

# TÜBERKÜLOZ TANISINDA SORUNLAR VE YENİLİKÇİ ÇÖZÜMLER

Tanıl Kocagöz

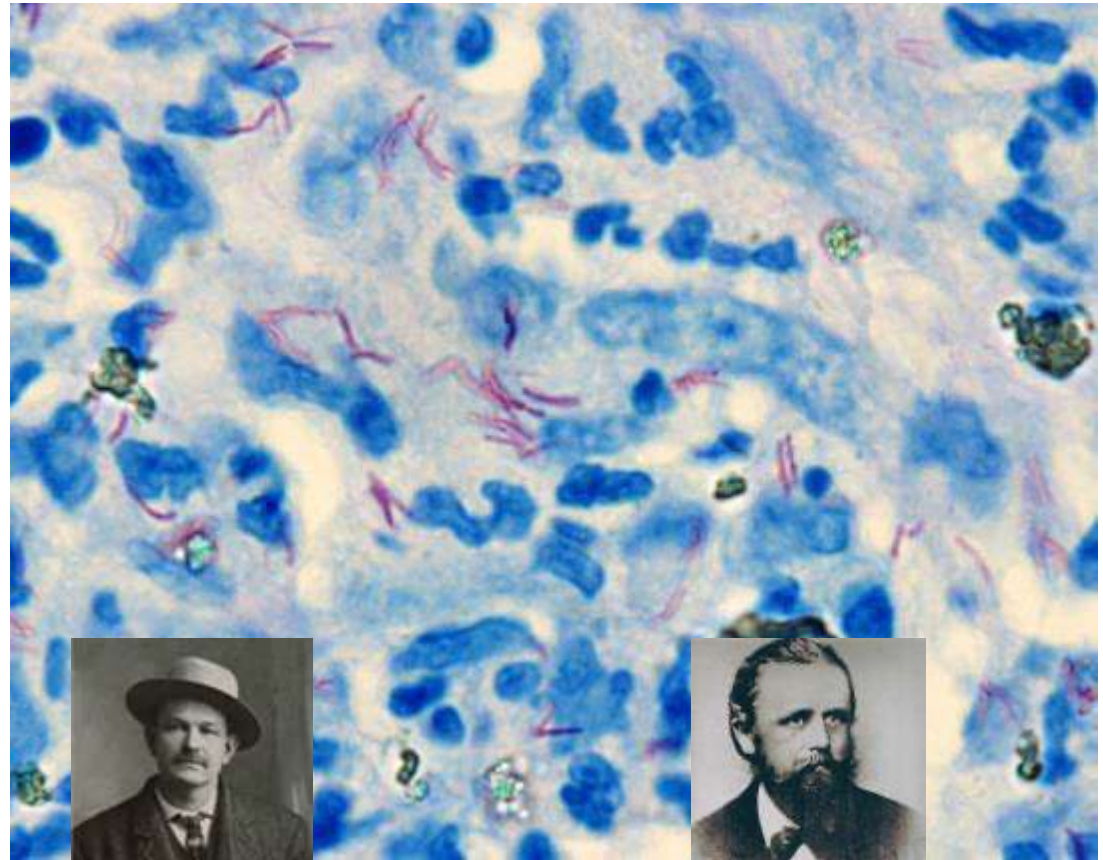


ACIBADEM  
MEHMET ALİ AYDINLAR  
ÜNİVERSİTESİ

# Tüberküloz

- Dünya nüfusunun üçte biri taşıyıcı
- Bunların arasından her yıl 10 milyon yeni hasta ortaya çıkıyor
- 3 milyon kişi (günde 5.000 kişi) yaşamını yitiriyor. Bunların üçte birine hiç tanı konmadığı biliniyor.
- 2020'ye dek azalan tüberküloz insidansı Covid19 pandemisi ile birlikte 2021'de artışa geçti
- Gelişmekte olan ülkelerde önlenebilir ölümlerin %25'ini tüberküloz oluşturuyor
- İlaç direnci hızla artıyor

# *M. tuberculosis* - Robert Koch - 1882



Erlich



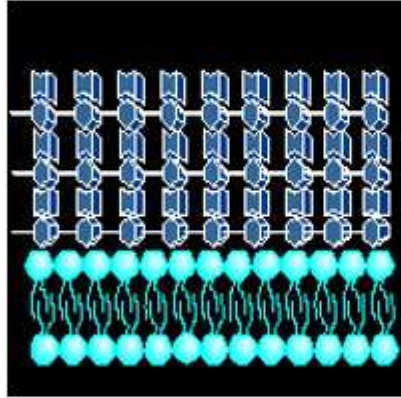
Ziehl



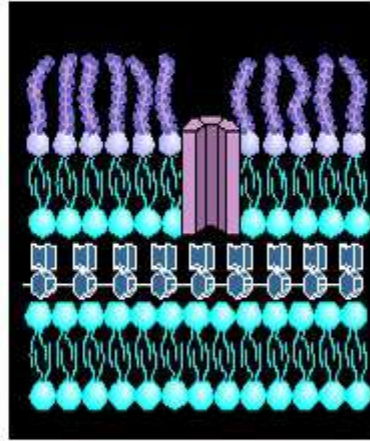
Neelsen

# Mikobakteri hücre çeperinin boyanması

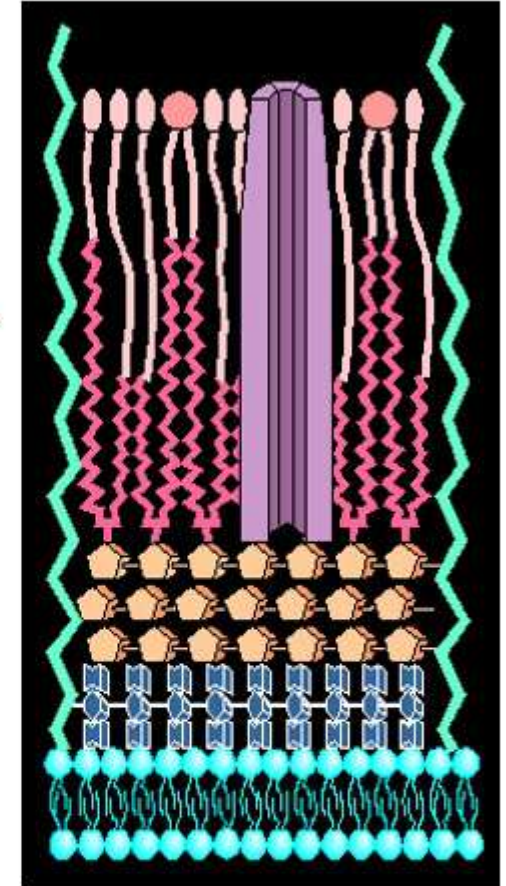
**Mikolik asitler** çok uzun zincirli yağ asitleridir. Çok hidrofobik bu tabakaya kırmızı renkli **fuksin** boyasının girebilmesi için yağları sıvılaştırılan fenol gerekmektedir. Bunu sağlamak için EZN boyasında litrede **50g**, ısıtma gereğini ortadan kaldıran **Kinyoun** karbol **fuksininin** litresinde **67g fenol** bulunmakta



Gram +

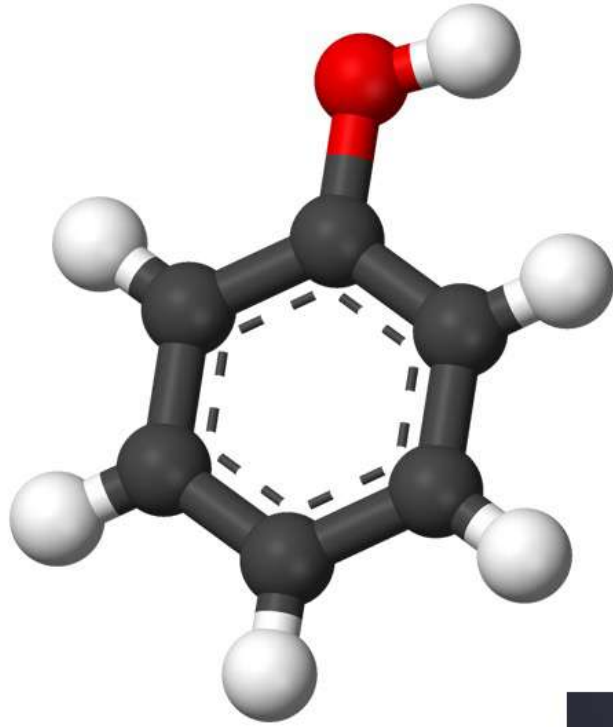


Gram -



Mikobakteri





# Fenol

**Soluma ile:**  
İştahsızlık  
Kilo kaybı  
Baş ağrısı  
Baş dönmesi



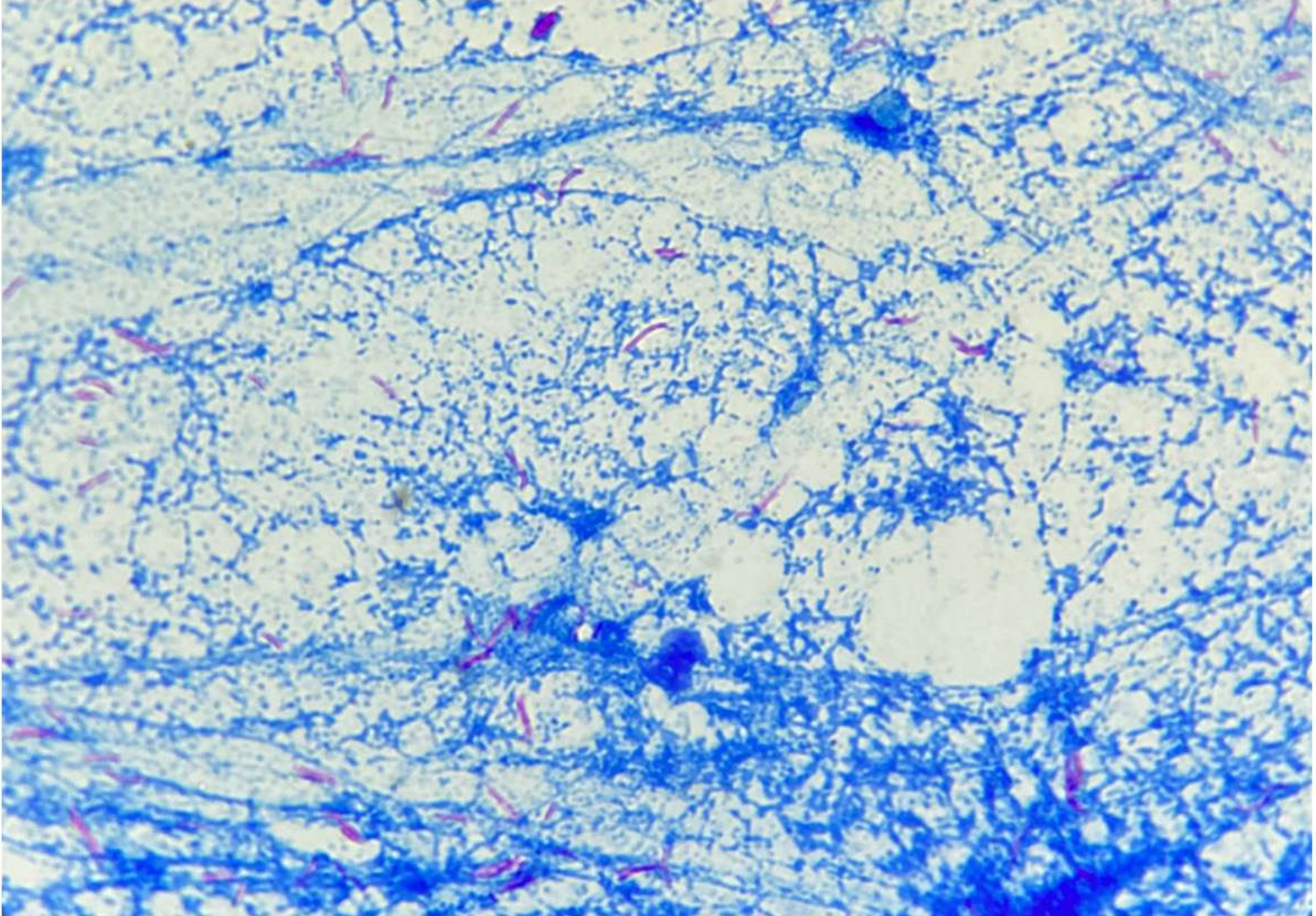
**Deri teması:**  
Yangı  
Eritem  
Yanık  
Nekroz

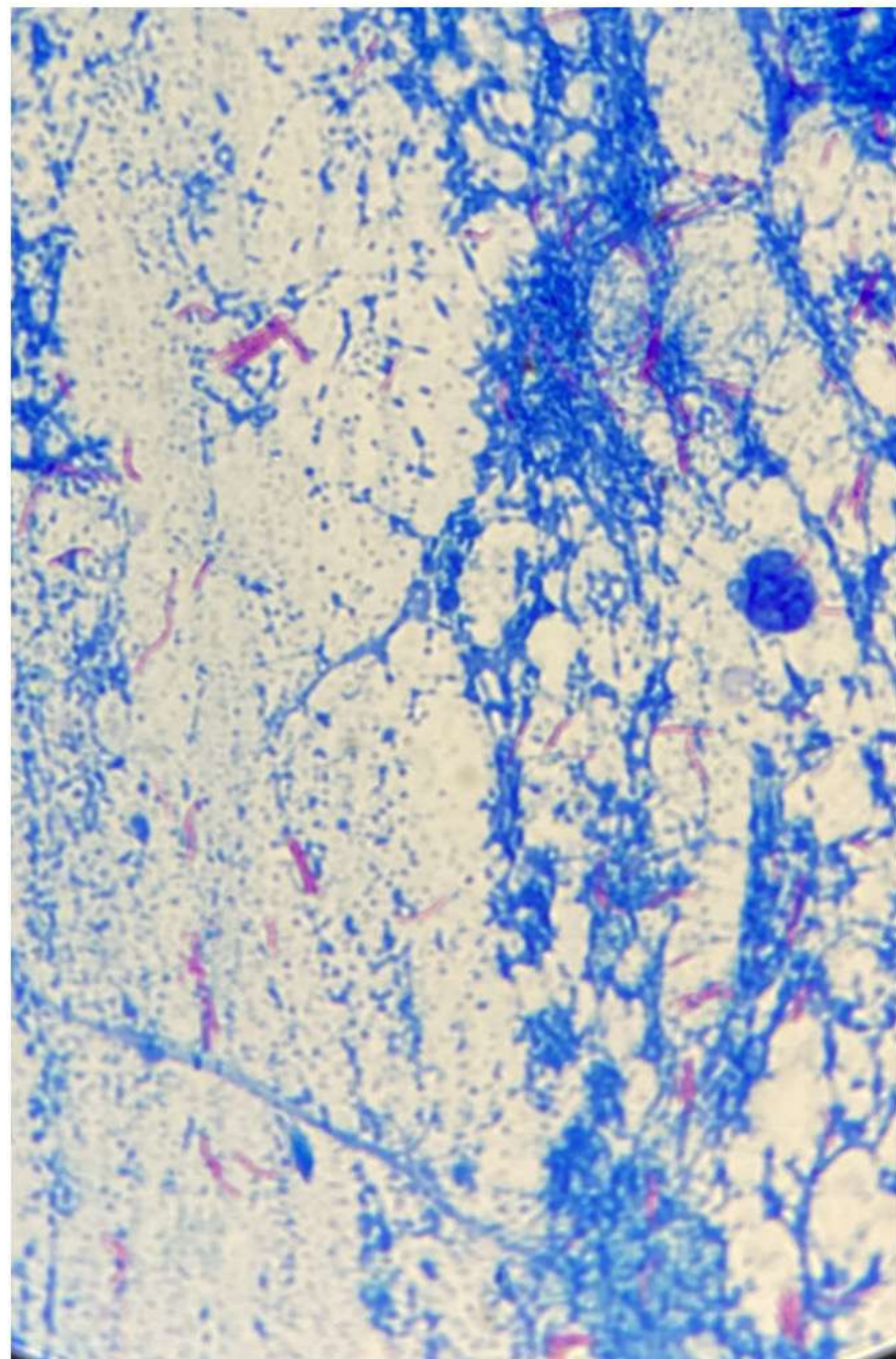
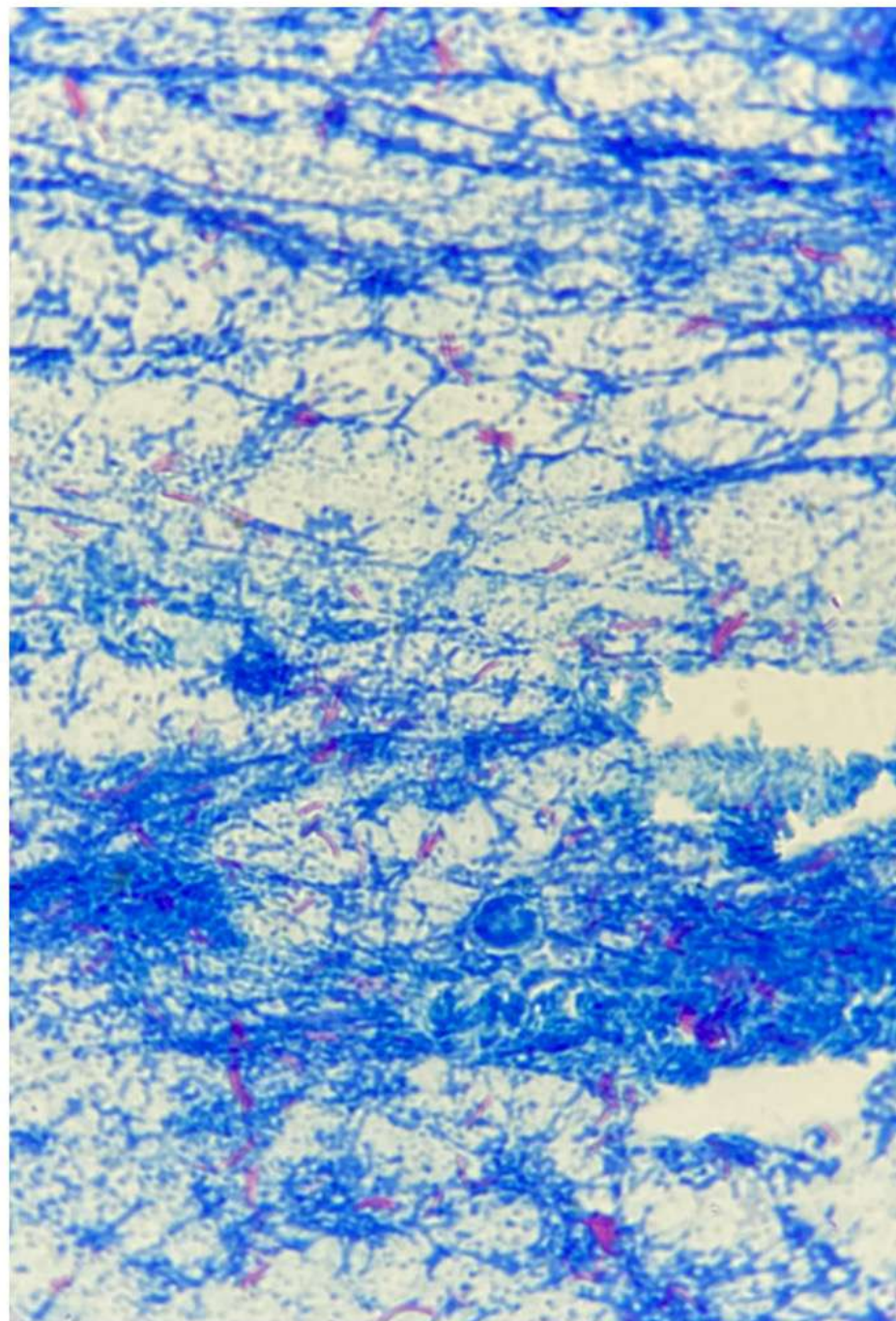


**Sindirim sistemi:**  
Siyanoz  
Bilinç kaybı  
Solunum durması  
Ölüm

# SafeTAIN – TB

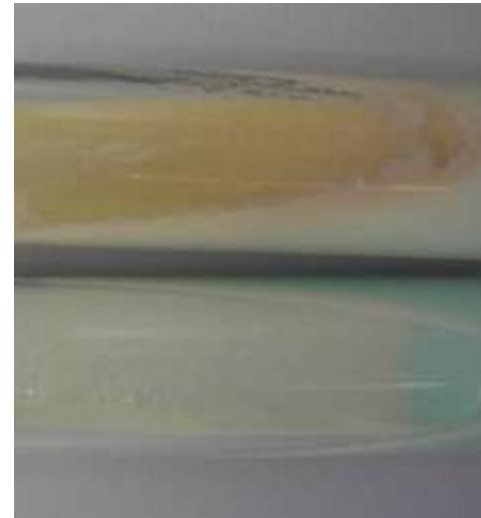
- SafeTAIN – TB yeni, fenol içermeyen bir aside dirençli boyama kiti
- Fenol yerine toksik olmayan güvenli lipolitik kimyasallar içeriyor
- Mikobakterileri EZN ve Kinyoun kadar iyi boyuyor





# Löwenstein Jensen Besiyeri

**Sorun:** Yavaş üreme; geç kültür sonucu





# Dekontaminasyon Konsantrasyon

- Balgamda çok sayıda hızlı üreyen bakteri bulunur. *M. tuberculosis* çok yavaş ürediği için balgam doğrudan besiyerine ekilirse hızlı üreyen bakteriler besiyerini kaplayarak mikobakterilerin görölmesini engeller. Bunu önlemek için bu bakterileri öldüren, mikobakterilere zarar vermeyen kimyasallar ile örnek dekontamine edilir.
- Dekontaminasyon yapılamazsa kültür yapılamaz, kültür yapılamazsa, antitüberküloz duyarlılık testi ve tür saptama yapılamaz.



# Dekontaminasyon ve Konsantrasyon

## Petroff Yöntemi: 1915

- Balgam 1N NaOH ile dekontamine edilir
- pH nötralizasyonu 1N HCl ile yapılır
- pH indikatörü olarak brom-timol mavisini kullanılır.
- Çözeltileri hazırlaması kolay
- pH ayarlaması zor
- Santrifüj gerektiriyor



# Kubica Yöntemi: 1963

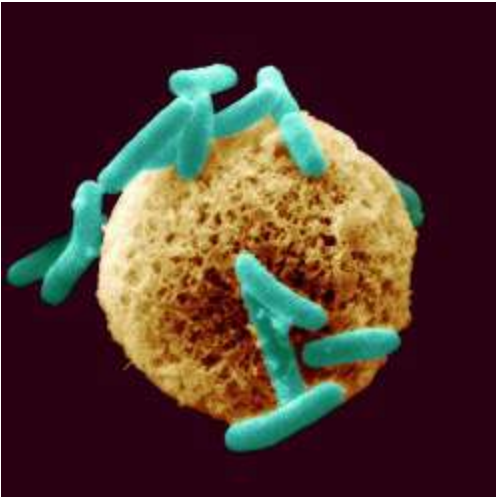
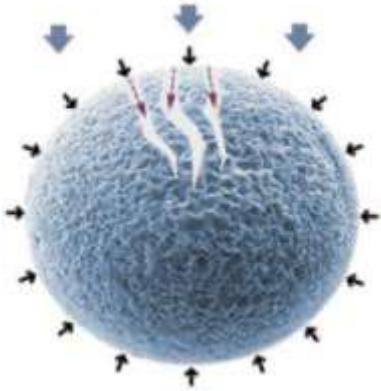
- Decontaminasyon için NaOH-NALC kullanılır
- Nötralizasyon için fosfat tamponu kullanılır
- pH ayarlaması daha iyi ama deneyim ve dikkat gerektiriyor
- Çözeltilerin hazırlanması zor, yarı ömrü kısa
- Kontaminasyon olasılığı yüksek
- Santrifüj gerektiriyor



# DECOMICS (2012)

Santrifüj gereksinimini ortadan kaldıran dekontaminasyon ve konsantrasyon yöntemi

Emici boncuklarla çalışır. İşlem süresini 45'den 23 dakikaya indirir.



# DECOMICS İLE ÖRNEK İŞLEME



Örnek kaba konur



Karıştırılır



10 dakika beklenir



Boncuk paketi açılır



Emici boncuklar eklenir



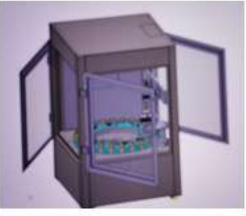
Karıştırılır  
5 dakika beklenir



Nötralizasyon  
sıvısı eklenir

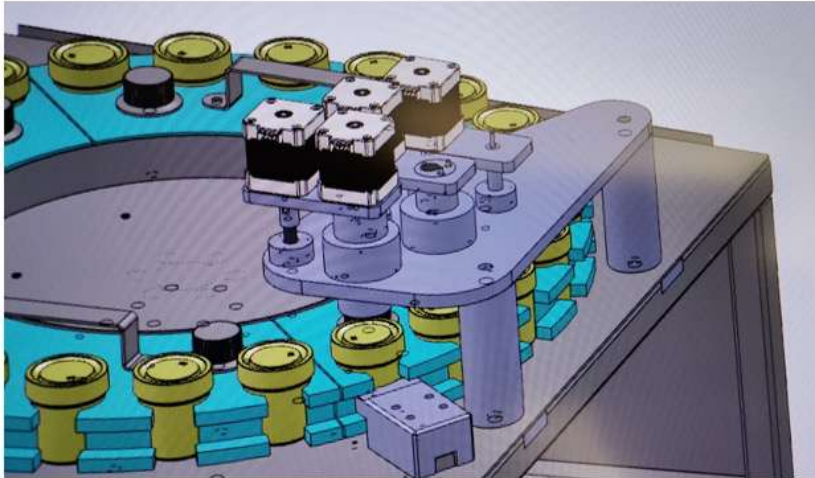
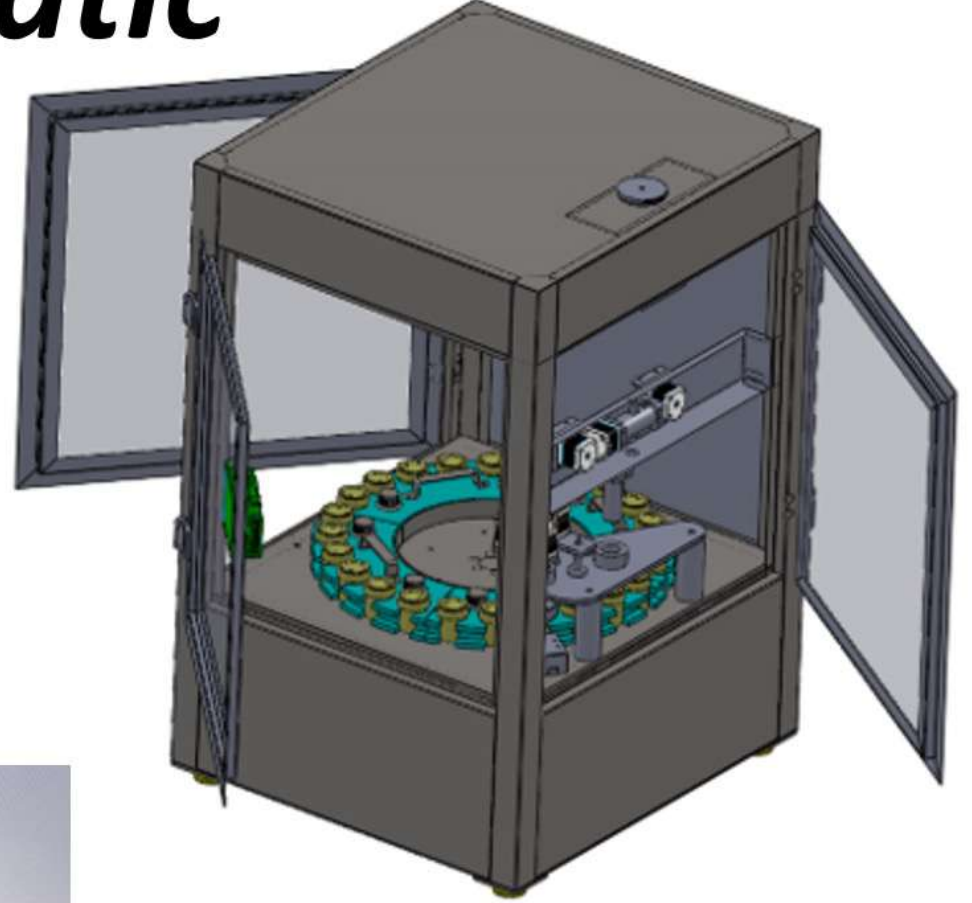


3 dakika sonra hazır  
olan örnekten ekim yapılır

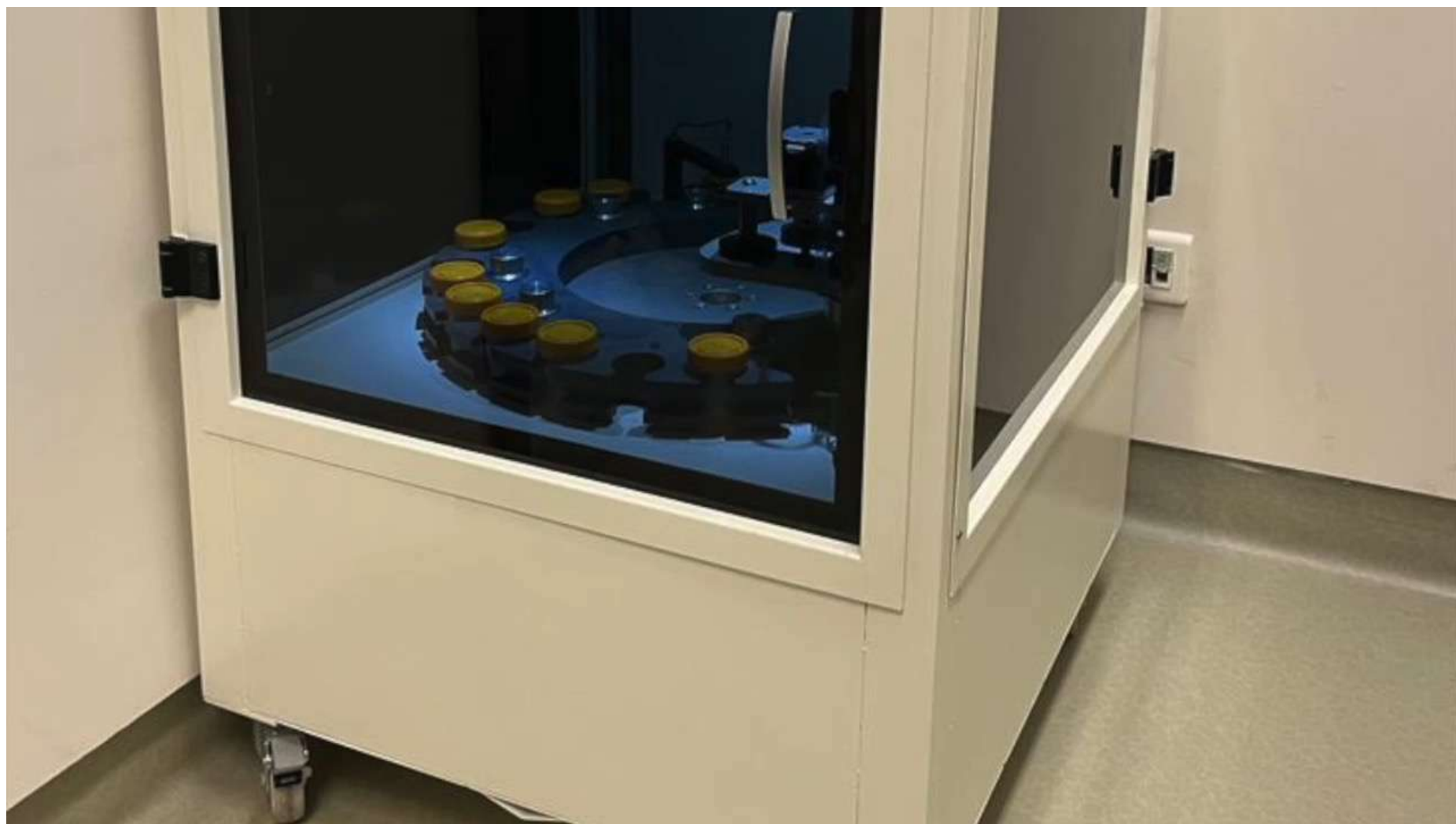


# Decomatic

- ✓ 24 örneği 30 dakikada tamamlar
- ✓ Bir günde yaklaşık 400 örnek işleyebilir
- ✓ Hava geçirmeyen kapakları ve morötesi ışın ve HEPA filtre ile içindeki havayı sürekli temizleyerek güvenli çalışma sağlar.
- ✓ Laboratuvar kökenli tüberküloz enfeksiyonlarını büyük oranda önler.
- ✓ Laboratuvar iş yükünü önemli ölçüde azaltır.



Otomatize  
Dekontaminasyon ve  
Konsantrasyon  
Aygıtı



# Hızlı Kültür Sistemleri

Middlebrook 7H9 besiyeri kullanırlar.

**Sorun:** Kullanıma hazır değil. Besleyici ve seçici eklentiler gerektirir.

- BACTEC (Becton Dickinson, USA)
- MGIT (Becton Dickinson, USA)
- Bac-T Alert  
(Biomerieux, France)
- Versatrek  
(Thermoscientific, USA)
- TK Kültür Sistemi  
(TiBO)





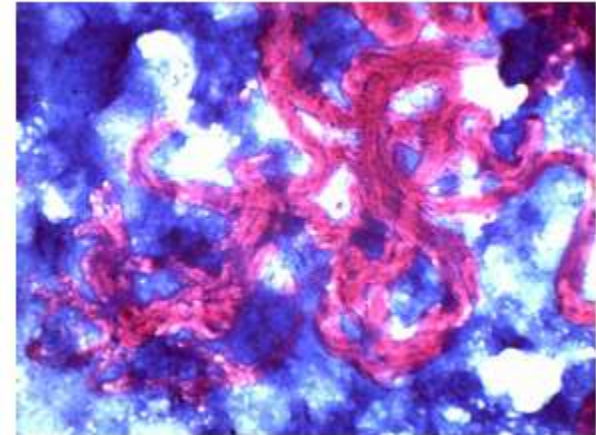
# TK MEDIUM

- ✓ Kullanıma hazır: OADC ve seçici antimikrobiyal eklenmesini gerektirmiyor.
- ✓ Besiyerinin rengi kırmızıdan sarıya değişerek üremeyi gösteriyor. Üreme 7-15 günde saptanıyor.
- ✓ Mikobakteri dışında bir tür üreyecek olursa renk kırmızıdan yeşile dönerek kontaminasyonun ayırt edilmesini sağlıyor.



TK Medium

Kontaminasyon



# TK Medium

- Hızlı kültür sonucu, kontaminasyonu ayırt etme
- TK-SLC diğer bakteri türleri ve mantarların üremesini engelleyen ilaç içeren seçici TK-Besiyeri
- Hızlı ilaç duyarlılığı belirleme
- Hızlı *M. tuberculosis* ve atipik mikobakteri ayrımı



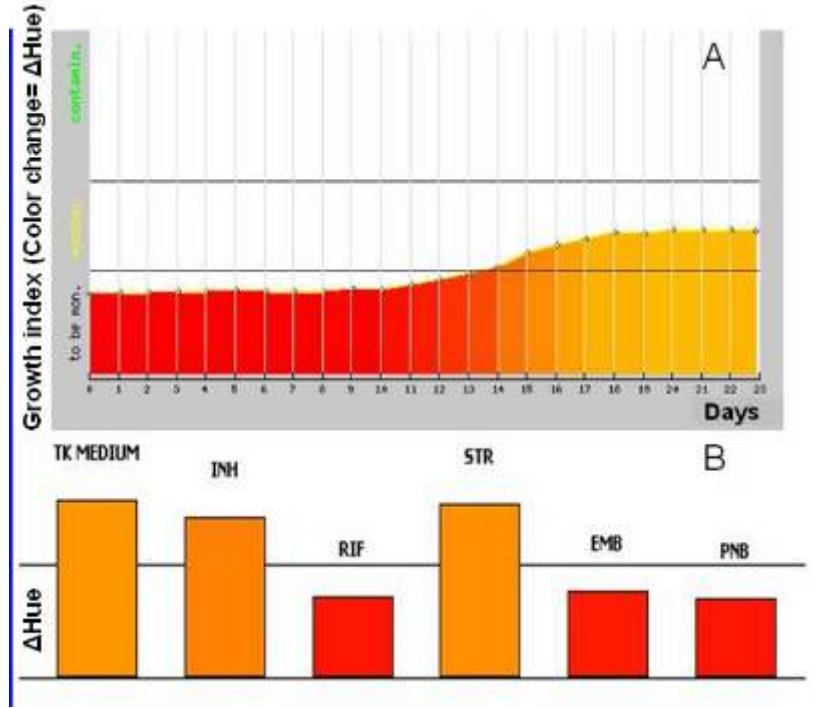
TK MEDIUM

MİKOBAKTERİ

KONTAMİNASYON



# Mycolor TK



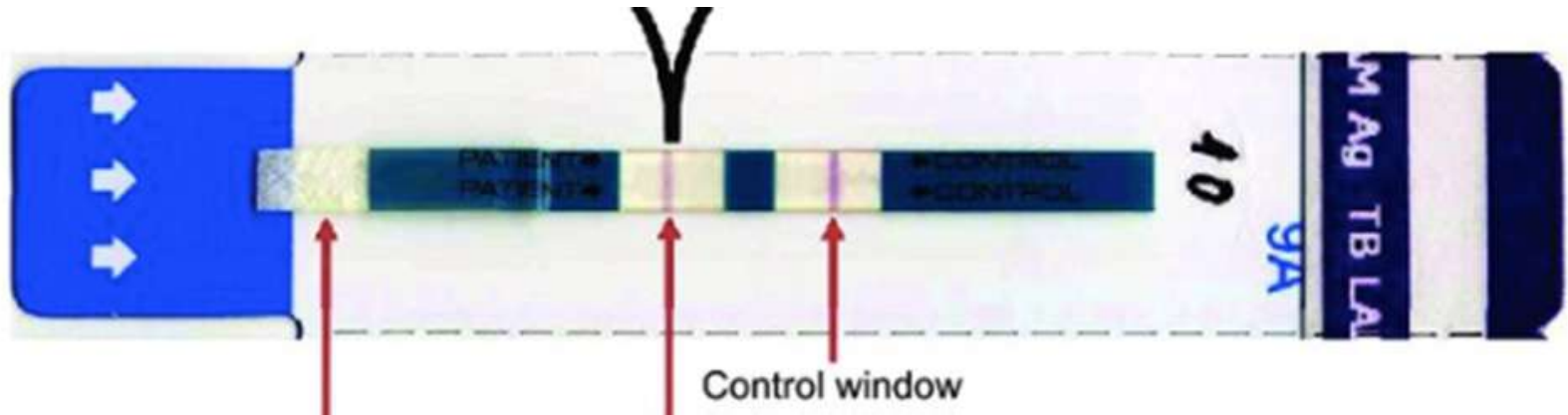
- ✓ TK Medium için bilgisayarlı otomatik inkübatör ve okuyucu
- ✓ Her örnek için üreme eğrileri çiziyor
- ✓ Uzman sistemi ile *M. tuberculosis*, atipik mikobakteri, kontaminant organizma ayrımı yapabiliyor
- ✓ Otomatik ilaç duyarlılığı belirleme ve tiplendirme yapabiliyor

# *M. tuberculosis* saptanamıyorsa tüberküloz tanısı ve ayırıcı tanı

- Akciğer tüberkülozu başlangıç döneminde, akciğer dışı tüberkülozlarda, çocukluk çağı tüberkülozlarında klinik örneklerde *M. tuberculosis* saptamak çok zor.
- Tüberkülin deri testi ve IGRA testleri sadece vücutta *M. tuberculosis* olup olmadığını gösteriyor.
- Bu testleri pozitif olanların sadece %10'u aktif tüberküloz geçiriyor, %90 yaşam boyu latent olarak kalıyor.
- Tüberküloz ile en çok karışan hastalıklar, uzun süren ateş, hızlı kilo kaybı gibi belirtilerle seyreden kanserler, otoimmün hastalıklar ve diğer kronik enfeksiyonlar (tularemi, bruselloz, enterik ateş, enfeksiyöz mononükleozis, endokardit, paraziter enfeksiyonlar...)

# Aktif ve Latent Tüberkülozu Ayırabilecek Testler

- İdrarda M. tuberculosis hücre duvarı antijeni lipoarabinomannana (Urinary-TB-LAM) bakan immünkromatografi testi.
- Bağışıklık sistemi çalışan hastada duyarlılık %10'un altında. Bağışıklık sistemi baskılanmış (HIV+) hastada duyarlılık yaklaşık %50.



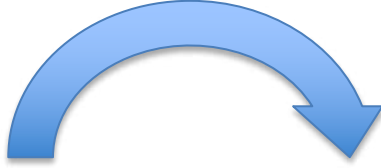
# MyMagiCon

Mikroorganizma ve Makromolekül Yoğunlaştırıcı



INCUBATION

Center



MAS

Seyreltik örnek

Bir kez yoğunlaştırılmış

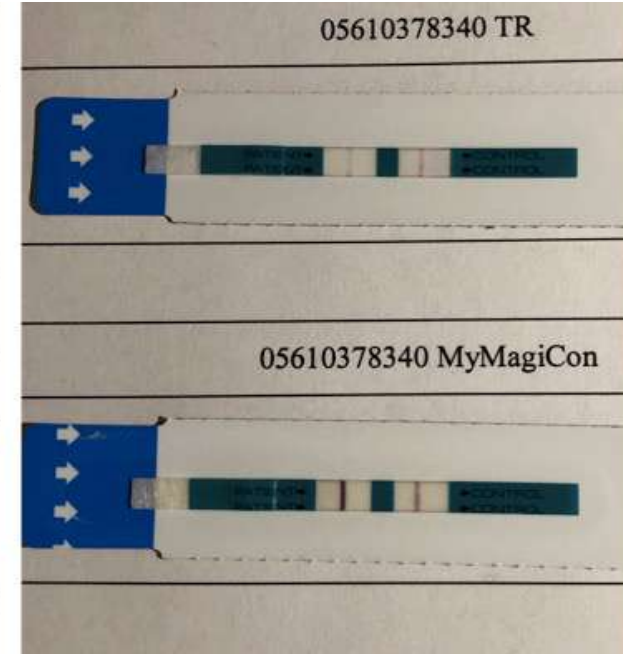
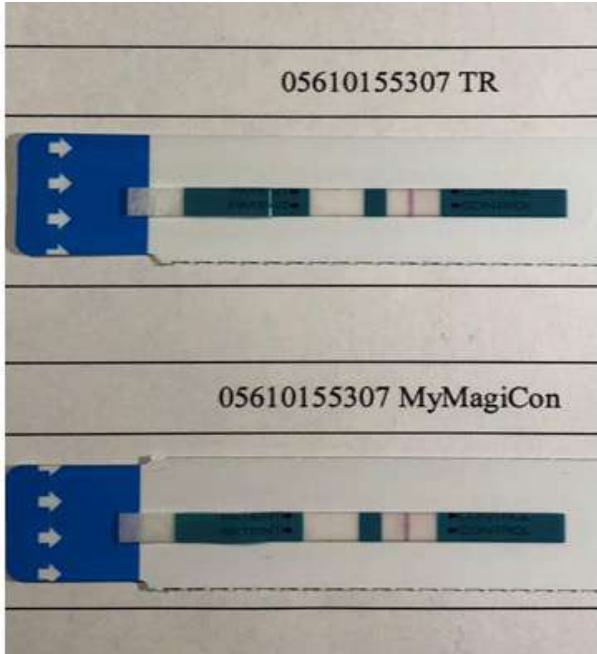
İki kez yoğunlaştırılmış







## Orijinal örnekler



MyMagicon ile yoğunlaştırılmış örnekler

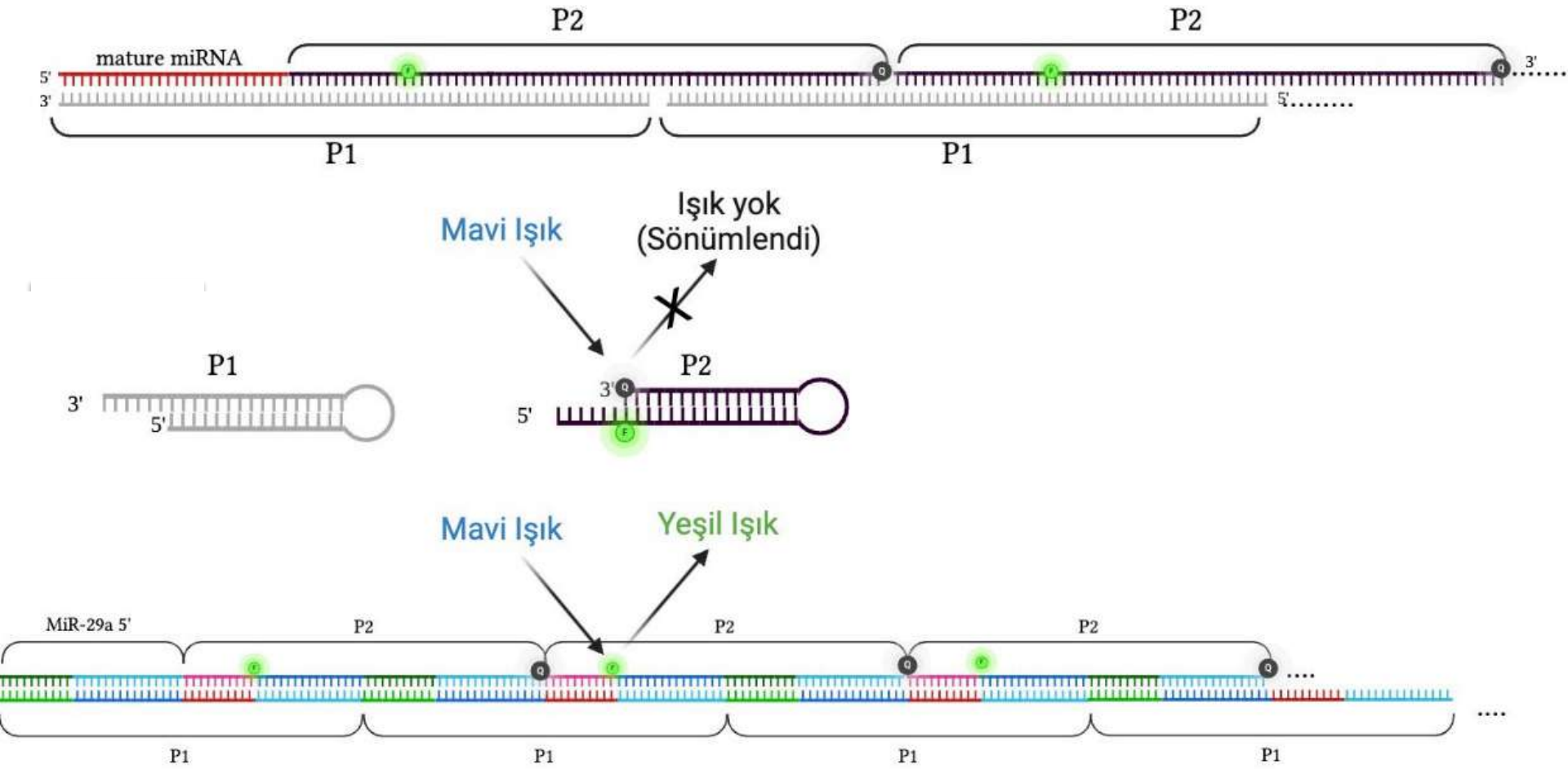


# Aktif ve Latent tüberküloz ayrımında biyobelirteç olarak kullanılacak miRNA'lar

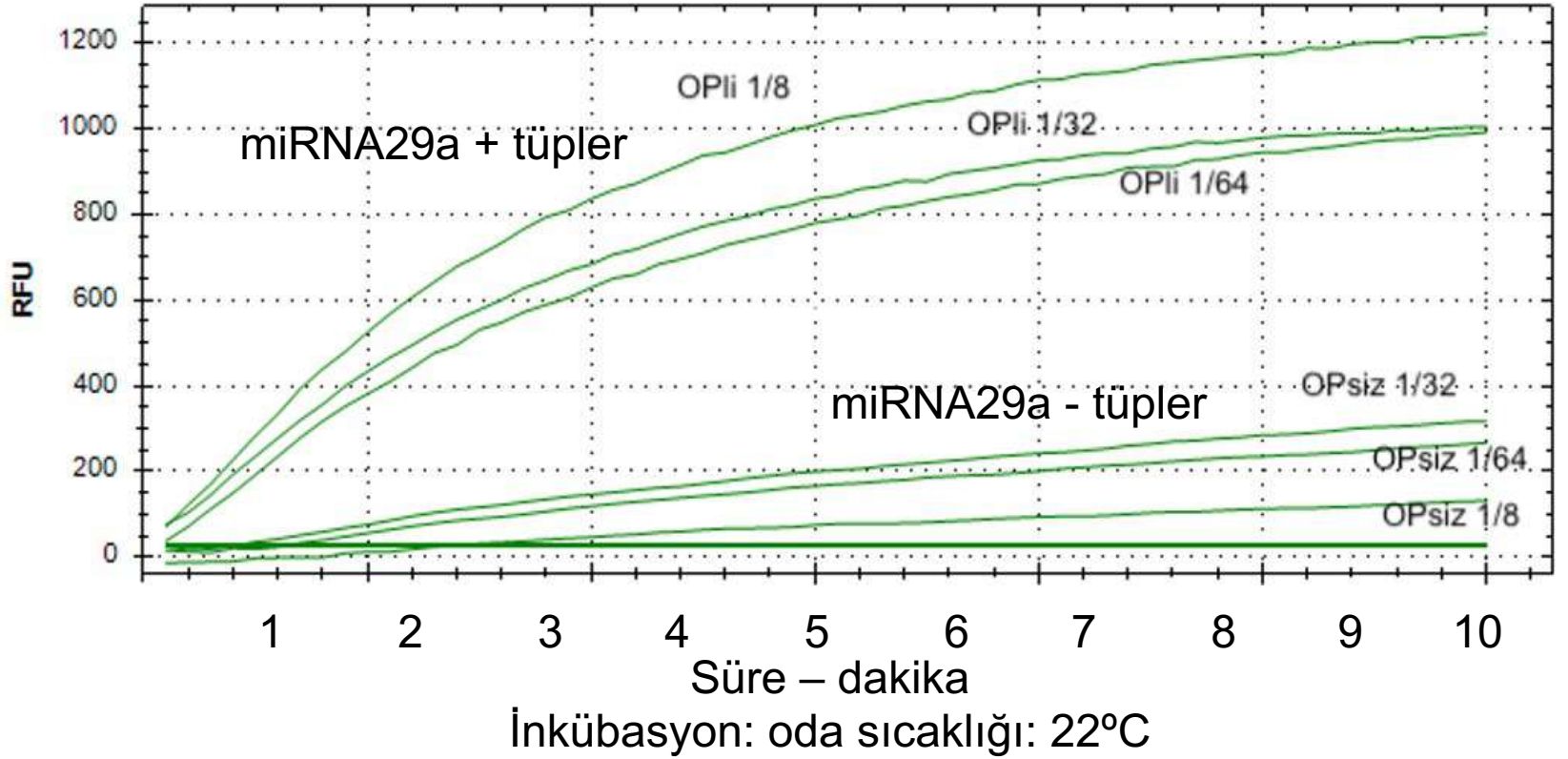
- Gen regülasyonunda önemli rol oynayan farklı miRNA'lar aktif ve latent tüberkülozda kan ve idrarda saptanmış.
- Olgunlaşmış miRNA'lar 22 nükleotit boyunda küçük RNA molekülleri
- Mikrodizin ve izlenebilir PZT ile saptanabiliyorlar ama bu yöntemler zor ve pahalı, hasta başı kullanılacak yöntemler değil.

| <u>Aktif Tüberküloz Hastalarında Düzenli Artış Gösteren miRNA'lar</u> | <u>Aktif Tüberküloz Hastalarında Düzenli Azalış Gösteren miRNA'lar</u> |
|---|--|
| <a href="#">miR-424-5p</a> (Wang vd., 2016)                           | <a href="#">miR-150-5p</a> (Zhang vd., 2018)                           |
| <a href="#">miR-144-3p</a> (Lv vd., 2016)                             | <a href="#">let-7a-5p</a> (de Araujo vd., 2019)                        |
| <a href="#">miR-451</a> (Miotto vd., 2013)                            | <a href="#">miR-3675-5p</a> (Lyu vd., 2019)                            |
| <a href="#">miR-210</a> (Qi vd., 2012)                                | <a href="#">miR-652-5p</a> (Barry vd., 2018)                           |
| <a href="#">miR-29b-3p</a> (Zhou vd., 2016)                           | <a href="#">miR-125a-5p</a> (Wang vd., 2018)                           |
| <a href="#">miR-451a</a> (Fu vd., 2014)                               | <a href="#">miR-769-5p</a> (Cui vd., 2017)                             |

# Hibridizasyon Sinyal Çoğaltma ile miRNA Saptama



# miRNA29a eklenen tüplerde ışımaya artışı



Cep Telefonu, mavi ışık ve turuncu filtre ile çekilmiş resim



miRNA29a pozitif örnek

miRNA29a negatif örnek



Teşekkürler