Real-time PCR de mutasyon analizinde kullanılmaktadır.

İlaç direnci ile ilişkili bütün mutasyonlar bilinmediğinden, moleküler testlerde mutasyon saptanmaması tek başına ilaç direnci olmadığını göstermeyebilir. Bu nedenle böyle durumlarda yorum yapılırken klasik duyarlılık testi sonuçları da göz önünde bulundurulmalıdır.

İlaç Direncinin Moleküler Testlerle Gösterilme Endikasyonları (24)

Aşağıdaki durumların varlığında ilaç direncini saptamada moleküler testler kullanılmalıdır

- Birinci seçenek ilaçlara duyarlılık testi yapılmış ve rifampisine direnç saptanmış ise
- Birinci seçenek olarak kullanılması gereken ilaçların kullanımı için kontrendikasyon var ise (rifampisin alerjisi gibi)
- Rifampisin direnci ve MDR-TB için yüksek risk var ise (daha önce tedavi almış hastalar, MDR-TB'li hastalar ile temas öyküsü olması, yüksek riskli ülkede doğmuş olmak gibi)
- Duyarlı kişilere hastalığı bulaştırma riski olanlar (kreş ve bakımevinde çalışanlar, hemşireler gibi)

Xpert MTB/RIF Assay

İki saatten kısa bir sürede aynı anda hem TB varlığını hem de rifampisin direncini saptayan, hızlı ve otomatize edilmiş bir nükleik asit amplifikasyon testidir (25,26).

TB tanısında yayma mikroskopisinden çok daha sensitiftir. Solid LJ kültürü ile aynı sensitiviteye sahip olmasına karşın, solid kültürlerde çoğu zaman 12 haftaya kadar beklenilmesinin gerekli olmasına karşılık Xpert MTB/RIF assay'ın kısa sürede sonuç vermesi en önemli avantajını oluşturur. Yayma mikroskopisinden farklı olarak non-tüberküloz mikobakterileri göstermez (25,26).

Pulmoner TB İçin Xpert MTB/RIF Assay Kullanım Önerileri

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), MDR-TB'den şüphe edilen erişkin ve çocuk hastalarda veya HIV ile enfekte ve TB düşünülen hastalarda konvansiyonel mikroskopi yerine

bir balgam ya da gastrik aspirasyon örneğinden Xpert MTB/RIF assay yapılmasını önermektedir. Bu test MDR-TB'den şüphe edilmeyen pulmoner TB tanısında da başlangıç testi olarak kullanılabilir (25,26).

Pulmoner TB'den şüphe edilen çocuklarda, bir Xpert MTB/RIF assay sonucu negatif ise diğer örneklerde assay tekrarlanmalı ve TB şüphesi kuvvetli ise Xpert MTB/RIF assay sonucu negatif olsa bile tedavi uygulanmalıdır. Xpert MTB/RIF assay tedavideki hastaların takibinde kullanılmaz (25).

Ekstrapulmoner TB Tanısında Xpert MTB/RIF Assay Kullanımı ile İlgili Öneriler
DSÖ, TB menenjitten şüphe edilen hastalarda başlangıç tanı testi olarak Xpert MTB/RIF assay kullanılmasını önermektedir. Menenjit dışındaki diğer ekstrapulmoner TB tanısında spesifik doku örnekleri (lenf nodu ve diğer dokular) ile kullanılabilir (25).

TB Tanısında Diğer Testler

Adenozin Deaminaz (ADA)
ADA purin metabolizmasında adenozin ve deoksiadenozinin inozin ve deoksiinozine dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. Ekstrapulmoner TB tanısında ADA ölçümü yararlı olabilir (27,28). Plevral sıvıda ADA düzeyinin >70 IU/L bulunması TB'ye bağlı plevral efüzyonu kuvvetle destekler; buna karşılık ADA <40 IU/L olması TB tanısından uzaklaştırır. ADA'nın sensitivite ve spesifitesi değişkenlik gösterebilmektedir. TB plörezisi olan hastalarla yapılan 63 çalışmanın metaanalizinde ADA ölçümünün sensitivitesi 0.92 (%95 CI 0.90-0.93) ve spesifitesi 0.90 (%95 CI 0.89-0.91) bulunmuştur (27,28).

Hastalık prevalansının düşük olduğu gelişmiş ülkelerde pozitif prediktif değeri düşük (%15) iken negatif prediktif değeri yüksektir. Buna karşılık prevalansın yüksek olduğu ülkelerde bu değerler tersinedir.

ADA'nın yalnızca TB'de artmayıp plevral sıvıda lenfosit infiltrasyonunun arttığı durumlarda; romatoid artrit, bronkoalveoler karsinom, mezoteliyoma, mikoplazma ve klamidya pnömonileri, psittakozis, enfeksiyöz mononükleozis, brusellozis, ailevi Akdeniz ateşi, histoplazmozis, koksidiodomikozis, lejyonella, kriptokokkozis ve ampiyemde de yüksek bulunabileceği akılda tutulmalıdır.

ADA'nın ADA1 ve ADA2 olmak üzere iki izoenzimi vardır; TB'ye bağlı plevral efüzyonda ADA artışından başlıca ADA2 izoenzimi sorumludur. Bu nedenle yüksek ADA düzeyi ile birlikte ADA1/total ADA oranının <0.45 bulunması plevral efüzyonun yüksek olasılıkla TB'ye bağlı olduğu izlenimini verir (28).

Seroloji
Mikobakterinin dış hücre duvarında bulunan 17.5-kD glikoprotein komponenti olan lipoarabinomannan (LAM) idrarla atılır (29). Bu bakteri ürününün idrarda saptan-

ması ile aktif TB ile latent TB ayrımının yapılabileceği düşünülerek ELISA yöntemi ile idrarda lipoaraminomannan ölçüm testi geliştirilmiştir. Erişkinlerde sensitivitesi %44 ile 67 arasında değişen bu testin çocuklarda kullanımı ile ilgili henüz yeterli veri yoktur (29,30).

E-Nose Testi (Gas Sensor Array Electronic Nose):
Kültür ve balgam örneklerinde farklı mikobakteri türlerinin saptanmasını sağlar. Bu assay 14 farklı koku sensörü kullanarak tür ayrımı yapmaktadır. Erişkinlerde TB ve non-TB hastaların balgamları ile yapılan çalışmada sensitivitesi %68, spesifitesi %69 bulunmuştur. Çocukluk çağında kullanımı ile ilgili çalışma yoktur (31).

KAYNAKLAR

1. *American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:1376 –1395.*
2. *American Academy of Pediatrics. In: Pickering LK, Baker CI, Kimberlin DW, Long SS, eds Red Book 2012 Report of the committee on infectious diseases. Elk Grove Village, IL, American Academy of Pediatrics; 2012.*
3. *Shingadia D. The diagnosis of tuberculosis. Pediatr Infect Dis J 2012;31: 302–305.*
4. *WHO. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children 2nd ed. Geneva 2014.*
5. *Sokal, J. E. Measurement of delayed skin-test responses. N. Engl.J. Med. 1975; 293:501–502.*
6. *Bergamini B, Losi M, Vaienti F, D'Amico R, Meccugni B, de Giovanni D, et al. Performance of commercial blood tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection in children and adolescents. Pediatrics. 2009;123:e419–e424.*
7. *Haustein T, Ridout D, Hartley JC, Thaker U, Shingaida D, Klein HJ, et al. The likelihood of an indeterminate test result from a whole-blood interferon gamma release assay for the diagnosis of mycobacterium tuberculosis infection in children correlates with age and immune status. Pediatr Infect Dis. 2009;28:669–673.*
8. *Ling D, Zwerling A, Steingart K, Pai M. Immune-based diagnostics for TB in children: what is the evidence? Paediatr Respir Rev. 2011; 12:9 –15.*
9. *Diel R, Loddenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a meta-analysis. Chest. 2010;137:952–968.*
10. *Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection. MMWR 2010; 59 (RR-5).*
11. *Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, MMWR. 2005:54, RR-17.*
12. *Oberhelman RA, Soto-Castellares G, Gilman RH, Caviedes L, Castillo ME, Kolevic L,et al. Diagnostic approaches for paediatric tuberculosis by use of different specimen types, culture methods, and PCR: a prospective case-control study. Lancet Infect Dis 2010; 10:612–20.*
13. *Zar HJ, Hanslo D, Apolles P, Swingler G, Hussey G. Induced sputum versus gastric lavage for microbiologic confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study. Lancet 2005. 365:130.*
14. *Francis J. Curry National Tuberculosis Center. Pediatric Tuberculosis: A Guide to the Gastric Aspirate Procedure. 2006.*
15. *Franchi L, Cama R, Gilman R, Montenegro-James S, Sheen P. Detection of Mycobacterium tuberculosis in nasopharyngeal aspirate samples in children. Lancet. 1998;352:1681–1682.*

16. *Strumpf I, Tsang A, Syre J. Re-evaluation of sputum staining for the diagnosis of pulmonar tuberculosis. Am Rev Respir Dis. 1979;119:599–602.*
17. *Nahid P, Pai M, Hopewell PC. Advances in the Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. Proc Am Thorac Soc 2006; 3:103–110.*
18. *Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. MMWR 2009; 58: 7– 10.*
19. *Gopi A, Madhavan SM, SharmaSK, Sahn SA. Diagnosis and Treatment of Tuberculous Pleural Effusion in 2006. Chest 2007;131:880-889.*
20. *Light RW. Tuberculous pleural effusions. In: Light RW, ed. Pleural diseases. Philadelphia, PA: Williams and Wilkins,2001.*
21. *Al-Aghbari N, Al-Sonboli N, Yassin MA, Coulter JB, Atef Z, Al-Eryani A, et al. Multiple sampling in one day to optimize smear microscopy in children with tuberculosis in Yemen. PLoS One. 2009;4:e5140.*
22. *Oberhelman R, Soto-Castellares G, Caviedes L, Castillo ME,Kissinger P, Moore DA,et al. Improved recovery of Mycobacterium tuberculosis from children using the microscopic observation drug susceptibility method. Pediatrics.2006;118:e100–e106.*
23. *Cruciani M, Scarparo C, Malena M, Bosco O, Serpelloni G, Mengoli C. Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. J Clin Microbiol. 2004;42:2321–2325.*
24. *Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Geneva: World Health Organization;2008.*
25. *Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Policy Update. Geneva, World Health Organization, 2013.*
26. *Bates M, O'Grady J, Maeurer M, Tembo J, Chilukutu L, Chabala C, et al. Assessment of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis with gastric lavage aspirates in children in sub-Saharan Africa: a prospective descriptive study.Lancet Infectious Diseases, 2013, 13(1):36-42.*
27. *Q. L. Liang, H. Z. Shi, K. Wang, S. M. Qin, and X. J. Qin, Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: a meta-analysis. Respiratory Medicine. 2008;102:744–754.*
28. *Galborini RL. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion: is it really an ideal test; a word of caution. Chest. 2005; 127:417–418.*
29. *Mutetwa R, Boehme C, Dimairo M, Bandason T, Munyati SS, Mangwanya D, et al. Diagnostic accuracy of commercial urinary lipoarabinomannan detection in African tuberculosis suspects and patients. Int J Tuberc Lung Dis.2009;13:1253–1259.*
30. *Lawn S, Edwards D, Kranzer K, Vogt M, Bekker LG, Wood R. Urine lipoarabinomannan assay for tuberculosis screening before antiretroviral therapy, diagnostic yield and association with immune reconstitution disease. AIDS. 2009;23:1875.*
31. *Kolk A, Hoelscher M, Maboko L, Jung J, Kuijper S, Cauchi M, et al. Electronic-nose technology using sputum samples in diagnosis of patients with tuberculosis. J Clin Microbiol. 2010;48:4235– 4238.*