



## MYCOBACTERIUM KÜLTÜRÜ (BACTEC YÖNTEMİ İLE)

**Diğer adları:** Tüberküloz kültürü, tbc kültürü, Bactec mikobakteri kültürü.

**Kullanım amacı:** Tüberküloz enfeksiyonu olasılığının araştırılması amacıyla kullanılır.

### Genel bilgiler:

- Tüberküloz, dünyada en yaygın olarak görülen ve en çok yaşam kaybına sebep olan enfeksiyon hastalıklarından biridir. Eski dönemlerde olduğu gibi, sosyoekonomik açıdan daha geri toplumlarda ve toplum kesimlerinde daha sık görülmeyle birlikte, HIV enfeksiyonlu kişilerin farkında olmadan rezervuar oluşturarak çevrelerini enfekte edebilmesi sebebiyle sosyoekonomik açıdan iyi durumda olan toplumlarda görülen sporadik vakaların sayısında artma olduğu dikkati çekmektedir.
- Enfeksiyon genellikle basil içeren damlacıkların solunum yoluyla alınması sonucunda gerçekleşir. Bu şekilde alınıp alveollere ulaşan basil, burada makrofajlar tarafından fagosite edilir. Enfeksiyona karşı bağışıklığı ve direnci olmayan kişilerde makrofajların ve T lenfositlerinin basilleri sınırlayamaması durumunda, basiller yuvalandıkları noktada çoğalmaya başlar. Bağışıklık cevabının oluşmasına kadar geçen süre içinde kan ve lenf yoluyla vücudun diğer kısımlarına yayılabilir. Klinik ve radyolojik olarak herhangi bir bulgu ve belirtinin görülmediği bu döneme **primer tüberküloz enfeksiyonu dönemi** adı verilir. Bağışıklık sistemi yeterince güçlü olan kişilerde, makrofajlar ve hücresel bağışıklıktan sorumlu T lenfositleri, basilleri bir granülom dokusu içinde hapsederek çoğalmalarını ve yayılmalarını engeller. Böylece basiller bu doku içinde uzun yıllar sessiz bir şekilde varlığını sürdürür. Enfeksiyona ilk kez maruz kalan kişilerin pek çoğunda meydana gelen bu duruma **latent tüberküloz enfeksiyonu** adı verilir. Latent enfeksiyon dönemindeki kişilerde herhangi bir klinik bulgu tespit edilmez ve bu kişilerin çevreleri için risk oluşturmaları söz konusu değildir. Ancak bağışıklık sistemlerinin zayıflaması halinde, basillerin reaktif olarak aktif tüberküloz tablosu oluşturması olasılığı her zaman mevcuttur. Latent tüberküloz tablosuna sahip kişilerin, koruyucu tedavi uygulanmaması durumunda yaklaşık %10'luk bir kısmında aktif tüberküloz gelişebildiği bildirilmektedir. Gastrektomi, silikozis, diabetes mellitus ve HIV enfeksiyonu, kortikosteroid tedavisi ve bağışıklık sisteminin zayıflamasına yol açan diğer ilaç tedavileri reaktivasyon olasılığını artırır. Geçmişte yetişkin çağı tüberküloz vakalarının çok büyük kısmının latent enfeksiyonların reaktivasyonu sonucu



meydana geldiği düşünülüyor halde, DNA parmak izi yöntemleri kullanılarak yapılan araştırmalar, özellikle şehirlerde ortaya çıkan yeni vakaların çok büyük kısmının kişiden kişiye yeni bulaşmalar sonucunda ortaya çıktığını göstermektedir. Özellikle yaşlılar, HIV enfeksiyonlular ve bakım evlerinde yaşayanlar arasında atipik seyir gösteren vakaların oranında belirgin artma meydana geldiği görülmektedir. Bağışıklık sistemi yeterince fonksiyon görmeyen bu gruplarda ekstrapulmoner tüberküloz daha sık görülmektedir.

- Tüberküloz vakalarının sayısında artma meydana gelmesi, hastalığın klinik formlarında değişiklik görülmesi ve özellikle de tedaviye dirençli vakaların oranının yükselmesi, hızlı ve güvenilir teşhis araçlarının kullanımını gerektirmektedir. Kesin teşhis için kültür yöntemleri veya nükleik asit amplifikasyonu yöntemleri kullanılır. Sempto-matik bir şahısta, enfeksiyon olasılığını destekleyen bir veri sağlamakla birlikte, Ziehl-Neelsen boyası ile balgam örneğinde aside dirençli basillerin görülmesi hiçbir zaman kesin tanı için yeterli olamaz. Çünkü bu özelliği taşımakla birlikte tüberküloza sebep olmayan bazı saprofitik bakteriler hava yolunda kolonize olabilir ve çok seyrek de olsa pulmoner hastalığa sebebiyet verebilir.
- Tüberküloz olasılığını düşündüren bulgular sergilemesine rağmen, balgam incelemelerinde basil bulunmayan hastalara bronkoskopi uygulanması ve bu işlem sırasında elde edilecek yıkama sıvısından veya biyopsi örneklerinden yapılması yararlı olabilir. Gece boyunca yutulan akciğer salgısından yararlanmak amacıyla, sabah saatlerinde mideden aspire edilen sıvının da kültür amacıyla kullanılması mümkündür.
- Lowenstein-Jensen gibi katı besiyerlerinde kesin sonucun alınması 12 haftayı bulur. Buna karşılık sıvı kültür ortamında üreme hızı çok daha yüksektir. Becton Dickinson firması tarafından üretilen BACTEC sistemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, teknik olarak mikobakteri varlığının gösterilebilmesi için 4-8 günlük bir sürenin yeterli olduğu bildirilse de üreme olmadığının söylenmesi için genellikle 3-4 hafta beklenmesi gerekir. Çok nadir de olsa, bazı suşların bu sistemde bile geç üreyebileceği düşünülüyorğünden ilave olarak 3 haftalık izleme daha yapılması genellikle uygun bulunur. Nükleik asit amplifikasyonu yerine kültür çalışması yapılması, bakterilerin canlılığının doğrudan gösterilmesi ve daha sonrasında tip tayini ve direnç testlerinin çalışılmasının sağlanması açısından da önemlidir. Becton Dickinson firmasının BACTEC 460 sistemi, mikobakteri kültürleri için uzun yıllardır altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu sistemde substrat olarak  $^{14}\text{C}$  izotopu ile işaretli palmitik asit



kullanılır. Plamitik asit, bakteri tarafından metabolize edildiğinde, analiz sistemi tarafından ölçümlenen  $^{14}\text{C}$  ile işaretli  $\text{CO}_2$  açığa çıkmaya başlar. Son zamanlarda kullanılmaya başlanan BACTEC MGIT sistemlerinde ise analiz tekniği daha farklıdır. Bu sistemlerde dibine, floresan bir madde içeren silikon yerleştirilmiş tüpler kullanılır. Sıvı besiyerinde erimiş halde bulunan yüksek yoğunluktaki oksijen, maddenin fluoresans yaymasını engeller. Bakterilerin çoğalması durumunda ortamdaki oksijen azalacağından, tüplerin dibindeki madde dedektör tarafından tespit edilebilir miktarda fluoresans yaymaya başlar.

#### **Test sonucunun yorumu:**

- Kültürde üreme olması mikobakteri enfeksiyonunun kanıtıdır.
- Yapılan klinik araştırmalar testin yeterli sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yüksek sensitiviteye sahip bir teknik olmasına karşın, hastalardan alınarak kültür işlemine tabi tutulan bazı numunelerde yeterince canlı mikobakteri bulunmayabileceği ve bu sebeple de sonucun negatif bulunabileceği dikkate alınmalıdır.

**Numune:** Balgam (10 mL), bronkoalveolar lavaj sıvısı (tamamı), mide suyu (10-15 mL), idrar (10 mL), BOS (2 mL), plevra, perikart, ascites ve eklem sıvısı gibi vücut sıvıları (10-15 mL), doku örnekleri, kan (5 mL), kemik iliği, apse ve gaita. Numuneler steril, vidalı kapaklı kap içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Balgam numunesi için gargara gibi özel bir temizlik işlemine ihtiyaç yoktur. Sabah balgamı tercih edilir, fakat şart değildir. Açlık mide suyu, hasta herhangi bir şey yemeden ve yataktan kalkmadan önce ve eğer mümkünse bir gece hastanede yatıldıktan sonra sabah erken saatlerde alınmalıdır. İdrar, sabah erken saatlerde en az 40 mL ilk idrar veya sabah idrarının tamamı alınmalıdır. Diğer zaman birimlerinde alınan idrar örnekleri daha dilüe olacağından uygun değildir. İdrar toplamadan önce genital bölgenin temizlenmesi önerilir.

**Çalışma yöntemi:** BACTEC. Tip identifikasyonu için PCR-RFLP, gerekirse Bactec-NAP yöntemleri kullanılmaktadır.

**Referans değer:** Üremedi.