

Tüberküloz Şüphesi Olan Hastada Tanısal Testler



Prof. Dr. C. Dost Zeyrek

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi

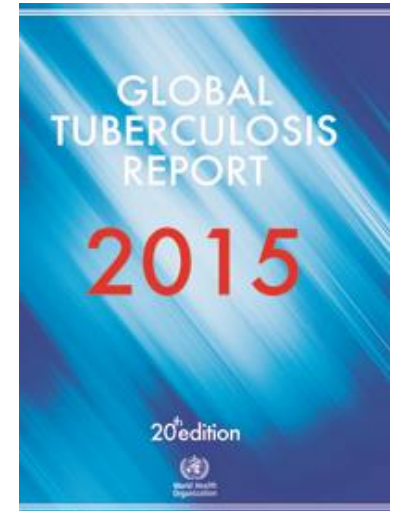
Çocuk Allerji ve İmmünoloji B.D.

Çocuk Göğüs Hastalıkları B.D.

Tüberküloz

- Dünyada yılda 9,6 milyon yeni Tbc olgusu
- Yılda 1,5 milyon civarında ölüm
 - 1,1 milyon HIV (-)
 - 390 000 HIV (+)
- Rapor edilen olgu sayısı ➤ 6 milyon (%63)

WHO. Global tuberculosis report 2015.



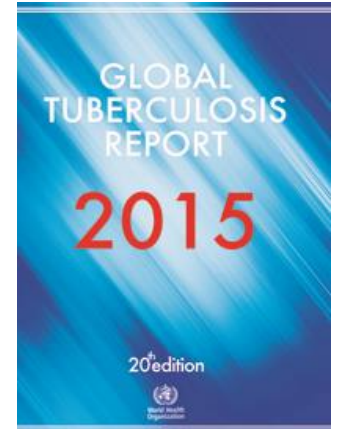
Tüberküloz Çocuk

- Dünyada yılda 1 milyon yeni çocuk Tbc olgusu
- Yılda 140 bin civarında ölüm
- Tbc olgularınının %3-39 kadarı çocuk

Çocuklarda rapor edilen olgu sayısı %35 (23-54)

WHO. Global tuberculosis report 2015

Dodd PJ, et al. Lancet Glob Health 2014;2:e453–9



Çocuklarda Tbc Tanısı Neden Zor?

- Pratik altın standart tanısal testin yokluğu
- Basil yükü düşüklüğü;
Mikrobiyolojik olarak doğrulanması <%40

Zar H, et al. Lancet 2005; 365:130–134.

Marais B, et al. Clin Infect Dis 2006;42:e69–e71.



Tanı

- Anamnez
- FM
- Radyoloji
- Tanısal testler



Tanı

- Anamnez
- FM
- Radyoloji
- **Tanısal testler**



Tanısal Testler

- **İmmünolojik testler**
 - Tüberkülin Deri Testi (TDT)
 - C-Tb testi
 - İnterferon Gama Salınım Testi (IGRA)
 - IP-10
- **Basilin saptanması**
 - Mikroskopik inceleme
 - Kültür
- **Moleküler yöntemler**
- **Tüberküloz kokusu (E-nose)**
- **İdrarda LAM, Tr-DNA**



Tüberkülin Deri Testi (TDT)

- **Tüberkülin Antijeni**

Kültür filtresinde bulunan ve “tüberkülinler” adı verilen antijenleri içerir.

- Tüberkül basil kültürü filtresinden protein presipitasyonu ile elde edilir.

Purified protein derivative=saflaştırılmış protein türevi (**PPD**)



Tüberkülin Deri Testi

- Geç tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur
- Hücresel bir yanıttır.
- Reaksiyon ortalama 5-6 saatte baŐlar ve 48-72 saatte maksimuma düzeye ulaŐır.



Pozitif PPD Testi

Tüberkülin Deri Testi

- **Pozitif TDT;**
 - ✓ *M.Tuberculosis* ile infeksiyon olduđunu gösterir
 - ✓ Hücresel bağışıklığın varlığını;
“Gecikmiř aşırı duyarlılık reaksiyonu”



TDT Yorumlanması -Sağlık Bakanlığı

BCG'sizlerde	0-4 mm 5-9 mm ≥ 10 mm	Negatif Şüpheli: 7-14 gün sonra test tekrarlanır; -5-9 mm negatif -10 mm ≥ pozitif Pozitif
BCG'lilerde	0-4 mm 5-14 mm ≥15 mm	Negatif BCG reaksiyonu Pozitif
Bağışıklığı baskılanmış, malnütrisyonlu ve HIV'lilerde	≥ 5 mm	Pozitif

TDT Yorumlanması –AAP*

- **≥5mm:** Bulaştırıcı ile temas var/ Klinik veya radyolojik tbc hast. kanıtı var/ HIV-immün supresif-kortikosteroid kullanımı
- **≥10mm:** Tbc. yayılım riski taşıyan (4 yaş altı, malnutr., diabet, KBY)/temas riski yüksek çevre koşulları
- **≥15mm:** Dört yaş üstü, risk faktörü yok

*BCG aşıli olup olmadığına bakılmaksızın

TDT'nin Yanlış Negatifliği

- **Test Edilen Kişiyeye Ait Faktörler**

İnfeksiyonlar

Viral (kızamık, kabakulak, su çiçeği, HIV)

Bakteriyel (tifo, tifüs, brucella, boğmaca, yaygın tüberküloz, tüberküloz plörezi)

Mantarlar (Güney Amerika blastomikozu)

Canlı virüs aşılıarı (kızamık, kabakulak, polio, su çiçeği)

Metabolik bozukluklar (kronik böbrek yetmezliği)

Proteinlerin düşüklüğü (ciddi protein düşüklüğü, afibrinojenemi)

Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (hodgkin hastalığı, lenfoma, lösemi, sarkoidoz)

İlaçlar (kortikosteroidler ve diğere birçok bağışıklığı baskılayıcı ilaç)

Yaş (yenidoğanlar, yaşlı hastalar)

Stres (cerrahi, yanıklar, mental hastalıklar, graft versus host reaksiyonları)

- **Kullanılan Tüberküline Ait Faktörler**

Uyumsuz depolama (ısı ve ışığa maruziyet)

Uyumsuz sulandırmalar

Kimyasal denaturasyon

Kontaminasyon

Yapışma (adsorbsiyon) (Tween 80 eklemekle kısmen kontrol edilir)

- **Uygulama Yöntemine İlişkin Faktörler**

Çok az antijen enjekte etmek

Cilt altına enjeksiyon

Enjektöre çektikten sonra geç uygulama

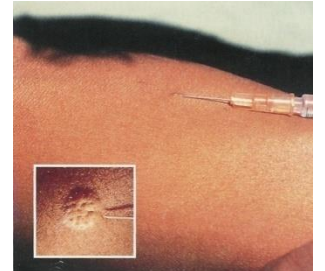
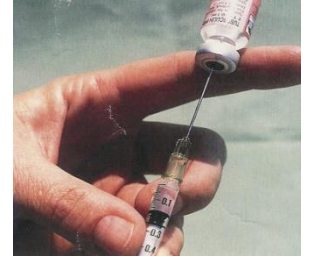
Diğere cilt testlerine çok yakın enjeksiyon

- **Okuma ve Kayıt ile İlgili Faktörler**

Deneyimsiz okuyucu

Bilinçli ya da bilinçsiz hatalar

Kayıt hataları



TDT'nin Yanlış Pozitiflięi

- NTM enfeksiyonu
- Yakında yapılan BCG aşısı
- Tekrarlayan PPD testleri



TDT'nin Tanısal Deęeri

- Yaş, BCG aşısı ve ülkedeki Tbc sıklığına bağlı olarak değişir
- Özgüllük
 - BCG (-) ➤ %95-100
 - BCG (+) ➤ %49-65
- Duyarlılık
 - İmmünitesi N ➤ %75-85

Chiang SS, et al. Infect Dis Clin N Am 2015;29:477-502



Tüberkülin Deri Testi

- **Kontrendikasyonları;**
- PPD'ye veya formülasyonun herhangi bir komponentine aşırı duyarlılık
- Geçmişte tüberkülin cilt testine enjeksiyon yerinde şiddetli reaksiyonu (vezikülasyon, ülserasyon, nekroz) olan kişiler
- Tüberküloz geçiren ya da tüberküloz tedavisi alan kişiler
- Aşırı yanık ya da egzeması olan kişiler
- Son 1 ayda kızamık, kabakulak gibi önemli virüs enfeksiyonu geçiren ya da canlı virüs aşısı yapılan kişiler



C-Tb Test

- Yeni geliştirilen deri testi
- Rekombinant ESAT-6 ve CFP-10 kullanmakta
- Özgüllük TDT'den daha yüksek
- Duyarlılık IGRA ile benzer
- Tolerans iyi ve önemli bir yan etki yok
- Yapımı kolay ve ucuz

Tebruegge M, et al. Ped Inf Dis J 2015;34:1014-1019
Hoff ST, et al. Eur Respir J 2016;47:919-28



Sensitivity of C-Tb: a novel RD-1-specific skin test for the diagnosis of tuberculosis infection

Soren T. Hoff², Jonathan G. Peter¹, Grant Theron¹, Mellissa Pascoe¹, Pernille N. Tingskov³, Henrik Aggerbeck³, Daniel Kolbus³, Morten Ruhwald², Peter Andersen^{2,4} and Keertan Dheda^{1,4}

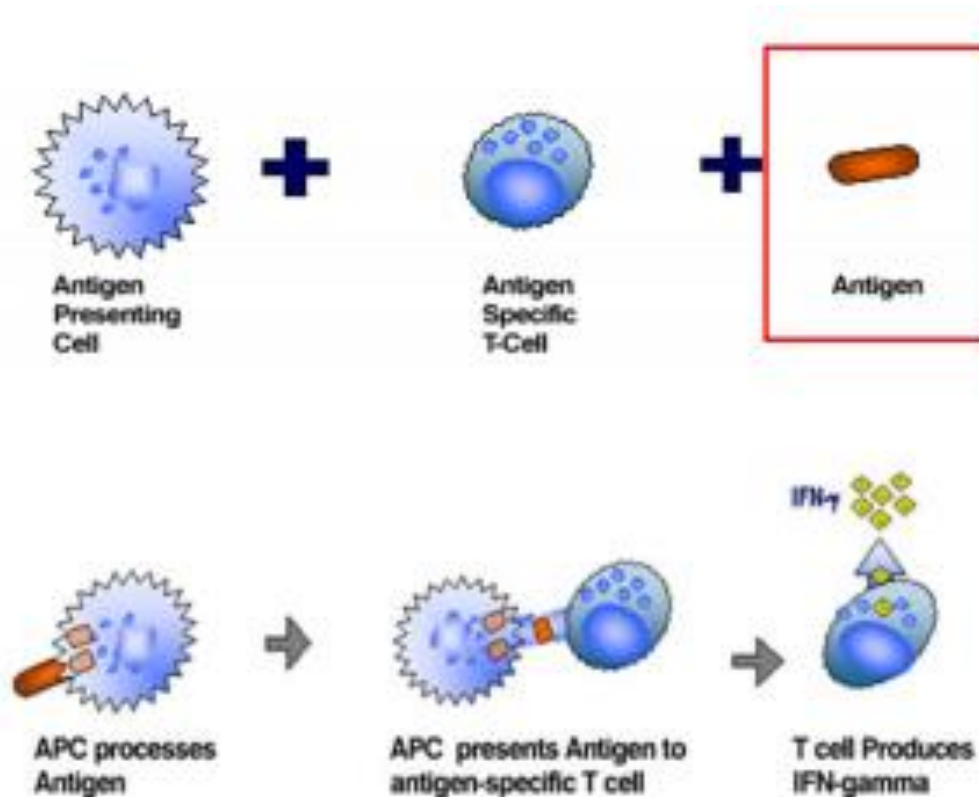
Eur Respir J 2016;47:919-28

TABLE 2 Sensitivity of C-Tb, tuberculin skin test (TST) and QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT-GIT)

	Cut-point	Positive result	Sensitivity	p-value [#]
All n=241				
C-Tb	≥5 mm	178	73.9 (67.8–79.3)	
TST	All ≥10 mm	216	89.6 (85.1–93.2)	0.0001
TST	HIV ⁻ ≥15 mm/HIV ⁺ ≥5 mm	212	88.0 (83.2–91.5)	0.0001
QFT-GIT	≥0.35 IU·mL ⁻¹	181	75.1 (69.3–80.2)	0.030
HIV-uninfected n=146				
C-Tb	≥5 mm	112	76.7 (69.0–83.3)	
TST	≥15 mm	133	91.1 (85.3–95.2)	0.0002
TST	≥10 mm	138	94.5 (89.5–97.6)	0.0001
QFT-GIT	≥0.35 IU·mL ⁻¹	112	76.7 (69.2–82.9)	0.164
HIV-infected n=95				
C-Tb	≥5 mm	66	69.5 (59.2–78.5)	
TST	≥5 mm	79	83.2 (74.1–90.1)	0.002
TST	≥10 mm	78	82.1 (72.9–89.2)	0.006
QFT-GIT	≥0.35 IU·mL ⁻¹	69	72.6 (62.9–80.6)	0.121

İnterferon Gama Salınım Testi (IGRA)

- T hücre temelli yöntemler



IGRA Testi

- *M. tuberculosis*'in RD1 bölgesi (region of difference 1) tarafından kodlanan:
- Early secreted antigenic targeted (ESAT-6)
- Culture filtrate protein 10 (CFP-10)
- TB7.7

karşı oluşan İnterferon gama yanıtını ölçen testler.

* *Mycobacterium bovis* BCG suşu ile NTM'lerin çoğunda (*Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium szulgai*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium flavescens* hariç) yoktur.

IGRA Testleri

- T-SPOT. TB test (TSPOT) (ELISPOT)
- Quantiferon TB-Gold (ELISA)
- Quantiferon TB-Gold in tube (ELISA)



TSPOT. TB ve QFT-GIT Karşılaştırılması

	T-SPOT. TB	QFT-GIT
Antijenler	ESAT-6, CFP-10	ESAT-6, CFP-10, TB 7.7
Yöntem	ELISPOT	ELISA
Test materyali	Periferik kan mononükleer hücreler	Tam kan
Sonuç ölçümü	INF- γ oluşturan T hücre sayısı	INF- γ 'nın serum konsantrasyonu
Materyal	Kan, BAL, Plevra sıvısı, BOS, Periton mayi	Kan

Interferon gamma release assay in diagnosis of pediatric tuberculosis: a meta-analysis

Lin Sun, Jing Xiao, Qing Miao, Wei-xing Feng, Xi-rong Wu, Qing-qin Yin, Wei-wei Jiao, Chen Shen, Fang Liu, Dan Shen & A-dong Shen

FEMS Immunol Med Microbiol 2011;63:165-173

- Çocuklarda IGRA ve TDT testlerinin duyarlılığı;
- **Quantiferon** ➤ **%70** (%65-75)
- **T-SPOT. TB** ➤ **%62** (%57-67)
- **TDT** ➤ **%71** (%67-75)

Tbc Tanısında IGRA/TDT Duyarlılığı

- Kültür olarak kanıtlı tüberküloz
- Klinik olarak tanı konulmuş tüberküloz

Sun L, et al. FEMS Immunol Med Microbiol 2011;63:165-173

Çocuklarda Tbc Tanısında IGRA/TDT Duyarlılığı

Kültür pozitif olgularda;

- Quantiferon ➤ %85
- T-SPOT. TB ➤ %76
- TDT ➤ %85

• Klinik tanı olgularda;

- Quantiferon ➤ %64
- T-SPOT. TB ➤ %58
- TDT ➤ %66

Çocuklarda Tbc Tanısında IGRA/TDT Özgüllüğü

- **Quantiferon ➤ %100**
- **T-SPOT. TB ➤ %90**
- **TDT ➤ %56**

Çocuklarda Tbc Tanısında IGRA/TDT'nin BCG İnsidansına Göre Özgüllüğü

- **T-SPOT. TB**
 - BCG (+) ➤ %89
 - BCG (-) ➤ %95
- **TDT**
 - BCG (+) ➤ %49
 - BCG (-) ➤ %93

İmmün Yetmezlikte IGRA

- **Duyarlılık;**
- T-SPOT. TB ➤ %72
- Quantiferon ➤ %61

Cattamanchi A, et al. J Acquir Immune Defic Syndr 2011;56(3):230-238

Chen J, et al. PLoS One 2011;6(11):e26827

*İmmünsüpresif tedavi öncesi TDT ve IGRA

IGRA Yaş İlişkisi

- 5 yaşında küçüklerde veri yetersiz
- 2-4 yaş (BCG aşılı)
- <2 yaş kullanım yok

Duyarlılık düşük

Belirsiz/geçersiz değerler daha yüksek

Starke J. Pediatrics 2014;134:e1763– e1773



IGRA'da Belirsiz/Geçersiz Sonuçlar

- Test örneği (-)
- Pozitif kontrol yetersiz aktivite
- Negatif kontrol (++++)
- **Belirsiz/Geçersiz IGRA ➤ %5-20**
 - **Küçük yaştaki olgular**
 - **İmmün yetmezlik**
 - İnflamatuvar barsak hastalığı (yetersiz kontrol)
 - Kronik böbrek hastalığı
 - Hepatit
 - Malarya
 - Helmint enfeksiyonu

TDT ve IGRA'nın Karşılaştırılması

Özellik	TDT	IGRA
Antijen	Çok; PPD	3 (QFT) veya 2 (T-SPOT)
Örnek	Intradermal enjeksiyon	Kan alımı
Vizit sayısı	2	1
Hastalığı Latent tbc'den ayırma	Yok	Yok
BCG ile çapraz reaksiyon	Var	Yok
NTB ile çapraz reaksiyon	Var	Birkaç nadir tür
Riske göre farklı (+) değerler	Var (5-10-15)	Yok
Booster fenomeni	Evet	Hayır
Daha önce yapılan TDT ile boosting	Evet	Olası
Pozitifliğin devamı	Evet	?
Tekrar edilebilirliğin zorluğu	Evet	Evet

Latent Tbc Tanısında Öneriler

- TDT tek başına
- IGRA tek başına
- TDT ve IGRA birlikte

TDT (+)/IGRA (-) ➤ %10-40

- İki basamaklı test
 - *İlk basamak: TDT
 - *İkinci basamak: TDT pozitif bulunanlarda IGRA yapılması

TABLE 3. Guidelines on IGRAs: recommendations for contact investigation in children

Recommendation	Guideline or position statement ^a
TST alone	WHO, ECDC, France, Brazil, Switzerland (IGRA in addition only in case of doubt), Slovakia (in BCG non-vaccinated children), South Korea (for children <5 years old)
TST alone (in children 0–4 years old); TST followed by IGRA, if TST positive (for children 5–17 years old)	Canada (low-risk contacts), Japan, Ireland, USA-AAP (for children >5 years old, IGRA may also replace TST)
TST followed by IGRA, if TST positive	Germany, Italy, Spain, Saudi Arabia, the Netherlands (dependent on BCG vaccination status and result of TST, only TST might be sufficient), Bulgaria, and for children >5 years of age only in Portugal and UK
TST followed by IGRA, if TST negative	Portugal (for children <5 years old), UK (for children 2–5 years old)
Either TST or IGRA	Denmark, USA-CDC (but TST is preferred in children <5 years old), South Korea (for children >5 years old, but TST preferred), Finland
Both TST and IGRA	Canada (high-risk contacts), Czech Republic, Croatia, Australia (IGRA may be considered in addition for children >2 years old)
IGRA alone	Norway

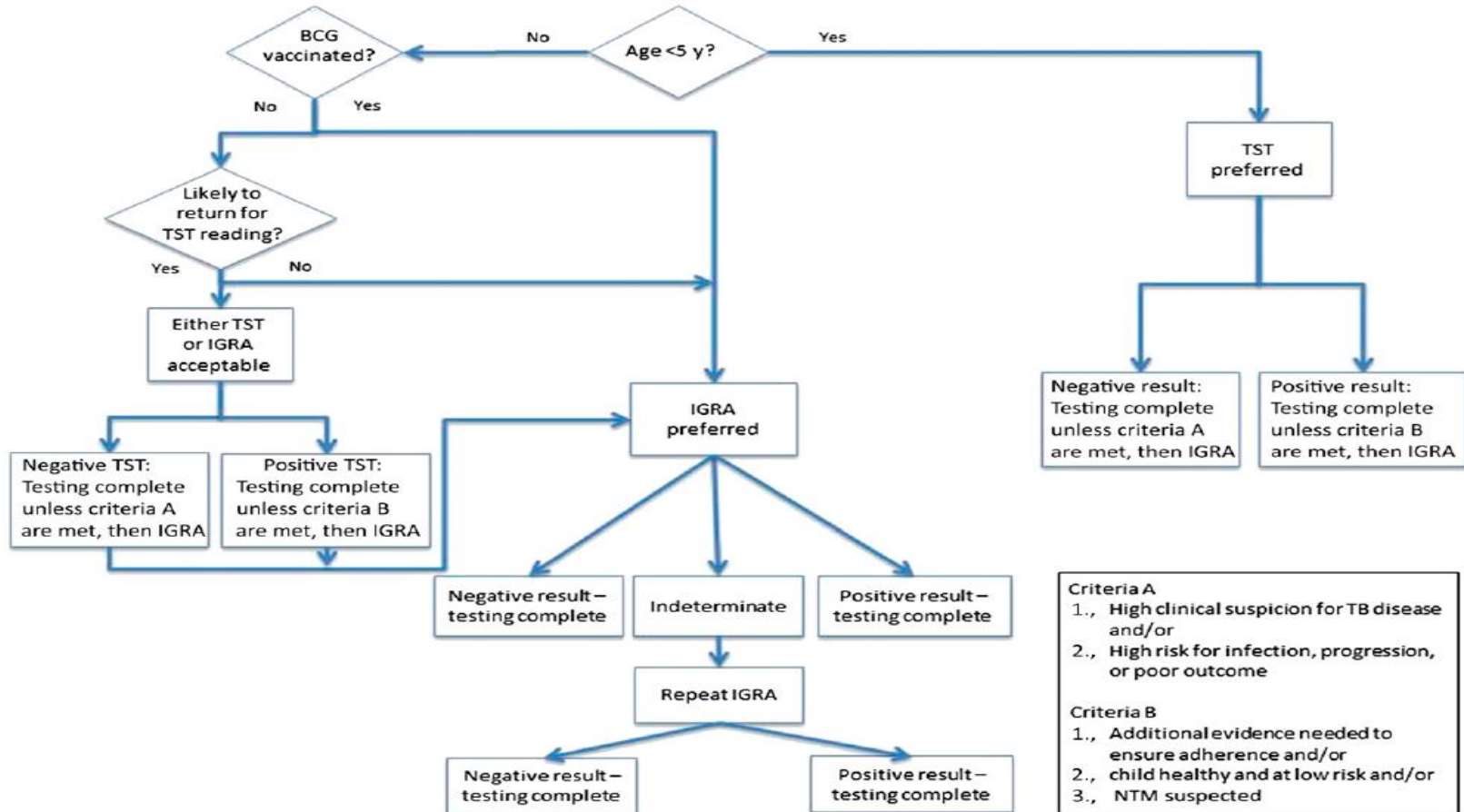
AAP, American Academy of Pediatrics; BCG, bacille Calmette–Guérin; CDC, US Centers for Disease Control and Prevention; ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control; IGRA, Interferon-gamma release assay; TST, tuberculin skin test; WHO, World Health Organization.
^aSome countries/organizations are listed more than once because their recommendations vary across risk groups.

Çocuklarda IGRA Kullanımı İçin Strateji

- TDT tercih edilir
- Çocuk 5 yaşından daha küçükse*
- IGRA tercih edilir, TDT kabul edilebilir
- Çocuk 5 yaşından büyük ve BCG (+)
- Çocuk 5 yaşında büyük TDT okutmak için gelemeyecekse
- TDT ve IGRA birlikte basamaklı
- Başlangıç ve tekrar yapılan IGRA değerleri belirsiz
- Başlangıç test sonucu (IGRA veya TDT) negatif ve:
 - Tbc klinik şüphesi
 - Tbc risk faktörü ve ilerleyici durum
- Başlangıç TDT pozitif ve:
 - Çocuk 5 yaşından büyük ve BCG (+)
 - Tedaviye uyumun artması için ek kanıtlar

* Bazı otörler 2-4 yaş arası BCG'li başka risk etkeni olmayan çocuklarda IGRA tercih eder

Çocuklarda Latent Tbc için TDT ve IGRA Seçimi



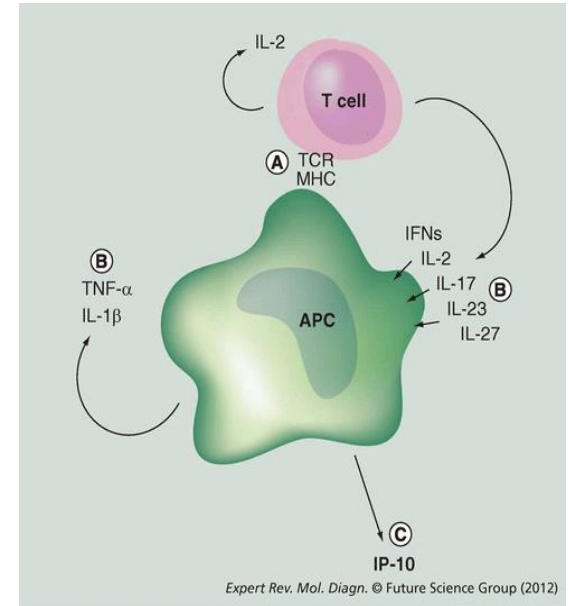
Aktif Tbc Tanısında IGRA

- IGRA kullanılması önerilmemektedir.
- Kesin tanı mikrobiyolojik ve moleküler yöntemlerle mümkün.
- Kesin tanının zor olduğu durumlar;
 - ✓ Mikroskobik incelemede ARB (-)
 - ✓ Kültürde üreme (-)
 - ✓ Yeterli/uygun örnek alınamayan durumlar
 - ✓ **Çocuk hasta**
 - ✓ AC dışı tüberkülozlu hasta



IP-10 (İnterferon ile uyarılan protein 10) Salınım Testleri

- Antijen sunan hücrelerden salgılanan küçük bir kemokindir.
- Proinflamatuvar immün yanıtın başlamasında rol alır.
- Salınımı IFN γ 'ya göre 100 kat daha fazla
- Çocuklarda IP-10 ve IGRA karşılaştırması yapılan çalışmalarda iki testin uyumu yüksek
- Testin kullanımı teknik olarak daha kolay (depolama, transport, lab. ekipman)
- IP-10 testi tanı için önerilmemekte



Aabye MG, et al. Eur Respir J 2013; 42: 495–503

Latorre I, et al. J Infect 2014;69:590–9.

Ruhwald M, et al. Expert Rev Mol Diagn 2012;12:175-87

Tanısal Testler

- İmmünolojik testler
Tüberkülin Deri Testi (TDT)
C-Tb testi
İnterferon Gama Salınım Testi (IGRA)
IP-10
- **Basilin gösterilmesi**
Mikroskopik inceleme
Kültür
- Moleküler yöntemler
- Tüberküloz kokusu (E-nose)
- İdrarda LAM, Tr-DNA



Örnek Alma

- Örnek alma yöntemleri;
- Öksürük
- İndükte balgam
- Bronkoskopi
- Mide açlık suyu
- String test
- Nazofarengeal aspirasyon
- İdrar ve gaita



Örnek Alma

- **Öksürük;**
- En yaygın kullanılan yöntem (10 yaş ve üstü)
- Sağlık personeli denetiminde
- Sağlık personeli koruyucu ekipman kullanmalı
- Balgam akciğerlerden alınmalı
- Burun ve boğazdan mukus ve tükürük alınmamalı

Wu XR, et al. Pediatrics 2012;130: e1433–e1440.



Örnek Alma

- **Balgam indüksiyonu;**
- Balgam çıkaramayan çocuklar için
- %3-5 hipertonic salin
- 1 ay kadar küçük çocuklarda yapılabilir
- Bir örnekten elde edilen sonuç 3 MAS'dan elde edilen sonuçla benzerdir
- 3 indükte balgam örneği 3 MAS'dan daha iyi

Thomas TA, et al. BMC Infect Dis 2014;14: 11.

Zar H,et al. Lancet 2005;365:130–134.

Moore HA, et al. Int J Tuberc Lung Dis 2011;15:1185-1190.

Örnek Alma

- **Bronkoskopi;**
- Bakteri üretimi MAS'dan daha düşük
- Pahalı, invaziv ve eğitimli personel gerektirmekte
- Balgam toplamak için düşünülmemeli, ek tanısal bir prosedür olarak kullanılmalıdır
Daha önceki sonuçlarla tanı konulamamış veya şüpheli olgularda ayırıcı tanı amaçlı
- İnfeksiyon izolasyonu yapılan bir odada yapılmalı
- Sağlık çalışanları N95 respiratörler takmalı

Goussard P, et al. Expert Rev Respir Med 2014;8:101–9.
Singh M, et al. Indian Pediatr 2000;37:947–51.



Örnek Alma

- **Mide açlık suyu**
- Balgam çıkaramayan küçük çocuklarda
- Hospitalizasyon gerekli
- Sabah yataktan kalkmadan aç karnına alınmalı
- 3 gün arka arkaya (<1 yaş 5-10 ml, 1 yaş > 10-20 ml alınmalı)
- Elde edilen materyal nötralizyon için hemen laboratuara gönderilmeli yada 4 saat içinde gitmeyecekse alınan yerde sodyum karbonatla nötralize edilmeli
- Laboratuara transfer 1 saatten fazla gecikecekse +4 °C'de buzdolabında saklanmalı
- Eğer materyal uzun süre bekleyecekse kontamine bakterilerin üremesini engellemek için prezervatifler eklenmeli.



* Bu prezervatifler MGIT gibi sıvı kültür sistemlerinde üremeyi bozabilir

Örnek Alma

- Tüberküloz prevalansının düşük olduğu bölgelerde;

2. gastrik aspirat ➤ %25
3. gastrik aspirat ➤ %8 artış sağlar

Cruz A, et al. J Ped Infect Dis 2013;2:171–174.

Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.




Örnek Alma

- **String test**
- İndükte balgama göre duyarlılık daha yüksek
- Büyük çocuklar tarafından iyi tolere edilmektedir
>4 yaş
- Çocuklarda çalışmalar yetersiz

Chow F, et al. BMC Infect Dis 2006;6:67-74



Örnek Alma

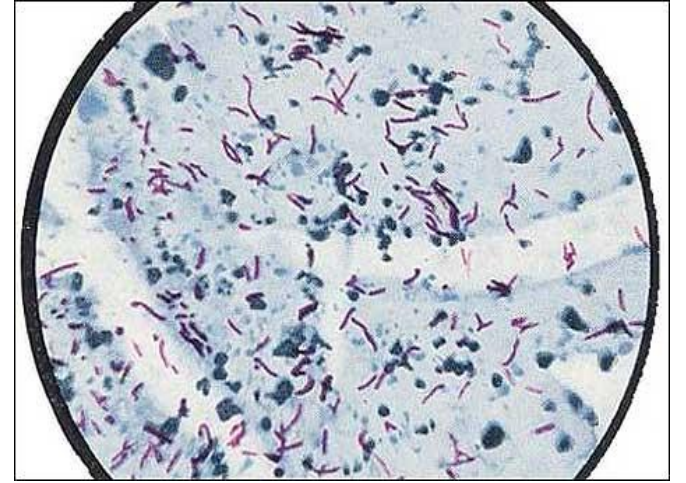
- **Nazofarengeal aspirasyon**
- Daha az invaziv
- Uygulama kolay ve basit teknik donanım
- Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında (MAS, balgam ind.):
Sonuçlar farklı
Mikrobiyolojik üretim %24-40-

Örnek Alma

- **Non-invaziv yöntemler (Gaita ve idrar);**
- Çalışmalar yetersiz
- Yapılan çalışmalarda sonuçlar iyi değil
Gaita için <math><2</math>

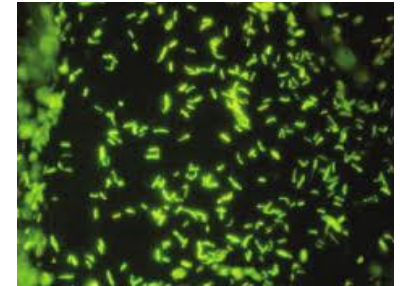
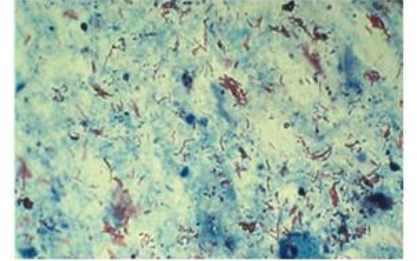
Mikroskopik İnceleme

- Smear mikroskopi
- Hızlı
- Kolay
- Klinik örneklerde mikobakterinin varlığının ilk bakteriyolojik kanıtını sağlar



Mikroskopik İnceleme

- **Mikobakteriler için başlıca iki boyama tekniği;**
- **Karbol fuksin yontemi (Ziehl- Neelsen, Kinyoun):**
Aside dirençli mikroorganizmalar ışık mikroskobunda kırmızı renkte görülür.
- **Florokrom yöntemi (auramin O, auramin-rhodamin):**
Aside dirençli mikroorganizmalar floresan mikroskopta sarımsı - turuncu renkte floresan verirler.



Mikroskopik İnceleme

- Bakterinin saptanması için 5000-10000/ml basil olması gerekiyor
- Çabuk sonuç ➡ <4 saat
- Özgüllük ➡ Değişken
- Duyarlılık ➡ <%20

*Negatif sonuç Tbc tanısını ekarte etmez

Dun JJ, etal. J Clin Microbiol 2016;54:1434-41



Mikroskopik İnceleme

- **Floresan mikroskopi** tanıda konvansiyonel mikroskopiye göre daha yararlı.
- Floresan mikroskobide “Light emitting diode” (**LED**) **lambalarının** kullanımı ile mikroskobik tanı şansı artmıştır.

Duyarlılık ➤ %10 daha fazla

Zaman ➤ %25 daha az

World Health Organization. 2011.

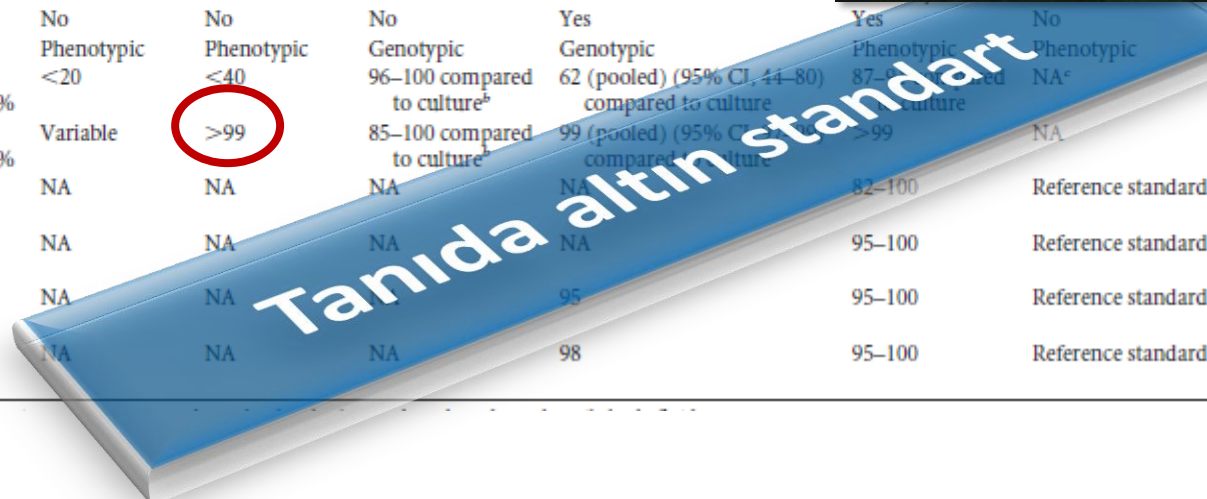
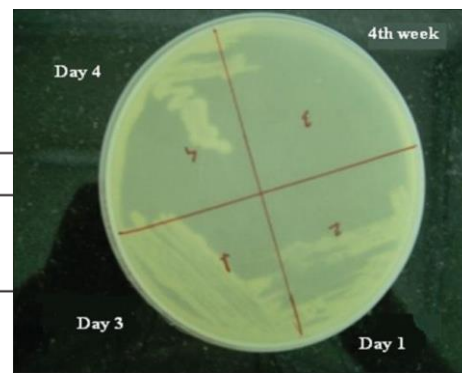
Steingart KR, et al. Lancet Infect Dis. 2006;6(9):570–81.



Kültür ve İdentifikasyon

TABLE 3 Assays that detect *M. tuberculosis* and/or drug resistance

Characteristic	Test (reference)				Yes	No	No
	Direct microscopy (14, 15)	Culture (5)	AMTD (28, 29)	Xpert MTB/RIF (30, 33)			
Sample type	Any body fluid or tissue	Any body fluid or tissue	Various ^a	Sputum	Yes	No	No
Time to result	<4 h	<6 weeks	<4 h	<2 h	Yes	No	No
Simultaneous DST	No	No	No	Yes	Phenotypic	Phenotypic	Genotypic
Phenotypic/genotypic	Phenotypic	Phenotypic	Genotypic	Genotypic	Phenotypic	Phenotypic	Genotypic
Sensitivity for TB disease in children, %	<20	<40	96–100 compared to culture ^b	62 (pooled) (95% CI, 44–80) compared to culture	87–95 compared to culture	NA ^c	NA
Specificity for TB disease in children, %	Variable	>99	85–100 compared to culture ^b	99 (pooled) (95% CI, 95–100) compared to culture	>99	NA	NA
Sensitivity for INH ^d resistance, %	NA	NA	NA	NA	82–100	Reference standard	57–100
Specificity for INH resistance, %	NA	NA	NA	NA	95–100	Reference standard	99
Sensitivity for RIF resistance, %	NA	NA	NA	95	95–100	Reference standard	97
Specificity for RIF resistance, %	NA	NA	NA	98	95–100	Reference standard	99



Kültür ve İdentifikasyon

- **Konvansiyonel besiyerleri**
- **Katı besiyerleri**
 - *Yumurta temelli
 - Löwenstein-Jensen (L-J)
 - Petragnani
 - American Trudeau Society
 - *Agar temelli
 - Middlebrook 7H10
 - Middlebrook 7H11
- **Sıvı besiyerleri**
 - Middlebrook 7H9
 - Dubos tween albumin

- **Hızlı kültür sistemleri**
- **Yarı otomatize**
 - BACTEC 460 TB
- **Tam otomatize**
 - Versa TREK
 - MB/Bac T
 - Bactec 9000 MB
 - MGIT (Bactec Mycobacterium Growth Indicator Tube 960)



Kültür ve İdentifikasyon

- **Konvansiyonel besi yerleri**
- Kolay ve ucuz
- En az 100 basil/ml
- Üreme 4-6 hafta

Salfinger M, et al. Am J Clin Pathol 1994; 101(suppl 1):6-13



Kültür ve İdentifikasyon

- **Hızlı kültür sistemleri**
- **Avantaj**
- Süre daha kısa: 4-6 hafta ➤ 10-14 gün
- Daha duyarlı: %10-20↑
- **Dezavantajı**
- Yalancı pozitiflik ➤ %3
- Kontaminasyon

Kültür ve İdentifikasyon

- **BACTEC 460 TB**
- Yarı otomatize, radyometrik ☐
- BACTEC 12B besiyeri ^{14}C işaretli palmitik asit içerir ☐
- ^{14}C işaretli palmitik asit kullanımı



$^{14}\text{CO}_2$



Üreme İndeksi (GI)

Duyarlılık ➤ % 83.3- 89.3

Özgüllük ➤ % 99.2-100



Kültür ve İdentifikasyon

- **Mycobacterium Growth Indicator Tube**
- MGIT tüpünün dibinde floresan madde gömülüdür. [?]
- Floresan madde sıvı besiyerindeki oksijen varlığına duyarlıdır. [?]
- Üreyen mikobakterilerce oksijenin kullanılması sonucu floresans oluşumu

Duyarlılık ➤ %88-95,2

Özgüllük ➤ %76-99,2

Brittle W, et al. J Clin Microbiol. 2009;47:1287-9.

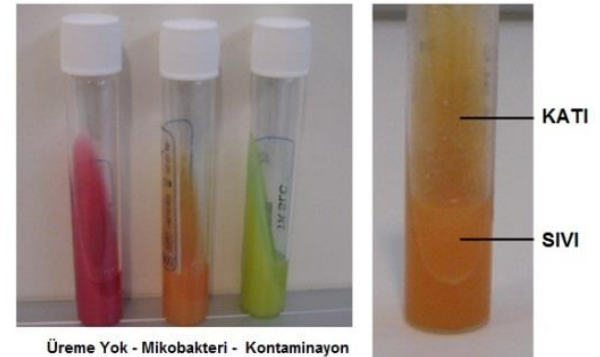
Lu PL. J. Clin. Microbiol 2011;49:2290-2292



Kültür ve İdentifikasyon

- **TK besi yeri**
- Hızlı mikobakteri tanı kültür sistemi
- Çoklu renk indikatörleri kimyasından yararlanılarak hazırlanmış, mikobakterilerin üremesini erken saptayan bir besiyeridir.
- Ekilen örnekte mikobakteri bulunması durumunda, inkübasyon süresince mikobakterilerin ürettiği metabolitlere ve enzimlere bağlı olarak TK besiyerinin orijinal kırmızı rengi sarıya, diğer bakteri veya fungal türlerin varlığında ise yeşile dönmektedir.
- Bu renk değişimi, kolonilerin görünür hale gelmesinden çok daha önce gerçekleşmektedir
- L-J'de üreme **%11.69**
TK'de üreme **%12.63**
- L-J'de üreme süresi **25.14 gün**
TK'de üreme süresi **15.57 gün**

Baylan O, et al. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8:772-7.
Kocagöz T, et al. Diag Microbiol Infect Dis 2012;72:350-357.



Tanısal Testler

- İmmünolojik testler
Tüberkülin Deri Testi (TDT)
C-Tb testi
İnterferon Gama Salınım Testi (IGRA)
IP-10
- Basilin gösterilmesi
Mikroskopik inceleme
Kültür
- **Moleküler yöntemler**
- Tüberküloz kokusu (E-nose)
- İdrarda LAM, Tr-DNA



Moleküler Yöntemler

- 1995 yılında FDA tarafından onaylanan ilk NAA Testi **Amplified mycobacterium direct test (AMTD)** (Hologic, San Diego, CA)
- Örnekteki mikroorganizmaların hızla saptanması için DNA ve RNA segmentlerinin çoğaltılması esasına dayanır
- Mikroorganizmayı saatler içinde saptar



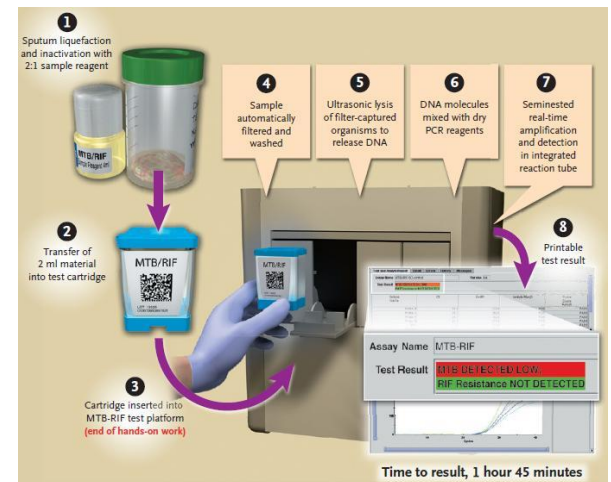
Moleküler Yöntemler

- **PCR (Polymerase chain reaction)**
- Konvansiyonel PCR
- Real-time PCR
- **İzotermal amplifikasyon yöntemleri**
- LAMP (Loop mediated isothermal amplification)
-
-
-

Xpert MTB/RIF

- Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)
- M. Tüberkülozis'in **rpoB** gen bölgesini çoğaltmakta.
- rpoB geni ile rifampisin direnci aranması
- Örnek hazırlanması basit tek aşamalı
- Sonuç <2 saat sürede alınmakta
- Pahalı

World Health Organization. 2013.



Çocuklarda Xpert MTB/RIF

- 15 çalışma
- n=3640 (4768 örnek)
- Yaş: 0-16
- Balgam;
Duyarlılık %62
Özgüllük %98
- MAS;
Duyarlılık %66
Özgüllük %98

Duyarlılık



Mikroskopi < Xpert MTB/RIF < Kültür

Çocuklarda Xpert MTB/RIF

- Duyarlılık

Smear (+) ➤ %95-96

Smear (-) ➤ %55-62

* İkinci örnekte %25 artış (kültür için %13-17)

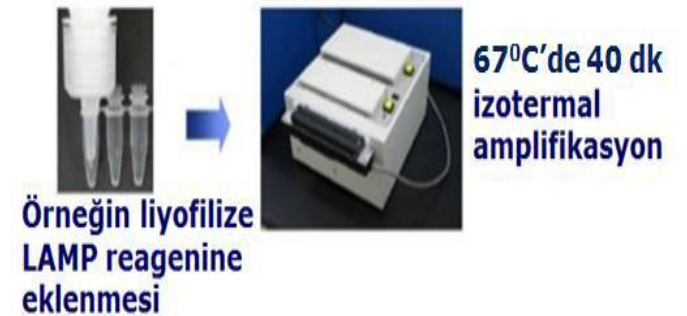
World Health Organization. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. 2013

Çocuklarda Xpert MTB/RIF

- Hastalığı ekarte etmek için kullanılamaz
- Negatif test sonucu;
 - Alternatif tanıların araştırılması
 - Gereksiz tedavi başlanmasının önlenmesi
- Smear (+) + PCR (+) ➤ Tbc - Tedaviye başla
- Smear (+) + PCR (-) ➤ NTM, PCR tekrarı (inhibitör?)
- Smear (-) + PCR (+) ➤ Tbc ? - Tedavi başla
- Smear (-) + PCR (-) ➤ Tbc (-) - Kültür sonucunu bekle

Loop-Mediated Isothermal Amplification Test

- TB-LAMP (Eiken Chemical, Tokyo, Japan)
- Hedef DNA'yı isotermal koşullar altında (65°C) çoğaltır
- Tüm test 1 saat içinde tamamlanıyor
- Çalışmalar sınırlı
- Duyarlılık %78-84
- Smear (+) %97
- Smear (-) %62
- Özgüllük %94-99
- Pediatrik veri yok



Niemz A, et al. Expert Rev Mol Diagn. 2012 ; 12: 687-701
Mitarai S, et al. Int J Tuberc Lung Dis 2011; 15 (9):1211-1217
WHO Global Tuberculosis Report 2013
WHO The Use of TB-LAMP for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: Policy Guidance. 2016

Loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive diagnosis of tuberculosis

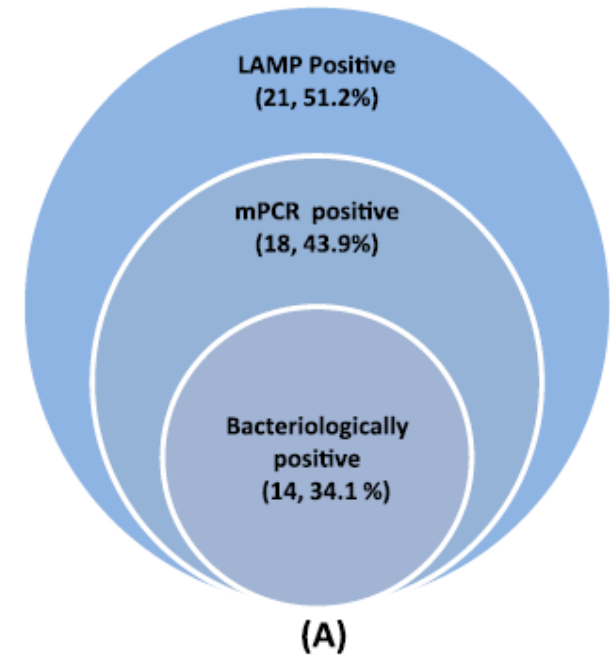
Parveen Kumar ^a, Deepal Pandya ^b, Niti Singh ^c,
Digambar Behera ^{c,e}, Praveen Aggarwal ^d, Sarman Singh ^{a,*}

J Infec 2014;69(6):607-15

- n= 118
- 80 olgu >15 yaş
- 38 olgu <15 yaş

- 41 olgu AC Tbc
- 77 olgu AC dışı Tbc

- Kültür (+) ➤ Duyarlılık %100
Özgüllük %93,5



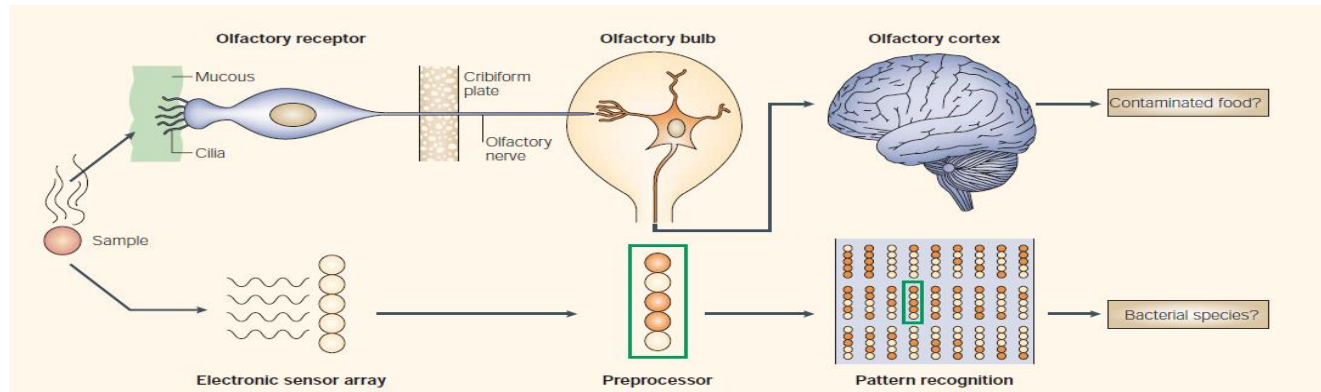
Tanısal Testler

- İmmünolojik testler
Tüberkülin Deri Testi (TDT)
C-Tb testi
İnterferon Gama Salınım Testi IGRA
IP-10
- Basilin gösterilmesi
Mikroskopik inceleme
Kültür
- Moleküler yöntemler
- **Tüberküloz kokusu (E-nose)**
- İdrarda LAM, Tr-DNA



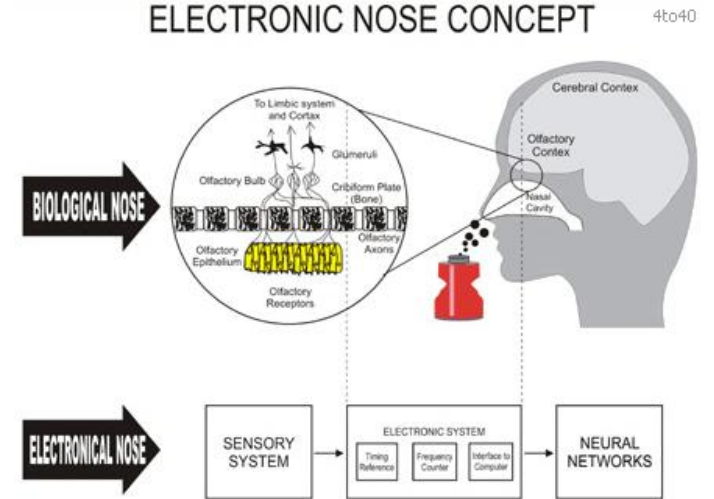
Elektronik Burun

- **Gas sensor array electronic nose (E-Nose)**
- Kimyasal sensör, materyal içindeki uçucu organik bileşikleri ölçerek tanı koyar
- MTB metabolizmasında oksidasyon redüksiyon reaksiyonları sonucu nikotinic asit oluşur. Tbc hastasında kanda yüksek.
- Nefeste **metil nikotinat** yayma pozitif hastalarda anlamlı yüksek



Elektronik Burun

- Sonuçlar çok değişken
 - Duyarlılık ➤ %68–96
 - Özgüllük ➤ %67–99
- Pediatrik veri yok



Bruins M, et al. Tuberculosis (Edinb) 2013;93:232–8.
Kolk A, et al. J Clin Microbiol 2010;48: 4235–8.
Phillips M, et al. Tuberculosis (Edinb) 2012;92:314–20.

Tanısal Testler

- İmmünolojik testler
Tüberkülin Deri Testi (TDT)
C-Tb testi
İnterferon Gama Salınım Testi (IGRA)
IP-10
- Basilin gösterilmesi
Mikroskopik inceleme
Kültür
- Moleküler yöntemler
- Tüberküloz kokusu (E-nose)
- İdrarda LAM, Tr-DNA



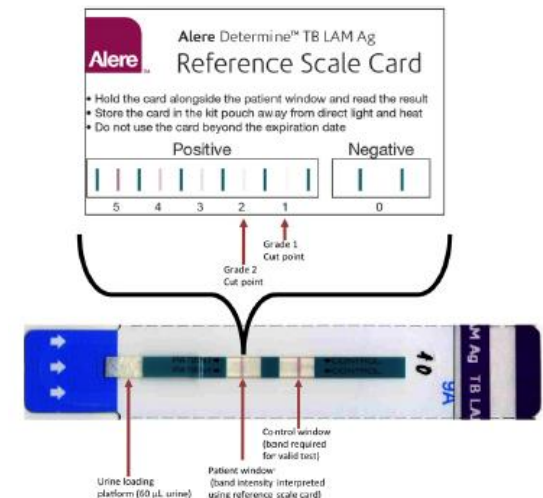
İdrarda Lipoarabinomannan

- *M.Tuberculosis* hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit
- *M.Tuberculosis*'in immün sistem tarafından parçalanması ile idrara atılmakta.
- HIV (+) yetişkinlerde anlamlı sonuçlar saptanmış
- Çocuklarda duyarlılık ve özgüllüğü yetersiz

Duyarlılık ➤ %48

Özgüllük ➤ %60,8

Nicol MP, et al. Lancet Glob Health 2014;2:e278–84.



Transrenal Deoxyribonucleic Acid (Tr-DNA)

- Küçük, serbest nükleik asit fragmanları
- Mikroorganizmanın ölümü ile idrar içine süzülür
- Yetişkin çalışmalarında;
Duyarlılık ➤ %7-79
- Çocuklarda veri yok

Chiang SS, et al. Infect Dis Clin N Am 2015;29: 477–502
Petrucci R, et al. J Clin Microbiol 2015;53:336–8.





Ne hoş bir güzelliği vardır, hafif adımlarla, dünyadan gülümseyerek geçenlerin!

TEŞEKKÜRLER...