

KLASİK İDENTİFİKASYON YÖNTEMLERİ

Prof. Dr. Süheyla SÜRÜCÜOĞLU

Doç. Dr. Hörü GAZİ

**Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
MANİSA**

Mikobakterilerin İdentifikasyonu

- *M. tuberculosis* ve tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonlarında artış nedeni ile;
bakterilerin adlandırılması gereklidir
- İdentifikasyon ↔ Laboratuvar düzeyi
 - Düzey I
 - Düzey II
 - Düzey III

İdentifikasyonda Kullanılan Testler

- Hız
- Güvenilirlik
- Maliyet

Yayma sonuçları ; 24 saat

Kültür ve identifikasyon ; 21 gün

Duyarlılık testleri ; 30 günde bildirilmeli

CDC, 1995

İdentifikasyon Yöntemleri

- Üreme hızı, ısısı
- Pigment oluşturma
- Biyokimyasal testler

Süre: Ortalama 3 hafta

- HPLC
- İnhibisyon testleri
NAP, pNBA
- Moleküler yöntemler

Süre: Birkaç saat - 4-5 gün

Tüberküloz Laboratuvarlarının Güncel Durumu 2005 Anket Sonuçları

- Ankete yanıt veren kurum sayısı : 49
- İdentifikasyon yapan kurum sayısı: %63
- İdentifikasyon yöntemleri

NAP yöntemi	%43
Klasik yöntemler	%7
NAP + moleküler yöntemler	%27
Klasik + moleküler yöntemler	%3
NAP + klasik yöntem	%10
NAP+ Moleküler+ klasik yöntem	%10

Üreme Özelliklerinin İncelenmesi

■ Üreme hızı

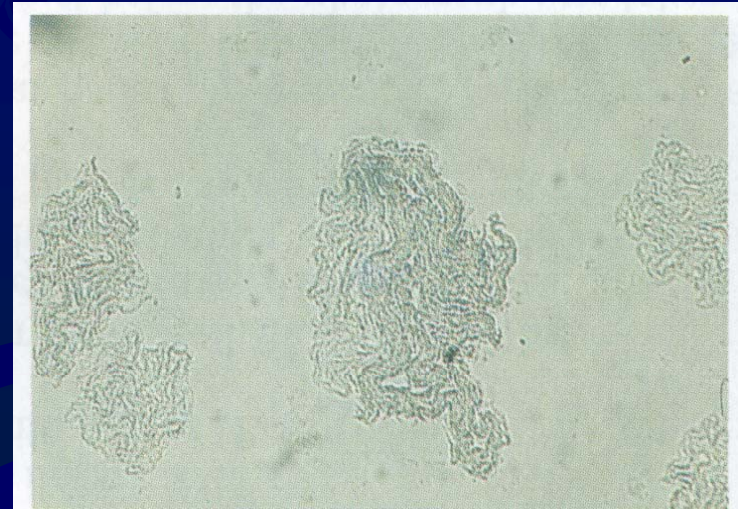
Hızlı üreyen mikobakteriler

Yavaş üreyen mikobakteriler

Kontrol; *M. tuberculosis*

M. fortuitum

■ Mikrokoloni görünümü



Üreme Özelliklerinin İncelenmesi

■ Üreme ısısı

- *M. tuberculosis* 37°C
- *M. xenopi* 42°C

Deri-derialtı örnekleri;

M. marinum 30-32°C

M. ulcerans

M. haemophilum

Pigment Üretimi

Runyon sınıflaması

Fotokromojenler
Skotokromojenler
Nonkromojenler



M. szulgai

M. kansasii

MAC

Pigment oluşumu ısıya bağlı

Değişken

HIV - Fotokromojen

Anahtar Biyokimyasal Testler-1

- **Niasin birikimi;**

Niasin NAD'a dönüşemeyip besiyerinde birikir

- *M. tuberculosis*
 - *M. simiae*
 - *M. chelonae*
 - *M. bovis*'in bazı suşları
- } niasin (+)



- LJ'de, 3 haftalık kültürler ile çalışılmalıdır
- Kullanılan ayıraçlar toksiktir

Anahtar Biyokimyasal Testler-2

■ Nitrat redüksiyonu

Nitroredüktaz enzimi ile nitratların nitritlere indirgenmesi

- *M. tuberculosis*
 - *M. kansasii*
 - *M. szulgai*
- } nitroredüktaz üretir

- Asitli ortama amin eklendiğinde kırmızı diazonium boyası oluşur
- Kantitatif olarak değerlendirilebilir
- Ayraçlar karanlıkta saklanmalıdır



Anahtar Biyokimyasal Testler-3

■ Katalaz aktivitesi

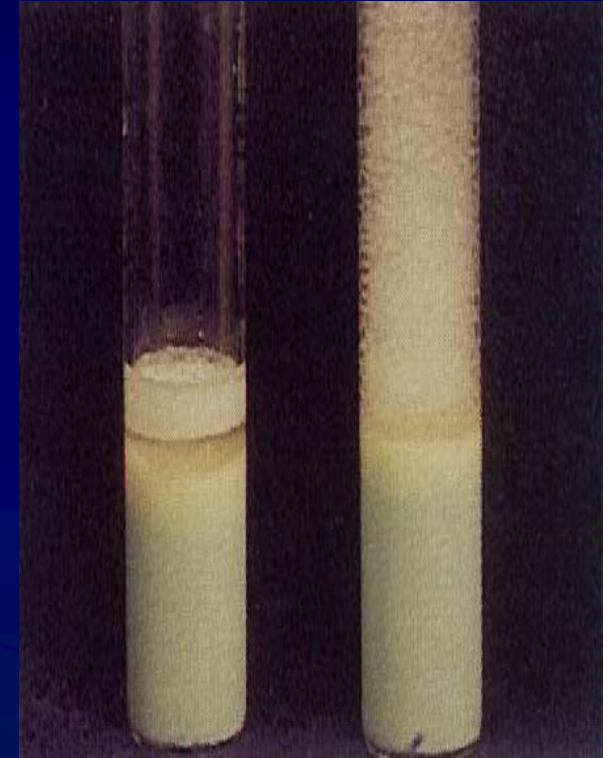
INH dirençli *M. tuberculosis* dışında her mikobakteride katalaz enzimi var

■ Enzimin iki özelliği araştırılır;

1. Semikantitatif katalaz testi
2. Isıya stabil katalaz testi

■ *M. tuberculosis* kompleks;

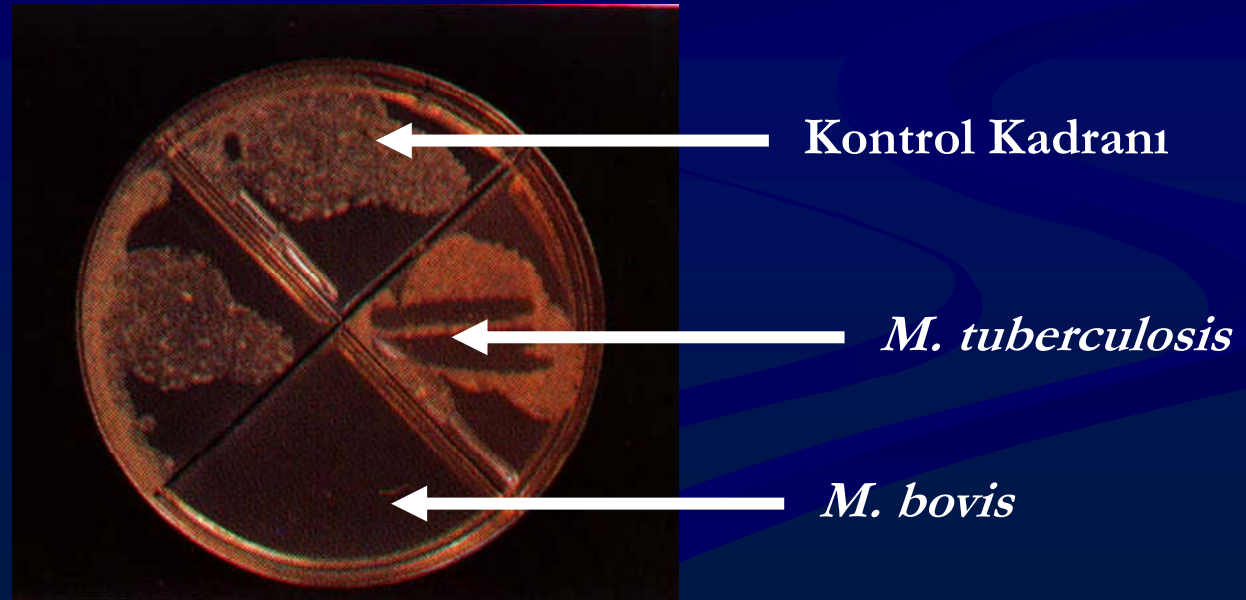
1. Katalaz aktivitesi düşük
2. Katalaz enzimi ısıya dayanıklı değil



M. tuberculosis – *M. bovis*

TCH varlığında üreyebilme

- Niasin (+) *M. bovis*'i *M. tuberculosis*'den ayırır
- *M. bovis* TCH'a duyarlıdır
- Agar proporsiyon yöntemi ile TCH direnci araştırılır
- Besiyeri karanlıkta saklanmalıdır



Sıvı Besiyerinde İdentifikasyon

Kord oluşumu

- GI>100 ulaştığında / üreme sinyali alındığında EZN boyama yapılır
- Duyarlılık >%90 (*M. tuberculosis* kompleksi)



Sıvı Besiyerinde İdentifikasyon

İnhibisyon Testleri

NAP – BACTEC460 TB Sistemi

pNBA – BACTEC 960 , MB/Bact Alert Sistemi

- Duyarlılık > %95
- Biyokimyasal testler veya moleküler yöntemlerle desteklenmeli



İdentifikasyonda Algoritma

- Laboratuvarın olanaklarına ve tercihine göre değişir
- **Katı besiyeri;**
 - ⇒ Üreme hızı, mikrokoloni incelemesi,
 - ⇒ Pigmentasyon testi
 - ⇒ Anahtar biyokimyasal testler
- **Sıvı besiyeri;**
 - ⇒ Kord oluşumunun incelenmesi
 - ⇒ İnhibisyon testi
 - ⇒ Moleküler Yöntemler / Anahtar biyokimyasal testler

İdentifikasyon Yöntemleri Uygulanırken;

- Güvenlik düzeyi II koşulları sağlanmalıdır
- Kontrol suşlar ile çalışılmalıdır
- Beklenmeyen sonuçlarda test tekrar edilmelidir
- İnfeksiyonun yerleşim yeri dikkate alınmalıdır

