

# TÜBERKÜLOZ TANISINDA NEREDEYİZ ?

## BOYAMA VE KÜLTÜRE DAYALI TANI YÖNTEMLERİ

Prof. Dr. Mustafa ÖZYURT

GATA Haydarpaşa  
Tıbbi Mikrobiyoloji-İSTANBUL

# DSÖ Stop TB Stratejisi

- Hedefi “**Dünyada TB’lu hasta sayısını azaltmak**”
    - *yüksek kaliteli tanı*
    - *hasta odaklı tedaviye erişiminin sağlanması,*
    - *yeni tanı yöntemlerinin geliştirilmesinin desteklenmesi,*
    - *tanı yöntemlerinin etkili ve zamanında kullanımının sağlanması*
- ➡ 2006 yılında benimsenmiş ve halen uygulanmaktadır

# **TB tanı laboratuvarı**

---

» **TB kontrolü**

» **Doğrudan gözetimli tedavi (DGT)**

en önemli unsurlarından biridir

# **Ulusal Tüberküloz Kontrol Programları**

## **Bileşenleri;**

- » hızlı tanı,
- » etkili tedavi
- » bulaşın önlenmesi

## **Engel;**

- » laboratuvar tanıdaki yetersizlikler

# 2011 yılında

- **8.7 milyon TB vak'a**
  - » **Kesin Tanı %66**
  - » **Ulusal TB kontrol programına alınmıştır**

# Bu oran neden dü ük?

Dü ük /orta gelirli ölkelerde

- laboratuvar kapasitelerinin yetersizli i
- balgamda yayma esaslı tanı

# Bu nedenle !!

---

- Akciğer TB tanısı klinik olarak konmuş olguların yaklaşık 1/3'ünün

⇒ **TB olmayabileceği**

düzenlenmektedir.

# Günümüz mikobakteri laboratuvarlarında

---

- Moleküler tanı yöntemleri
- Yayma mikroskopisi
- LJ besiyerine kültür

**ALTIN  
STANDART**



# Yüksek Riskli Bölgelerde TB kontrolü

---

## Sorun

- Ekonomik güçlükler,
- Alt yapı eksikliği

## Öncelik,

- aktif pulmoner TB olgularının tespiti
- bunların en kısa sürede tedaviye alınmasıdır.

## En önemli tanı aracı

- **M KROSKOP**

# Günümüz Mikroskopisindeki Durum

- dünya genelinde;

yeni pozitif olguların %70'ini yakalamada

henüz istenilen hedefe ulaşamamı

(%60-67)

# Mikroskopi ve ARB Boyama Yöntemleri

---

Sıklıkla uygulanan;

- Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN)
- Kinyoun
- Florokrom (Auramine-Rhodamine)

*“Auramin, EZN ve Kinyoun boyamadan %10 daha duyarlı”*

*Somaskövi A ve ark. Chest 2001; 120: 250 – 57*

# mikroskopik incelemeler

⇒ Basit, hızlı, düşük maliyetli ve özgül

⇒ TB'un endemik olduğu ve yüksek riskli ülkelerde

⇒ Tedavinin etkinliğini takipte

yaygın kullanılmakta

# Örnekteki Bakteriyel Yük

---

- Yayma Duyarlılık : % 20-80
- Pozitif bir yayma için 10<sup>4</sup> CFU/ml örnek.
- Yayma test sonucu; (+) ve (-) kontroller kullanılarak inceleme alanında boyanan ARB sayısı dikkate alınarak raporlanır.
- Pozitif Florokrom boyama sonuçları **EZN veya Kinyoun ile kontrol**
- **Boyama sonucunu içeren rapor ;**
  - yayma negatif ( *incelenen mikroskop alanında hiç ARB görülmemesi* )
  - yayma (1+)’ten (4+)’e kadar de i en skorlama

# EZN boyama

---

- Düşük Bakteriyel yüke ( $< 10^4$  CFU/ml) sahip örneklerde duyarlılık düşük
  - çocuğu atlanabilmekte ve tanı alamamaktadır.
- Bulaşın yaklaşık %17 si
  - bakteri yükü düşük,
  - yayma negatif
  - pulmoner TB'lu hastalarla olabilmekte

# Yayma sonucunu etkileyen faktörler

- kullanılmakta olan boyama yöntemi
- mikroskopun kalitesi
- örneğin türü ,
- yaymanın kalınlığı ,
- dekolorizasyon süresi ve
- mikroskopiyi gerçekleştiren kişinin tecrübesi
- uzun süreli örnek dekontaminasyonu,
- yayma hazırlanırken çapraz bulaş ,
- ebeke suyu ile boyalı preparatın yıkanması

# Mikobakteri Laboratuvarlarının Durumu (2012 yılı global TB raporu)

## dünya ve orta gelirli ülkelere ait smear mikroskopisi

- ✓ 144 merkezin %42'si bir dı kalite kontrol programına dahil
- ✓ küresel olarak **her 100.000 nüfusa 1 mikroskopi merkezi** hedefine ula ıldı ı bildirilmi ancak ;
  - ❖ bölgelere ve ülkelere göre **dikkat çekici farklılıklar** var
    - ✓ Yapılan de erlendirmelerde 2011 yılında **batı pasifik** ve **do u akdeniz** ülkelerinde **100.000 nüfusa sırasıyla 0.5 ve 0.8 mikroskopi merkezi** dü mekte
    - ✓ TB insidensinin yüksek oldu u 22 ülkenin 7'sinde (%31.8) **bu hedefe henüz ula ılamamı tır**



# Floresan mikroskopisi

## Sorun

- maliyet,
- lamba ömrü,
- bakım olanaklarının yetersizli i
- civalı floresan mikroskobun temin güçlü ü

# LED Mikroskopisi

## DSÖ, önerisi (2009)

- EZN'den daha duyarlı olan,
- Floresan mikroskoplara göre;
  - düşük maliyetli,
  - güçlü ışık kaynağına sahip,
  - uzun ömürlü
  - kırıldı ında civa buharı salınımı riski olmayan lambalara sahip



LED esaslı floresan mikroskopisi

# **LED Mikroskopisi**

- Floresan mikroskoplarda  
“**LED (Light Emitting Diode)**” teknolojisi kullanımı

**Kültürle kar ıla tırıldı ında;**

özgüllük- %98 ve

duyarlılık- % 84

**EZN ile kar ıla tırıldı ında;**

%6 oranında daha duyarlı

özgüllük- farklılık yok .

**Konvansiyonel Floresan mikroskopi ile kar ıla tırıldı ında;**

%5 oranında daha duyarlı

%1 daha özgül

# **LED Mikroskopisi**

**2011 verilerine göre**

**➡ mikroskopi yapan laboratuvarların sadece %2'si LED mikroskop kullanmaktadır.**

# Kültür

---

- nokulumdaki ARB basil sayısına (**10-100 basil/ml**),
- Basilin jenerasyon süresine ve
- Katı veya sıvı fazlı olmasına
- Katı vasatın yumurta bazlı veya agar içerikli olmasına

**“2-8 haftada sonuçlanabilmektedir”.**



**“TB tanısında halen altın standart”**

# **Kültür yöntemlerinin avantajları**

## **Etkenin**

- **canlılı ını gösterebilme**
- **antibiyotiklere duyarlılı ını test edebilme,**
- **tür düzeyinde tanımlama**
- **genotiplendirme yapabilme**

# MTBC'in izolasyonunda

## Katı fazlı besiyerleri

- Löwenstein-Jensen (LJ) veya
- Middle brook 7 H10 yada 7H11 agar  
yaygın kullanılmamaktadır
  - hazırlanmaları daha zor
  - hazır satın alınmaları daha pahalıAncak;
  - ⇒ Duyarlılık testlerinde LJ besiyerine göre daha güvenilir ilaç konsantrasyonları sağlar

# LJ besiyeri

---

## Tercih nedenleri;

- laboratuvarında kolayca hazırlanabilir
- düşük maliyetli
- buzdolabında haftalarca saklanabilir olması



# Hızlı kültür sistemleri-1

- Sıvı esaslı besiyerleridir (Middlebrook 7 H9)
- Tanımlama; **fluorometrik, kolorimetrik** veya **radıyometrik**
  
- **Otomatize sistemler**
  - BACTEC MGIT 960 (*BD biosciences, Sparks, MD*)
  - VersaTREK (*ESP culture System, Trek Diagnostics, Inc., Westlake Ohio*)
  - MB/BacT (*bioMerioux, Hazelwood, Mo*)
  - BACTEC 9000 MB (*BD biosciences, Sparks, MD*)
  
- **Yarı Otomatize Sistem**
  - BACTEC 460 TB (*BD biosciences, Sparks, MD*)
  
- **Manuel Sistemler**
  - MGIT (*BD biosciences, Sparks, MD*)
  - Septi-Chec AFB (*BD biosciences, Sparks, MD*)
  - MB Redox (*Biotest Diagnostics Corp., Danville, N.J.*)

# Hızlı kültür sistemleri-2

---

## TK Rapid Mycobacterial Culture System (SALUBRIS-Tecnica)

- Çoklu renk indikatörleri kullanılarak hazırlanmış katı fazlı besiyeri (TK besiyeri)
- MTBC'in ürettiği metabolitlere ve enzimlere bağlı besiyerinde renk değişimi izlemi
  - Gözle
  - MYCOLOR TK otomatize kültür sistemi

# CDC

---

primer izolasyonlarda;

“geleneksel en az bir katı besiyeri yanı sıra bir de sıvı besiyerinin birlikte kullanımı”

önermektedir.

⇒ Dünyada ve Ülkemizde ço unlukla;

“**LJ ve Middlebrook Sıvı Besiyerleri**”birlikte kullanılmaktadır.

# Alternatif ve Ticari Olmayan Kültür Esaslı İlaç Duyarlılık Metodları

- Colorimetrik redox indikatör (CRI)\* metodu,
- Nitrate reductase (NRA)\* yöntemi,
- Microscopic-observation drug susceptibility (MODS)\* yöntemi
- Faj esaslı metod
- Thin Layer Agar (TLA) metod

\* DSÖ tarafından özellikle referans laboratuvarlarında ve sıkı laboratuvar protokolleri altında iyi tanımlanmış programlı çalışmalarında, otomatize sıvı kültür ve DT sistemlerinin kullanımı yaygınlaştıkça ana kadar geçici olarak kullanımını önermektedir

# Ülkemizdeki 419 TB Tanı Laboratuvarlarının Dağılımı

SAĞLIK KURUMU	SAYI	%
VSD	126	30.1
Devlet Hast.	90	21.5
Özel Hast.	57	13.6
Tıp.Fakültesi	56	13.4
Bölge TB.Lab	22	5.2
Özel Lab.	17	4.1
GHH	14	3.3
Özel Tıp Merk.	5	1.2
Diğer Sağlık K.	32	7.6
<b>TOPLAM</b>	<b>419</b>	<b>100</b>

*Bozkurt H., Ceyhan ., Uçarman S.N., ve ark. Ülkemizdeki Tüberküloz Tanı Laboratuvarlarının Mevcut Durum Analizi. XXVI. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi. 2011, Adana*

# TB Tanı laboratuvarlarında

## Yayma mikroskopi, Kültür, DT i lemleri

TEST	Uygulayan Laboratuvar (n)	%
Yayma Mikroskopi	413	98.6
Konvansiyonel Kültür	164	39.1
Sıvı Kültür	77	18.4
İlaç Duyarlılık Test	68	16.2
Toplam Lab.sayısı	419	

*Bozkurt H., Ceyhan ., Uçarman S.N., ve ark. Ülkemizdeki Tüberküloz Tanı Laboratuvarları'nın Mevcut Durum Analizi. XXVI. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi. 2011, Adana*

# Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Boyama Yöntemleri

YÖNTEM	SAYI	%
<b>EZN</b>	<b>339</b>	<b>88.1</b>
<b>Florokrom</b>	<b>1</b>	<b>0.3</b>
<b>EZN+ Florokrom</b>	<b>13</b>	<b>3.4</b>
<b>Bilinmiyor</b>	<b>32</b>	<b>8.3</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>385</b>	<b>100.0</b>

➡ 97 VSDL'nin tamamında (%100) EZN boyama yöntemi kullanılmaktadır.

➡ Ülkemizde 2 merkez de (1GHHL, 1 ÜHL) tanıda LED mikroskop kullanıldığı bildirilmiştir.



# Ülkemizde Yaygın Olarak Kullanılan Kültüre Dayalı Yöntemler

KONVANS YONEL KÜLTÜR	SAYI	%
LJ	135	86.5
LJ+Ogawa	1	0.7
LJ+TK medium	1	0.7
Bilinmiyor**	19	12.2
<b>TOPLAM</b>	<b>156</b>	<b>100</b>

SIVI – OTOMAT ZE KÜLTÜR	SAYI	%
MGIT	58	71.6
BACTEC 460	4	4.9
TK	5	6.2
BacTAlert	4	4.9
VersaTrek	2	2.5
Bilinmiyor*	8	9.9
<b>TOPLAM</b>	<b>81</b>	<b>100</b>

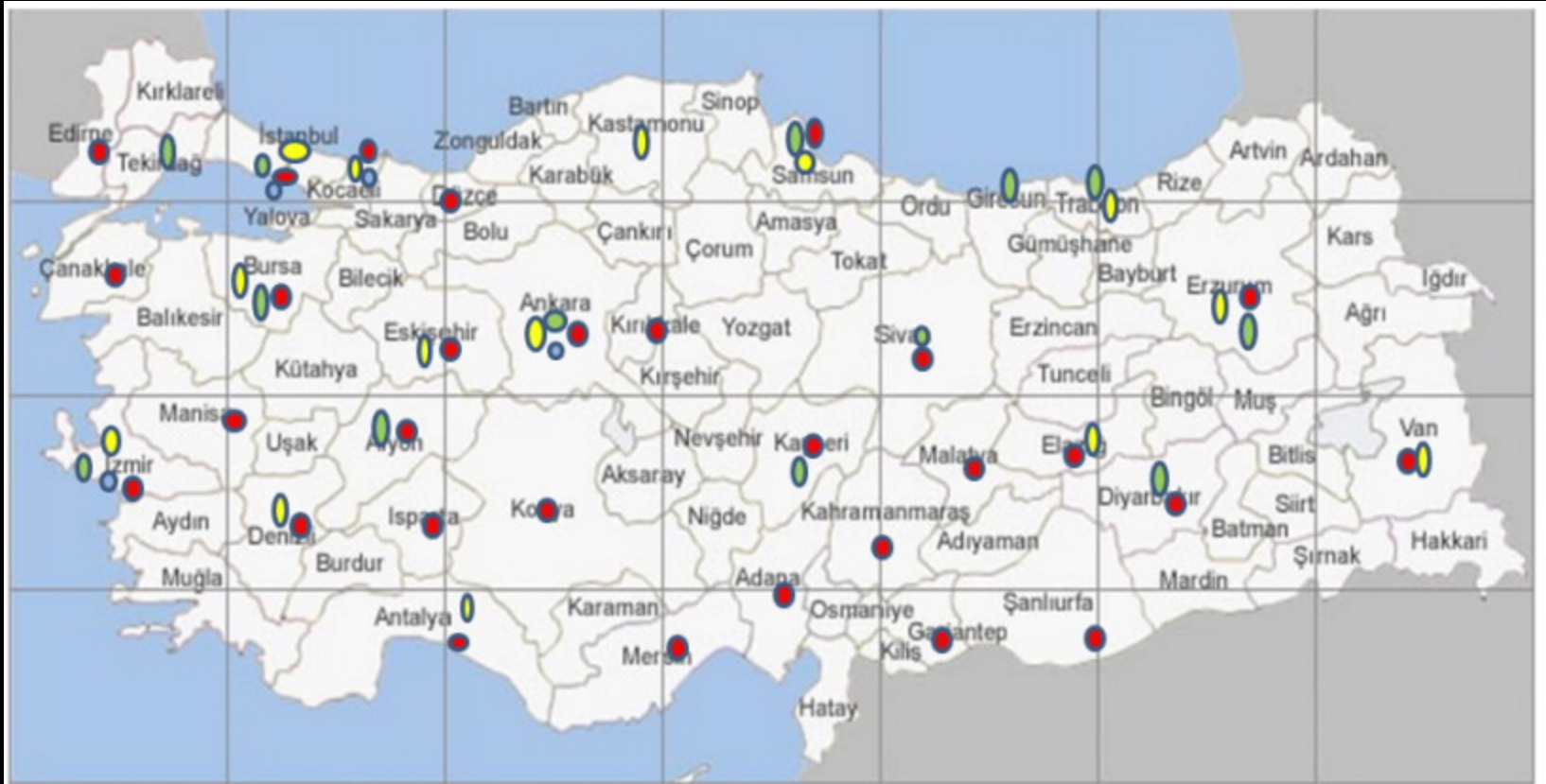
T.C Sağlık Bakanlığı \ Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK), Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı  
Daire Başkanlığı \ 2013 anket verileri

# Tanıda Konvansiyonel Katı ve Sıvı besiyerlerinin Her kisi Rutinde Kullanan Merkezler

KURUM T P	SAYI	%
TIP FAKÜLTES	45	56.3
EAH	12	15.0
GHH	7	8.8
BÖLGE TB LAB.	5	6.3
DEVLET HAST.	4	5.0
ÖZEL LAB.	3	3.8
ÖZEL HAST.	2	2.5
VSD	1	1.3
UTRL	1	1.3
<b>TOPLAM</b>	<b>80</b>	<b>100.0</b>

# TBÇG Anket Verileri (2000-2011)

( 88 TB laboratuvarınının co rafik dağılımı )



● Üniversite Hastanesi Laboratuvarı

● Eğitim Araştırma Hastanesi Laboratuvarı

● Göğüs Hastalıkları Hastanesi Laboratuvarı

● Verem Savaşı Dispanseri Laboratuvarı

# TBÇG Anketine Dahil Kurum Laboratuvarları (2000-2011yılları)

KURUM GRUBU	2000	2002	2005	2007	2011
TIP FAK.HAST.	31	26	26	25	30
GHH	9	6	9	12	4
EAH	-	1	10	8	7
VSD	6	1	4	11	3
TOPLAM	46	34	49	56	44

*Sarıgüzel N., Sürücüo lu S., Uzun M., Özyurt M., Öztürkeri H., O uz V.A., Yüce A.:Türkiyedeki Tüberküloz Laboratuvarları\ n\ n durumu: anket sonuçları\ n\ n de erlendirilmesi. KL M K kongresi ,Antalya 2013*

# Ankete katılan 88 laboratuvarların yıllık hizmet düzeyleri

TEST	Kurum Laboratuvar Sayısı (%)			
	ÜHL (41)	GHHL(18)	EAH (12)	VSDL(15)
<b>M KROSKOP</b>				
1-500 (Ç.Dü ük)	5(12)	1(6)	1(8)	1(7)
501-1000 (Dü ük)	8(20)	-	6(50)	1(7)
1001-2000* (Orta)	7(17)	5(28)	4(34)	2(13)
2001-5000 (Yüksek)	20(49) %51	4(22) %66	1(8) %8	5(33) %73
>5000	1(2)	8(44)	-	6(40)
<b>KÜLTÜR</b>				
Yok	-	-	-	1(7)
1-500 (Ç.Dü ük)	9(22)	2(11)	3(25)	1(7)
501-1000 (Dü ük)	8(20)	1(6)	5(42)	-
1001-2000* (Orta)	11(27)	4(22)	4(33)	3(21)
2001-5000 (Yüksek)	12(29) %31	5(28) %61	-	4(29) %72
>5000	1(2)	6(33)	-	6(43)
<b>POZ T F KÜLTÜR</b>				
1-10 (Ç.Dü ük)	1(3)	-	4(34)	1(7)
11-50 (Dü ük)	14(37)	2(11)	7(58)	1(7)
51-100 (Orta)	10(26)	2(11)	1(8)	-
101-500 (Yüksek)	13(34) %34	7(39) %78	-	6(43) %80
>500	-	7(39)	-	6(43)
<b>DT</b>				
Test yok	8(20)	3(17)	8(67)	7(50)
1-10 (Ç.Dü ük)	-	-	-	-
11-50 (Dü ük)	16(39)	3(17)	4(33)	-
51-100 (Orta)	10(24)	1(5)	-	-
101-500 (Yüksek)	7(17) %17	5(28) %61	-	5(36) %50
>500	-	6(33)	-	2(14)

Sarıgülzel N., Sürücüo lu S., Uzun M., Özyurt M., Öztürkeri H., O uz V.A., Yüce A.:Türkiyedeki Tüberküloz Laboratuvarlarının durumu: anket sonuçlarının de erlendirilmesi. KL M K kongresi,Antalya 2013

# Ankete katılan 88 laboratuvarların kullandıkları boyama ,kültür yöntemleri ve raporlama

TEST	Kurum Laboratuvar Sayısı (%)				
	2000 (46)	2002 (34)	2005 (49)	2007 (56)	2011 (44)
EZN BOYAMA	38(83)	30(88)	37(76)	44(79)	32(73)
K NYOUN	-	-	3(6)	4(7)	5(11)
EZN+K NYOUN/FLOROKROM	8(17)	4(12)	9(18)	8 (14)	7(16)
KANT TAT F SONUÇ B LD R M	21(46)	21 (61)	29(59)	38(68)	32(73)
POZ T F/NEGAT F SONUÇ B LD R M	25(54)	13(39)	20(41)	18(32)	12(27)
LJ BES YER KULLANIMI	26(57)	34(100)	46(94)	52 (93)	40(91)
BACTEC 12 B/ BACTEC MGIT /BACT- ALERT KULLANIMI	4(9)	-	20(41)	34 (61)	32(73)
LJ + SIVI/AGAR BAZLI BES YER KULLANIMI	16(35)	22(65)	27(55)	33 (59)	29(66)

# Ankete katılanlar arasında IDT uygulayan laboratuvarların, kullandıkları yöntemler, standart konsantrasyon kullanımları ve yıllar içindeki değişimi

	Laboratuvarların Sayısı (%)				
	2000	2002	2005	2007	2011
<b>Duyarlılık Testi (IDT)</b>	<b>30 (65)</b>	<b>26 (76)</b>	<b>29 (59)</b>	<b>39 (70)</b>	<b>30 (68)</b>
Bactec 460/MGIT 960	15 (50)	18 (69)	22 (76)	26 (67)	22 (74)
LJ	12 (40)	6 (23)	5 (17)	5 (14)	1 (3)
M7H10	3 (10)	2 (8)	-	2 (5)	1 (3)
BacT/Alert	-	-	-	3 (7)	1 (3)
TK	-	-	-	3 (7)	4 (14)
Bilinmeyen	-	-	2 (7)	-	1 (3)
<b>Standart konsantrasyon kullanımı</b>	<b>14 (47)</b>	<b>14 (54)</b>	<b>14 (52)</b>	<b>32 (82)</b>	<b>22 (73)</b>
Bactec 460/MGIT 960	10 (72)	12 (86)	13 (93)	22 (68)	18 (82)
LJ	2 (14)	2 (14)	1 (7)	5 (16)	1 (5)
M7H10	2 (14)	-	-	1 (3)	1 (5)
BacT/Alert	-	-	-	1 (3)	-
TK	-	-	-	3 (10)	2 (8)
Bilinmeyen	-	-	-	-	-

# ç ve dı kalite kontrol çalı ması yapan laboratuvarların yıllara göre de i imi

	Laboratuvarların Sayısı (%)		
	2005	2007	2011
ç Kalite Kontrol	28 (57)	37 (66)	32 (73)
Dı Kalite Kontrol	11 (22)	14 (25)	17 (39)

Sarıgüzel N., Sürücüo lu S., Uzun M., Özyurt M., Öztürkeri H., O uz V.A., Yüce A.:Türkiyedeki Tüberküloz Laboratuvarlarının durumu: anket sonuçlarının de erlendirilmesi. KL M K kongresi,Antalya 2013



# TB laboratuvarlarında Kalite Kontrol Çalı maları

<b>KAL TE KONTROL ÇALI MALARI</b>	<b>LABORATUVAR SAYISI</b>	<b>%</b>	<b>TOPLAM LABORATUVAR</b>
<b>Mikroskopi iç kalite k.</b>	<b>44</b>	<b>86.3</b>	<b>51</b>
<b>Mikroskopi dı kalite k.</b>	<b>21</b>	<b>41.2</b>	
<b>Kültür iç kalite k.</b>	<b>40</b>	<b>78.4</b>	
<b>Kültür dı kalite k</b>	<b>25</b>	<b>49.0</b>	
<b>DT iç kalite k.</b>	<b>39</b>	<b>76.5</b>	
<b>DT dı kalite k.</b>	<b>24</b>	<b>47.1</b>	

*Bozkurt H., Ceyhan ., Uçarman S.N., ve ark. Ülkemizdeki Tüberküloz Tanı Laboratuvarları'nın Mevcut Durum Analizi. XXVI. Ulusal Tüberküloz ve Gö üs Hastalıkları Kongresi. 2011, Adana*

# Dünyada güncel durum ne?

- DSÖ'nün hedeflerinden;
    - %70 olgu bulma oranı %60-67'ye ulaşmıştır.
    - %85 tedavi başarıları %86-87'ye çıkmıştır.
    - TB ve Ç D-TB'nin erken tanısı için
      - *hızlı bakteriyolojik testler*
      - *moleküler testler*
      - *LED floresan mikroskopisi*
- kullanıma girmiştir

# Ülkemiz VSD 2009 yılı verileri (Türkiyede Verem Savaşı 2011 Raporu)

- TB prevalansı **24 / 100.000**
- AKC ER TB'lu hasta sayısı : **11.554**

	2009 yılı	2005 yılı
– Mikroskopi yapılan <b>10.227</b>	( %88.5)	(%79.2)
– Mikroskopi pozitif olan <b>7.162</b>	(% 70)	(%71.7)
– Kültür yapılan <b>7.354</b>	( %63.6)	(%46.5)
– Kültür pozitif olan <b>5.730</b>	(%77.9)	(%81.9)
– ilaç duyarlılık testi yapılan: <b>4311</b>	(%75.2)	(%65.6)
• En az 1 ilaca dirençli olan : <b>819</b>	( %19)	
• Çok ilaca dirençli-TB olan : <b>222</b>	(%5.1)	

# Tüberkülozun kontrolü ve DGT' nin başarıya ulaşabilmesi

---

- TB tanı laboratuvarlarının ulusal kalite güvence sistemi içerisinde yer almaları bir zorunluluk olmalıdır.
- Bu amaçla günümüzde, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı aracılığı ile ,
  - “Ulusal Tüberküloz Tanı Laboratuvarları A 1” olu turulmu tur
    - mikroskopi, kültür ve ilaç duyarlılık testleri için gerekli eğitim
    - yöntem ve test standartlarını koyma, sonuçları izleme ve değerlendirme,
    - alt yapıya yönelik analizler
    - a a ba lı laboratuvarlar arası koordinasyon

# SONUÇ VE YORUM

---

## Tanı ve tedavide başarı için;

- Gerçek epidemiyolojik verileri saptayabilmek
- Kaynakları iyi yönetebilmek
- Yüksek düzeyde tanı kalitesini sağlamak ve sürdürmek
- Hızlı ve kesin tanıya yönelik yüksek kapasiteli yeni laboratuvar tanı sistemlerine destek vermek



*TE EKKÜR EDER M*