



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI

**TÜBERKÜLOZLU HASTALARDA İNTERFERON  
GAMMA + 874 T/A POLİMORFİZMİ VE BUNUN  
İNTERFERON GAMMA SENTEZİNE ETKİLERİ**

**YANDAL UZMANLIK BİTİRME TEZİ**

**Uz. Dr. Zafer BERBER**

**Antalya, 2006**

T1866

8



T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI

# TÜBERKÜLOZLU HASTALARDA İNTERFERON GAMMA + 874 T/A POLİMORFİZMİ VE BUNUN İNTERFERON GAMMA SENTEZİNE ETKİLERİ

YANDAL UZMANLIK BİTİRME TEZİ

Uz. Dr. Zafer BERBER

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Olcay YEĞİN

*“Tezimden Kaynakça Gösterilerek Faydalanılabilir”*

*“Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca 2004.04.0103.007Proje No İle  
Desteklenmiştir”*

Antalya, 2006

Akdeniz Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
İmmünoji Bilim Dalı

## TEŞEKKÜRLER

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Olcay YEĞİN olmak üzere Akdeniz Üniversitesi Merkezi Araştırma laboratuvarı, Antalya Verem Savaş Dispanseri çalışanları, Akdeniz Üniversitesi Organ Nakli Ünitesi ve İstatistik Bölümünden Özgür Tosun' a değerli katkılarından dolayı sonsuz teşekkürler ...

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	v
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tüberküloza genel bakış .....	3
2.2. Bulaşma .....	3
2.3. “M. tuberculosis” Basiline Karşı Oluşturulan İmmünolojik Yanıt .....	4
2.4. Tanı .....	16
2.5. Tedavi .....	24
2.6. Çocukluk Çağı Tüberkülozu .....	35
2.7. Tüberkülozdan Korunma .....	38
2.8. Polimorfizm Nedir? .....	46
3. BİREYLER ve YÖNTEM .....	50
4. BULGULAR .....	55
5. TARTIŞMA .....	63
SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	68
ÖZET .....	69
KAYNAKLAR .....	71

## SİMGELER ve KISALTMALAR

ARB	Aside Rezistan Basil
BI	Bilgisayarlı Tomografi
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
CFP10	Culture Filtrate Proteine 10
CD	Cluster of Differentiation
CR1	Complement Reseptor
CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte- Associated Antigen
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DGI	Doğrudan Gözetimli Tedavi
ESAT-6	Early Secretory Antigenic Target-6
EMB	Etanbutol
Fc	Fragment Consist
$\gamma\delta$	Gamma-Delta
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IFN- $\gamma$	Interferon Gamma
IFN- $\gamma$ R	Interferon Gamma Receptor
IL	Interlökin
IRAK	IL-1 Receptor Associated Kinase
INOS	Inducible Nitric Oxide Synthase
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
INH	Isoniazid
LAM	Lipoarabinomannan
LPS	Lipopolisakkarit
MR	Mannoz Receptor
MBL	Mannoz Binding Lectin
MYD <sub>88</sub>	Myeloid Differentiation Protein 88
MHC	Major Histocompatibility Complex
MZA	Morfozonamid
NRAMP-1	Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydroxilase
P2X7	Purinerjik Receptor
PCR	Polimerase Chain Reaction
PZA	Prazinamid
PSA	Paraamino Salisilik asit
ROI	Reactive Oxygen Intermediates
RNI	Reactive Nitrogen Intermediates
RIF	Rifampisin
SCLA11A <sub>1</sub>	Solute Carrier Family Member 11a
SM	Streptomisin
TB	Tüberküloz
TLR	Toll Like Receptor
Th-1	T Helper 1
Th-2	T Helper 2
IACO	Tryptophane Aspartate-containing Coat Proteine
INF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor $\alpha$
IAP	Transporter Associated with Antigen Processing
ICT	Tüberkülin Çift Testi
TÜ	Tüberkülin Ünitesi
THI	Thioasetazon
INP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
Ir	T Regulator
UV	Ultraviole
V $\gamma$	Variable Gamma
V $\delta$	Variable Delta

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa No
2.1.	“M tuberculosis” Basiline Karşı Oluşturulan İmmünolojik Yanıt...	5
4.1.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta PPD Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri...	59
4.2.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta PPD Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri...	60
4.3.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta CFP10 Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri...	60
4.4.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta CFP10 Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri...	61
4.5.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta ESAT-6 Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri...	61
4.6.	IFN- $\gamma$ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT’ ta ESAT-6 Uyarımı ile IFN- $\gamma$ Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri...	62

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa No
2.1. Ülkemizde TCT Reaksiyonunun Değerlendirme Kriterleri...	20
2.2. Tüberküloz yanıtını azaltan faktörler...	22
2.3. İzonyazid...	25
2.4. Rifampisin...	25
2.5. Pirazinamid / Morfozinamid...	26
2.6. Streptomisin...	26
2.7. Etanbutol...	26
2.8. İlaç Dozları...	27
2.9. Tedavi Şeması...	28
2.10. TCT kontrolü ile BCG Aşısı Yapılırken Karar Yaklaşımı...	43
2.11. Polimorfizmin Tipleri...	47
4.1. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri...	55
4.2. Tüberküloz ve Kontrol Grubunda Genotip Dağılımları ve Alel Frekansları...	56
4.3. ELISPOT Yapılan Hasta Grubunun Genotip Dağılımı...	57
4.4. Hasta Grubunda IFN- $\gamma$ Yanıtlarının ELISPOT Değerleri...	58
4.5. Hasta Grubunda Genotipe Göre IFN- $\gamma$ Yanıtlarının ELISPOT Değerleri...	58
5.1. Toplumumuzdaki IFN- $\gamma$ +874 T/A Polimorfizm Çalışmaları...	64
5.2. Tüberküloz Hastalığında Farklı Toplumlarda Yapılan IFN- $\gamma$ +874 T/A Polimorfizm Çalışmaları...	65

## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun 1/3'ü tüberküloz (TB) basili ile infektidir, bunların sadece % 5-10' unda TB hastalığı gelişmektedir (1). İnfeksiyonun hastalığa dönüşmesinde yaş, araya giren infeksiyonlar, beslenme durumu gibi etmenlerin yanında özellikle konağın bağışıklık yanıtını düzenleyen genetik faktörlerin de önemli rol oynadığı bilinmektedir. Ancak bu genetik etmenlerin ne olduğu, klinik ve biyolojik önemleri ve etki düzenekleri henüz açık değildir (2). TB hastalığının gelişmesine yakınlıkta "Purinergic Receptor" (P2X7), "Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1/Solute Carrier Family Member 11a" (NRAMP1) (SCL11A1), D vitamini reseptörü, "Toll Like Receptor" (TLR) 2 genleri tek nükleotid polimorfizmlerinin etkili olduğunu gösteren yayınlar vardır (3-6) "Interferon gamma" (IFN- $\gamma$ ) reseptör defektlerinin "Bacillus Calmette-Guérin" (BCG) dâhil olmak üzere mikobakteri basilinin neden olduğu hastalıklara yakınlığı belirgin olarak artırdığı gösterilmiştir. IFN- $\gamma$ , TB hastalığına dirençte en önemli olan sitokindir (2). Son iki yılda yayınlanan birbirinden bağımsız 2 olgu-kontrol tipi araştırmada IFN- $\gamma$  +874 T-A polimorfizminin TB hastalığına yakınlıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışmalar bu polimorfizmin IFN- $\gamma$  sentez düzeyini etkilediği bilgisine dayandırılmaktadır (7,8). Ancak her iki çalışmada da söz konusu polimorfizmin, TB basili ya da antijenlerine karşı IFN- $\gamma$  sentez etkisine bakılmamıştır. Bu çalışmalardan bağımsız bir araştırmada, sağlıklı kontrollerde IFN- $\gamma$  + 874 AI/AA genotiplerini taşıyanlara oranla IT genotipi taşıyanlarda IFN- $\gamma$  sentezinin daha fazla olduğu ancak bu farkın ( $p=0.064$ ) istatistiksel öneme ulaşmadığı gösterilmiştir (9). Karaciğer transplantlı olgularda ise bu polimorfizmin IFN- $\gamma$  senteziyle bir ilişki göstermediği yayınlanmıştır (Bu araştırmalarda uyarıcı olarak TB antijenleri kullanılmamıştır, hâlbuki antijen tipinin IFN- $\gamma$  sentez yanıtını etkilediği bilinmektedir) (10). Sonuç olarak IFN- $\gamma$  + 874 T-A polimorfizminin TB hastalığına yakınlıkla ilişkisi 2 araştırmada gösterilmişse de bu polimorfizmin IFN- $\gamma$  sentezi üzerine etkisi henüz kesinlik kazanmamıştır. İspanya' da yapılan bir çalışmada +874 T-A polimorfizminin akciğer TB ile yakın ilişkili olduğu, "Purified Protein Derivative" (PPD) ile



uyarımda IFN- $\gamma$  yanıtını etkilediği ve homozigot AA genotipinde olanlarda en düşük yanıtın elde edildiği belirtilmektedir (11).

Yukarda özetlenen bilgiler ışığında bizde aktif TB hastalığı geçiren olgularla, aynı etnik ve coğrafik kökenden, aktif TB hastalığı ve TB hastalığı geçirme öyküsü olmayan kontrollerde IFN- $\gamma$  +874 T-A polimorfizmini araştırdık

Ayrıca IFN- $\gamma$  +874 yönünden genotipini belirlediğimiz hastaların “Periferik Mononükleer Hücre” (PMNH) lerini PPD ve BCG' de olmayıp “Mycobacterium tuberculosis humanus” ta olduğunu bildiğimiz “Early Secretory Antigenic Target 6” (ESAT-6) ve “Culture Filtrate Proteine” (CFP10) antijenleriyle uyarak IFN- $\gamma$  yanıtlarını “The Enzyme-Linked Immunospot” (ELISPOT) yöntemiyle değerlendirdik.

Böylece hem toplumuzda IFN- $\gamma$  + 874 T-A polimorfizminin sıklığı, TB hastalığına yatkınlıkla ilişkisini, hem de bu polimorfizmin TB antijenlerine karşı IFN- $\gamma$  sentez özelliklerine etkisini belirlemeyi amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tüberküloza Genel Bakış

Bugün dünya nüfusunun %32'si TB basili ile infektidir. Her yıl yaklaşık 8 milyon kişi TB hastalığına yakalanmakta ve yaklaşık 2 milyon insan ölmektedir (12). Dünyada TB hastalığında artışında dört önemli unsur sıralanmıştır. (a) Hükümetlerin hastalığı ihmal etmeleri sonucunda TB kontrol sistemleri kötüleşmiş ve hatta birçok yerde kaybolmuştur. (b) Kötü yönetilen ya da doğru yaklaşımların uygulanmadığı TB kontrol programları hastalığın artışı yanında ilaca dirençli TB artışına yol açmıştır. (c) TB ve "Human Immunodeficiency Virus" (HIV)' nin birlikte olduğu hallerde, HIV' in endemik olduğu yerlerde TB patlayıcı artış yapmıştır (d) Nüfus artışı TB olgularının sayılarında artışa yol açmıştır (13). Sanayileşmiş ülkelerde ise göçlerle gelen TB olguları, o ülkelerde artış nedenlerinden birisini oluşturmaktadır (14-16). Dünyada TB insidansı 1998 yılında 144/100.000, yayma pozitif TB insidansı ise 63/100.000'dir (17)

Ülkemizde TB' un durumu değerlendirildiğinde, hastalık insidansı açısından başarılı kontrol programı uygulamış ülkeler ile kötü programlar uygulamış ülkeler arasında bir konumumuzun olduğu görülmektedir. Hastalık insidansı Hindistan, Bangladeş, Çin gibi ülkelerde yüz binde 100'ün üstünde, hatta yüz binde 200'ün üstündedir (17). Ülkemizdeki TB hastalık insidansı, 2000 yılında Verem Savaş Dispanserlerine kayıtlı hastalara göre hesaplandığında yüz binde 27'dir (17). Avrupa ülkelerinin çoğunda yüz binde 20'den azdır (18).

### 2.2. Bulaşma

TB hastalığı, "*Mycobacterium tuberculosis*" basili tarafından oluşturulur TB hastasından hava aracılığı ile basil yüklü damlacık yoluyla sağlam kişiye bulaşır. En bulaştırıcılar, balgam mikroskopisinde "Aside Rezistan Basil" (ARB) pozitif olan akciğer ve larinks TB' u olanlardır. Yayma negatif TB' lu hastaların bulaştırıcılığı çok daha azdır (19). Hasta ile yakın ve uzun süreli teması olan kişilere bulaşma riski fazladır. Bunlar, aile bireyleri, aynı evi paylaştığı

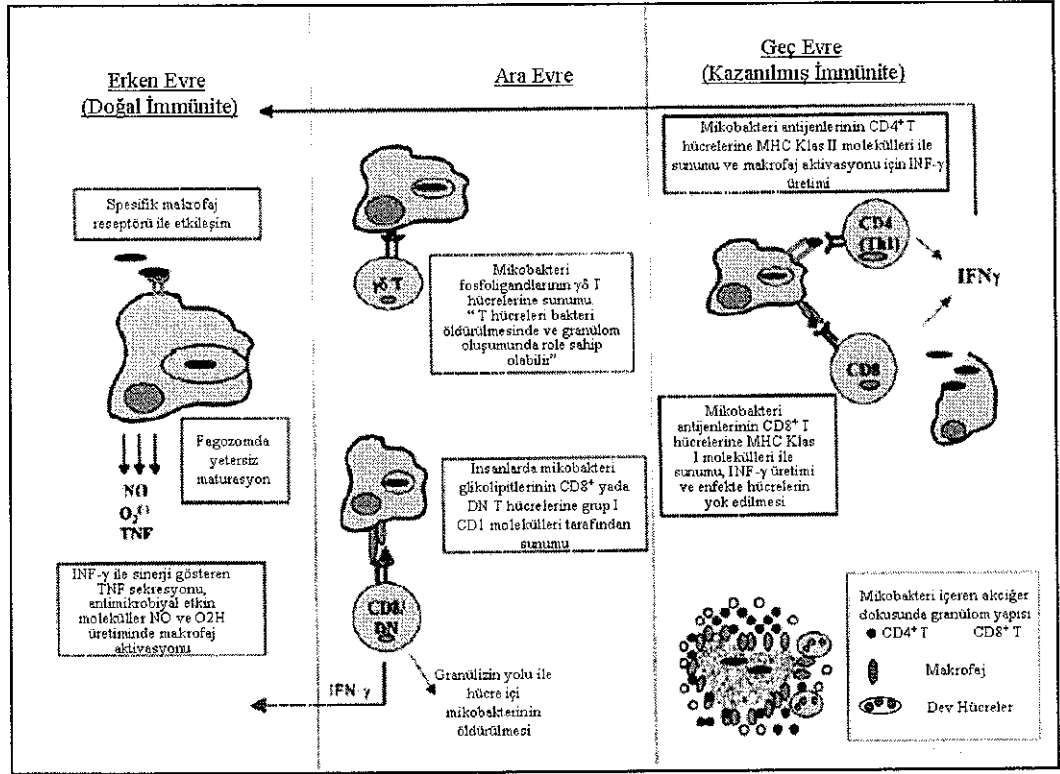
arkadaşları, işyeri arkadaşları olabilir. Kaviteli hastalıkta, larinks TB' unda, fazla öksürmekle, aksırıkla, öksürük yaratan işlemlerde TB hastası daha fazla basil saçar. Bazı suşların daha fazla bulaştırıcı olduğu gösterilmiştir. Çeşitli solunum manevralarının aerosol oluşturma potansiyeli farklıdır. Konuşma ile 0-210, öksürme ile 0-3.500 ve hapşırma ile 4.500-1.000.000 parçacık oluşur (20). Bu nedenle öksürme ve hapşırma sırasında hastaların ağızlarını kâğıt ya da bezden bir mendille kapatmaları istenmelidir. Etkili tedavi ile ilk günlerde basil sayısı hızla azalmakta (21), bunun yanında öksürük sıklığı da azalmaktadır (22) Hastaların bulaştırıcılığı, etkili tedavi ile 2-3 haftada pratik olarak sona erer. Bu nedenle, TB hastasını hemen izole etmek ve etkili tedaviye başlamak önemlidir. TB basiline akciğerlere yerleşip çoğalabilmesi için alveollere kadar ulaşması gerekmektedir. Bu da ancak hasta kişiden solunum ile havaya saçılan damlacık çekirdeklerinde asılı halde bulunan basillerle mümkün olabilmektedir. Çapları yaklaşık 1-10 mikron olan parçacıklar alveollere ulaşır, fakat 1-3 mikron olanlar daha yüksek oranda ulaşır. Yaklaşık 1 mikron çaplı parçacıklar havada birkaç saat asılı kalabilmektedir. Yapılan deneysel araştırmalar, TB basiline tozla, toprakla, hastaların eşyalarını kullanmakla ya da aynı kaptan yemekle bulaşamayacağını göstermiştir. İlaça-dirençli TB' da bulaştırıcıdır. Akciğer dışı TB genellikle bulaştırıcı değildir, fakat otopside ve doku ile yapılan çalışmalarda aerosol oluşturulursa bulaşma görülebilmektedir (23, 24).

### **2.3. "Mycobacterium tuberculosis" Basiline Karşı Oluşturulan İmmünolojik Yanıt**

#### **Patogenez**

Akciğer TB' unun tanımlanan dört evresi vardır. Birinci evre, basilin alınmasıyla başlar. Alveolar makrofaj genellikle basili alır ve genellikle yok eder. Bu evrede basilin yok edilmesi, konağın mikrobiyal fagositer kapasitesine, alınan basilin sayısına ve virülans faktörüne bağlıdır. Başlangıçtaki hücre içi alınımdan kaçarsa çoğalacaktır. İkinci evrede, kan monosit ve diğer inflamatuvar hücreler akciğere gelirler. Dokuya ulaşan monositler makrofajlara dönüşürler. Basil fagosit edilir ancak yok edilemez. Bu evrede basil aritmetik olarak çoğalmaya

başlar Makrofaj kümelenmesi olur fakat doku hasarı fazla değildir. İnfeksiyondan iki hafta sonra antijene özgü T hücresi yanıtı gelişir. Böylece erken evrede çoğalarak hücre içindeki basili öldürmek için makrofajlar aktive olur. Üçüncü evrede, erken logaritmik basil artışı durmuş olur. Bu primer lezyondaki santral solid merkez basilin hücre dışındaki büyümesini inhibe eder. Böylece hastalık durdurulmuş olur (Şekil 2 1). Dördüncü evrede, immün kontrolün yetmezliği durumunda primer infeksiyondan aylar ya da yıllar sonra ilerleme ya da hematojen yolla yayılma gösterebilir. Zamanla oluşan kaseöz odak basilin hücre dışı ortamda büyümesi için mükemmel bir ortam oluşturur. Oluşmuş kavite formasyonunun komşu bronş ağacına açılmasıyla basil akciğerin diğer alanlarına ve dış çevre ortama yayılmasına yol açar (25).



Şekil 2.1. "Mycobacterium tuberculosis" Basiline Karşı Oluşturulan İmmünolojik Yanıt ( Kaufmann' dan, 25 )

## Patogenezde Rol Alan Hücre ve Moleküler Yapılar

Esas olarak TB basilinin yok edilmesi, infekte makrofaj ve T lenfositleri arasındaki etkileşimin başarısına bağlıdır. TB hastalığında esas olan hücre immünitedir mikobakteri antijeni ile uyarılan, "Cluster of Differentiation" (CD), CD4<sup>+</sup> T hücreleri ürettikleri sitokinler ile özellikle IFN- $\gamma$ , koruyucu etki gösterirler. CD8<sup>+</sup> T lenfositleri de muhtemelen sitokin sekrete ederek ve hücre lizisi ile katkıda bulunmaktadır. T lenfositlerinin fonksiyonel farklılıkları 1986'da rapor edilmiştir. "T helper" (Th) yardımcı T hücreleri ve iki alt grubu tanımlanmıştır. Th 1 hücreleri, esas olarak IFN- $\gamma$  sentezi ile Th 2 hücreleri ise IL-4 üretimi ile karakterizedir. Her iki hücre grubu da naif (uyarılmamış) T hücrelerinden gelişir. Th 1 hücreleri, aktive makrofaj ve dentritik hücrelerde sentezlenen IL-12 etkisi altında gelişirken, Th 2 hücresi ise CD4<sup>+</sup> T lenfositleri tarafından sentezlenen IL-4 etkisi altında gelişir. TB infeksiyonlarında koruyucu immünitede esas olarak Th 1 tipi sitokin üretimi görülmektedir. IFN- $\gamma$  genleri tahrip edilmiş farelerde TB hastalığına yatkınlık olduğu görülmüştür. IFN- $\gamma$  reseptörü eksik ya da hatalı bireylerde tekrarlayan infeksiyonlar dikkati çekmiştir ve bu olgular tekrarlayan atipik mikobakteri infeksiyonları, jeneralize BCG aşı etkileri veya TB hastalığından kaybedilmiştir (25).

Th 2 tipi sitokin yanıtı invitro ortamlarda IFN- $\gamma$  üretimini baskılamakta, hatta makrofaj yanıtını azaltmakta ve konak yanıtı zayıflatmaktadır. TB' lu olgularda Th 2 sitokin yanıtının artmış olduğu gösterilmiştir. Ancak Th 1 ve Th 2 ilişkisi tutarlı değildir ve bu hastalığa yatkınlık ve hastalıkta varlığı kesin değildir. Fagositik hücreler, mikobakteriyel antijenin sunumunda kazanılmış T hücre immünitesinin başlatılması ve yönlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. TB basilinin inhalasyon ile alımında primer infeksiyondan 7 gün sonra bakılan genetik olarak yatkın tür tavşan akciğerlerinde mikobakteriyum rezistans tavşanlara göre 20-30 kat daha fazla canlı basil saptanmıştır. Bu farklılık erken infeksiyon süresinde T hücre immünitesine bağlanamaz. Akciğer infeksiyonlarına karşı korumada yerel, T hücre bağımsız, konak savunma mekanizmalarının olduğunu göstermektedir (25).

İrkle ilgili çalışmalarda PPD değişimi beyaz ırkta siyah ırka göre iki kat daha fazla saptanmıştır. Erken dönemdeki doğal savunma mekanizmaları

siyahlarda daha az etkindir. Buna göre Amerikan Afrikalı hastalarda makrofajlar virülen basillerin intrasellüler büyümesine karşı nispeten daha etkisiz görünmektedir. Makrofajın hücre içi bakterisidal aktivitesi, çeşitli makrofaj ürünlerinin fonksiyonel gen polimorfizmi ve TB arasındaki ilişki, genetik çalışmalarda gösterilmiştir (25).

Alveolar yerleşik makrofaj, TB hastalığına karşı dirençte önemli hücre tipidir. İlk karşılaşmadan sonra makrofaj ve dentritik hücreler fagositoz sürecine beraber katılırlar. TB basilinin endositozu fagositik hücre membranı üzerindeki farklı reseptörler ile olmaktadır. Oponize aracılı fagositozda, “Complement Reseptörü” 1 (CR1) kullanılırken, oponize olmayan aracılı fagositozda CR3 ve CR4 kullanılmaktadır. TB basilinin fagositozda en önemli yollardan biride makrofaj “Mannoz Reseptörü” (MR) yoludur. Her iki yolun bloğunda ise Tip A Çöpcü “Scavenger” reseptörler kullanılmaktadır. “Fragment Consist” (Fc) gamma ( $\gamma$ ) Fc $\gamma$  reseptörleri antikor ile kaplı parçaları bağlamaktadır. TB basilinin alveol epiteline bağlanmasını kolaylaştıran, sürfaktan proteinleri, “Mannoz Bağlayıcı Lektin” (MBL), C1q proteini gibi yapılar rol oynamaktadır (25).

TB basilinin makrofaja girmede kullandığı reseptör seçimi hücre yanıtı etkilenmektedir. Örneğin Fc reseptörü ile içeri alınması solunumsal patlama mekanizmasını harekete geçirirken, CR3 ile girmesi onu bu etkiden korumakta ve fagozom maturasyonunu durdurmaktadır. Bu TB basilinin içeri girmede bir tercih yolunun olabileceğini düşündürmektedir. Ancak CR3 defektli fareler ile vahşi tip fareler karşılaştırıldığında gerek basil yükü gerekse granülom oluşumu arasında fark saptanamamıştır. Son çalışmalarda basilin makrofaj içine girmesinde kolesterol molekülünün esansiyel bir role sahip olduğu ve plazma membran kolesterolünün uzaklaştırılmasından sonra basil girişinin çok özel olarak inhibe edildiği gösterilmiştir. Bu gözlem sonraki hücre içi olaylar için önemli bir anlama sahiptir. Çünkü kolesterol, fagozomun fagolizozoma maturasyonunu sağlayan “Tryptophane Aspartate-containing Coat Proteine” (TACO)’ nun fagozomal ilişkisine aracılık etmektedir (2). Bu protein 50 kDa’ da ve sadece canlı basil içeren fagozomlarda bulunmaktadır. Tekrarlayan 5 triptofan aspartat rezidüleri içermektedir. Enfekte olmamış makrofajların kortikal mikrotübül ağında yerleşmektedir. TACO bakteri alınımında hızla bu bölgede yoğunlaşmaktadır.

Canlı bakteri olmaması halinde TACO fagozomdan hızla uzaklaşmaktadır. TACO' nun olmadığı hücrelerde basil hızla yok edilmektedir. Bundan dolayıdır ki TACO basil için koruyucu bir rol oynamaktadır ve bunu kolesterol aracılığı ile yapmaktadır. Eğer fagozom, kolesterolü ortadan kaldıran digitonin ile muamele edildiğinde TACO' nun membran fraksiyonlarından ayrılmakta olduğu gözlenmiştir (26).

“Mannoz Bağlayıcı Lektin” (MBL), kollektin ailesinin bir üyesidir. Fagositik hücreler tarafından TB basilinin içeri alınması olayına karışabilmektedir. MBL mikroorganizmanın membran yapısında bulunan karbonhidrat konfigürasyonlarını tanımaktadır. Ayrıca fagositozisi indüklemektedir. Fakat bunu açıklanmayan bir reseptör ile direk olarak mı yoksa kompleman sisteminin aktivasyonu ile indirek olarak mı yaptığı bilinmemektedir. Bir çalışmada, TB olgularının serum MBL düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir. Farklı toplumlardaki MBL gen polimorfizimleri, serum konsantrasyonlarındaki bu değişiklikleri açıklamaktadır. Ancak bu polimorfizminlerin TB hastalığında rölâtif bir dezavantaj oluşturduğu çalışmada bildirilmiştir (25).

Fagositozun dışında, TB basilinin ya da ürünlerinin tanınması etkin bir konak yanıtında önemli bir basamaktır. “*Mycobacterium tuberculosis*” gram pozitif bakteri olmasına rağmen, parafinden zengin hücre duvarı onun asit rezistans boyanma özelliğini sağlamaktadır. Hücre duvarındaki “Lipoarabinomannan” (LAM) ve mycolic asitten oluşan glikolipit yapısı birçok immünolojik özelliğinden sorumludur (2). Bu yönden gram (-) bakteri duvar yapısını oluşturan “Lipopolisakkarite” (LPS) benzemektedir. Plasma LPS bağlayıcı proteinler, bu bakteri ürünlerini, makrofajlar üzerinde bulunan CD-14 yüzey reseptörüne transfer ederek, LPS ve LAM' ye makrofaj yanıtını artırır. CD-14 ve LPS bağlayıcı protein düzeyleri aktif TB hastalarında artmış olarak saptanmıştır(25).

TB basilinin tanınmasında diğer önemli yapılar TLR ailesidir. Makrofajlar ve dentritik hücrelerde mikro organizmanın tanınması için önemlidir. TLR' leri transmembran proteinler olup hücre dışı lösinden zengin motifleri mevcuttur. İntrasitoplazmik bölgeleri IL-1 reseptörünün sinyal bölgesi ile homoloji gösterir ve “IL-1 Reseptör Associated Kinase” (IRAK) yapısı ile ilişki kurar. TLR' lerin

10 tane üye tanımlanmıştır TLR2; peptidoglikanlara, TLR4; bakterial lipopeptit ve Gr(-) bakteri endotoksinine, TLR9; bakteri "Deoxyribonucleic Acid" (DNA)'sına yanıt verdiği gözlenmektedir TB basilinin ürünleri TLR aracılığı ile IL-12 üretimini uyarmaktadır. TLR' ler TB basilinin tanınmasını sağlamaktadırlar. TB basili ürünleri bu reseptörler aracılığı ile güçlü bir proinflamatuvar sitokin olan IL-12 indükler. "Myeloid Differentiation Protein 88" (MyD88) TLR ile IRAK arasından ilişki kuran temel moleküldür. TLR2 mutasyonunda "Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ " (TNF $\alpha$ ) üretiminin inhibe olduğu gözlenmiştir. Ancak bunun tam bir inhibisyon olmadığı, başka üyelerin işe karışabileceğini düşündürmüştür. TB basil infeksiyonları ve proinflamatuvar sitokinler TLR2 sunumunu artırmaktırlar. Ek olarak diğer TLR üyelerinde (TLR4 ve diğerleri) bu tanıma sürecine katılmaktadır. (TLR2 ve TLR6 heterodimerizasyonu, sinyal iletimi için TLR1 gerekliliği ya da bakteri DNA bağlanması için TLR9 gibi). Fonksiyonel TLR yokluğu immün sistemi harekete geçirmemekte ve mutant TLR2 sunumu sitokin üretimi ortadan kaldırmaktadır. İnvitro çalışmalarda TLR2 aktivasyonun alveolar makrofaj içinde direk olarak TB basilini öldürmekte olduğu gösterilmiştir (25).

### **Tüberkülozda Sitokinlerin Rolü**

TB basilinin fagositik hücreleri tarafından tanınması, hücre aktivasyonuna ve sitokin üretimine yol açar. Bu sitokin ağı TB infeksiyonunun sonuçlanmasında ve inflamatuvar yanıtın oluşmasında hayati rol oynar.

### **İnterlökin-12 (IL-12)**

TB basiline karşı konak defansın da önemli rol oynamaktadır IL-12 esas olarak fagositik hücrelerden üretilir. Ve bu üretim için TB basilinin fagosit edilmesi gerekli görülmektedir. IL-12, IFN- $\gamma$  üretimi için hayati öneme sahiptir. TB infeksiyonlarında IL-12, akciğerde, plörezide, granülomda ve lenfadenit içinde saptanmıştır. Hastalık alanlarında IL-12 reseptör sunumlarında artış olur. IL-12 hasar görmüş farelerde TB hastalıklarına karşı yüksek oranda yatkınlık



saptanmış Tekrarlayan TB dışı mikobakteri infeksiyonları bulunan bireylerde IL-12R ve IL-12p40 kodlayıcı gen bölgelerinde mutasyon olduğu ortaya konmuştur. Bu hastalarda IFN- $\gamma$  üretim kapasitesinde azalma gözlenmiştir. Ayrıca abdominal tüberkülozlu bir olguda IL-12R defekti tanımlanmıştır. Görünen odur ki, IL-12, mikobakteri infeksiyonlarına karşı konak yanıtında doğal ve kazanılmış immünitede düzenleyici bir sitokindir ve onun bu etkisi IFN- $\gamma$  üzerinden olmaktadır (25).

### **İnterferon gamma (IFN- $\gamma$ )**

Bu sitokinin TB infeksiyonlarında özellikle antijen çok özel T hücre immünitesinde ki koruyucu rolü çok iyi açıklanmıştır. IFN- $\gamma$ , nötrofil ve makrofajları aktive eder. Süperoksit ve nitrikoksit üretimini tetikler, zira deneysel çalışmalarda "Inducible Nitric Oxide Synthase" (iNOS) tahrip edilmiş farelerde infeksiyona yatkınlığın ileri derecede arttığı yaşam sürelerinin kısaldığı, artmış bakteri yükü ölçülerek gösterilmiştir. Son dönemde süperoksitin rolü, sitosolik phox geni (p47) eksik fareler kullanılarak gösterilmiştir. Bu gen "Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydroxylase" (NADPH) bağımlı süperoksit radikallerinin oluşumu için esansiyeldir. Phox<sup>-/-</sup> farelerde mikobakteri infeksiyonlarında erken dönemde bakteri yükünün arttığı görülmüştür. Ancak IFN- $\gamma$  üreten antijen spesifik T lenfositlerinin akciğerde görülmesi bu mutant farelerin infeksiyonun kontrol altına almayı başarabildikleri ve bakteri yükünü kontrol edebildikleri gösterilmiştir. IFN- $\gamma$  ve IL-12 defektli farelerde TB yüksek yatkınlık gözlenmiştir. Klinikte kalıtsal olarak tam ya da kısmi IFN- $\gamma$  reseptör eksikliği bulunan hasta grupları bulunmaktadır. Bu olgularda "Mycobacterium avium" ve "Mycobacterium smegmatis" ve dissemine "Mycobacterium bovis" BCG infeksiyonu saptanmıştır. Ayrıca kalıtsal IL-12p40 ya da IL-12 reseptör eksiklikleri benzer olarak yatkınlık yaratmaktadır (2). "Major Histocompatibility Complex" (MHC) moleküllerinin, Fc reseptörlerinin hücre yüzeyindeki sunumlarını artırır, lizozomal Ph azaltır ve belli antibiyotiklerin hücre içi birikimlerini artırır (1). IFN- $\gamma$ , hücre içi sinyallerini iki zincirden oluşan membrana bağlı reseptörler ile sağlar, IFN $\gamma$ R1 ve IFN $\gamma$ R2. IFN- $\gamma$  ve IL-12

arasındaki geri besleme mekanizması çok önemlidir. Bu reseptör ve sitokin genlerindeki bozukluk TB hastalıklarına karşı yatkınlığı arttırmaktadır. Farelerde IFN- $\gamma$  üretiminin durdurulması, TB infeksiyonlarının yayılmasına, kötü granülom formasyonunun oluşmasına ve hızla ölüme neden olmaktadır ve benzer sonuçlar IFN $\gamma$ R defektli farelerde de alınmıştır (1).

### **İnterlökin 10 (IL-10)**

IL-10, LAM bağlandıktan sonra TB basili fagosite edildikten sonra makrofajlar tarafından salgılanır. Ayrıca duyarlaşmış T hücreleri de IL-10 üretebilme yeteneğine sahiptirler. IL-10 tarafından, IL-12, TNF $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  üretiminin azaltılması ile proinflamatuvar sitokin yanıtı antagonize edilir. IL-12, TNF $\alpha$  ve IFN- $\gamma$ , TB hastalığına karşı koruyucu immunitenin temelini oluştururken, IL-10 araya girmektedir. Gerçektende IL-10 transgenik farelerde büyük bir bakteri yükü geliştiği gözlenmiştir. TB infeksiyonu saptanan insanlarda, IL-10 üretimi yüksektir saptanmıştır ki, artmış IL-10 üretimi etkin bir immün yanıtı oluşumunu baskılamaktadır (25).

### **Basilin Öldürülmesinde Etkin Mekanizmalar**

Makrofajlar, TB basilinın öldürülmesinde önemli etkin hücrelerdir. Aktivasyonlarının durumları tam olarak bilinmemekle birlikte, başlıca IFN- $\gamma$  ve TNF $\alpha$  gibi lenfosit ürünleri önemli olup ayrıca D vitaminin de katılmakta olduğu gözlenmektedir. D vitaminin aktif metaboliti olan 1,25-dihidroksi vitamin D, basilin büyümesinin baskılanmasında makrofajlara yardım ettiği gösterilmiştir. TB olgularının serum vitamin D konsantrasyonlarının düşük olduğu bazı toplumlarda bildirilmiştir. Son yapılan çalışmalarda Londra'da vejetaryen Hintli göçmenlerde vitamin D eksikliği TB için risk faktörü oluşturduğu gösterilmiştir. Bu toplumdaki yatkınlık ile vitamin D'nin 3 polimorfizminin hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Vitamin D'nin diğer varyantları (TT genotip) Gambia'daki TB hastalığı olan olgularda %6 ve kontrollerde ise % 12 olarak saptanmıştır (25).

Ancak fonksiyonel olmayan değişiklikler, hastalık ile ilişkilendirilen vitamin D reseptöri polimorfizmi henüz saptanamamıştır.

Aktive makrofaj fagolizozomu içindeki basili öldürmek için, "Reaktive Oxigen Intermediates" (ROI) ve "Reactive Nitrogen Intermediates" (RNI) üretimi bulunmaktadır. İnvitro çalışmalarda ROI ile öldürülmeye dirençli görünmesi LAM ve sülfatlanmış ürünlerin varlığı gösterilmektedir. İnvivo olarak, fonksiyonel P47 eksik phox<sup>-/-</sup> farelerde, deneysel infeksiyonlarda erken dönemde basil hızla çoğalmaktadır. Diğer taraftan, ROI üretiminin defektif olduğu kronik granülatöz olgularda TB hastalığına yatkınlık oluşmamaktadır. TB olgularda alveolar makrofajların INOS üretimini artırdıkları gösterilmiştir. Basilin hücre büyümesini devam ettirmesi ROI, INOS gibi yok edici lizozomal enzimlerden kaçmayı başarabilmesine bağlı olabilir. Basil fagozom ve lizozom birleşimi geciktirebilmekte ya da engellemektedir. Ayrıca fagozomun asidifikasyonu ve olgunlaşmasını korumaktadır. Böylece asidik hidrolazların sindirici etkisinden korunmaktadır. NRAMP1 makrofaj aktivasyonunu ve basilin ölümünü düzenler. NRAMP1, integral membran proteini'dir. Metal iyon transporter ailesine aittir. Metal iyonlar, özellikle Fe<sup>+2</sup>, makrofaj aktivasyonunu ve toksik anti mikrobiyal radikallerini oluşturur. Fagositozu takiben fagozomun bir parçası olur. NRAMP1 mutant farelerde fagozom maturasyonunun ve asidifikasyonunun azaldığı gözlenir. Hayvanlarda basilin büyümesi değişmezken, insanlarda NRAMP1' in promoter bölgesindeki fonksiyonel polimorfizm gen sunumunun azalmasıyla ve Batı Afrika' da yapılan çalışmada TB hastalığına yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Basilin büyümesinin sınırlandırılmasında diğer bir önemli etkin mekanizma apoptozdur. Fagositik hücrelerin apoptozu infeksiyonun yayılmasını engelleyebilir. Fagositlerin bu apoptozu hücre içi basil yaşayabilirliğini de azaltır, ancak nekrozis böyle değildir. Bu süreç için TNF $\alpha$  gereklidir. İlginç olarak patojenik suşlar olmayanlara göre daha az apoptozu indüklemektedir. Bu farklılık patojen suşlar tarafından solubl TNF $\alpha$  reseptörlerinin nötralizasyonu ile açıklanmaktadır. Bu düzenlenme IL-10 tarafından sağlanmaktadır. Böylece patojen mikobakteri türleri selektif olarak IL-10' u seçebilmektedir (25).

## Tüberkülozda kazanılmış immünite

Kazanılmış immüntenin başlamasına üç önemli unsur katkıda bulunur. Bunlar; antijen sunumu, kositümulasyon ve sitokin üretimidir.

### Antijen Sunumu

Makrofaj ve dentritik hücrelerde farklı mekanizmaları içermektedir. İlk olarak  $CD4^+$  T hücrelerine TB basilinin proteinlerini MHC klas II antijenleri ile sunulmasıdır.  $CD4^+$  T hücrelerinin TB' daki esas fonksiyonlarının spesifik olarak sitokin, özellikle IFN- $\gamma$ , üretimi olduğu düşünülmektedir. Bu üretim  $CD4^{-/-}$  ve MHC klas II  $^{-/-}$  hücrelerde enfeksiyondan 2 hafta sonra erken dönemde olurken, hem mutant tip hem de vahşi tiplerde enfeksiyondan 4 hafta sonra IFN- $\gamma$  düzeyleri eşitlenmektedir. Mutant farelerde IFN- $\gamma$  üretimi  $CD8^+$  hücreler tarafında kompanse edilmektedir. Sonuç olarak  $CD4^+$  hücreleri eksik bireyler de IFN- $\gamma$  üretimi ve INOS normal olmasına rağmen persistant mikobakteri enfeksiyonunun hızla reaktive olmasına yol açmaktadır (2). Bu sonuçlar  $CD4^+$  hücrelerinin enfeksiyona karşı korumada IFN- $\gamma$  üretiminden bağımsız olarak ek bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu antijenler fagolizozomal oluşumundan geçmiş olmalıdırlar (25). İkinci olarak MHC klas I antijenleri mikobakteri proteinlerini antijen spesifik  $CD8^+$  T hücrelerine sunabilirler.  $CD8^+$  T hücrelerinin mikroorganizmalara karşı başarılı olarak immün yanıtta katıldıkları kabul edilmektedir. Deneysel çalışmalarda  $\beta_2$  mikroglobulin defektli farelerde, "Transporter Associated with Antigen Processing" (TAP)  $CD8\alpha$  ve perforin, vahşi gruba göre daha yatkın oldukları gösterilmiştir. Buna göre mikobakteri enfeksiyonu kontrolünde MHC Klas I sunumu ve  $CD8^+$  hücre aktivasyonu gerekmektedir ancak yeterli değildir.  $CD8^+$  hücrelerin etkin mekanizmaları, IFN- $\gamma$  ve TNF üretebilmeleridir. Bu sitokinler makrofajın mikrobisidal aktivasyonunda temeldirler. TB' lu hastalarda IFN- $\gamma$  üreten  $CD8^+$  T hücreleri periferel kan hücrelerinde ELISPOI ile saptanabilmektedir. Bu hücreler klasik MHC klas I sınırlandırılmış yöntemde ESAT-6'dan tanımlanmış peptidleri tanırlar. Ek olarak ayrıca sağlıklı ev içi temaslarında, inaktif hastalardaki kadar, kendiliğinden iyileşmiş akciğer TB' da da 1:2500 periferel kan lenfositleri sadece TB basili için

ESAT-6 epitopuna spesifiktir.  $CD8^+$  T lenfositleri TB basiline karşı direk sitolitik fonksiyon gösterir. Son çalışmalarda MHC klas I sınırlı  $\beta_2$  mikroglobulin bağımlı TB basiline spesifik  $CD8^+$  sitotoksik T hücreleri hasta farelerin lenf nodlarında ve akciğerlerinde varlığı gösterilmiştir. Bu hücreler perforin bağımlı olarak infekte makrofajları yok etmektedirler. Ayrıca CD1 sınırlı grup 1  $CD8^+$  sunan T hücreleri de perforin aracılığı ile infekte makrofajları lizise uğratma yeteneğine sahiptirler. Bu yollar ile hücre içi basilin azaltılmasına çalışılır. Hücre içi basil canlılığını azalmadaki bu kabiliyet sadece  $CD8^+$  hücrelerde mevcuttur ve bu perforin ve granülizin ile yaparlar.  $CD4^-CD8^-CD1^-$  sınırlı  $CD8^+$  T hücreleri bunlar hedef hücreleri Fas/FasL yolunu kullanırlar ancak patojen yaşayabilirliğini azalmanda etkin değildir (2). Bu mekanizma sitozolik antijenlerin sunumuna izin vermektedir. Bu antijenler ki özellikle mikobakteri antijenleri için önemli olabilir. Bunlar bir şekilde fagolizozomdan kaçabilmektedirler. MHC klass I aracılı antijen sunumunun önemi, TB hastalar da görülmektedir. Üçüncü olarak, polimorfik olmayan MHC klass I molekülleri örneğin tip I CD1 molekülleri ki bunlar makrofaj ve dentritik hücrelerde sunulmakta, mikobakteri lipoproteinlerini CD1 sınırlı T hücrelerine sunabilmekte. Bu antijen sunum mekanizmaları, infeksiyonun erken döneminde, antijen spesifikliğı gelişmeden önce, T hücrelerinin geniş bir bölümünün aktivasyonuna olanak sağlar. Bireylerde belirli klass I ve II MHC allellerinin sunumu belli antijen ve epitoplara yanıtta bireylerin yeteneğini belirler. Belli insan lökosit antijen allellerinin çeşitliliğı TB ile ilişkilendirilmiştir. Antijen sunma moleküllerinin sunumu dinamik bir süreçtir ve sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Proinflamatuvar sitokinler özellikle IFN- $\gamma$ , MHC' nin sunumunu artırırken, antiinflamatuvar sitokinler sunumu inhibe ederler. Mikobakteri antijen sunum fonksiyonunu düzenleyebilir. Ancak makrofaj ve dentritik hücrelerde invitro çalışmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Mikobakteri, makrofajlarda antijen sunum moleküllerinin sunumunu, çok büyük olasılıkla antiinflamatuvar sitokinlerin üretimi aracılığı ile azaltıyor olmalı. Diğer taraftan dentritik hücrelerde MHC sunumunu artırmaktadır (25).

Ayrıca çalışmalarda T hücre alt gruplarının da TB basiline karşı hücreyel immünite de rol aldıkları gösterilmiştir.  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $\alpha\beta$  T hücreleri tipik olarak MHC ile sınırlı peptit sunumlarını tanırlar. Gamma-Delta ( $\gamma\delta$ ) çift negatif T

hücrelerinin rolleri tanımlanmıştır. Bu hücreler periferal kanda ve lenfoid dokularada %1-5 oranında bulunurlar ve “Variable” (V)  $\gamma 9$  ve V $\delta 2$  reseptörlerini sunarlar. Mikobakteri ürünü peptit olmayan birkaç fosforile bileşik, selektif olarak bu hücreler tarafından doğrudan tanınmaktadır.  $\gamma\delta$  T hücreleri granül ekzositoz yolağı ile perforin moleküllerini direk olarak TB basili ile enfekte makrofajlara boşalttığı gösterilmiştir. Antijen oluşumu ve sunumu gerektirmediğinden enfeksiyonun erken döneminde koruyuculuk sağlamaktadır (26).  $\gamma\delta$  T hücrelerinin enfeksiyonun erken dönemlerinde granülom oluşumu ve hücreyel infiltrasyonun yönlendirilmesinde rol oynadıklarını düşündürmektedir (2).

### **Kositimülasyon**

Çok iyi bilinmektedir ki, antijen sunumu sadece özel kositimülatör sinyallerin varlığında T hücrelerin uyarımına yol açmaktadır. En iyi bilinen kositimülan sinyaller B7-1 (CD 80) ve B7-2 (CD 86). Bu moleküller makrofaj ve dentritik hücre yüzeyinde bulunmakta olup T hücre yüzey reseptörleri olan CD28 ve “Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Antigen” (CTLA) 4’ü bağlarlar. İn vitro çalışmalarda mikobakteri enfeksiyonu makrofajlarda B7-1 sunumunu azaltırken, dentritik hücrelerde B7-1, CD40 ve “Intercellular Adhesion Molekule-1” (ICAM-1) sunumunu artırmaktadır. Uygun kositimülatör moleküllerinin olmaması halinde antijen sunumu T hücrelerinin artmış apoptozisine yol açabilir (25).

### **Sitokin Üretimi**

T lenfositlerinin uyarımı için aktive olmuş makrofaj ve dentritik hücreler tarafından üretilmiş birkaç sitokin temeldir. Makrofaj ve dentritik hücreler IL-12, IL-18, IL-23 gibi tip I sitokinleri üretirler. Tekrarlayan ve ölümcül seyreden TB olmayan mikobakteri enfeksiyonlarında IL-2p40 (5, 73), IL-12R $\beta 1$ , IFN $\gamma$ R1, IFN $\gamma$ R2 kodlayıcı genlerde fonksiyonel genetik mutasyonları ortaya konulmuştur. Bu sitokinler ve hücrelerin kapasiteleri özellikle T hücreler için gereklidir. Ayrıca proinflamatuvar sitokinler özellikle IL-1 ve TNF $\alpha$ , T hücre uyarıcı özellikleri

önemlidir. Bu sitokin üretimlerindeki azalma, T hücre uyarımını ve spesifik antijen yanıtını azaltabilir yada uzatabilir. Bu bağlamda anti-inflamatuvar sitokin yanıtı önemlidir. Örneğin anerjik TB hastalarda IL-10 üretimi yapısal olarak bulunmaktadır ve T hücre reseptör aracılı stimülasyon defektif sinyal üretimi ile sonuçlanmaktadır. IGFβ' da benzer antagonistik role sahip olabilir (25).

#### 2.4. Tanı

TB kesin tanısı bakteriyolojik olarak konur. Hastanın değerlendirilmesinde kapsamlı bir tıbbi yaklaşım gerekir. Hastanın öyküsü, fizik bulguları, akciğer filmi, "Tüberkülin Cilt Testi" (TCT) ile hastalıktan şüphelenilir ve bakteriyolojik ya da histolojik inceleme ile tanı kesinleştirilir.

#### Akciğer Tüberkülozu

Öyküde; balgam, hemoptizi, varlığı ve üç hafta süren her öksürükte TB'dan şüphelenilmelidir. Öksürük, çoğu zaman balgamla birlikte görülür; bazen kanlı olabilir. Göğüs ağrısı, sırt ağrısı, yan ağrısı, plevra tutulumu olduğunda solunumla değişen ağrıdır. Nefes darlığı, lezyonların yaygın olduğu ya da plevra sıvısının fazla olduğu durumlarda görülür. Ses kısıklığı, larinks tutulumunda görülür. Genel bulgularda; halsizlik, çabuk yorulma, iştahsızlık, kilo kaybı, çocuklarda kilo almada duraklama, ateş, gece terlemesi gibi bulgular mevcuttur. Genel olarak ateş intermittandır; sabahları yoktur, öğleden sonra ürpererek yükselir, gece terleyerek düşer. Yukarıda sayılan bulguların biri ya da bir kaçını bulunan kişilerde akciğer TB' dan şüphelenmek gerekir. Diğer organ TB' da bulgular, tutulan organa göre değişir. Böbrek TB' da idrarda kan, omurga TB' da sırt ağrısı, plevra TB' da yan ağrısı, omuz ağrısı olabilir. TB hastalığı ya da şüphesi olan kişilerde, önceden TB hastalığı geçirip geçirmediği ve yakınlarında TB hastasının olup olmadığı öğrenilmelidir. TB hastalığı geçirmişse, hastalığı döneminde kullandığı ilaçlar, süre ve düzenliliği ile ilgili bilgi alınmalı ve kayıtları incelenmelidir. Hastanın TB açısından riski artıran bir sağlık sorununun olup olmadığı da sorgulanmalıdır:

özgeçmişinde diyabet, bağışıklığı baskılayacak hastalık ya da tedavileri; meslek anamnezinde silikozis, gibi

TB hastasında, hastalığın ayırıcı tanısı açısından fizik muayene gereklidir. TB tedavisini etkileyebilecek diğer sağlık sorunlarını saptamada ve hastanın genel durumunu değerlendirmede de fizik muayene yapılmalıdır. Her hastanın değerlendirilmesinde fizik muayene zorunludur. Akciğer TB genellikle belirgin bir fizik bulgu yoktur. Hastalık ilerleyene kadar minimal ek sesler duyulur. Seyrek olarak sınırlandırılmış raller ve öksürük sonrası raller olabilir. Konsolidasyon varlığında bronşiyal sesler duyulabilir. Plevra sıvısı ya da plevra kalınlaşması bulguları olabilir. Hepatomegali, splenomegali erişkin tip TB nadirdir. Uzun sürmüş hastalıkta çomak parmak olabilir. Hastaların yarısından çoğunda ateş saptanır. İlerlemiş hastalıkta genel durumu bozuk, kaşektik, dispnesi olan bir hasta görülebilir. Bazen hastalarda eritema nodozum, lenf bezi büyümesi saptanabilir.

Radyoloji; Akciğer TB' unda akciğer filmi hemen daima bulgu verir. Endobronşiyal TB ve HIV pozitifliği ile birlikte olan TB' da film normal görülebilir. Yeni enfeksiyona bağlı gelişen "primer TB"da genellikle orta ya da alt zonlarda infiltrasyon olur; birlikte aynı taraf hilus lenf bezleri büyür. Büyüyen lenf bezleri bası yaparak ateletazi yapabilir. Konsolidasyon, plörezi görülebilir. Eğer primer olay, hücresel bağışıklık geliştikten sonra sürerse kavite olabilir. Bu duruma "İlerleyici primer TB" denir. Erişkin tipi akciğer TB' da üst loblarda infiltrasyonlar, kaviteler ve fibrozis görülebilir. Yıkım ve fibroze bağlı hacim kaybı siktir. Bu lezyonlar tek ya da iki taraflı olabilir. En çok üst lobların apikal, posterior ve alt lobların superior segmentleri tutulur. Alt lop superior segment tutulumları arka-ön filmlerde hilus düzeyinde görülebilir; yan film çekilmelidir. Kavite duvarları orta derecede kalındır. Atipik bulgular olabilir; alt lob tutulumları, plevra efüzyonu, milier gölgeler, kitle lezyonları, mediastende büyümüş lenf bezleri ve pnömotoraktır. Kavite olmayabilir. Bu atipik bulgular genellikle diyabet, böbrek yetmezliği ve HIV pozitifliği gibi bağışıklık bozukluğu olan hastalarda görülür, bazen de kadınlarda görülebilir. Hastalık ilerlerse, TB diğer akciğer bölgelerine havayolu (bronşlar) ile yayılıp yamalı pnömoni görünümü yapabilir; düzensiz kenarlı, yuvarlak gölgeler oluşur, buna alveoler ya da asiner patern denilir. Parankimden bir damar ya da lenfatik duvarını delip



geçen lezyon, basilin kanla yayılmasına ve akciğer filminde milier görünüme neden olur. Akciğer filminde milier görünüm, akciğer alanlarında düzenli dağılmış küçük nodüllerden oluşur; bu nodüllerin çapı, gözün seçebileceği 0,5 mm' den başlayarak büyük çaplara çıkabilir. Bazen başlangıçta olmayan nodüller birkaç haftada çıkabilir. Pnömotoraks, kazeöz bir odağın bronşa geçmesi ve plevra boşluğuna da açılması ile (bronko-plevral fistül) olabilir. Akciğer radyolojisinde, lezyonlar TB düşündürülebilir; fakat TB' da görülen lezyonlar başka birçok hastalıkta da vardır. Akciğer filmlerinin, aktif TB tanısında duyarlılığı %70-80'dir. Özgüllük (spesifisite) ise nispeten daha azdır, %60-70'dir. Akciğer filminin değerlendirilmesinde en önemli sorunlardan birisi, okuyucular arasındaki farklı değerlendirmelerdir. Kavite varlığı, lenfadenopati ve aktif hastalık olup olmadığı konularında okuyucular arasındaki uyum azdır (27). Yalnız radyoloji ile TB tanısı konulamaz. Aynı şekilde akciğer filminde lokal bir kitle ya da nodüler opasite, geçirilmiş TB' a bağlanmamalıdır. Hastada TB hastalığı olup olmadığına radyoloji ile kesin karar verilemez. Radyolojik bulgularla şu değerlendirmelerin yapılması uygundur: Normal, anormal: anormal ise kavite var/yok, infiltrasyon var/yok ve lezyonlarda önceki filmlere göre artma var, azalma var, değişme yok kararları verilebilir (28). Akciğer graflerinin değerlendirilmesinde, filmin uygun teknikte çekilmiş olmasına da çok dikkat etmek gerekir. Akciğer filmini okumadan önce film kalitesinin değerlendirilmesi gereklidir. Filme ait teknik sorunlar yanlış okumalara neden olabilir. Filmin dansitesi iyi olmalı, simetrik çekilmeli, akciğerleri içermeli, hasta derin inspirasyon yapmış şekilde çekilmeli ve filmdeki artefaktlara dikkat edilmelidir. Filmin kalitesi değerlendirmeye engel ise tekrar çekilmelidir.

Tüberkülin Cilt Testi, TB basili ile enfeksiyonu gösterir; hastalığı göstermez. TB basiline bağlı geç tip aşırı duyarlılık sonucu pozitif olur. Çocuk TB tanısında tanıya yardımcı olabilir. Erişkinde ise tanıdaki değeri düşüktür. BCG aşısı ile de pozitifliği arttığı için, BCG aşısının rutin uygulandığı ülkemizde genellikle pozitif bulunur. TB hastalarında ICT negatif olabilir. Günümüzde TB enfeksiyonunu gösteren tek test ICT' dir. Bu test, kişinin TB basili ile enfekte olup olmadığını gösterir, hastalık hakkında bilgi vermez. Hastalık tanısında dolaylı olarak yardımcı olabilir. ICT yapılmaması gereken kişiler şunlardır: Kişinin TB

geçirdiği biliniyorsa ya da TB tedavisi aldığı biliniyorsa, geçmişte TCT büllü reaksiyonu olmuşsa, aşırı yanıkları ya da ekzeması varsa, son bir ayda kızamık, kabakulak gibi önemli virüs infeksiyonu geçirmiş ya da canlı virüs aşısı olmuşsa TCT yapılmamalıdır (29).

Tüberkülin Antijeni; TCT esası, basilin belirli antijenik bileşenlerinin, TB basili ile infekte olan kişilerde gecikmiş tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu yapmasıdır. PPD, TB basil kültürü filtresinden protein presipitasyonu ile izole edilir. Kültür filtresinde bulunan ve "tüberkülinler" denilen antijenik öğeleri içerir. İçeriğinin çoğunluğu yaklaşık 10.000 Da molekül ağırlığı olan küçük proteinlerden oluşur, ayrıca polisakkaritler ve bazı lipidler içerir. Seibert ve Glenn'in 1939'da ürettikleri bir parti PPD (lot 49608), PPD-S olarak adlandırılır ve bu uluslararası standart olarak kullanılmaktadır. Üretilen bütün PPD'ler, PPD-S ile eşit güçte olduklarını göstermek için biyolojik olarak test edilmelidirler (30) PPD-S'in standart 5-"Tüberkülin Unitesi" (TÜ) dozunun tanımı şöyledir: 0,1 mg/0,1ml dozdaki bir PPD-S'in gecikmiş cilt testi aktivitesi olarak tanımlanır. Ticari PPD solüsyonlarındaki standart test dozu, PPD-S'teki 5TÜ'ndekine biyolojik olarak eşdeğerde doz olarak tanımlanır. Tween 80 deterjanından küçük bir miktar eklenerek, PPD' nin cam ve plastiklere yapışması azaltılır (31) Bu yapışma nedeniyle, tüberkülin bir kaptan diğerine aktarılmamalı, enjektöre çekilince de en kısa sürede uygulanmalıdır. Işık ve ısıya dayanıksızdır Buzdolabında +2 ila +8°C de saklanır, dondurulmaz. Karanlıkta tutulmalı, ışık almamalıdır.

Tüberkülin Reaksiyonu, geç tip bir aşırı duyarlılık yanıtıdır. Hücresele bir yanıtıdır. İnfeksiyon ile daha önce T hücreleri duyarlılaşmıştır. TCT yapılan yere bu duyarlılaşmış T hücreleri gelir ve ortama lenfokinler salırlar. Bu lenfokinler, o bölgede vazodilatasyona, ödeme, fibrin birikimine ve diğer inflamatuvar hücrelerin toplanmasına yol açar ve böylece endurasyon (kabartı-sertlik) oluşur. Reaksiyon 5-6 saatte başlar ve 48-72 saatte maksimuma ulaşır. Kaybolması günler alır. Bazen 72 saatte ancak maksimum olur. İlk 24 saatte ortaya çıkan reaksiyonlar geç tip yanıt ile karıştırılmamalıdır. Uygulama, sol önkolun 2/3 üst kısmında iç ya da dış yüzüne, cilt içine yapılır. Kullanılacak alanda cilt lezyonu olmaması ve venlere uzak olması önerilir. PPD'nin 5 TÜ'nden 0,1 ml doz deri içine verilir. Bu,

Mantoux yöntemi olarak adlandırılır TCT 1 ml. lik diziyem taksimatlı, bir kullanımlık 27 gauge kalınlığında iğnesi olan enjektör ile uygulanır. Cilt yüzeyinin hemen altına iğnenin oblik uç kısmı yukarı gelecek şekilde tutularak yapılır. Enjeksiyondan sonra 6-10 mm çaplı bir kabarcık oluşmalıdır. Bu test uygun yapılmamışsa hemen ikinci bir test dozu, birkaç cm uzak bir yere yapılır ve yeri kaydedilir. Şişe ya da ampulün işi bitince tekrar buzdolabı ya da buz kabına konur. Masa üzerinde bekletilmez. Tüberkülin uygulanacak saha herhangi bir antiseptikle silinmez. Test uygulanan kişi daha önce BCG ile aşılanmışsa ya da tüberkül basili ile karşılaşmışsa, 2-3 gün içinde test yerinde hiperemi (kızarıklık) ve endürasyon (kabartı) oluşur. Hipereminin çapı önemli değildir. Sertlik şeklinde saptanan kabartının (endürasyonun) çapı önemlidir. Endürasyon (sertlik) varlığı inspeksiyonla ve palpasyonla saptanır. Bir tükenmez kalem ucu ile de endürasyonun başladığı noktalar saptanabilir. Test yapıldıktan 48-72 saat sonra (2-3 gün) endürasyon çapı şeffaf bir cetvelle milimetrik olarak ölçülür. Önkolun doğrultusuna dik olan çap okunur. (özel durumlarda ölçüm 96 saate kadar yapılabilir.) Endürasyon yokluğunu not ederken "negatif" değil "0 mm" olarak yazmak doğrudur. Test yerinde bül, vezikül ve benzeri reaksiyonlar görülebilir. Önemli değildir. Kesinlikle pomat vb sürülmez. Ağızdan ağrı kesiciler alınabilir. Birkaç haftada kendiliğinden iyileşebilir. Reaksiyonun değerlendirilmesinde kullanılan kriterler Çizelge 2.1.' de sunulmuştur

Çizelge 2 1. Ülkemizde TCT Reaksiyonunun Değerlendirme Kriterleri (32)

**BCG Yapılmış Bireylerde**

0-5 mm Negatif kabul edilir

6-14 mm BCG' ye atfedilir

15mm ve üzeri Pozitif kabul edilir, infeksiyon olarak değerlendirilir

**BCG Yapılmamış Bireylerde**

0-5 mm Negatif kabul edilir

6-9 mm Şüpheli kabul edilir, 1 hafta sonra test tekrarlanır ve yine aynı bulunursa negatif kabul edilir 10mm ve üzeri (+) kabul edilir\*

10 mm ve üzeri Pozitif kabul edilir

**Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5mm ve üzeri pozitif kabul edilir.\*\***

\*Booster olayı: Tek bir TCT ile ufak bir endürasyon oluşabilir, fakat önceden oluşmuş bir bağışıklık yanıtı uyandırabilir; böylece, 1 haftadan bir yıla kadar bir sürede yapılacak ikinci TCT ile daha büyük yanıt oluşur. Konversiyondan ayrımı için 1 haftadan sonra (en erken dönemde) TCT yapılmalıdır \*\* Bağışıklığı baskılanmış kişiler: Kızamık veya boğmaca geçirenler, HIV, diabet, lenfoma ve lösemi gibi hematolojik bozukluklar, kronik peptik ülser, kronik malabsorbsiyon sendromları, orofarinks ve üst gastrointestinal sistem kansinimleri, gastrektomi, barsak rezeksiyonu, kronik alkolizm, silikozis, pnömokonyoz, kronik böbrek yetmezliği, uzun süre yüksek doz kortikosteroid ve diğer bağışıklığı baskılayıcı tedavi gerektiren durumlar [2-4 hafta süreyle, günde 15 mg ve üstü prednizon dozuna eşdeğer steroid dozları yeterli yüksek doz kabul edilmektedir.]

Aktif TB hastalarında TCT %10-25 yalancı negatif olduğu görülmüştür (33). Bu yüksek yalancı negatiflik oranı, beslenme ve genel sağlık durumunun kötü olmasına, yaygın akut hastalığa ya da bağışıklığın baskılanmasına bağlı bulunmuştur. Yalancı negatiflik yapan nedenler Çizelge 2.2' de sunulmuştur.

TB' un kesin tanısı bakteriyolojiktir. TB'dan şüphelenilen hastalardan usulüne uygun üç balgam örneği alınır. Balgam çıkaramayan hastalarda balgam indüksiyonu yapılmalıdır; açlık mide suyu ve bronkoskopik lavaj sıvısı da bu amaçla kullanılabilir. Balgamlar öncelikle yayma ile incelenmelidir. Teksif olanağı olan yerlerde, mikroskopik inceleme balgam teksifi ile yapılmalıdır. Materyalin kalan kısmı kültür için Bölge TB Laboratuvarına ya da kültür yapılabilen bir laboratuara gönderilmelidir. Yaymada görülen ARB, TB dışı mikobakterilerle ya da başka nedenlerle olabilir. Bu nedenle pozitif kültür TB tanısını kesinleştirir. Ayrıca, yayma negatif hastalarda da, pozitif kültür tanıyı kesinleştirir. Ülkemizde ilaç direnci oranlarının yüksek olması nedeniyle, her hastaya kültür ve ilaç duyarlılık testi yapılmasında yarar vardır. Başlangıçta ilaç duyarlılık testi yapılamamışsa, üçüncü ay ya da daha sonra balgamlarında basil görülen hastalarda duyarlılık testi önerilir. Hastanın üç balgam yayması da menfi ise, tanı için ayırtıcı tanı olanakları olan bir merkeze sevki uygundur. Eğer sevk etme olanağı yoksa, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi yapılması ve sonra yeniden değerlendirilmesi gerekir. Üç balgam yayması tekrarlanır. Yayma (-) akciğer TB tedavisine başlarken en az 3 balgam örneği kültüre gönderilmiş olmalıdır.

Günümüzde, moleküler biyolojinin gelişmesi ile bir dizi amplifikasyon testi, TB tanısında kullanılmaktadır. Bu testlerden, ülkemizde "Polimerase Chain Reaction" (PCR) özellikle üniversitelerde ve özel kurumlarda sık kullanılmaktadır. PCR' in duyarlılığı yayma pozitif örneklerde %95 iken, yayma negatif örneklerde %50-60, özgüllüğü ise %98'ler düzeyinde bulunmuştur (34). Bu nedenle günümüzde yayma pozitif olgularda kullanılması önerilmektedir (35). TB tanısında günümüzde güvenilir bir serolojik test yoktur.

Çizelge 2.2. Tüberküloz yanıtını azaltan faktörler (32).

Test Edilen	* İnfeksiyonlar
Kişiyeye Ait	Viral (kızamık, kabakulak, su çiçeği, HIV)
Faktörler	Bakteriyel (tifo, tifüs, brusella, boğmaca, yaygın TB, TB plörezi) Mantarlar (Güney Amerika blastomikozu) * Canlı virüs aşılıları (kızamık, kabakulak, polio, su çiçeği) * Metabolik bozukluklar (kronik böbrek yetmezliği) * Proteinlerin düşüklüğü (ciddi protein düşüklüğü, afibrinojenemi) * Lenfoid organları etkileyen hastalıklar (Hodgkin hastalığı, lenfoma, kronik lösemi, sarkoidoz) * İlaçlar (kortikosteroidler ve diğer birçok bağışıklığı baskılayıcı ilaç) * Yaş (yenidoğanlar, "azalmış" duyarlılığı olan yaşlı hastalar) * Stres (cerrahi, yanıklar, mental hastalıklar, graft verus host reaksiyonları)
Kullanılan	* Uygunsuz depolama (ısı ve ışığa maruziyet)
Tüberküline Ait	* Uygunsuz sulandırmalar
Faktörler	* Kimyasal denatürasyon * Kontaminasyon * Yapışma (adsorpsiyon) (Tween 80 eklemekle kısmen kontrol edilir)
Uygulama	* Çok az antijen enjekte etmek
Yöntemine	* Cilt altına enjeksiyon
İlişkin Faktörler	* Enjektöre çektikten sonra geç uygulama * Diğer cilt testlerine çok yakın enjeksiyon
Okuma ve	Deneyimsiz okuyucu
Kayıt ile ilgili	* Bilinçli ya da bilinçsiz hatalar
Faktörler	* Kayıt hataları

### Akciğer Dışı Tüberküloz

Akciğer dışı TB' un tanısından burada söz edilmemiştir. Semptom ve bulgular, tutulan organa göre değişir. Objektif tanı için bakteriyolojik doğrulama ya da histopatolojik bulgular gerekir.

Akciğer dışı TB başlığı altında şu hastalıklar yer almaktadır

- Plevra TB (plörezi TB)
- Toraks içi lenfadenit TB
- Toraks dışı lenfadenit TB
- Omurga, kemik-eklem TB
- Milier TB
- Omurga dışı kemik-eklem TB
- Menenjit TB
- SSS TB (menenjit dışı)
- Genitoüriner TB

### Olgu Tanımları

TB tanısı konulan hastada tedavi rejiminin belirlenmesinde olgu tanımları kullanılır. Olgu tanımları yapılırken üç konuda elde edilen bilgiler birleştirilir. Hastalığın tuttuğu organ/organlar, bakteriyolojik durum ve önceden TB tedavisi görüp görmediği değerlendirilir.

Bu bilgileri elde etmek için öykü, fizik muayene ve laboratuvar bulgularına ek olarak hastanın önceki tedavi kayıtlarının ve belgelerinin de incelenmesi gereklidir. Bu olgu tanımları, kayıt ve bildirim sisteminde de esas alınmaktadır. Hastalığın tuttuğu organ/organlar olarak; Akciğer TB, akciğer parankimini tutan TB için kullanılır. Akciğer parankiminde tutulma yoksa plevra efüzyonu ya da toraks içinde (hilusta, mediastende) lenf bezi büyümesi ile olan TB, akciğer dışı TB kabul edilir. Akciğer dışı TB, akciğer parankimi dışındaki organlardan alınan örneklerde ARB gösterilebilen ya da TB ile uyumlu histolojik ve klinik bulgusu olan hastalardır. Akciğer ve akciğer dışı TB, Akciğer TB ve Akciğer dışı TB birlikte ise bu grup hastalarda her iki tutulumun da olduğu belirtilir; akciğer dışı tutulan organ(lar) da belirtilir. Bu grup hastalar, DSÖ' e akciğer TB olarak bildirilmektedir. Larinks ve milier TB, balgam yayması pozitif ise, akciğer artı akciğer dışı TB olarak kabul edilir, kayıta ayrıca "larinks TB", "milier TB" olarak belirtilir. Plevra TB, akciğer dışı TB olarak kaydedilir. Plevra TB olan hastada balgam yayması pozitif ise, akciğer ve akciğer dışı TB olarak kaydedilir. Akciğer dışı TB bölümüne "plevra TB" eklenir. Mediastende, hilusta lenf bezi TB olması, akciğer dışı TB olarak belirtilir. Bakteriyolojik olarak, yayma pozitif akciğer TB, en az iki balgam (açlık mide suyu, indüklenmiş balgam, bronkoskopik lavaj da olabilir) örneğinde yayma ile ARB gösterilen hastalardır. Ya da balgam yaymasında bir kez ARB pozitif bulunan ve radyolojik bulguları akciğer TB ile uyumlu olan ve bir hekim tarafından, TB tedavisi kararı verilen hastalardır. Ayrıca balgam yaymasında bir kez ARB pozitif bulunan ve kültürü de pozitif gelen hastalarda yayma pozitif kabul edilir. Yayma negatif akciğer TB' u, iki hafta ara ile balgam örnekleri alınan ve her seferinde yayma negatif olan, fakat radyolojik olarak TB ile uyumlu lezyonları olan ve en az bir hafta geniş spektrumlu antibiyotik kullanılmasına rağmen klinik yanıt alınamayan hastalardır. Ayırıcı tanı olanakları olan bir hastanede TB tedavisine karar verilen hastalar. Balgam yaymaları negatif olan fakat kültürde üreme olan hastalar. Önceki tedavi öyküsüne göre, yeni olgu: Daha önce TB tedavisi görmemiş ya da bir aydan daha az süre tedavi almış hastalardır. Eski olgu: Daha önce en az bir ay tedavi görmüş TB hastasıdır. Bu tanım, nüks, tedavi başarısızlığından dönen, tedaviyi terkten dönen ve kronik olguları içermektedir. Nüks olguları, daha önce

TB tanısı konup tedavisini başarıyla tamamlamış olan hastada yeniden TB tanısı konulursa, yani balgamda basil pozitifliği saptanırsa nüks kabul edilir. Yaymasında ARB negatif ise ve klinik ve radyolojik bulguları ile TB düşünülüyorsa ayrıntı tanı olanakları olan bir üst merkeze gönderilir; burada bakteriyolojik olarak negatif olduğu halde, TB tanısı klinik ve radyolojik olarak konulabilir. Tedavi başarısızlığından dönen, yeni tanı konulmuş ve tedavinin başlangıcından beş ay ya da daha sonra alınan balgam örneklerinde yayma ya da kültür ile basil gösterilen hastadır. Tedaviyi terkten dönen olgu: Tedaviye iki ay ya da daha uzun süre ara verdikten (tedaviyi terk) sonra yeniden yayma pozitif olarak başvuran hastalardır (bazen, yayma negatif fakat klinik ve radyolojik değerlendirme ile aktif TB olabilir). Nakil gelen, başka bir dispanserde kayda alınıp tedavisi başlandıktan sonra, kayıtları ile birlikte devralınan hastadır. Kronik olgu, nüks, ara verme ya da tedavi başarısızlığı nedeniyle uygulanan yeniden tedavi rejiminin sonunda hala basil pozitif olan hastalardır.

## 2.5. Tedavi

TB tedavisinde bazı temel ilkeler vardır.

1. En etkili, en güvenli ve en kısa süreli tedavi seçilmelidir.
2. Kombine ilaç kullanılmalıdır (basillerin duyarlı olduğu ilaçlar).
3. İlaçlar düzenli kullanılmalıdır.
4. İlaçlar yeterli süre kullanılmalıdır.

TB tedavisinde en önemli faktör ilaçlardır. Dinlenme, beslenme ve iklim gibi faktörlerin etkileri önemsizdir (36). Kür sağlayacak bir ilaç kombinasyonu ile tedavi rejimi oluşturulmalıdır. Tedavinin başlangıcında basil sayısı en yüksek düzeyde olduğundan dirençli mutant suşların ortaya çıkma olasılığı en yüksektir. Ülkemizde olduğu gibi İzoniiazid direncinin %4'ten yüksek olduğu yerlerde başlangıç döneminde dört ilaç kullanılmalıdır. İdame döneminde en az iki ilaç kullanılmalıdır. Bu tedavide ilaçların düzenli olarak ve yeterli süre kullanılması çok büyük önem taşımaktadır; aksi halde, ilaç direnci ve tedavi başarısızlığı ortaya çıkmaktadır. TB ilaçları, basilleri hızla öldürür (erken bakterisidal aktivite), ilaç direnci gelişimini önler ve hastanın vücudundaki basilleri sterilize eder

(sterilize edici aktivite). Bu etkiler için, özellikleri olan bir dizi ilaç bir arada kullanılır, yeterli süre kullanılır. Sonuçta hastada kür sağlanır ve nüks etme olasılığı son derece düşüktür. TB ilaçları Çizelge 2.3,4,5,6,7,8' de sunulmuştur (37).

Çizelge 2.3. İzonyazid (INH)

Etki şekli	Etki yeri bilinmiyor Çoğalan basillere son derece bakterisidal etkilidir
Farmasötik şekil	Tablet 100 mg ve 300 mg
Doz	Günlük 5 mg/kg, maksimum 300mg; haftada üç kez gözetimli 600 mg; haftada iki kez gözetimli: 900mg
Uygulama şekli	Yiyeceklerle emilimi azaldığından yemekten yarım saat önce alınmalıdır Diğer TB ilaçları ile birlikte verilir.
Yan etkileri	Hepatit; periferik nöropati, ruhsal durum bozukluğu, sistemik lupus eritematozus (SLE) sendromu, cilt döküntüleri
Kontrendikasyonları	Karaciğer fonksiyon bozukluğu, aşırı duyarlılık
İlaç etkileşimleri	Şu ilaçların metabolizmasını inhibe ederek onların etkisini artırabilir: Fenitoin, karbamazepin, disülfiram INH serum düzeyini artırır
Öneri	Şu durumlarda günde 10 mg dozda piridoksin (vitamin B6) önerilir: Kronik alkolizm, diyabet, gebelik, adölesan dönem, ileri yaş, üremi, kanser, malnütrisyon, HIV, epilepsi.

Çizelge 2.4 Rifampisin (RIF)

Etki şekli	Nükleik asit (RNA) sentezini inhibe eder Sterilize edici etkisi en kuvvetli ilaçtır Bakterisidal etkisi de güçlüdür
Farmasötik şekil	Kapsül 150 mg, kapsül 300 mg, süspansiyon 100 mg/5ml
Doz	Günlük: 10 mg/kg, maksimum 600 mg (Gözetimli verilen haftada iki ve haftada üç günlük uygulamalarda da aynı doz)
Uygulama şekli	Yiyeceklerle emilimi azaldığından yemekten yarım saat önce alınmalıdır Diğer TB ilaçları ile birlikte verilir.
Yan etkileri	İdrar, gaita, balgam, ter, gözyaşı turuncu olur; gastrointestinal rahatsızlık; hepatit; aşırı duyarlılık reaksiyonları. Trombositopeni, grip sendromu, böbrek hasarı
Kontrendikasyonları	Hemolitik anemi, aşırı duyarlılık, tedaviye bağlı böbrek yetmezliği, trombositopeni
İlaç etkileşimleri	Karaciğerden metabolize olan ilaçların atılımını hızlandırabilir. Bunlar: kortikosteroidler, kumarin türevleri, opiyatlar, oral hipoglisemikler, makrolidler, antikonvülsanlar, ketokonazol, flukonazol, siklosporin, proteaz inhibitörleri, dijital, antiaritmikler, beta-blokörler, kalsiyum kanal blokörleri ve benzodiyazepinler. Östrojen metabolizmasını hızlandırarak oral kontraseptiflerin etkisini azaltabilir RIF' ın antiretroviral ilaçlarla ciddi etkileşimi vardır.



Çizelge 2 5 Pirazinamid (PZA) / Morfozinamid (MZA)

Etki şekli	Özellikle asit ortamlarda etkilidir Etki şekli bilinmemektedir
Farmasötik şekil	Tablet 500 mg (Morfozinamid: tablet 500 mg)
Doz	Günlük 30 mg/kg; haftada üç gözetimli 30-40 mg/kg; haftada iki gözetimli 30-40 mg/kg (MZA dozu, PZA' nın 1,5-2 katıdır.
Uygulama şekli	Yiyeceklerle emilimi azaldığından yemekten yarım saat önce alınmalıdır Diğer TB ilaçları ile birlikte verilir
Yan etkileri	Hepatit, hiperürisemi, artralji, döküntü, gastrointestinal rahatsızlık (Aseptomatik hiperürisemide PZA kesilmez)
Kontrendikasyonları	Karaciğer fonksiyon bozukluğu, aşırı duyarlılık
İlaç etkileşimleri	Ürikozürik probenesid ve sülfipirazonun etkisine antagonist etki

Çizelge 2 6 Streptomisin (SM)

Etki şekli	Belirli TB basili topluluklarına karşı etkili bakterisidal bir ilaçtır. Bakterinin 30S ribozomuna bağlanarak protein sentezini inhibe eder
Farmasötik şekil	0,5 ve 1 gramlık streptomisin sülfat içeren flakonlar
Doz	Günlük 1000 mg; 55 yaş üstünde ya da 50 kg'dan hafif hastalarda 750 mg; haftada üç gözetimli 1000 mg; haftada iki gözetimli: 1000mg.
Uygulama şekli	İntramuskuler uygulanır ABD'de bir araştırma protokolü ile intravenöz uygulanabildiği de bilinmektedir (58)
Yan etkileri	Vestibüler, işitme ile ilgili bozukluklar, elektrolit ve tuz dengesizliği, nefrotoksisite, ateş ve döküntü, aşırı duyarlılık
Kontrendikasyonları	Ototoksisite (vertigo, baş dönmesi, ataksi), aşırı duyarlılık, gebelik, miyastenia gravis, böbrek bozukluğu.
İlaç etkileşimleri	Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar böbrek yetmezliği riskini artırır Nefro ve oto toksisiteyi artıran etkileri nedeniyle SM ile birlikte şu ilaçlar kullanılmamalıdır: diğer aminoglikozidler, amfoterisin B, sefalosporinler, etakinik asit, siklosporin, sisplatin, furosemid, vankomisin.

Çizelge 2 7 Etanbutol (EMB)

Etki şekli	Etki şekli bilinmiyor Çok yüksek konsantrasyonlarda bakterisidaldir En önemli yararı, özellikle INH ve/veya SM'e başlangıç direnci varlığında görülmüştür
Farmasötik şekil	Tablet 500 mg
Doz	İlk iki ay günlük 25 mg/kg, sonra 15 mg/kg; haftada üç gözetimli30 mg/kg; haftada iki gözetimli: 50 mg/kg.
Uygulama şekli	Besinlerle etkileşmez Oral yoldan çok iyi emilir.
Yan etkileri	Optik nörit (görme keskinliği ve renkli görme testi gerekir), hiperürisemi, gastrointestinal rahatsızlık
Kontrendikasyonları	Optik nörit varlığı, böbrek bozukluğu, görme sorununu bildiremeyecek çocuk ya da bilinç bozukluğu olması, aşırı duyarlılık
İlaç etkileşimleri	Bilinmiyor.

Çizelge 2.8. İlaç Dozları

	Günlük doz			Haftada 3 doz (gözetimli)			Haftada 2 doz (gözetimli)		
	Erişkin mg/kg	Çocuk mg/kg	Maks mg	Erişkin mg/kg	Çocuk mg/kg	Maks mg	Erişkin mg/kg	Çocuk mg/kg	Maks mg
INH	5	10-15	300	10	20-40	600	15	20-40	900
RIF	10	10-15	600	10	10-20	600	10	10-20	600
PZA	25	20-40	2000	30-40	50-70	3000	40-60	50-70	4000
MZA	40	30-60	3000	MZA' nın intermittant kullanımı ile ilgili bilgi bulunamadı Genel olarak PZA dozunun 1,5-2 katı kullanılır					
SM	15	20-30	1000	15	20-30	1000	15	20-30	1000
EMB	15-25	15-25	1500	30	25-30		45	50	

Hastalara bir günlük ilaçların tümü bir defada ve tercihen aç karına verilmelidir. Bir günlük ilaçların bölünerek birkaç defada içilmesinden kaçınılmalıdır. İlaçlara bağlı mide yakınmaları olursa, yemekle birlikte verilebilir. İlaçları tek seferde içirerek hem bütün ilaçların içilmesi sağlanır, hem de unutma önlenir. Bu şekilde kullanılmaları, ilaçların etkilerini artırabilir. İlaçları bir defada içmek gerçekten rahatsızlık veriyorsa, bu hastalara günlük dozlar ikiye ya da üçe bölünerek verilebilir. MZA ile PZA dozları birbirlerinden çok farklıdır. Hastaya verilen hangisi ise, dozun ona göre iyi tarif edilmesi gerekir. MZA dozu PZA 1,5-2 katı olarak hesaplanır. Ülkemizde MZA preparatları: Morfozid ve Piazolina; PZA preparatları ise Pirazinid ve Piraldina'dır. SM 60 yaşından büyük hastalara günde 500-750 mg verilmelidir.

Başlangıç dönemi, hızlı çoğalan basillerin temizlendiği dönemdir. Bu dönemde dört ilaç (nüks ve tedaviyi terkten dönenlerde 5 ilaç) kullanılır. Bakterisidal aktivite ve direnç gelişimini önleyici aktivite söz konusudur. Genellikle 2 ay sürer. Bu dönemde tedavi bırakılırsa, tedavi başarısızlığı olabilir ve ilaç direnci gelişme olasılığı yüksektir. İdame dönemi Bu dönemde sterilizasyon gerçekleştirilir. Yani, zaman zaman aktivasyon gösteren, aralıklı çoğalan basiller temizlenir. Yeni olgularda genellikle 4 ay sürer. Bu dönemde tedavi terk edilir ise, nüks gerçekleşebilir ve genellikle basil ilaçlara duyarlıdır.

Çizelge 2.9. Tedavi Şeması (37)

OLGU TANIMI	BAŞLANGIÇ DÖNEMİ (günlük)*	İDAME DÖNEMİ (günlük)
Yeni olgu	2 ay HRZE ya da HRZS	4 ay HR
Çocuk TB	2 ay HRZ#	4 ay HR
Menenjit, milier, kemik-eklem TB	2 ay HRZE ya da HRZS	7-10 ay HR
Tedaviyi terkten dönenler Nüks olgular	2 ay HRZES1 ay HRZE	5 ay HRE
Tedavi başarısızlığı olmuş olgular** Kronik olgular	***Uzmanlaşmış merkezlerde ikinci grup ilaçlarla tedavi edilir	

ÖNEMLİ UYARI: Tedavisi başarısız olan ya da düzelmeye göstermeyen hiçbir hastaya ilaç eklemesi yapılmaz! Tedavisi sürdürülürken, uzman bir merkeze danışılır \* Yeni olgularda başlangıç döneminin sonunda balgam yaymasında ARB pozitif ise başlangıç dönemi aynı ilaçlarla bir ay uzatılır Üçüncü ay sonunda da ARB pozitif ise hastanın balgamı direnç testi için laboratuara gönderilir; ilaçlar kesilmez. ilaçların sayısı azaltılmaz ve aynı ilaçlar gözetimli verilir. Hasta uzmanlaşmış bir merkeze danışılır Nüks ve tedaviyi terkten dönen olgular da üçüncü ayın sonunda balgam yaymasında ARB pozitif ise, aynı ilaçlara devam edilerek hasta uzmanlaşmış bir merkeze sevk edilir \* \* Tedavi başarısızlığı olan olguların tedavi kararını özel merkezler verecektir. Bu konuda ülkemizde DSÖ' den farklı bir yaklaşım uyguluyoruz. \* \* \* Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul SSK Süreyya paşa Göğüs ve Kalp Damar Hastalıkları Eğitim Hastanesi İstanbul Heybeliada Göğüs Hastalıkları Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim, Araştırma Hastanesi (İstanbul) Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi (İzmir) # Balgam yaymasında basil saptanan ya da kavitesi olan çocuk TB hastalarına da erişkin hastalar gibi tedavinin başlangıç döneminde dört ilaç verilir Gönne bozukluğunu ifade edemeyecek yaşta çocuklara etambutol verilmemesi uygundur

DSÖ' nün önerdiği kategorilere göre tedavi yaklaşımı Türkiye'de aynı şekilde uygulanmamaktadır, farklılıklar vardır: Yayma negatif akciğer TB' unda ve akciğer dışı TB' un daha az ciddi şekillerinde DSÖ üç ilaçla tedavi önermiştir. Ülkemizde bu hastalar için de dört ilaçla tedavi önerilmiştir. Bu kararın en önemli nedeni ilaç direnci oranlarının yüksek olmasıdır Tedavi başarısızlığı olan olgularda uzmanlaşmış bir merkezde yeni bir tedavi başlanır. Ülkemizde ikinci grup ilaçlarla tedavi olanağı olduğu için, tedavi başarısızlığı olan olguların değerlendirilmesi ve tedavi kararları bu merkezlere bırakılmalıdır. İntermittan tedavi, yalnız "Doğrudan Gözetimli Tedavi" (DGI) uygulaması yapıyorsa kullanılmalıdır. DGI, görevlendirilen bir kişinin, hastanın her doz ilacı yuttuğunu bizzat gözleyerek, ilaç içtiğinden emin olması ve hastanın ilaç içtiğini kaydetmesidir. İlaç etkileşimleri önemli olabilir: RIF karaciğer enzimlerini indükleyerek bazı ilaçların (örneğin doğum kontrol hapları, anti-epileptik ilaçlar, kortikosteroidler, oral antidiyabetikler, oral antikoagülan ilaçlar, vs) kandaki düzeylerini düşürür. Bu ilaçların dozlarının ayarlanması gereklidir. Doğum kontrolü için diğer alternatif yöntemler kullanılmalıdır. HIV pozitif hastalarda RIF ile antiretroviral ilaçlar arasında ciddi bir etkileşim söz konusudur. HIV pozitif hastada TB tedavisi öncesinde mutlaka uzmanına danışmak gereklidir Bir günde

alınacak ilaçların tamamı (bir engel yok ise) bir defada içilmelidir. Böylece hem bütün ilaçların içilmesi sağlanır, hem de unutma önlenir. Bu şekilde kullanılmaları, ilaçların etkilerini azaltmaz, tersine artırabilir. İlaçların günlük dozlarını bölmekten kaçınılmalıdır. Kortikosteroidler, TB tedavisinde genellikle akciğer dışı TB' da gerekli olmaktadır. Günlük 0,5-2 mg/kg prednizolon eşdeğeri dozda 4-6 hafta verilebilir. Sonra doz basamaklı olarak azaltılarak kesilir. Birlikte proton pompa inhibitörü ya da famotidin kullanılmalıdır. Ağır milier TB ya da genel durumu bozuk TB hastası: TB tedavisi ile birlikte kortikosteroidler hastanın genel durumunu düzeltir ve TB ilaçlarının etki edeceği dönemde hastaya destek olur (38)

Akciğeri TB' unda kortikosteroid kullanımı konusunda 12 prospektif randomize çalışmanın sonuçlarına göre, daha hızlı iyileşme, kilo alma ve radyolojik temizlenme olmakla birlikte, akciğer fonksiyonlarını korumada ve kür oranlarında bir farklılık yaratmadığı görülmüştür. Plevria hastalığında da kortikosteroidler belirti ve bulguların (ateş, dispne, efüzyon miktarı) hızlı düzelmesine yardımcı olmakla birlikte sonuçta plevria kalınlaşmasını önlemede ve akciğer fonksiyonlarına katkı sağlamada yararı gösterilmemiştir. Bu nedenle dispne yaratan fazla efüzyon varlığında ve göğüs ağrısında verilebilir. TB perikarditte, kortikosteroidlerin kalbin konstriksiyonuna engel olduğu gösterilmiştir. Yaşam süresini artırır ve perikardiyektomi ihtiyacını azaltır. TB menenjitin üç döneminde de nörolojik sekelleri azalttığı gösterilmiştir. Erken verilmesi durumunda bu etkisi daha belirgindir. Özellikle üçüncü evredeki menenjitlerde yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (39). Anti TB ilaçlara aşırı duyarlılık olması durumunda kullanılabilir. Adrenal yetmezlik durumunda yerine koyma tedavisi uygulanır. Çocuk TB' da, yukarıda sayılan endikasyonlara ek olarak bronş çevresindeki ya da içindeki lenf bezlerinin yarattığı basıyı azaltmada kortikosteroidler kullanılabilir. Bunun dışında yüksek ateş ve dispne ile birlikte bulunan masif efüzyonlarda da kullanılabilir.

Günümüzde, tıbbi tedavinin etkisi nedeniyle TB hastalığında cerrahi tedavi endikasyonları sınırlıdır. Tanı için cerrahi: diğer yöntemlerle tanı konulamayan akciğerde tek nodül, toraks içi lenf bezi büyümesi gibi bazı durumlarda tanısal cerrahi işlem gerekir. Cerrahi örnekleri patolojik inceleme yanında mikrobiyolojik

incelemeye de göndermek gereklidir. Ülkemizde, TB'un pek çok hastalığı taklit edebildiğini akılda tutarak her hastada mikroskopi ve kültür ile TB incelemesi istenmelidir. Etkili bir tıbbi tedavi yeterli süre yapılmalıdır. Kaviteli lezyonların büyük kısmının bir lob ya da akciğerde olması, rezeksiyon için gereklidir. Cerrahi kararı, cerrahinin zamanlaması konuları uzman merkezler tarafından yapılır. TB komplikasyonları: TB ampiyem, plevral kalınlaşma, abondan hemoptizi, bronş striktürü, bronşektazi, harap olmuş akciğer olan hastaların bir bölümünde cerrahi gereklidir. Konstriktif perikardit ile Pott Hastalığında spinal kord basısı durumlarında cerrahi önerilir.

En sık görülenler, bulantı kusma şeklinde gastrointestinal yan etkiler ve ciltte görülen yan etkilerdir. Daha az sıklıkla vestibüler etkiler ve hepatit görülmüştür. Yan etkiler genellikle tedavinin ilk üç ayında görülmektedir. Tedavi başlangıcında hastalara, kullandıkları ilaçlarla ortaya çıkabilecek en sık yan etkiler anlatılmalıdır. Hastalar, tıbbi personel tarafından en az ayda bir görülmeli ve semptomları konusunda özel olarak görüşülmeli, yan etkileri açısından hastaların öyküleri alınmalı ve fizik muayeneleri yapılmalıdır; gerekiyorsa sorunu ile ilgili laboratuvar incelemeleri yapılmalıdır. Minör yan etkiler nedeniyle ilk grup ilaçlar, özellikle de RIF kesilmemelidir. Mide yakınmaları varsa, yemekle birlikte verilebilir ya da ilaçlar bölünebilir. INH, RIF ya da PZA alan bütün hastaların hepatit düşündürülen yakınmaları olunca hemen haber vermeleri istenmelidir. Hepatit düşündürülen semptomlar: bulantı, iştah kaybı, kusma, sürekli koyu idrar, cildin sarı olması, halsizlik, açıklanmayan ateş yükselmeleri, karında duyarlılıktır. Yan etkilere ait semptom ve bulgusu olmayan hastalarda yan etki araştırması için rutin laboratuvar tetkikleri gereksizdir. Ancak, ilaç toksisitesini düşündürülen semptomlar ortaya çıkarsa, bu toksisitenin varlığını incelemek için uygun laboratuvar testleri yapılmalıdır.

Minör yan etkilerin ortaya çıktığı durumlarda, ilk grup TB ilaçları, özellikle de RIF kesilmemelidir. Semptomatik tedavi vermek ve hastaya durumu açıklamak yeterlidir. Hepatotoksisite dışı nedenlerle oluşan karın ağrısı, bulantı ya da iştahsızlık, RIF ya da diğer ilaçlara bağlı olabilir. İlaçları içme zamanını değiştirerek önlenabilir. Cilt reaksiyonları: INH ve RIF bağlı eksfoliyatif dermatit dışında kalan cilt reaksiyonları genellikle antihistaminiklerle iyileşebilir. Periferik

nöropati: en çok ayaklarda yanma hissi şeklinde görülen nörolojik reaksiyonlar INH' a bağlıdır ve günde 10 mg B6 vitamininin (pidoksin) eklenmesi ile önlenir. Diyabetli, gebe, malabsorbsiyonu olan ve yetersiz beslenen hastalarda INH ile birlikte rutin olarak B6 vitamininin kullanılması önerilir. Yüksek doz B6 vitamini INH' ın kompetitif antagonistidir ve etkisini azaltır. Artralji: PZA' a bağlı eklem yakınmaları, intermittan tedavide günlük tedaviye göre daha sık görülür. Genellikle hafiftir ve kendi kendine geçer. Semptomatik tedaviye (aspirin vd) iyi yanıt verir. RIF' e bağlı grip-benzeri tablo, genellikle intermittan tedavi ile olur. Ateş, titreme, baş ağrısı, baş dönmesi, kemik ağrısı en çok 3-6 aylar arasında görülür. RIF alımından 1-2 saat sonra başlayıp, 8 saate kadar sürebilir. Vücut sıvılarının kırmızı/turuncu olması, RIF' e bağlıdır; gözyaşı, tükürük, balgam, ter, idrarı boyar, lensleri de boyayabilir. Vücut sıvılarının kırmızı/turuncu olması tehlikesizdir, fakat hastaya önceden anlatılması gerekir.

Majör yan etkiler: Bu yan etkiler, ilaçların geçici ya da sürekli kesilmesini ve sıklıkla hastanın hastaneye yatışını gerektirir. Hipersensitivite (aşırı duyarlılık) reaksiyonları: Ciltte ya da yaygın (sistemik) olarak görülebilir. En sık SM, para-amino salisilik asit (PAS) ve thioasetazon (THI) ile olur. RIF ve PZA ile de olabilir. Hipersensitivitenin en sık görülen klinik bulguları cilt döküntüsü ve ateştir. Döküntü genellikle eritematöz ve kaşıntılıdır, maküler ya da papüler olabilir. Ekstremitelerden çok gövdeyi tutar. Yaygın reaksiyonlar ise, periorbital şişlik, konjunktivit; sistemik semptomlar: örneğin, titreme, halsizlik, kusma, eklemlerde ağrı, baş ağrısı, yaygın lenfadenopati, albüminüri, hepatosplenomegali ve seyrek olarak geçici sarılıktır. Müköz zarları da tutan ciddi ve hatta ölüme yol açan Stevens-Johnson Sendromu görülebilir. En çok thiasetazon (THI) ile olur, diğer ilaçlarla da olabilir. Bir hastanın aşırı duyarlı olduğu bir ilaç tekrar verilirse tek bir doz ile hipersensitivite reaksiyonu görülebilir. Hipersensitivite gelişen bir hastaya daha fazla bir dozda aynı ilaç verilirse nadiren anaflaktik şok gelişebilir. Hipersensitivite reaksiyonu görülünce yapılması gerekenler: hastaya verilen bütün ilaçları kesilir. Hastaneye sevk edilir. Hastanede sorumlu ilaç/ilaçlar saptanır. Desensitizasyon uygulanır ve hastaya alerjik olmayan yeni bir tedavi başlanır. Ciddi reaksiyonların kontrolü için antihistaminikler ve steroid kullanımı gerekebilir. Görme bozukluğu EMB' e bağlı olabilir. Bu yakınması olan hastalar

hemen görme muayenesine yollanmalıdırlar. Eğer sorumlu etambutol ise, bir daha asla verilmemelidir. Hepatit (hepatotoksisite) (Hastanede tedavi edilmesi önerilir): Karaciğere en çok toksik etki yapan ilaçlar INH, PZA ve RIF' dir. Toksisite semptomları, bulantı, kusma, karın ağrısı, sarılık olabilir. Transaminazlarda tedavi sırasında hafif artış normalde de görülebilir; normalin üst sınırının üç katından fazla ya da başlangıç değerinin beş katından fazla artış varsa ya da bilirubin yüksekliği varsa hepatotoksisite lehine değerlendirilmelidir. TB tedavisi alan bir hastada ortaya çıkan hepatit, TB ilaçlarına ya da başka bir nedene bağlı olabilir. Bunu ayırt etmek gerekir. İlaçların tamamı hemen kesilir. Viral hepatit için araştırılır. İlaça bağlı hepatotoksisitede karaciğer fonksiyonları düzeldikten sonra aynı ilaçlara aynı dozlarla tekrar başlanır. İlaçların tümüne birden tam doz başlanır. İlaçlara tek tek başlamakla, tümüne birden başlamak arasında fark saptanmamıştır. Tümüne birden başlamak, hasta uyumu açısından daha iyi olabilir. İkinci kez ilaca bağlı hepatotoksisite görülen hastalar uzman bir merkeze yollanmalıdır. Baş dönmesi (vertigo, nistagmus) ve işitme kaybı streptomisine bağlı vestibüler hasar ile olabilir. Yaşlı hastalarda çok fazladır. Bu yan etkilerin ortaya çıkmasını önlemede ilaç dozunun doğru verilmesi ve tedavi süresi önemlidir. Ortaya çıktığında ilacı kesip bir kulak burun boğaz uzmanına danışılmalıdır. Hemolitik anemi, akut böbrek yetmezliği, şok ve trombotik purpura RIF' e bağlı olarak ortaya çıkar. Bu ciddi reaksiyonların görülmesi durumunda RIF kesilir ve hastaya bir daha verilmez.

Bilimsel olarak, hastanede tedavi ile ayaktan tedavi arasında, hastanın bakteriyolojik, klinik, radyolojik iyileşmesi açısından olduğu gibi aile bireylerine bulaştırıcılık açısından da fark yoktur (40). Çünkü tedaviye başlanınca bulaştırıcılık çok kısa sürede ortadan kalkar. Hastaların asıl bulaştırdıkları dönem, tedavi başlanmadan önceki dönemdir. Ayakta olsun, hastanede olsun hastaların ilaçlarını gözetim altında içmeleri önemlidir. Gözetimli ilaç içirilmediği sürece, hastanede yatıyor olması hastanın ilaçlarını düzenli içtiği anlamına gelmez. TB hastalığında bazı durumlar ciddi olarak yaşamı tehdit eder. Solunum sisteminde çok ilerlemiş kaviteli TB, TB ile birlikte pnömotoraks olması ve TB ile birlikte masif hemoptizi olması; milier TB varlığı; Solunum sistemi dışında ise, santral sinir sistemi TB, perikart TB, böbrek üstü bezi TB ve aortanın TB anevrizması

ölümcül olabilir. Kaviteli akciğer TB ve yaygın TB' da akut solunum sıkıntısı sendromu olabilir. Hastaneye özellikle yatırılması gereken hastalar şunlardır: Kronik, ilaç direnci olan, tedavi başarısızlığı olan, tedaviye uyumsuz hastalar. Genel durumu bozuk olanlar, hastalığı çok ilerlemiş olanlar, ağır ya da sık hemoptizisi olanlar, diyabeti olanlar (kontrol altına alınamayan ya da insülin kullanmayı gerektiren olgular), kronik böbrek ya da kronik karaciğer hastalığı olanlar, ilaç alerjisi, ilaca bağlı hepatit ve diğer hastane tedavisi gereken ilaç yan etkileri, yatış gerektiren ek hastalık varlığı, ayaktan tedavide sorunlar yaşanan hastalar, tanının kesinleştirilmesi gereken şüpheli olgular ve evsizler

TB hastasının tedavisini düzenli olarak sürdürmek ve tamamlamak, TB' un kontrolünde en önemli görevlerden birisidir. Bu nedenle, her TB hastasında doğrudan gözetimli tedavi standart yaklaşımıdır. Hekim, tedavi başlanan her hastaya önce hastalığın tedavisi, yan etkileri ve tedavinin sürekliliği konusunda temel bir eğitim vermelidir, ilaçlara bundan sonra başlamalıdır. Bu eğitim, hasta ile yapılan bir görüşmede açıklamalar yapmak, hastanın sorularına yanıtlar vermek, kaygılarını konuşmak ve hastanın kafasında berraklık sağlamak için yapılmalıdır. Dispanser çalışanlarının, çalışma düzeni ve hastaya sıcak yaklaşımı da hastanın güvenini ve saygısını kazanarak tedaviye uyumunu artıracaktır. Hastaların izinin kaybedilmemesi ve ilaçlarını daha düzenli kullanmalarının temini açısından ailenin diğer fertleriyle (anne-baba-eş-kardeş-çocuk ve diğer yakın akraba ile) tanışmak ve hastanın durumunu onlarla da konuşmak gerekir. Hastanın ev adresi ve telefonundan başka, iş adresini ve en az bir yakınının da adresini ve telefonunu almak gerekir; mümkünse ev ziyareti ile adresi kesinleştirmek iyi olur. Hastanın tedavisini DGT ile sürdürmek için hasta ile görüşülür; planlama yapılır. Hasta evli ve doğurgan çağda bir kadın ise, tedavi süresince gebe kalmaması için eğitilir ve bir sağlık kuruluşu (Sağlık Ocağı, Ana-Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Merkezi) ile temas kurularak, etkili bir yöntemle korunması sağlanır. Abortus gerekli değildir.

TB hastaları tedavileri süresince her ay kontrol edilir. Bu kontrollerde mutlaka klinik değerlendirme ve bakteriyolojik inceleme yapılır, kaydedilir. Hastanın başlangıçtaki yakınmalarının düzelme durumu, yeni yakınmalarının olup olmadığı sorularak kaydedilir. İlaç yan etkileri konusunda sorgulanır. Ek



hastalıklarının durumu değerlendirilir. Fizik muayene bulgularında bir değişiklik olup olmadığı incelenir. Her kontrolde mutlaka hastanın balgam yayması incelenmelidir. Çünkü tedavi basili öldürmek için yapılmaktadır ve başarı ya da kür sağlamak ancak basilin temizlenmesi ile olur. Olanak varsa akciğer filmi de çekilir ve değerlendirmesi hastanın dosyasına kaydedilir. Sadece akciğer filmleriyle tedavinin izlenmesi yanlıştır. İyileşen bir hastada, radyolojik düzelme olmayabilir, bazen radyolojik kötüleşme bile olabilir. Her ay balgam incelemesi yapılması idealdir. Fakat en azından yeni olgularda başlangıçta, ikinci ay bitiminde (ikinci ayda pozitif ise üçüncü ayda), beşinci ayda ve tedavi bitiminde mutlaka balgam incelemesi gerekir. Nüks ve tedaviyi terkten dönenlerde, standart tedavi veriliyorsa, en azından ikinci ay sonunda, üçüncü ay sonunda, beşinci ay sonunda ve tedavi bitiminde balgam bakılmalıdır. Başlangıç döneminin sonunda (ikinci ayın sonunda) hala balgam yaymasında ARB pozitif ise, başlangıç dönemi aynı ilaçlarla bir ay uzatılır; üçüncü ayın sonunda yayma negatif ise idame tedavisine geçilir; ARB pozitif ise hastanın balgamı duyarlılık testi için laboratuara gönderilir ve aynı ilaçlarla tedavi sürdürülürken hasta, uzman bir merkeze danışılır. Hastanın ilaç duyarlılık testi bekleniyorsa, sonuç gelene kadar (en fazla 3 ay) başlangıç dönemi tedavisi sürdürülür. Tedavinin beşinci ayında balgam yaymasında basil pozitif ise (hiç negatifleşmemişse, başlangıçta negatif iken pozitifleşmişse, tedavi ile negatifleştikten sonra pozitifleşmişse) ya da klinik-radyolojik iyileşme olmamışsa hasta dirençli tedavi yapan özel bir merkeze sevk edilir, bu arada tedavi aynen sürdürülür. Hastanın tedavisi sırasında dispanserde çözümlenemeyen ciddi bir sorunla karşılaşıldığında da uzman bir merkeze danışılır. Yayma pozitif hastada idame dönemindeki bir negatiflik ile birlikte tedavi bitiminde negatifliğin saptanması kür olarak kabul edilir. Hastanın tedavisi sonlandırılırken bir filminin çekilerek saklanması, daha sonraki başvuruları açısından yararlı olur. İyileşerek tedavisi tamamlanan hastaların 3, 6, 12, 24. aylarda kontrole gelmeleri önerilir. Bunun yanında TB ilgili yakınmaları olursa gecikmeden başvurmaları önerilir. Hastaların dosya ve filmleri saklanır, imha edilmez.

## 2.6. Çocukluk Çağı Tüberkülozu

Çocukluk çağı TB' u, toplumda TB infeksiyonunun yayılmasının sürdüğünün bir göstergesi olarak alınmalıdır. Her çocukluk çağı TB olgusunun ayrıntılı bir temaslı muayenesi yapılarak kaynak olgu aranmalıdır. Erişkin bir TB hastasının da temaslı taraması yapılırken çocuklar özellikle değerlendirilmelidir. Çünkü yaş küçüldükçe daha fazla, bir yaş altında daha fazla olmak üzere, 5 yaş ve altında hem infeksiyondan hastalık fazla gelişir, hem de milier ve menenjit TB gibi önemli hastalık şekilleri bu yaşlarda fazla görülür. Maruziyetten sonra infeksiyon gelişip hastalanan çocukların hastalanmaları %80'i ilk 2 yılda, tamamı da 5 yılda olur (41). Çocuklukta hastalanmayıp, latent TB infeksiyonu olanlar, yaşamlarının sonraki dönemlerinde hastalanabilirler. Doğumdan hemen sonra görülen TB, anneden plasenta yoluyla, plasenta ve endometrium TB enfekte amniotik sıvının fetüs tarafından aspirasyonu ile doğum sırasında enfekte amniotik sıvının aspirasyonu ile ya da doğumdan hemen sonra TB anne ya da başka bir erişkinle temas sonucu inhalasyon yolu ile bulaşabilir.

### Çocuklarda Tüberküloz Tanısı

Özellikle küçük çocuklarda (en çok ilk bir yılda olmak üzere 5 yaşa kadar) hematojen yayılım olasılığı yüksektir. Bu nedenle çocuklarda akciğer dışı TB görülmesi erişkinlere göre daha sıktır. Çocukların balgamında, açlık mide suyunda basil sayısı az olduğu için, erişkinden farklı olarak bakteriyolojik tanı oranı %30-50'dir (42). Tanı için, semptomlar, TB hastası ile temas öyküsü, risk faktörlerinin var olup olmadığı bilgisi, fizik muayene bulguları, TCT, radyolojik bulgular ve mikrobiyolojik bulgular kullanılır.

Ateş, kilo almanın durması ya da kilo kaybı, öksürük, halsizlik, iştahsızlık, gece terlemesi, balgam, hışıltılı soluma olabilir. Çocukların bazılarında hiç semptom olmayabilir.

Çocuk TB' da, aile içinde ve yakın çevresinde TB hastası olan erişkinler en önemli kaynaktır. Bu nedenle bir çocukta TB düşünüldüğünde, ailede TB taraması yapılarak kaynak olgunun araştırılması ve enfekte olabilecek aile bireylerinin ve yakın çevresindeki diğer kişilerin saptanması uygundur. Kaynak olgu saptanırsa,

onun tedavi rejimi, ilaç duyarlılığı, tedaviye uyumu ve takipleri hakkında bilgi alınmalıdır, kayıtları alınıp incelenmelidir

Bulaştırıcı erişkin TB hastası ile temas öyküsü (kaynak olgunun balgamında yayma pozitif ise bulaştırıcılığı daha fazladır); HIV pozitifliği; bağışıklıkta bozukluk olması; diyabet, kronik böbrek yetersizliği, beslenme bozukluğu, lenfoma gibi tıbbi risk faktörlerinin olması; cezaevindeki çocuklar; risk faktörü olan erişkinlerle teması olanlar.

Akciğerlerde düzelmeyen dinleme bulguları, ral, ronküs, stridor, hepatosplenomegali, özellikle servikal yerleşimli ağrısız ve cilde drene olan lenf bezleri, eklem ve kemiklerde hassasiyet, hareket kısıtlılığı, şişlik, karında kitle ya da asit, menenjit ve diğer santral sinir sistemi semptomları, eritema nodozum, lupus vulgaris, kutanöz tüberküloidler ve akut milier TB cilt bulguları olabilir. Bazı hastalarda hiçbir fizik bulgu olmayabilir.

İlk enfeksiyonu izleyen 3-8 haftada ICT pozitifleşir. Pozitif test tanıyı destekler. Negatif test ise hastalığı ekarte ettirmez.

Çocuklarda özellikle lenf nodlarının değerlendirilmesi için akciğer yan grafileri de çekilmelidir. Hiler ya da paratrakeal büyümüş lenf nodu ve/veya buna eşlik eden parankimdeki küçük odaklar, infiltrasyon, atelektazi en sık görülen bulgulardır. Bunun dışında konsolidasyon, milier görünüm, segmental havalanma artışı, interstisiyel dansite artışı, apse oluşumu, plevra efüzyonu görülebilir. Kavite, küçük çocuklarda nadiren, adölesan dönemde ise daha sıklıkla görülebilir. Bu nedenle şüpheli olgularda bilgisayarlı tomografi (BT) istenebilir. BT ile akciğer ve mediasten çok daha iyi değerlendirilebilir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme ile meninks tutulumu ve hidrosefali değerlendirilebilir. Milier TB olan çocukta, santral sinir sisteminin de görüntülenmesi istenebilir.

Büyük çocuklar balgam verebilir. Balgam veremeyen bütün çocuklardan açlık mide suyu, üç gün tercihen sabah yataktan henüz kalkmadan alınabilir. Materyal nakledilmeden önce pH' sının nötral hale getirilmesi önemlidir. Üç yaşından büyük çocuklarda nebulizörle verilen %3-10'luk serum fizyolojik ile balgam indüksiyonu yapılabilir (44). Bronkoskopik lavaj alınabilir; ayrıca bronkoskopi bize bronş içinde tutulum olup olmadığını gösterir. Her türlü doku ve

sıvı örneği TB incelemesi için bakteriyolojiye gönderilmelidir. Seröz sıvılarda adenozin deaminaz enziminin ölçümü tanıda yardımcı olabilir. Serolojik yöntemler henüz yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip değildir. PCR tekniklerinin ise duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür. Balgam, açlık mide suyu, vb. materyal incelemesi ile kesin tanısı konulamayan ve diğer bulgular ile şüphelenilen hastada nonspesifik tedaviyle de düzelme olmaması halinde primer TB düşünülerek uzmana danışılır. Koşulları elverişli olan hastalar ileri tetkik için hastaneye sevk edilebilir.

### **Çocuklarda Tüberküloz Tedavisi**

TB infeksiyonunu takiben, az basil olsa da, çocuklarda hızla hastalık gelişmektedir. Bu nedenle, akciğerde ve akciğer dışında hastalığın ilerlemesini önlemek için hemen tedaviye başlanmalıdır. Çocuklarda TB tedavisinde üç ilaçla tedavi, pediatri uzmanlarının görüşü olarak yer almıştır. Çocuklarda TB tedavisinde, tutulan organ ve bulaştırıcı olduğu düşünülen erişkinlerdeki TB ilaç direnci gözetilmelidir. Eğer basil yükünün fazlalığını gösteren mikroskopi pozitifliği ya da kavite varsa, ülkemizde çocuklara da tedaviye dört ilaçla başlanmalıdır. Son yapılan bir derlemede çocuklarda EMB güvenli bir şekilde kullanılabilceği gösterilmiştir (45), bununla birlikte, EMB' ün görme alanı muayenesi yapılabilen çocuklarda kullanılması uygundur. Kullanılan ilaç dozları, tabletlerin ve şurupların kullanımını kolaylaştıracak şekilde yaklaşık doz yapılabilir. Kilo aldıkça dozlar artırılır. Tedaviye uyum bu yaş grubunda da önemlidir. İlaç içirme işini, mümkünse bir görevli yapmalıdır. Eğer ailede güvenilir bir kişi varsa, ona da emanet edilebilir; yalnız bu durumda denetime önem verilmesi gerekir. Hastanın kapsül ya da tabletleri rahatça yutamaması durumunda bir kaşığa kapsül içi dökülerek ya da tabletler ezilerek konulabilir. İçme zorluğu nedeniyle mecbur kalırsa, meyve suyu ya da çocuğun seveceği başka bir besine karıştırılıp verilebilir. Çocuklar, vücut ağırlıklarına göre daha yüksek dozlara daha iyi tahammül gösterirler. Daha az yan etki görülür.

## 2.7. Tüberkülozdan Korunma

TB'dan korunma, dört başlık altında sıralanabilir

- \* Bulaştırıcı hastaların tedavisi, basil kaynağını yok eder.
- \* Koruyucu ilaç tedavisi
- \* BCG aşısı
- \* TB bulaşmasının önlenmesi

### Koruyucu İlaç Tedavisi

Koruyucu ilaç tedavisi, kemoprofilaksi ya da latent TB enfeksiyon tedavisi olarak da adlandırılır. Koruyucu ilaç tedavisinin amacı, TB hastası ile teması olan kişide enfeksiyon gelişimini ya da TB enfekte kişide TB hastalığı gelişimini önlemektir. Enfeksiyon gelişimini önlemede koruyucu ilaç tedavisinin etkisi randomize çalışmalarla değerlendirilmemiştir. Enfekte kişilerde hastalık gelişimini önleyici etkisi ise büyük çaplı çift-kör, randomize, plasebo kontrollü çalışma ile gösterilmiştir. Toplumda TB basili ile enfekte olmuş herkese koruyucu ilaç tedavisi verilmesi mümkün değildir; bu nedenle, TB hastalığı gelişme riski yüksek olan gruplara önerilmektedir. Koruyucu ilaç tedavisi ile latent enfeksiyonu olanlarda hastalık gelişimi önlenerek yeni bir basil kaynağının ortaya çıkması önleniği için epidemiyolojik olarak da TB kontrolünde önemi vardır.

Ülkemizde koruyucu ilaç tedavisi verilecek kişileri, Amerika' da yapıldığı gibi, sadece TCT değerlendirmesi ile belirlememiz olanaksızdır; çünkü toplumumuzda BCG, TCT değerlendirmesini zorlaştırmaktadır. Bunun yerine, koruyucu ilaç tedavisi verilecek grupları TB hastası ile teması olan ve olmayanlar şeklinde sınıflamak daha basit olmaktadır.

### Koruyucu İlaç Tedavisi Dozu ve Süresi

Kemoprofilaksi için INH erişkinlerde günde 5 mg/kg (maksimum 300 mg), çocuklarda 10 mg/kg/gün hesabıyla 300 mg'ı geçmeyecek şekilde 6 ay süreyle verilir. HIV pozitifler, silikozis olanlar, bağışıklığı baskılayıcı tedavi alanlar, eski

TB sekeli olanlara 9 ay önerilmektedir (32). Kaynak olgu INH dirençli ise RIF 10 mg/kg/gün, maksimum 600 mg/gün kullanılır. Koruyucu tedavide RIF (birlikte INH da olabilir) en az 4 ay; RIF ve PZA verilirse 2 ay süreyle verilmelidir. TB hastalarının temaslilarına koruyucu tedavi verilirken, hastaya verilen tedavi süresinden daha uzun olmamasında yarar vardır. Koruyucu ilaç tedavisine başlamadan, o kişide TB hastalığı olmadığı gösterilmelidir. Bunun için, akciğer filmi, hastanın tıbbi öyküsü alınır, fizik muayene ile değerlendirilir. TB hastalığı düşündürülen bulgu saptanırsa, bakteriyolojik inceleme yapılır. TB hastalığı varsa ve saptanmazsa, koruyucu tedavi ilaç direnci gelişimine neden olabilir. Koruyucu tedaviye başlamadan önce, o kişinin ev içi temaslilarının TB açısından taranması gerekir; öyküsünde ev dışında kuşku lu kişiler varsa onların da taranması uygundur. Koruyucu tedavinin 19 yıla kadar etkili olabildiği gösterilmiştir (46). Koruyucu tedavinin bitiminde ICT değişime uğraması beklenmez.

### **Koruyucu İlaç Tedavisi İzlemi**

İlaçları düzenli kullanması ve süreyi tamamlaması için hastayı eğitmek ve desteklemek gerekir. Gerekirse koruyucu tedavi doğrudan gözetimli verilir. Koruyucu tedavinin aralıksız sürdürülmesi esastır. Eğer kısa süreli aralar verilmişse, bu aralar, koruyucu tedavinin sonuna eklenir. Yapılmış araştırmalara dayanarak 12 ayda toplam 6 ay koruyucu tedavinin yeterli olduğu kabul edilmektedir. DM, üremi, alkolizm, malnütrisyon, gebe, epileptik nöbette İNH ile birlikte vitamin B6 kullanımı endikasyonu vardır; günde 10 mg verilir. Koruyucu ilaç tedavisini reddederse, 3-6-12-24 aylarda akciğer filmi çekilir; film ya da semptomlarında TB şüphesi doğarsa balgamı incelenir; hastalık açısından izlenir. İNH alerjisi ya da İNH ile oluşmuş karaciğer hastalığı öyküsü varsa İNH kontrendikedir. Kronik karaciğer hastalığı olanlarda ve düzenli alkol kullananlarda İNH kullanmamak daha uygun olur. Yan etki açısından yüksek risk taşıyıp taşımadığı değerlendirilir ve hasta yan etkiler açısından eğitilir.

İNH'a bağlı hepatitte, İNH kullanımı sırasında normalde de geçici transaminaz yükselikleri olabilir. Aşağıdaki durumlarda, İNH kesilmelidir. Hepatit semptomları ile birlikte karaciğer fonksiyonunu gösteren testlerde anlamlı

yükseklik olması, Transaminaz (SGOT/AST, SGPT/ALT) değerlerinin normalin üst sınırının üç katına ya da başlangıç değerinin beş katına çıkması Başka belirgin bir neden olmaksızın bilirubin değerlerinin normalin üzerine çıkması. INH kesildikten sonra, eğer verilmesi gereken dozun %80'i verilmişse, yeterli kabul edilebilir; eğer daha az ilaç kullanmışsa, RIF ile devam edilebilir

### BCG Aşısı

BCG aşısını 1920'li yıllarda Fransa'da Calmette ve Guérin, bovin tip TB basillerini 3 senelik bir sürede sadece safralı ve gliserinli patates üzerinde 230 defa kültürden kültüre aktararak ürettiler. Yapılan çalışmalarda, bu şekilde üretilen basillerin, insanlarda hastalık yapmadığı, fakat TB basiline karşı insan organizmasında bir direnç oluşturduğu belirlendi. Bu şekilde virulansı azaltılmış, canlı, yani hastalık yapmadan direnç kazandıran basile, basilin ve bulucularının isimlerinin baş harfleri alınarak kısaca BCG ismi verilmiştir. BCG aşısı, ısı ve ışığa çok dayanıksızdır. Doğumdan itibaren uygulanabilir. BCG, TB infeksiyonundan koruyucu etki yapmaz, kanla ve lenfatik sistemle basilin yayılmasını engeller. Böylece hayatı tehdit eden milier, menenjit TB gibi durumların ortaya çıkışını azaltır (47)

Sulandırılmadan, oda sıcaklığında bir ay, buzdolabında +2 ile +8°C de 1-2 yıl etkinliğini korur. Işığa ve ısıya karşı çok dayanıksızdır. Sulandırıldıktan sonra 6 saat içinde kullanılması gerekir. Kendi sulandırıcısı dışında herhangi bir sulandırıcı ile kesinlikle sulandırılmaz. BCG aşısı sulandırıldıktan sonra dağılmayan parçacıklar ya da yabancı madde ihtiva ediyorsa, kullanma süresi dolmuşsa, ampüller üzerinde etiket yoksa ampül çatlaksa kesinlikle kullanılmaz. Işığa ve ısıya duyarlı olduğu kadar, donmaya da hassastır. Sulandırılmış aşı buzdolabının içinde saklanır, buzlukunda ya da kapağında muhafaza edilmez.

1. BCG aşısı 1 ml lik, bir kullanımlık dizyem taksimatlı enjektörlerle sol omuz deltoid kasına, deri içine (intradermal) 0-12 aylık bebeklere 1/2 dizyem, daha yüksek yaş gruplarına 1 dizyem (0,1 ml.) uygulanır.

2- Enjektörlere aşı çekilirken, aşı ampulüne hava verilmez.

3- Aşı uygulanacak saha herhangi bir antiseptikle silinmez.

4- Aşı yapılacak yerin cildi sol elin iki parmağı arasında gerilir ve enjektör cilde paralel gelecek şekilde tutularak cilt içine girilir. Cildin en üst tabakalarına uygulanması BCG' nin, komplikasyonlarını azaltır. İğne deri içine sokulurken, açık ucunun yukarı gelmesine ve açık ucunun tamamen deri içine girmiş olmasına dikkat edilmelidir. İğne deri içindeyse hafif bir direnç hissedilir ve enjeksiyondan sonra ciltte 5-6 mm bir kabarcık (papül) olmalıdır. Eğer bir direnç hissedilmez ise iğne deri altına girmiştir

5- Ampülün işi bitince tekrar buzdolabı ya da soğuk taşıma kabına konur, masa üstünde bekletilmez. Aşı yerinde oluşan 5-6 mm çapındaki papül 20-30 dakikada kaybolur. Daha önce TB basili ile karşılaşmamış olan kimselerde, aşı yapıldıktan 3-4 hafta sonra, aşı yerinde bir nodül oluşur. Bu nodül kızarı ve 6. haftaya doğru hafif bir şekilde akar, 8 haftada kabuk bağlar ve birkaç hafta sonra kabuk düşerek yerinde bir nedbe (skar) bırakır ve yaşam boyu kaybolmaz. Kabuk, dış tesirlerle zamanından önce düşebilir, bu durumda tekrar kabuk bağlayarak normal sürenin uzamasına neden olabilir. Nedbeleşmeyi çabuklaştırmak için antibiyotikli tozlar ve pomatlar kullanılmaz. Aşıdan sonra kırgınlık, ateş ve benzeri semptomlar görülmez. Aşının deri altına yapılması ya da steril koşullara dikkat edilmemesi sonucu deri altı abseleri oluşabilir.

BCG aşısı, yan etkileri az olan bir aşıdır. Aşıdan sonra görülen komplikasyonlar daha çok aşının dozu, aşılama yeri ve derinliği, aşılanan kişinin yaşı ve bağışıklık sisteminin durumuyla ilgilidir. En sık görülen komplikasyonlar, aksiller ve servikal adenopatilerle, lokal apselerdir. Adenopatiler genellikle aşıdan 1-2 ay sonra meydana gelmektedir, fakat nadir de olsa 8-12 ay sonra ortaya çıkabilir. Bir tedavi uygulamak gerekmez. Büyük lenfadenopatiler blok olarak cerrahi yolla çıkarılabilir. Fluktuasyon vermeyen adenopatiler için bir şey yapmak gerekmez. Süpüre olanlar ise iğne ile aspire edilir ve drenaj sağlanır. Ya da eksize edilebilir. INH verilmesi tedavi süresini kısaltmaz. Aşı yerinde meydana gelen geniş ve deriden yüksek hasır örgüsü görünümündeki anormal skarların genetik nedenlerle olduğu düşünülmektedir.

Aşıdan sonraki bir hafta içinde aşı yerinde akıntı, yara ve şişlik oluşur. Bu, çocuğun daha önce TB basili ile enfekte olduğunu (TCT pozitifliğini) gösterir. Bu nedenle üç aylıktan büyük çocuklara BCG aşısı yapmadan önce TCT yapmak



gereklidir. Erken aşı reaksiyonuna Koch Fenomeni ya da akselere reaksiyon da denilebilir. Koch Fenomeni, TB basiliyle daha önce enfekte olmuş ve tüberkülin alerji düzeyleri yüksek kişilerin basille tekrar karşılaştıklarında basilin girdiği yerde 1-3 gün içinde meydana gelen kuvvetli spesifik reaksiyondur. Akselere reaksiyon, basille karşılaşmış fakat henüz ante-alerjik devrede olan ya da uzun yıllar önce karşılaştığı için tüberkülin alerjisi zayıflamış olan kimselerde görülür. Böyle kimselere aşı yapıldığında aşı yerinde 3 günden sonra kızarıklık ya da akıntı olabilir. Erken aşı reaksiyonu oluşursa, ICT pozitif gibi davranılır: TB hastalığı araştırılır. Hastalık yoksa koruyucu tedavi verilir. Kaynak olgu aranır. BCG aşısının nadir de olsa diğer komplikasyonları, aşı yerinde lupus vulgaris, aşı suşuyla sistemik TB infeksiyonu (özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda), aşı suşu ile olan osteomyelit, diffüz lenfadenit, hepatosplenomegali ve genitoüriner lezyonlardır.

BCG aşısı şu hallerde yapılmamalıdır

- 1 Ateşli hastalığı olanlara,
- 2 Kızamık salgını sırasında (Kızamık aşısı yapılmamış olanlar),
- 3 İmmün yetmezliği olan hastalara,
- 4 TB hastalığı geçirenlere,
- 5 Deri hastalığı olanlara (ekzema vs ),
- 6 Kortizon grubu ilaçlarla tedavi görenlere,
- 7 TB pozitif olanlara

Ülkemizde 1981-1982 yıllarında yapılan prevalans çalışmasının verilerine göre, BCG' nin Türkiye'de bütün yaş gruplarında koruyuculuğu %72,7 bulunmuştur; özellikle de 0-6 yaş grubunda %85 olarak hesaplanmıştır (48). Sağlık Bakanlığı, biri doğumdan 2 ay sonra, diğeri ilkökul birinci sınıfta olmak üzere, çocuklarda iki kez BCG yapılmasını kararlaştırmıştır. Doğumdan hemen sonra BCG yapılabilir, fakat bebeğin cildi çok ince olduğu için teknik zorlukları vardır. Ayrıca komplikasyonların daha fazla olması ve bağışıklık yanıtının yeterli gelişmemesi nedeniyle pek tercih edilmez. BCG, üç aylıktan büyük herkese, ICT yapıldıktan sonra uygulanmalıdır. BCG' nin, ICT yapılmaksızın, direkt olarak yapıldığı durumda aile erken aşı reaksiyonu açısından uyarılması gerekir. Erken aşı reaksiyonu oluşursa, çocukta TB hastalığı araştırılır. Hastalık yoksa çocuk

ilaçla korumaya alınır. Kaynak olgu aranır. BCG diğer aşılarda aynı anda yapılabilir. Canlı virüs aşılılarıyla birlikte, aynı anda farklı kollardan uygulanabilir; birlikte uygulanmamışsa, dört hafta ara ile yapmak uygun olur. İmmün yetmezliği olan çocuklara BCG yapılmaz.

Çizelge 2.11. TCT kontrolü ile BCG Aşısı Yapılırken Karar Yaklaşımı (32)

TCT ölçümü	BCG Skarı Yok	BCG Skarı Var
0-5 mm	Aşılır	Aşılır
6-9 mm	1 haftadan sonra TCT tekrarlanır 10 mm' den az ise aşılır	Bir şey yapılmaz
10-14 mm	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır *	Bir şey yapılmaz
15 mm ve üstü	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır *	Ailesi ile birlikte tetkik edilir, hasta bulunmazsa koruyucu tedaviye alınır *

\* BCG aşısı için TCT 0-6 yaş grubuna yapıldığı için, burada koruyucu tedavi verilen kişiler 6 yaş altındakilerdir.

İB bulaşmasının önlenmesinde, bulaştırıcı olgulara hızla tanı konulması ve tedavi başlanması önemlidir. En çok bulaşma, tanı öncesinde olmaktadır. Özellikle de şüphelenilmeyip tanı konulmamış bulaştırıcı İB olguları dışarıda ve hastanede bulaştırmayı sürdürmektedirler.

Erken tanı İB hastalığı ayırıcı tanıda akıldan çıkarılmamalıdır. Semptomlar, muayene bulguları, radyoloji ve laboratuvar bulguları ile İB hastalığı şüphesi oluşur. Tanıyı bakteriyolojik testlerle hızla kesinleştirmek gerekir. Şüphe edilip araştırılmadığı sürece tanı konulmayabilir.

Hızla tedaviye başlamak, İB hastalarına tanı konulunca gecikmeden tedaviye başlamak gereklidir. İB tedavisi ile hastanın balgamındaki basil sayısı hızla azalmaktadır. Tedaviye başlanan hastaların balgamlarındaki basil sayıları niceleyici olarak belirlendiğinde görülmüştür ki, günler içinde basil sayısı çok büyük hızla azalmaktadır (49). Bu arada hastanın öksürük sayısı da azalmaktadır. Tedavi başlanan hastaların hızla bulaştırıcılıklarını yitirdikleri bilinmektedir. Bu nedenle İB tedavisi için "kimyasal karantina" deyimini kullanılmaktadır. Hastanın hastanede tedavisi düşünülüyor fakat yatışı gecikiyorsa, bakteriyolojik tanıdan sonra hemen ayaktan tedaviye başlanmalıdır.

Evde İB hastalarının evde tedavisi ile hastanede tedavisi arasında aile bireylerine bulaştırma açısından fark yoktur; hasta yakınlarında yıllar içinde

hastalanma oranında ya da cilt testi konversiyonları arasında önemli bir fark olmadığı gösterilmiştir (40).

Hastanın balgam çıkardığı kap varsa, tuvalete boşaltılmalı; balgam çıkarılan kap atılmıyorsa yıkanıp kaynatılmalıdır. Mutfakta kullanılan malzemeler (bardak, tabak, kaşık, vd.), yatak örtüleri, vd için normal temizlik işlemlerinin yapılması yeterlidir. Hastalara verilen temel TB eğitiminde ve bilgi içeren kâğıt-kitapçık gibi materyalde, bulaşmanın hava aracılığıyla ve solunum yoluyla olduğu belirtilmeli ve öksürük ya da hapşırık sırasında ağızlarını kâğıt ya da bez bir mendille kapatmaları gerektiği belirtilmelidir. TB hastalarının bulunduğu ortamları havalandırmak, bu ortamlara temiz hava sağlamak, havadaki bulaştırıcı parçacıkları seyreltme. Bulaşma olasılığını azaltır. Odanın güneş görmesi ortamdaki basilleri öldürür. Hastanın en azından balgam mikroskobisi negatif olana kadar ayrı bir odada kalması da önerilmektedir.

Hastanede bulaştırıcı TB hastaları (özellikle balgam yayması pozitif olanlar) hastaneye yatılınca mutlaka izole edilmelidirler. TB'dan şüphelenilen bir hasta, tanı konulana kadar bulaştırıcı TB kabul edilmelidir ve buna uygun şekilde izole edilmelidir. TB hastası bir izolasyon odasına alınmalıdır. Tek kişilik oda sağlanamıyorsa, TB hastaları ile TB dışı hastalığı olan hastalar ayrı odalara alınmalıdır. Dirençli hasta(lar) varsa, onu(onları) diğer bir odaya almak gerekir. Oda kapıları kapalı tutulmalıdır. Negatif basınç sağlayıcı havalandırma sistemi yoksa pencereler olabildiğince açık tutulmalıdır. Öksürük ya da hapşırık sırasında ağızlarını kâğıt bir mendille kapatmaları gerektiği belirtilmelidir. Odalarından çıkarken koruyucu bir maske takarak çıkmaları sağlanmalıdır. Hastanın kullanacağı maske, basit bir maskedir, cerrahi maske olabilir. Bazı maskelerin ekspirasyonda açılan kapağı vardır (dışarıya hava verir), bunlar hastanın takması için uygun değildir. Ziyaretçilerle açık havada (balkonda) görüşmeleri sağlanmalı, ziyaret süreleri çok kısa tutulmalıdır. Ziyaretçilerle görüşürken hastanın maske takması istenmelidir. Hastanın çarşaflarının, kullandığı tabak, kaşık, bardağın yıkanması normal şekilde yapılır, yüzeylerin dezenfektanlarla temizlenmesi önerilir. Hastaların balgam çıkardıkları kaplar tek kullanımlık olmalı ve yakılarak imha edilmelidir.

TB hastalarının bulunduğu ortamları havalandırmak, bu ortamlara temiz hava sağlamak, havadaki bulaştırıcı parçacıkları seyretir. Bulaşma olasılığını azaltır. İzolasyon odalarının negatif basınçlı olması ideal yöntemdir; fakat hem kurulumu hem de idamesi maliyetli bir uygulamadır. Bu odalarda kapı ve pencereden dışarıya hava geçişini önlemek gerekir; oda havasını da saatte en az 6 kez değiştirecek bir havalandırma uygulanmalıdır. Odalara, TB hastalarının bulunduğu koridor ve bölümlere ultraviyole (UV) lamba takılması daha ucuz bir uygulamadır. UV-C lambası takılırken şunlara dikkat edilmelidir. Her 20 m<sup>2</sup> alana 2 adet 15 Watt'lık ampul önerilmektedir. UV-C lambaları gece ve gündüz açık kalacağından, açma kapama düğmesi, kilit altında olmalıdır. UV-C lambalarının göze ve cilde yan etkileri olduğundan, lambanın altını ve yanlarını kapatan plakalar ışığın görülmesini engellemelidir. Böylece lambalar üst oda havasına ışın verecekler ve üst oda bölgesinde havadaki basiller öldürülmüş olacaktır. Odadaki hava hareketi sonucunda üstte basili ölen hava, alt oda bölgesindeki hava ile sürekli yer değiştirebilecektir.

Başka bir UV uygulaması şöyledir: odadan alınan hava, içine UV lambalar konulmuş boru(lar) dan geçirilerek tekrar odaya verilir. Bu sistemde havanın hareketini sağlayan sistem ses yapmaktadır. Yüksek etkinlikli parçacık filtresi uygulamasında da odadan alınan hava bu filtrelerden geçirilerek tekrar odaya verilmektedir. Bunun için bir fan sistemi kullanılmaktadır. Ancak, hem pahalı, hem de ses yapan bir sistemdir.

Bütün alınan önlemlere karşın yoğun basil olan ortamlarda personelin bulunması gerekiyorsa, personel maske kullanmalıdır. Bronkoskopi, balgam indüksiyonu, öksürük yaratan diğer işlemler, nebulizatör tedaviler sırasında çok yoğun basil çıkabilir. Kullanılacak maske, TB basillerini filtre edebilecek yetenekte ve yüze iyi oturan tipte olmalıdır.

Ülkemizde sağlık çalışanlarında TB insidansının yüksek olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, sağlık çalışanlarının periyodik taramalarının yapılması ve kaydı gereklidir. İlk TCT izleyerek gerekirse booster etkiyi araştırmak için ikinci test de yapılır (booster etki için ikinci TCT, bir haftadan sonra en kısa sürede yapılır; bir yıla kadar yapılabilir de, zaman geçtikçe yeni bulaşma ve konversiyon ile booster ayırımının zorluğu ortaya çıkar). Başlangıçta TCT negatif

olan personelin sonraki taramalarda pozitif hale gelmesi koruyucu tedavi gerektirir; koruyucu tedavi öncesi aktif hastalık olmadığı gösterilmelidir. Taramalarda semptomların kaydedilmesi yanında mutlaka kaliteli akciğer filmleri çekilmelidir. TCT pozitifliği de şüphe uyandırır. Şüphelenilen kişilerin üç kez balgamlarında ARB incelemesi yapılmalıdır.

## 2.8. Polimorfizm Nedir?

İnsanlar genetik olarak %99,9 eşittirler (50). DNA dizilerinde doğal olarak meydana gelen değişiklikler birkaç form da olabilir:

1. Tek nükleotidin yer değiştirmesi
2. Tek ya da çok sayıda nükleotidin delesyonu ya da insersiyonu
3. Kromozomal yapılarda geniş değişiklikler

Hastalık oluşturabilme gücü ve oluşum sıklıklarına göre bu değişiklikleri ya POLİMORFİZM olarak ki, sıklığı normal toplumlarda %1' in üstündedir. Ya da MUTASYON olarak adlandırılır ki, % 1' in altındadır ve genellikle hastalık ile sonuçlanır

Mutasyonların hepsi hastalık ile sonuçlanmaz. Bazı polimorfizmler fonksiyonel olarak önemlidir ve hastalıkların patogeneğinde gösterilmiştir. Polimorfizmin birkaç formu Çizelge 2 12' de gösterilmiştir (51).

Çizelge 2 12 Polimorfizmin Tipleri (51)

DNA dizi örnekleri		GAAT(CA) <sub>3</sub> TGCCA
Polimorfizm tipleri	Tanımlama	Örnekleme
Tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs)	Nükleotid dizisinde tek bazın yer değiştirmesi	GAAT(CA) <sub>3</sub> TGICA
İnsersiyon/delesyon polimorfizmleri	Dizide bir yada daha fazla nükleotidin insersiyonu ya da delesyonu	GAAT(CA) <sub>3</sub> TGGCCA
Değişebilen sayılarda grup tekrarları (mikro /mini satellitler)	Dizide tekrar sayılarında değişiklikler (CA) <sub>n</sub>	GAAT(CA) <sub>6</sub> TGCCA

Polimorfik değişiklikler altı çizili ve koyu yazılmıştır (CA)<sub>3</sub>: CA tekrarı üçtür

Tek nükleotidi içeren değişiklikler, "Tek Nükleotid Polimorfizmleri" (TNP) olarak adlandırılırlar. Genetik polimorfizmlerin en genel formudurlar. TNP her

185 baz çiftinde bir meydana gelecek kadar yüksek sıklıkta oluşabilir (1). İnsan genomunda 16 milyonun üzerinde meydana gelebilmektedir. Bireylerde iki kromozomdaki DNA dizileri karşılaştırıldığı zaman, ortalama her 500-2000 bazda bir değişiklik olabileceği hesaplanmıştır (51).

Polimorfizmin toplumlardaki dizilimi "vahşi tip alel", nadir olan dizimler ise "varyant alel" olarak adlandırılırlar (51).

Multifaktöriyel hastalıklar kanser, inflamatuvar hastalıklar ve vasküler hastalıklar çevresel ve genetik faktörlerin miktarları arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak oluşmaktadır. Genetik faktörler tek gen hastalıklarından farklı olabilir yani bireysel genlerin etkisi küçüktür. Diğer taraftan penetrasyonu azdır. Sadece çoklu diğer genetik ve çevresel değişkenler ile kombinasyonda polimorfik gen hastalığa predispozisyon yaratmaktadır.

Tek gende birkaç fonksiyonel polimorfizm olabilmektedir. Genlerin çoğu tek multifaktöriyel hastalığa katkıda bulunan yolların çoğunu ve apoptozis, anjiogenezis ve inflamasyon gibi tek yola içerir.

Fenotip üzerinde INP'lerin bireysel etkileri sadece hafifi ve orta derecede olmasına rağmen bu polimorfizmlerin her birinin fonksiyonlarının ortaya konması, hastalığın şiddeti ve hassasiyeti üzerine etkilerinin birleşmesi sadece hastalıkların biyolojilerini anlamamızı arttırmayacak aynı zamanda toplumda stratejiler geliştirilmesine, hastaların belirlenmesine ve uygun tedavi rejimlerinin saptanmasına katkıda bulunacaktır (51).

### **Polimorfizmin Sitokin Sentezi Üzerine Etkileri**

Sitokinler, çözünebilen protein ya da glikoproteinlerdir. Spesifik reseptörlere bağlanarak hedef hücrelerin aktivasyonlarını düzenlerler. Bu sitokin spesifik sinyal iletimini ve ikincil iletili yolak aktivasyonunun başlamasını sağlar. Sitokin salınımı immünregülasyonda temel öneme sahiptir. Sitokinler, immün sistemin yaygın birçok hücresi tarafından üretilmektedir. Yüksek derecede pleiotropizm gösterir. Farklı sitokinler arasındaki etkileşim kompleks bilgi ağı haberleşmesine yol açar ve gen aktivasyonunu ve süpresyonunu başlatır (52).

Sitokinler immün ve inflamatuvar yanıtın etkin fazlarının birçoğuna aracı olarak katılır. Sitokin sentez profillerin de, ya Th<sub>1</sub> hücre tip I, hücre aracılı immünite oluşumunu sağlar (IL-2 ve IFN- $\gamma$ ) ya da Th<sub>2</sub> hücre tip II, hümorale immün yanıtın oluşumunu sağlar (IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13). "T Regülatuar" (T<sub>r</sub>) hücreler aynı zamanda Th1 ve Th2 tipi yanıtların her ikisini düzenler. İn vitro mitojen uyarımına yanıtta farklı sitokin üretimlerinde immün hücrelerin en yüksek kapasiteleri bireyler arasında farklılık göstermektedir. Böyle farklılıklar transkripsiyonda, translasyonda ve sekresyon yollarında birkaç moleküler mekanizmaları içeren değişikliklere katkıda bulunabilir. Son zamanlarda ek potansiyel mekanizmalar tanımlanmıştır. Bunlar sitokin kodlayıcı bölgeler içinde konservatif mutasyonlar, pek çok düzenleyici bölgeleri içinde nükleotid değişiklikleri içermektedir (53)

Belli sitokinlerin üretim düzeylerini potansiyel olarak etkileyen genetik polimorfizmler, hastalık riski, şiddeti ve birkaç durumda koruyuculuğu belirlenmede önemli olabilir. Sonuç olarak pek çok çalışma sitokin gen polimorfizmleri ile belli infeksiyon hastalıkları, alerji, otoimmün hastalıklar ve kanser gelişimi arasında ilişkinin olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalarda bu genetik polimorfizmlerinin aşırı sunuma ve sitokin sekresyonuna yol açtığı hem invitro ve hem de sporadik in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (53).

IFN- $\gamma$  insanlarda infeksiyona immün yanıt için esansiyel olduğu düşünülmektedir. Fakat IFN- $\gamma$  genindeki genetik varyasyonlar, daha önceden genel popülasyonda infeksiyon hastalıklarına yatkınlıkla ilişkili olduğu düşünülmemiştir. Gerçekten de TB' da IFN- $\gamma$  yanıtının önemi tam açıklanamamıştır. Ancak ajan patojenin, IFN- $\gamma$  molekülünün aktivitesini kırmak için geliştirilmiş stratejiye sahip olduğu görülmektedir. IFN- $\gamma$  geninin birinci intronundaki mikrosatellit polimorfizmi, birkaç otoimmün hastalıklar ile ve kronik inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir (8). Bu mikrosatellitin belirli aleli (CA<sub>12</sub>) in vitro olarak artmış IFN- $\gamma$  üretimi ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. TNP +874 I/A, IFN- $\gamma$  geninin 1. intronundaki tekrarlayan CA<sub>12</sub> bölgesine bitişik olarak bulunmaktadır. +874 I aleli ile CA<sub>12</sub> tekrarlayan alleli arasında mutlak korelasyonun bulunduğu gösterilmiştir. +874

bölgesinde bulunan polimorfizm CA mikrosatellit ile ilişkili olarak IFN $\gamma$  üretimini  
direk olarak etkilediği gösterilmiştir (9).



### 3. BİREYLER ve YÖNTEM

#### 3.1. Bireyler

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim dalı, Alerji İmmünoloji Bilim dalı, Merkezi Araştırma Laboratuvarı ve Antalya Verem Savaş dispanseri tarafından, Haziran 2004-Haziran 2005 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Bireyler TB hastalığı için tanımlanan şu kriterlere uyanlardan seçilmiştir

1. TB hastalığı ile tutarlı klinik ve radyolojik bulguların varlığı, balgam ya da açlık mide suyu değerlendirilmesinde en az iki ARB pozitifliğinin olması,
2. Balgamda, bronşiyal lavaj sıvısında ve/veya plevral sıvıda ve diğer organ sistem sıvılarında "Mycobacterium tuberculosis" için kültür pozitifliği,
3. Alınmışsa biyopsi materyallerinde TB hastalığının patolojik bulgularının varlığı.

Antijen uyarımı ve sitokin sentezlerini test edeceğimiz olgularda, tedavinin ve hastalığın immün etkilerinin sonuçları etkileyeceği düşünülerek tedavisi tamamlanmış ve daha önceden tanımlanmış sistemik başka bir hastalığı olmayan olgular seçilmiştir. Genetik tanımlamada sadece TB hastalığı tanısı alma koşulu aranmıştır. Ayrıca, aynı ırktan ve mümkün oldukça aynı coğrafi bölgeden olmasına, aynı aileden bir birey alınmasına dikkat edilmiştir.

Kontrol grubuna, etnik ve coğrafik kökeni aynı, klinik öykü, fizik inceleme, akciğer grafilerinde TB ile ilişkili bulgusu, TB hastalığı ve TB geçirme öyküsü olmayan sağlıklı transplant adayı bireyler alınmıştır.

Bireyler bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır.

Bu özelliklere uyan çalışma ve kontrol grubu bireylerinden, genetik tanımlamada kullanılmak üzere DNA izolasyonu için, EDTA K<sub>3</sub> deney tüplerine 2cc, sitokin sentez üretimi ölçümünün yapılacağı ELISPOI değerlendirmesi için Heparin içeren deney tüplerine 10cc kan örnekleri alınmış ve bekletilmeden değerlendirilmiştir.

### 3.2. Laboratuvar İşlemleri

#### DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerindeki lökositlerden "K0512 FERMENTAS DNA Ekstraktion Kit" inin öngördüğü prosedür uygulanarak DNA izole edilmiştir. Yöntem aşağıdaki basamaklar izlenerek yapılmıştır:

- 400 µl kan üzerine 400 µl lizis buffer eklendi ve 5 dakika 60°C sıcak su banyosunda inkübe edildi
- Üzerine 600 µl kloroform eklenerek alt üst edildi ve 10.000 rpm' de 3 dk. Santrifüj edildi.
- Santrifüj sonunda süpernatant alınarak üzerine 80µl presipitasyon ve 720µl distile su konuldu.
- 10.000 rpm' de 3 dakika Tekrar santrifüj edildi
- Pelet 100 µl NaCl ile çözüldü ve 15 dakika Oda ısısında inkübe edildi.
- Üzerine 1000 µl saf alkol eklendikten sonra 10.000 rpm' de 3 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant dökülerek pelet (DNA) iyice kurutuldu ve son olarak 100 µl distile suda çözüldü. Bu DNA'lar PCR reaksiyonu için kullanıldı

#### IFN-γ +874 Polimorfizminin Genotiplendirilmesi

IFN-γ +874' ü içeren bölge forward ve reverse primerler kullanılarak çoğaltıldı Pyrosequencing primerleri TNP primer Design Software kullanılarak düzenlendi

Primerler aşağıdaki gibidir:

- Forward Primer: 5' Biotin CGTIGCTCACTGGGAIITTTG 3'
- Reverse Primer: 5' CAAACATGIGCGAGTGTGTG 3'
- Sequencing Primer: 5' CACTCGCACATGTTTGG 3'

Kütüphane No: 1866  
T.C. Sağlık Bakanlığı  
Mikrobiyoloji Enstitüsü  
Fonksiyon No: 1866

Amplifikasyon 1X buffer, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2mM dNTP (Applied Biosystems) (her birinden), 1,25ÜAmpli Taq Gold DNA polimeraz (Quiagene), 5pmol forward ve reverse primerlerinden, 50ng genomik DNA' dan toplam 25µl'lik amplifikasyon termal cycleri da (Applied Biosystems 9700) yapıldı. PCR koşulları:

- 95°C'de 10 dakika
  - 95°C'de 30 saniye
  - 60°C'de 30 saniye
  - 72°C'de 30 saniye
  - 72°C'de 5 dakika
- } 50 siklus

15µl PCR ürünü, 3µl streptavidin kaplı sepharose bead (Amersham Pharmacia Biotech) ve 37µl binding tamponla (ph 7,6; 10 mmol/L Tris-HCL, 2mol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1mL/L Tween 20 ) 96 kuyucuklu mikrotiter plate (AB gene) içine eklenerek 15 dakika shaker'da (sallayıcı) inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra Vakum Prep Tool (Pyro.AB) ile vakum filtrasyonu yapıldı. Vakum Prep Tool 96 filtreli problarla bir hand-grip' den ibarettir. Bead bağlı PCR ürünleri, 96 filtreli proba transfer edildi, kalan sıvı vakum filtrasyonu ile kaldırıldı. Vakum Prep Tool 5 saniye %70' lik etanol içeren sıvıya transfer edildi. 5 saniye denatürasyon solüsyonu ile (0,2mol/L NaOH) muamele sonrası biotinlenmemiş zincir kaldırıldı. Bead-bağlı biotinlenmiş zincirler filtrede kaldı ve yıkama tamponuyla (Ph7,6 10nmol/L Trisiklik acetate) tüm artıklar kaldırıldı. PSQ 96 plate' in kuyucukları içine 0,2µmol Sequencing Primeri ve 40µl annealing buffer (20mM Trisiklik asetate, 2 mM Magnesium Asetate; Ph 7,6) eklendi ve filtreden Bead bağlı tek iplikli DNA kalıpları serbestleştirildi ve karıştırıldı. Plate 80 °C' de 4 dk Termal Cycleri de inkübe edildi. Genotiplendirme yapmak için otomatik pyrosequencing cihazı PSQ 96A kullanıldı. PSQ 96A' nın software' inde simpleks deney oluşturuldu. PSQ™ HS96A sisteminde "Sample Preparation Kit Pyrosequencing AB" kullanıldı. Yöntem üretici firmanın protokolüne göre yapıldı (www.pyrosequencing.com).

## ELISPOT (The Enzyme-Linked Immunospot)

ELISPOT yöntemi; invitro olarak özel protein sentezleyerek ortama bırakan hücrelerin tek tek olarak analizi ve saptanmasını sağlayan bir yöntemdir. Temel olarak, spesifik antikor ve sitokin gibi etkin maddeleri sentezleyen hücrelerin saptanmasına yönelik geliştirilen bu yöntem aynı zamanda hücre yoğunluğunun belirlenmesine de adapte edilmiştir (kaynak).

Hücrelerde IFN- $\gamma$  uyararı olarak kullanılan PPD "Mycobacterium bovis" ve diğer çevresel mikobakteriler için genel bir antijendir ve 200' den fazla "Mycobacterium tuberculosis" antijenlerinin yoğunlaştırılması ile elde edilir. ESAT-6, CFP10 "Mycobacterium tuberculosis Kompleks -M. tuberculosis, M. bovis ve M africanum-" inde sunulan antijendir. Fakat Mycobacterium bovis BCG aşı türlerinde ve diğer çevresel türlerde bulunmaz. ESAT-6, CFP10 TB hayvan modellerinde, TB hastalarında ve TB basili ile teması olan kişilerde yüksek immüniteye sahiptir. ESAT-6' ya hücresele immün sistem yanıtı TB' lu bireylerin %60-80' de standart in vitro ölçümle saptanmıştır (54, 55).

İnsan IFN- $\gamma$  ELISPOT değerlendirmesi Euroclone "Euroclone Ltd UK product code DSH 050" kitinin önerisi doğrultusunda yapılmıştır.

Uygulama aşağıdaki gibidir.

- Steril şartlarda ve standart yöntemlerle histopaque 1077 kullanılarak mononükleer hücreler dansite gradienti kullanılarak ayrıştırıldı ve 2 kez pbs ile yıkandı.
- Hücre sayısı, RPMI-1640 + %10 insan AB serumu + antibiyotik içeren karışımda  $1 \times 10^6$  hücre/ml' ye ayarlandı.
- Her bir kuyucuğa 100.000 hücre/ $\mu$ ml içeren süspansiyon, 100.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde eklendi
- Daha sonra standart ELISPOT protokolüne göre kuyucuklara yerleştirildi
  - o A-B:Hücre+medium
  - o C-D:Hücre+PPD 20 $\mu$ g/ml (Stantens Institute-Denmark)
  - o E-F:Hücre+CFP10 10 $\mu$ g/ml (Lionex Diagnostics and Therapeutics GmbH-Germany)

- o G-H:Hücre+ESAT-6 10µgr/ml (Lionex Diagnostics and Therapeutics GmbH-Germany)
- 37<sup>0</sup> C' de %5 CO<sub>2</sub> ve %59 nemde 16 saat inkübe edildi.

Sonuçlar ELISPOT okuyucusunda (Cellular Tecnology LtD (CTL)-Europe GmbH-Germany) değerlendirildi. Sonuçlar çift çalışılan örneklerde:

SPOT SAYISI; “Uyarılmış (antijen içeren) örneklerdeki spot sayısı ortalamasından, uyarılmamış (medyum içeren) örneklerdeki spot sayısının” çıkarılması ile

STİMÜLASYON İNDEKSİ; “Uyarılmış örneklerdeki spot sayısının, uyarılmamış örneklerdeki spot sayısına” oranı ile hesaplanmıştır.

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda istatistiksel analizler SPSS 10 0 (SPSS, Chicago, IL, USA) yazılımı ile yapılmıştır. Genotip sıklığı Ki-Kare testleri hesaplandı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis varyans analizi ile grupların ikili karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplara ait nümerik değerler ortanca (Median) ve çeyreklerarası aralık (Interquartile Range) ile ifade edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesine, araştırmamıza katkıda bulunan diğer üniversite hastanelerine ve Verem Savaş Dispanseri Antalya Şubesine başvuran, TB hastalığı için tanımlanan kriterlere uyan 262 birey alınmıştır. Ancak 125 hastanın tüm demografik ve klinik özelliklerine ulaşılabilmiştir. Diğer 137 hastanın demografik ve klinik özellikleri Çizelge 1' de verilmiştir. Kontrol grubu 109 bireyden oluşturulmuştur.

Çizelge 4.1 Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Demografik ve Klinik Özellikler	N=137	Yüzde Miktarı
<b>Yaş (yıl)</b>		
Çocuk (0 – 18 ) Ort=10 ± 4.39	14	(%10,2)
Erişkin (19 – 79) Ort=40.87 ± 14.78	123	(%89,7)
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	100	(%73)
Kız	37	(%27)
<b>Sosyal Güvence</b>		
Var	102	(%74,5)
Yok	35	(%25,5)
<b>Tüberküloz Yeri</b>		
Akciğer	103	(%75,2)
Akciğer dışı	34	(%24,8)
Lenfbezi	16	(%11,7)
Plevra	11	(%8)
Periton	2	(%1,5)
Diğerleri	5	(%3,5)
<b>Hastalığı Tanımlama</b>		
Mikrobiyolojik	89	(%64,9)
Patolojik	34	(%24,8)
Klinik + Radyolojik	14	(%10,2)
<b>Ailede Tüberküloz Tanısı</b>		
Var	16	(%11,7)
Yok	121	(%88,3)

Çalışma grubu çocuk ve erişkinlerden oluşmaktadır. Bilgilerine ulaşılabilen 137 birey içinde yaşları 0 ile 18 arasında değişen (yaş ortalaması 10 ± 4.39 )14 çocuk bulunmaktadır. En küçük tanı yaşı 7 aydır. Onsekiz yaş üstü

grup ise 123 bireyden oluşmaktadır. Yaş ortalaması  $40.87 \pm 14.78$ ' dir. Olguların %73' ü erkek %27'si kadındır. Bu bireylerin %35'inin sosyal güvencesi yoktur.

Bu bireylerde AC TB %75.2, Akciğer dışı %24,8 (büyük çoğunluğunu %11,7 ile lenfbezi TB' u oluşturmakta), Plevra %8, periton %1,5 oranında gözlenmiştir. Kemik, eklem, larinks, bronş ve endometrium TB' u %3,5 oranında diğerlerini oluşturmaktadır. Bu bireylerin %64,9' unda mikrobiyolojik tanımlama ve balgam kültür (+)' liği, %24,8' inde patolojik tanımlama biyopsi materyali %10,2' inde balgam kültürlerinde üreme olmadığı ve/veya biyopsi materyali alınmadığı için klinik ve radyoloji ile tanı konmuştur. Çalışmaya alınan bireylerde %11,7 oranında aile bireylerinde de TB tanısı olduğu saptanmıştır

Biz, kronik TB tanısı almış 262 hasta ve 109 sağlıklı kontrollerde +874 T/A IFN- $\gamma$  INP' nin genetik frekansını değerlendirdik. Çizelge 4.2' de hasta ve sağlıklı kontrollerde +874 T/A IFN- $\gamma$  polimorfizminin homozigot ve heterozigot frekansları verilmektedir

Çizelge 4.2 Tüberküloz ve Kontrol Grubunda Genotip Dağılımları ve Alel Frekansları

	Tüberküloz (n:262)		Kontrol (n:109)		Odds Ratio	p
<b>Genotip</b>						
AA	98	(% 37,4)	31	(% 28,4)		
TA	127	(% 48,4)	56	(% 51,3)		
TT	37	(% 14,1)	22	(% 20,1)		
Total	262		109		1,38	0,055
<b>Allel Frekansı</b>						
A	323	(% 61,6)	118	(% 54,1)	1,36	
T	201	(% 38,4)	100	(% 45,9)	(0,99-1,87)	0,057
<b>T Alleli Taşıma</b>						
Yok	98	(% 37,4)	31	(% 28,4)	0,665	
Var	164	(% 62,6)	78	(% 71,6)	(0,41-1,08)	0,098
<b>A Alleli Taşıma</b>						
Yok	37	(% 14,1)	22	(%20,1)	1,538	
Var	225	(% 85,9)	87	(%79,9)	(0,86-2,75)	0,146

Kontrol grupları Hardy-Weinberg Equilibrium açısından değerlendirilmiş: AA<sub>n</sub>:31 (31.94), TA<sub>n</sub>:56 (54.13), TT<sub>n</sub>:22 (22.94) ve uyumlu olduğu gözlenmiştir (n: Olgu sayısı, (n):Beklenen ).

Kontrol ile hasta grubu genotip dağılımının farklı olduğu gözlenmektedir. A aleli frekansı hasta grubunda %61.6 kontrol grubunda %54.1 saptanmıştır. Ancak

hasta grubundaki bu fark (%7,5) istatistik olarak sınırda bir anlamlılık oluşturmamakla birlikte ( $p=0,057$ ) bu genotipin TB' a yatkınlığı 1,36 kat attığı söylenebilir (Odds Ratio (OR), 1.36; Confidence Interval (CI), 0.99–1,87). Bu bireylerin homozigota (AA) sahip olmaları durumunda yatkınlığın 1.38' e yükseldiği gözlenmektedir ( $p=0.055$ , OR,1.38).

T aleli frekansı hasta grubuna göre (%38.4) kontrol grubunda (%45.9) daha yüksek saptanmıştır. Çalışma grubundaki T aleli taşıma oranına bakıldığında kontrol grubunda %71.6 hasta grubunda ise %62.6'dır. Bu farkın istatistiksel anlamlı olmadığı ( $p=0.098$ ), ancak T aleli taşıyıcılığının taşımayanlara oranla TB' a karşı 0.6 kat koruyucu olabileceği söylenebilir (OR, 0.665; CI, 0.41-1.08).

Genotiplendirilmesi yapılan 262 TB' lu olgunun 41 tanesine (%15,6) ELISPOT değerlendirmesi yapıldı.

Değerlendirmeye katılan grupların genotip dağılımı Çizelge 4.3' de verilmiştir. ELISPOT değerlendirmesi, AA genotipine sahip bireylerin %14.2'sine, IA genotipine sahip bireylerin %13.3'üne, IT genotipine sahip bireylerin %27' sine uygulanmıştır.

Çizelge 4.3 ELISPOT Yapılan Hasta Grubunun Genotip Dağılımı

	Genotip	Uygulanan Birey Sayı	Yüzde Miktarları	Toplam Birey Sayısı
ELISPOT	AA	14	% 14.2	98
IFN- $\gamma$ + 874 T-A	IA	17	% 13.3	127
	IT	10	% 27.0	37
TOPLAM		41	% 15.6	262

ELISPOT değerlendirmesine alınan bireylerin PMNH' leri PPD, CFP10 ve ESAI-6 antijenleri ile uyarıldı. Oluşan IFN- $\gamma$  yanıtının bireylerdeki ortanca ve çeyreklerarası aralık değerleri Çizelge 4.4' de verilmiştir.



Çizelge 4.4. Hasta Grubunda IFN- $\gamma$  Yanıtlarının ELISPOT Değerleri

	Uygulanan Birey Sayısı	En Düşük Değer	En yüksek Değer	Ortanca	Çeyreklerarası Aralık (Ç.A)
PPD Spot	41	9	216	62	69
PPD İndeks	41	1	26	3	4,4
CFP 10 Spot	41	-11	188	39	50
CFP 10 İndeks	41	0,8	12,9	2,1	2,6
ESAT-6 Spot	41	-8	181	29	48,3
ESAT-6 İndeks	41	0,7	13,2	1,8	2,1

Hasta grubunda, IFN- $\gamma$  yanıtının en düşük spot ortanca değeri ESAT-6 antijeni ile 29 (Ç A; 48,3) olarak, en yüksek spot ortanca değeri, PPD antijen ile 62 (Ç.A; 69) olarak saptandı. En düşük indeks ortanca değeri ESAT-6 antijeni ile 1,8 (Ç.A; 2,1) olarak, en yüksek indeks ortanca değeri PPD antijeni ile 3 (Ç.A; 4,4) olarak saptandı.

Hasta grubunda, antijenik uyarıma IFN- $\gamma$  yanıtının genotiplere göre değerleri Çizelge 4.5' de verilmiştir

Çizelge 4.5. Hasta Grubunda Genotipe Göre IFN- $\gamma$  Yanıtlarının ELISPOT Değerleri

	Genotip(n)	PPD Sp O. (Ç.A)	PPD İnd O. (Ç.A)	CFP10 Sp O. (Ç.A)	CFP10 İnd O. (Ç.A)	ESAT-6 Sp O. (Ç.A)	ESAT-6 İnd O. (Ç.A)
	AA (14)	40 (34,8)	2,1(4,2)	30 (40,2)	1,9(3)	19,5 (32,2)	1,6 (2,2)
Hasta	TA (17)	68 (97,5)	3 (4,9)	31 (55,5)	2,1 (2,8)	29 (33,5)	1,8 (1,8)
	IT (10)	80 (45)	3,2 (6)	58,5 (21)	2,4(3,6)	57,5 (56)	2 (3,5)
	p	0,048*	0,287	0,128	0,598	0,142	0,614

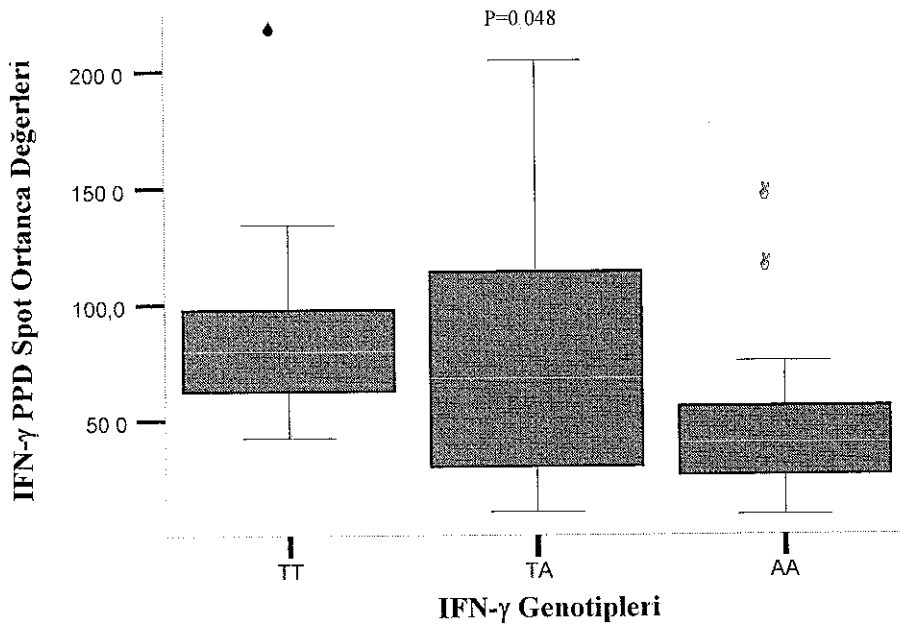
O: Ortanca, ÇA: Çeyreklerarası, Sp: Spot, İnd: İndeks

ELISPOT verileri normal dağılım göstermediğinden önce Kruskal Wallis varyans analizi, sonra anlamlı olanlar Mann-Whitney-U ile değerlendirildi.

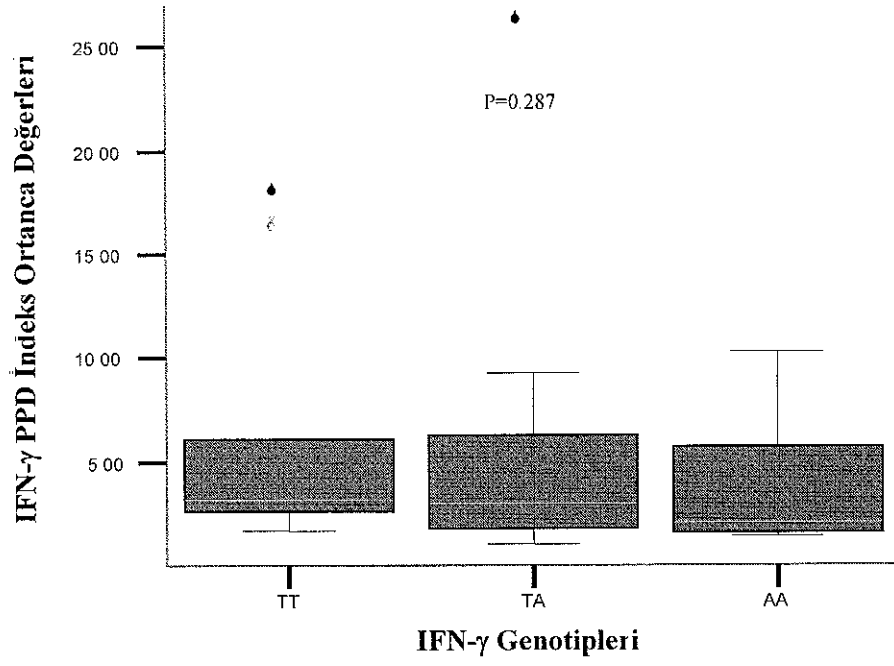
Hasta bireylerin oluşturduğu farklı genotipe sahip üç grup arasında, +874 T/A genotiplerinin ELISPOT' ta PPD uyarımı ile IFN- $\gamma$  üreten PMNH spot ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Kruskal-Wallis Varyans Analizi Testi, p=0,048) (Şekil 4.1). Diğer gruplarda, PPD ile uyarılmış IFN- $\gamma$  ELISPOT indeks ortanca değerlerinde (Şekil 4.2), CFP10 ile uyarılmış IFN- $\gamma$  ELISPOT spot ortanca değerlerinde (Şekil 4.3), CFP10 ile uyarılmış IFN- $\gamma$

ELISPOT indeks ortanca değerlerinde (Şekil 4.4), ESAT-6 ile uyarılmış IFN- $\gamma$  ELISPOT spot ortanca değerlerinde (Şekil 4.5), ESAT-6 ile uyarılmış IFN- $\gamma$  ELISPOT indeks ortanca değerlerinde (Şekil 4.6) anlamlı bir fark saptanmamıştır.

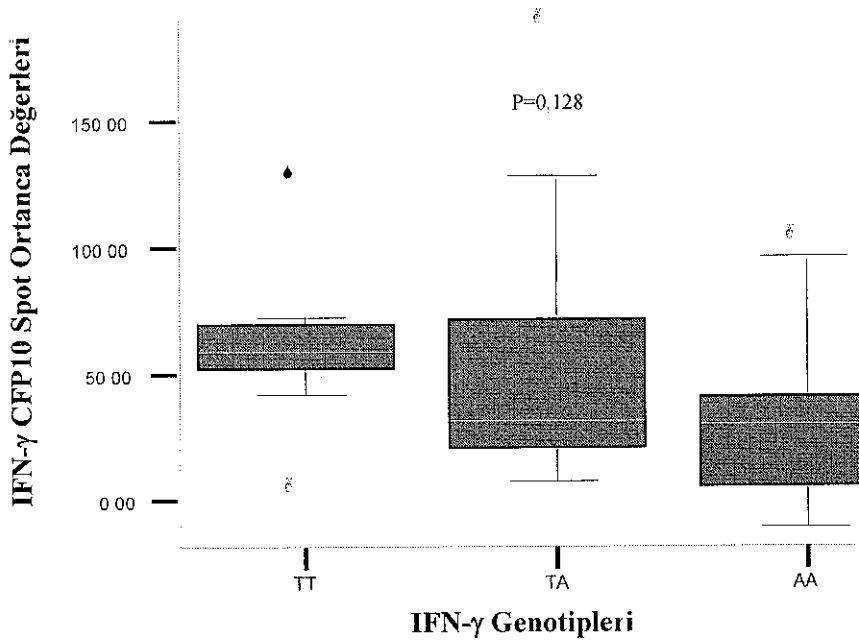
Bu gruplar arasındaki ikili değerlendirmede TT ve AA grupları arasında PPD spot (Mann-Whitney U Testi,  $p=0,008$ ) ve CFP10 spot (Mann-Whitney U Testi,  $p=0,016$ ) antijenik uyarımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.



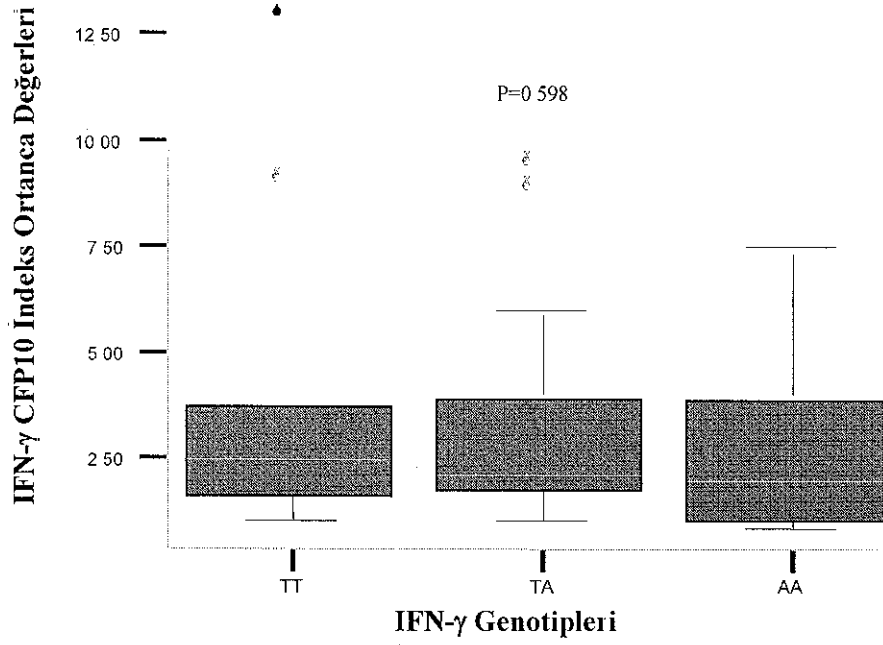
Şekil 4.1 IFN- $\gamma$  +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta PPD Uyarımı ile IFN- $\gamma$  Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri.



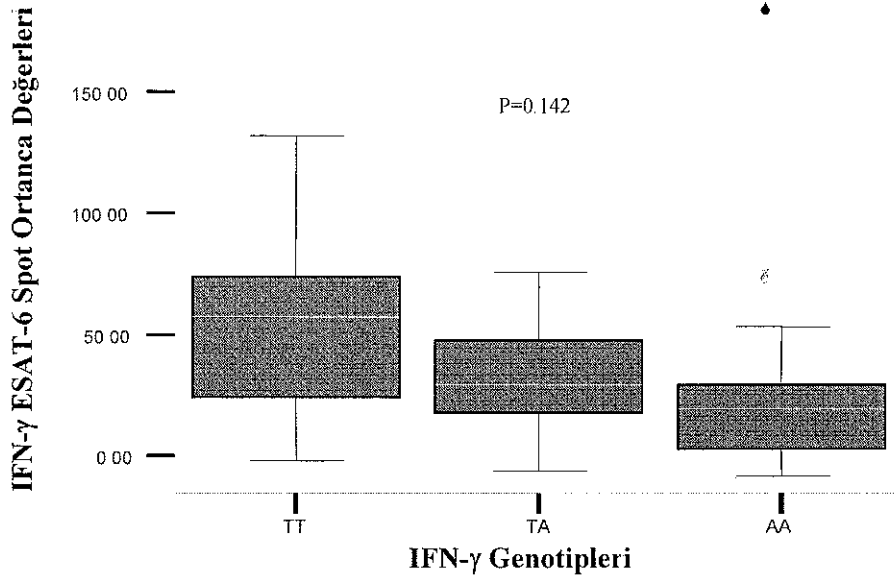
Şekil 4.2. IFN-γ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta PPD Uyarımı ile IFN-γ Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri.



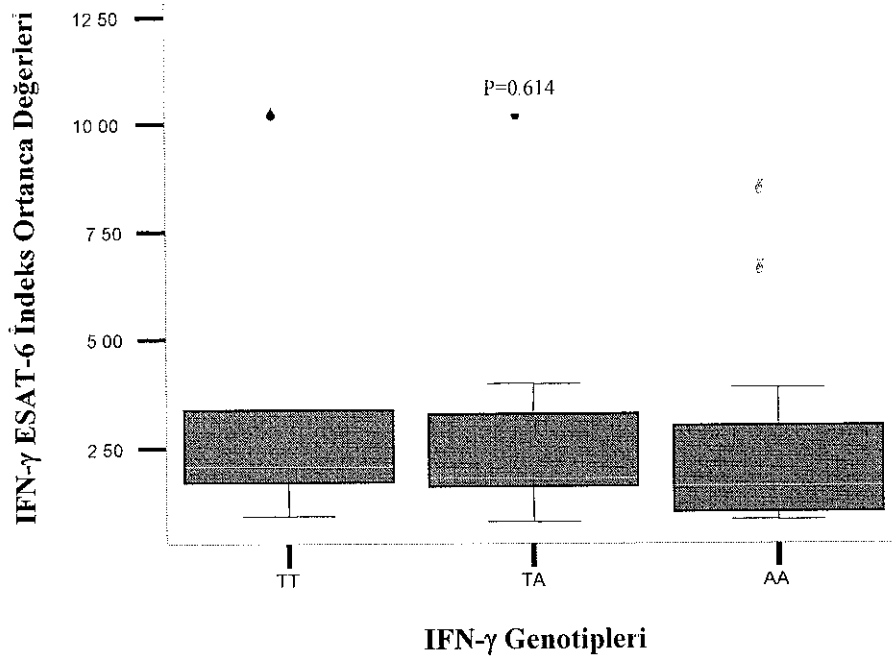
Şekil 4.3 IFN-γ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta CFP10 Uyarımı ile IFN-γ Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri.



Şekil 4.4. IFN-γ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta CFP10 Uyarımı ile IFN-γ Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri



Şekil 4.5. IFN-γ +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta ESAT-6 Uyarımı ile IFN-γ Üreten PMNH Spot Ortanca Değerleri



Şekil 4.6 IFN- $\gamma$  +874 T/A Genotiplerinin ELISPOT' ta ESAT-6 Uyarımı ile IFN- $\gamma$  Üreten PMNH İndeks Ortanca Değerleri.

## 5. TARTIŞMA

Tüberküloz halen dünyada ölümlere yol açan enfeksiyon hastalıkları arasında önemli yer tutmaktadır. Dünya sağlık örgütü verilerine göre dünya nüfusunun 1/3' ü "Mycobacterium tuberculosis" ile enfektedir. "M tuberculosis" ile enfeksiyonların sadece %10' unda klinik TB gelişmektedir (56).

İkiz kardeşlerle yapılan araştırmalar, deney hayvanlarındaki gözlemler genetik etmenlerin TB hastalığına yatkınlığa ve pulmoner TB'un ilerlemesine katkıda bulunduğunu göstermiştir (56). Farklı gen ve kromozomlar üzerine yerleşmiş birçok aleller arasındaki etkileşim muhtemelen TB hastalığına dirençte rol oynamaktadır (11).

Mikobakteri enfeksiyonlarına yatkınlığın arttığı bir dizi gen mutasyonu hastalığı gösterilmiştir. IFN- $\gamma$  reseptörlerinin tam ya da kısmi eksikliği, IL-12 reseptör veya kendisinde (IL-12p40) eksiklik hataları gibi (25). Ancak bu hastalıklar nadirdir ve toplumda gördüğümüz TB hastalarının çok küçük bir bölümünü açıklamaktadır.

TB basili ile karşılaşmadan sonra hastalığın gelişimine engel olamayan %10' luk açıklanacak başka etmenlerin araştırılmasına gerek vardır. Bu konuda yapılan araştırmalar SCLA11 (NRAMP1), Vitamin D reseptörü ve IFN- $\gamma$  genlerindeki TNP' lerin TB hastalığına yatkınlıkta önemli olabileceğini düşündürmektedir (3, 4, 5).

Konak immüitesi ve genetik faktörlerdeki farklılıklar enfeksiyon sonrasında hastalık gelişiminden sorumlu tutulabilir. Belli aile bireyleri ve ırksal gruplarda mikobakteri enfeksiyonlarına konak yatkınlığını ortaya konmuştur (57)

Biz çalışmamızda, kronik TB hastalığı tanısı almış olgularda IFN- $\gamma$  için kodlayıcı gendeki fonksiyonel +874 I/A polimorfizmini, sıklığını ve genetik olarak saptanmış grupların sitokin üretim profili ile olan ilişkisini değerlendirdik. Bu çalışma Türk toplumunda TB ile IFN- $\gamma$  üretimi arasındaki ilişkiyi (Genotip-Fenotip İlişkisi) ELISPOI ile değerlendiren ilk çalışmadır.

Biz çalışmamızda, IFN- $\gamma$  +874 AA genotip taşıyıcılığının TB gelişme riskini 1.38 kat arttırdığını gözlemledik. Ayrıca +874 A alelinin düşük IFN- $\gamma$  üretimi ile uyumlu olduğunu gösterdik.

IPN ilk olarak İngiliz toplumunda sağlıklı bireylerde IFN- $\gamma$  genin 1. intronunda tanımlanmıştır (9) Ülkemizde yapılan iki çalışmada toplumumuzdaki IFN- $\gamma$  +874 T/A polimorfizm sıklığı belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları Çizelge 5.1' de özetlenmiştir.

Çizelge 5.1 Toplumumuzdaki IFN- $\gamma$  +874 T/A Polimorfizm Çalışmaları

Çalışmalar (IFN- $\gamma$ +874 T/A)		Dağılım %		
		TT	TA	AA
Akdeniz Üniversitesi	Kontrol (109)	20.1	51.3	28.4
Uludağ Üniversitesi*	Kontrol (50)	16	42	42
İstanbul Üniversitesi**	Kontrol (108)	25	55.5	19.4

\*(Baştürk) \*\*Bireysel Görüşme

Çalışmamızın sonuçları, grup sayıları çok yakın olan Direskeneli G. ve ark' nın (İstanbul Üniversitesi) çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur ve bu sonuçlar bundan sonra ülkemizde bu INP konusunda yapılacak çalışmalara kaynak olabilir. Sayıca düşük olan B. Baştürk ve ark' nın (53) (Uludağ Üniversitesi) çalışma sonuçlarından farklı bulunmuştur.

Tüberküloz ile IFN- $\gamma$  +874 T/A arasındaki pozitif ilişki ilk olarak İtalyan toplumunda bildirilmiştir (7). Daha sonra İspanyol, Güney Afrika ve Çin toplumlarında rapor edilmiştir (11,8,57). Farklı toplumlarda yapılan araştırmaların sonuçları Çizelge 5.2' de verilmiştir.

TB' a yatkınlıkla ilişkili bulunan AA genotipi sıklığı toplumumuzda %28.4 olarak saptanmıştır. Bu değer İtalyan ve İspanyol toplumlarındaki sonuçlarla uyumludur. Ancak Afrika ve Çin toplumuna göre düşüktür.

Dünya sağlık örgütünün 2004 yılı evrensel TB kontrol raporuna göre Güney Afrika toplumlarında (Siyah İrk) TB insidansı artmakta iken batı toplumlarında (Beyaz İrk) gittikçe azalmaktadır. Toplumlar arasındaki TB insidans oranındaki ve AA genotipi sıklığındaki artış eğilimi "M tuberculosis" e direnç sürecine bağlı olabilir. Bu nedenle AA genotipi taşımama TB' a direnç oluşturmuş ve sağ kalımı arttırmış olabilir (57).

Çizelge 5.2. Tüberküloz Hastalığında Farklı Toplumlarda Yapılan IFN- $\gamma$  +874 T/A Polimorfizm Çalışmaları

Çalışmalar (IFN- $\gamma$ +874 T/A)		Dağılım %		
		TT	TA	AA
İngiliz Toplumunu (9)	Hasta --	-	-	-
	Kontrol (50)	20	40	40
İtalyan Toplumunu (7)	Hasta (45)	8,9	66,7	24,4
	Kontrol (97)	25,8	48,4	25,8
G. Afrika Toplumunu (8)	Hasta (313)	8	33	59
	Kontrol (235)	11	42	47
İspanyol Toplumunu (11)	Hasta (113)	9,7	35,4	54,9
	Kontrol (100)	19	50	31
Çin Toplumunu (57)	Hasta (385)	4,4	26,4	69,4
	Kontrol (451)	12,2	42,1	45,7
Türk Toplumunu	Hasta (262)	14,1	48,4	37,4
	Kontrol (109)	20,1	51,3	28,4

İnterferon gamma temel olarak NK ve T hücreleri tarafından üretilen anahtar “Th Tip I Ailesi” sitokinidir. Üretimi mikobakteri enfeksiyonlarında makrofaj aktivasyonu için hayati rol oynamaktadır (57). IFN- $\gamma$  geni tahrip edilen farelerde, mikobakteri ile karşılaşmada “Reactive Oxygen Intermediates” oluşumunun ve basilin çoğalmasını sınırlandırmasının yetmezlikle sonuçlandığı gözlemlenmiştir (57). İnsanlarda kalıtsal olarak IFN- $\gamma$  reseptör eksikliğinin tam ya da kısmi eksikliği atipik mikobakteri enfeksiyonlarına yatkınlığı belirgin olarak arttırmaktadır (57). Ancak IFN- $\gamma$  geninin kendisinin mutasyonunda atipik mikobakteri enfeksiyonlarına yatkın olan olgu rapor edilmemiştir (56). IFN- $\gamma$  yolağındaki bir ya da daha fazla gen değişiklikleri, konakta TB’ a yatkınlığın bir kısmından sorumlu olabilir.

İnterferon gamma gibi bir proteinin üretimi, genetik bilginin doğru bir şekilde aktif ürüne dönüştürülmesine bağlıdır. Transkripsiyon ve sonrasında gerçekleşen translasyon olayları protein miktarının ve fonksiyonunun düzenlenmesi için gerekli birçok basamaktan oluşur. Bir genin, hem ekzonları hem de intronları ilk başta transkripte edilir. Daha sonra intronlar post-transkripsiyonel modifikasyonlar sırasında uzaklaştırılır ve ekzonlar birleştirilerek protein yapımı için gerekli kalıbı oluşturur. İntronlar bu kalıba dâhil değildirler. Bu nedenle intronlar içerisindeki polimorfizimler proteinin yapısında bir değişiklik



oluşturmaz, fakat gen ekspresyon düzeyini artırabilir veya azaltabilirler. Dolayısıyla, üretilen protein miktarını düzenleyebilirler. Bazen introndaki tek bir baz değişimi bile bir genin transkripsiyonunu ve protein üretimini değiştirebilir (58).

IFN- $\gamma$  geninin 1. intronundaki +874 T/A polimorfizmi de bu tip polimorfizmlere bir örnektir. IFN- $\gamma$  geni insanda 12q14.1 bölgesinde bulunmaktadır. IFN- $\gamma$  geninin 1. intronunda bulunan "Cytosine-Adenin" (CA) tekrarlarının 5' sonunda, +874 T/A tek nükleotid polimorfizmi ve bir transkripsiyon faktörü olan NF $\kappa$ B bağlanma bölgesi bulunmaktadır. +874 T aleli, NF $\kappa$ B' in bu bölgeye uygun olan bağlanması için gereklidir (59).

Birinci introndaki 12CA tekrarları ile +874 T aleli "Linkage Disequilibrium" oluşturmaktadır (60). Hâlbuki A aleli non-12CA tekrarları ile ilişkilidir (59). NF $\kappa$ B' nin IFN- $\gamma$ ' nin yapımını artırdığı bilinmektedir. NF $\kappa$ B geni tahrip edilmiş farelerin düşük IFN- $\gamma$  değerlerine sahip olduğu bulunmuş ve bu farelerde TB'a yakınlıkta artış gözlenmiştir. Bu, IFN- $\gamma$  yapımının NF $\kappa$ B tarafından düzenlenmesinin TB'a yakınlıkta önemli olduğunu düşündürmektedir (9). Nitekim bugüne kadar IFN- $\gamma$  +874 T/A polimorfizminin IFN- $\gamma$  yapımı ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda üç farklı genotip (AA, IA ve IT) için üç farklı fenotip (düşük, orta ve yüksek seviyede IFN- $\gamma$  yapımı, sırasıyla) gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da olduğu gibi diğer çalışmalarda da +874 T aleli, yüksek seviyede IFN- $\gamma$  yapımı ile ilişkilendirilmiştir (8,11,59).

İki araştırmada (9,11) TNP' nin yanında bu TNP' nin INF- $\gamma$  yapımına etkisi incelenmiştir. Her iki çalışmada da INF- $\gamma$  değerlendirmesi ELIZA yöntemiyle yapılmıştır. Ancak Pravica ve ark (9)' nın çalışmaları sağlıklı İngiliz toplumunda yapılmış bir çalışmadır. Ayrıca PMNH antijenik uyarımı için "Concavalin-A" maddesi kullanılmıştır (Lenfositler için non spesifik uyarıcı) ve +874 A aleli düşük INF- $\gamma$  üretimi ile ilişkili bulunmuştur. Azalmış INF- $\gamma$  üretimi ve m-RNA varlığı İspanyol toplumunda TB' lu olgularda, PMNH' nin PPD uyarımı sonrasında ELISA yöntemi ile gösterilmiştir (11). Bu düşük üretim AA genotipine bağlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada INF- $\gamma$ ' nin PMNH' deki üretiminin IA ve IT genotipe sahip bireylerle karşılaştırıldıklarında AA genotipine sahip hastalarda

düşük olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç AA genotipinin TB ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamız başka bir yöntemle (ELISPOT) bu bulguyu doğrulamaktadır.

Çalışmamızda AA genotipini düşük IFN- $\gamma$  üretimi ile ilişkili bulduk. Azalmış bu IFN- $\gamma$  üretimi, Lopez ve ark' nın çalışmasında sitokin düzeyinin gösterimini sağlayan kantitatif bir yöntem olan ELISA ile gösterilmiştir. Biz çalışmamızda azalmış bu üretimini "IFN- $\gamma$  sentezleyerek ortama bırakan hücrelerin tek tek analizi ve saptanmasını sağlayan kalitatif bir yöntem olan ELISPOT" ile ortaya koyduk.

ELISPOT' ta IFN- $\gamma$  üretiminde genotiplerde antijenik uyarıda istatistiksel anlamlılık PPD ile elde edilmiştir ( $p=0.048$ ). Bu sonuç Lopez ve ark (11)' nin çalışmalarını sonuçları ile örtüşmektedir. AA genotipe sahip olanlarda "Düşük", TA olanlarda "Orta", IT genotipinde "Yüksek" olarak saptadık (Genotip-Fenotip İlişkisi). Diğer antijenik uyarılarda, PPD ile benzer genotip-fenotip ilişkisinin gözlenmesine rağmen istatistiksel fark bulamadık.

Konağın TB' a yatkınlığında pek çok genin rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamız diğer ırklarda gösterilen TB' a yatkınlıkla IFN- $\gamma$  ilişkisine yönelik çalışmaları doğrular niteliktedir. AA aleli taşıyanların IT aleli taşıyanlara oranla TB hastalığına daha yatkın görülmeleri, bu kişilerin daha az oranda IFN- $\gamma$  yapmaları, IFN- $\gamma$ ' nın TB' a karşı korunmadaki bilinen rolünü düşünürsek beklenen bir sonuçtur. Önemli bir sağlık sorunu olan TB' a yatkın, immün yanıtı yetersiz bireylerin bilinmesi bu hastalığa karşı savaşta, tedavinin planlanması ve izlenmesinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Üzerinde çalıştığımız IFN- $\gamma$  tek nükleotid polimorfizminin kliniğe yansımada tedavi başarısı, rekürrens, ilaç direnci ve profilaksi konularındaki etkisinin incelenmesi önemli verilere yol açabilir.

## SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. A aleli frekansı kontrol grubuna göre (%54.1), hasta grubunda (%61.6) daha yüksek saptanmıştır ( $p=0.057$ , Odds Oranı 1.36)
2. AA homozigot genotipi hasta grubunda %37,4 kontrol grubunda %28 saptanmıştır ( $p=0.055$ , Odds Oranı,1.38)
3. T aleli frekansı hasta grubuna göre (%38.4) kontrol grubunda (%45.9) daha yüksek saptanmıştır.
4. TT homozigot genotipi hasta grubunda %14,1 kontrol grubunda %20 saptanmıştır.
5. Hasta bireylerde farklı genotipe sahip üç grup (AA, TA, TT) arasında, ELISPOT' ta PPD uyarımı ile IFN- $\gamma$  üreten PMNH spot ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.048$ , Şekil 4.1).
6. Gruplar arasında ikili değerlendirilmede; TT ile AA genotiplerinde ELISPOT' ta PPD ( $p=0.008$ ) ve CFP10 ( $p=0.016$ ) uyarımı ile IFN- $\gamma$  üreten PMNH spot ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

## ÖZET

Tüberküloz (TB) basili ile enfekte olanların sadece % 5-10' unda TB hastalığı gelişmektedir. Bu gözlem TB enfeksiyonu geliştirenlerin bir tür immün yetmezlik olduğu düşüncesini gündeme getirmektedir. Bu durumda araştırmaların yöneleceği en önemli sitokin kuşkusuz IFN- $\gamma$  dur. IFN- $\gamma$  + 874 T-A polimorfizminin TB hastalığın yatkinlıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir ancak IFN- $\gamma$  sentezi üzerine etkisi kesinlik kazanmamıştır.

TB hastalığı geçiren 262 olgu ve TB hastalığı geçirme öyküsü olmayan 109 sağlıklı erişkin kontrolde, IFN- $\gamma$  +874 T-A polimorfizminin genotiplendirilmesi Pyrosequencing yöntemiyle çalışıldı. Ayrıca bu polimorfizm yönünden genotipi belirlenmiş olguların mononükleer hücreleri PPD ve, BCG' de olmayıp "Mycobacterium tuberculosis" te olduğunu bildiğimiz, ESAT-6, CFP10 antijenleriyle uyarılıp IFN- $\gamma$  sentezi ELISPOT yöntemiyle belirlendi.

Bulgular; hastalarda 37 II (%14.1), 98 AA (% 37.4), 127 IA genotipi (%48.4) saptanmıştır. Kontrollerde 22 II (20.1), 31 AA (31), 56 IA (51.3) saptandı. A aleli frekansı hasta grubunda %61.6 kontrol grubunda %54.1 saptanmıştır. Bu fark istatistik olarak sınırdaki bir anlamlılık oluşturmamakla birlikte ( $p=0,057$ ) bu genotipin TB' a yatkinlığı 1,36 kat attığı söylenebilir (Odds Ratio, 1.36;). Bu bireylerin homozigota (AA) sahip olmaları durumunda yatkinlığın 1.38' e yükseldiği gözlenmektedir ( $p=0.055$ , OR,1.38). Çalışma grubundaki T aleli taşıma oranı kontrol grubunda %71.6 hasta grubunda ise %62.6'dır. Bu farkın istatistiksel anlamlı olmadığı ( $p=0.098$ ) ancak T aleli taşıyıcılığının taşımayanlara oranla TB' a karşı 0.6 kat koruyucu olabileceği söylenebilir (OR, 0.665; CI, 0.41-1.08).

Genotipi belirlenen 262 TB' lu olgunun 41 tanesine (%15,6) ELISPOT değerlendirilmesi yapıldı. AA (14) genotipine sahip bireylerin %14.2' sine, IA (17) genotipine sahip bireylerin %13.3' üne, II (10) genotipine sahip bireylerin %27' sine uygulanmıştır. ELISPOT değerlendirmesine alınan bireylerin PMNH' leri PPD, CFP10 ve ESAT-6 antijenleri ile uyarıldı. PPD uyarımı ile IFN- $\gamma$  üreten PMNH spot ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Kruskal-

Wallis Varyans Analizi Testi,  $p=0,048$ ) Bu gruplar ikili değerlendirildiğinde TT ve AA grupları arasında PPD spot (Mann-Whitney U Testi,  $p=0,008$ ) ve CFP10 spot (Mann-Whitney U Testi,  $p=0,016$ ) antijenik uyarımları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Biz çalışmamızda, kronik TB hastalığı tanısı almış olgularda IFN- $\gamma$  (+874 T/A) için kodlayıcı gendeki fonksiyonel polimorfizmin sıklığını ve genetik olarak saptanmış grupların sitokin üretim profili ile olan ilişkisini değerlendirdik. Bu çalışma Türk toplumunda TB ile IFN- $\gamma$  üretimi arasındaki ilişkiyi (Genotip-Fenotip İlişkisi) ELISPOT ile değerlendiren ilk çalışmadır.

Bizim çalışmamızda IFN- $\gamma$  +874 AA genotip taşıyıcılığı TB gelişme riskini 1.38 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca +874 A alelinin düşük IFN- $\gamma$  üretimi ile uyumlu olduğunu gösterdik.

Konağın TB' a yatkınlığında pek çok genin rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamız diğer ırklarda gösterilen TB' a yatkınlıkla IFN- $\gamma$  ilişkisine yönelik çalışmaları doğrular niteliktedir. AA aleli taşıyanların TT aleli taşıyanlara oranla TB hastalığına daha yatkın görülmeleri, bu kişilerin daha az oranda IFN- $\gamma$  yapmaları, IFN- $\gamma$ ' nın TB' a karşı korunmadaki bilinen rolünü düşünürsek beklenen bir sonuçtur. Önemli bir sağlık sorunu olan TB' a yatkın, immün yanıtı yetersiz bireylerin bilinmesi bu hastalığa karşı savaşta, tedavinin planlanması ve izlenmesinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Üzerinde çalıştığımız IFN- $\gamma$  tek nükleotid polimorfizminin kliniğe yansımada tedavi başarısı, rekürens, ilaç direnci ve profilaksi konularındaki etkisinin incelenmesi önemli verilere yol açabilir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, İnterferon gamma, ELISPOT, ESAT-6, CFP10.

## KAYNAKLAR

1. Guide SV, Holland SM. Host susceptibility factors in mycobacterial Infections. *Infect Dis Clin N Am* 2002;16 :163-185.
2. Collins HL, Kaufmann SHE. The many faces of host response to tuberculosis. *Immunology* 2001;103:1-9.
3. Li CM, Campbell SJ, Kumararatne DS, Bellamy R, Ruwende C, McAdam KP et al. Association of a polymorphism in the P2X7 gene with tuberculosis in a Gambian population. *J Infect Dis* 2002;186 :1458-62.
4. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Thursz M, Whittle HC et al. Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. *J Infect Dis* 1999;179 :721-4.
5. Awomoyi AA, Marchant A, Howson JM, McAdam KP, Blackwell JM, Newport MJ. Interleukin-10, polymorphism in SLC11a1 (formerly NRAMP1) and susceptibility to tuberculosis. *Journal of Infect Dis* 2002;186 :1808-14.
6. Ogus C, Yoldas B, Ozdemir T, Uguz A, Olcen S, Keser I et al. The Arg753Gln Polymorphism of the human toll like receptor 2 gene in Tuberculosis disease. *Europ Resp J* 2004;23 :219-23.
7. Lio D, Marino V, Serauto A, Gioia V, Scola L, Crivello A et al. Genotype frequencies of the +874 T-A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-gamma gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *European J Immunogenet* 2002;29 :371-374.
8. Rossouw M, Nel H J, Cooke GS, van Helden PD Hoal EG. Association between tuberculosis and polymorphic NF (kappa) B binding site in the interferon gamma gene. *The Lancet* 2003;361 :1871-72.
9. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene. *Human Immunol* 2000;61 :863-866.
10. Warle MC, Farhan A, Metselaar HJ, Hop WC, Perrey C, Zondervan PE, et al. Are cytokine polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles? *Liver Transplantation* 2003;9 :170-181.

11. Lopez-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, Gonzalez A, Codoceo R, Madero R et al. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167 : 970-75.
12. Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991;72 :1-6.
13. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis. Estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *JAMA* 1999; 282 :677-686.
14. World Health Organization. WHO Tuberculosis Programme: Framework for Effective Tuberculosis Control 1994. WHO/TB/94.179.
15. Cantwell MF, Snider DE Jr, Cauthen GM, Onorato IM. Epidemiology of tuberculosis in the United States, 1985 through 1992. *JAMA* 1994;272 :535-539.
16. Zuber PLF, McKenna MT, Binkin NJ, et al. Long-term risk of tuberculosis among foreignborn persons in the United States. *JAMA* 1997; 278:304-307.
17. Davies PDO. Tuberculosis and migration. *Eur Respir Mon* 1997; 4 :68-87.
18. WHO. Global Tuberculosis Control. Surveillance, Planning, Financing. Communicable Diseases, World Health Organization, Geneva: 2002. WHO/CDS/TB/2002 295.
19. WHO. Global DOTS Expansion Plan. Progress in TB control in high-burden countries, 2001. World Health Organization WHO/CDS/STB/2001.11.
20. Harvard Medical School / Open Society Institute. Review of tuberculosis control programs in Eastern and Central Europe and the Former Soviet Union. Boston, 2001.
21. Snider DE, Castro KG. The global threat of drug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med*. 1998; 338:1689-1690
22. WHO/IUATLD. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Geneva: World Health Organization, 2000. WHO/CDS/TB/2000/278.

23. World Health Organization. Stop TB, Communicable Diseases. An Expanded DOIS Framework for Effective Tuberculosis Control. World Health Organization Geneva, 2002. WHO/CDS/TB/2002 297
24. EuroTB (InVS/KNCV) and the national coordinators for tuberculosis surveillance in the WHO European Region. Surveillance of tuberculosis in Europe. Report on tuberculosis cases notified in 1999, March 2002.
25. Crevel R, Ottenhoff THM, Meer JWM. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Micro Rev 2002;15 :294-309.
26. Ainsa J, Martin C, Gicquel B. Molecular approaches to tuberculosis. Molecular Microbiology 2001; 42 :561-570.
27. Toman K. Tuberculosis, case-finding and chemotherapy. Questions and Answers. World Health Organization, Geneva. 1979 :122-129.
28. WHO Technical Report Series, No 552, 1974. (Ninth report of the WHO Expert Committee on Tuberculosis)
29. Long R (ed). Canadian Tuberculosis Standards 5th Edition. Canadian Lung Association 2000.
30. Sbarbaro JA. Skin test antigens: an evaluation whose time has come. Am Rev Respir Dis 1978;118 :1-5.
31. Zack MB, Fulkerson LL. Clinical reliability of stabilized and nonstabilized tuberculin PPD. Am Rev Respir Dis 1970;102 :91-93.
32. A Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161(4 Pt 2): S221-247.
33. Holden M, Dubin MR, Diamond PH. Frequency of negative intermediate-strength tuberculin sensitivity in patients with active tuberculosis. N Engl J Med 1971; 285 :1506-1509.
34. Clarridge JE, Shawar RM, Shinnick TM, et al. Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a routine mycobacteriology laboratory. J Clin Microbiol 1993;31 :2049-2056.
35. Long R (ed). Canadian Tuberculosis Standards. 5th Edition. Canadian Lung Association 2000.



36. Fox W, Mitchison DA. Short-course chemotherapy for pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1975;111 :325-353.
37. World Health Organization. Treatment of tuberculosis. Guidelines for national programmes Geneva, World Health Organization. 1997 WHO/TB/97.220, s. 34
38. Alzeer AH, FitzGerald JM. Corticosteroids and tuberculosis: risks and use as adjunct therapy. *Tuberc Lung Dis* 1993;74 :6-11
39. Girgis NI, Farid Z, Kilpatrick ME, et al. Dexamethasone as an adjunct to treatment of tuberculosis meningitis. *Ped Infect Dis J* 1991;10 :179-183
40. Toman K. Tuberculosis, case-finding and chemotherapy. Questions and Answers. World Health Organization, Geneva. 1979 :122-129
41. Medical Research Council. BCG and vole bacillus vaccines in the prevention of tuberculosis in adolescence and early adult life. *Bull WHO* 1972;46 :371-385.
42. Khan EA, Starke JR. Diagnosis of tuberculosis in children: increased need for better methods. *Emerging Infect Dis* 1995;4 :115-123.
43. Steginer P, Rao M, Victoria MS, Jabbar H, Steiner M. Persistently negative tuberculin reactions: their presence among children culture positive for *M tuberculosis*. *Am J Dis Child* 1980;134 : 747-750.
44. Shata AMA, Carter JBS, Parry CM, et al. Sputum induction for the diagnosis of tuberculosis. *Arch Dis Child* 1996;74 :535-537
45. Trebecq A. Should ethambutol be recommended for routine treatment of tuberculosis in children? A review of the literature. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1 :12-15.
46. Comstock GW, Baum C, Snider DE Jr. Isoniazid prophylaxis among Alaskan Eskimos: a final report of the Bethel studies. *Am Rev Respir Dis* 1979;119 :827-830.
47. Sutherland I, Lindgren I. The protective effect of BCG vaccination as indicated by autopsy studies. *Tubercle* 1979;60 :225-231.
48. Koçođlu F. Tüberküloz Sorununun Çözümünde Günümüzde Uygulanan Kontrol Yöntemlerinin Etkinliđi. In: Kocaba A. (Ed). Tüberküloz, Kliniđi ve Kontrolü. Emel Matbaası, Ankara. 1991: 439-443.

49. Jindani A, Aber VR, Edwards EA, Mitchison DA. The early bactericidal activity of drugs in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1980;121 :939-949.
50. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291 :1304-51
51. Balasubramanian S P, Cox A, Brawn N J, Reed M W. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *EJSO* 2004;30 :593-601.
52. Haukim N, Bidwell JL, Smith AJ, Keen LJ, Gallagher G, Kimberly R et al. Cytokine gene polymorphism in human disease *Gene Immun*. 2002;3 :313-30
53. Baştürk B, Yavaşcaoğlu İ, Vuruşkan H, Göral G, Oktay B, Oral H B. Cytokine gene polymorphisms as potential risk and protective factors in renal cell carcinoma *Cytokine* 2005;30 :41-45
54. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, Wilkinson KA, Whelan A, Deeks JJ et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Lancet* 2001;9273 :2017-21.
55. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, Bryant G, Waller S, Andersen P et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak *Lancet*. 2003;9364 :1168-73.
56. Bellamy R. Interferon- $\gamma$  and Host Susceptibility to Tuberculosis *AJRCCM* 2003;167 :946-947.
57. Iso HW, Ip WK, Chong WP, Tam CM, Chiang AK, Lau YL. Association of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese. *Genes Immun*. 2005;6(4) :358-63.
58. Stassen NA, Leslie-Norfleet LA, Robertson AM, Eichenberger MR, Polk HC Jr. Interferon-gamma gene polymorphisms and the development of sepsis in patients with trauma. *Surgery* 2002;132 :289-92.
59. Dai CY, Chuang WL, Chang WY, Chen SC, Lee LP, Hsieh MY et al. Polymorphisms in the interferon-gamma gene at position +874 in patients with chronic hepatitis C treated with high-dose interferon-alpha and ribavirin. *Antiviral Res*. 2005;67 :93-7.

60. Tiroch K, von Beckerath N, Koch W, Lengdabler J, Joost A, Schomig A et al. Interferon-gamma and interferon-gamma receptor 1 and 2 gene polymorphisms and restenosis following coronary stenting. *Atherosclerosis*. 2005;182 :145-51.