
Akciğer Tüberkülozunda Balgam Numunelerinden *Mycobacterium tuberculosis*'in Direkt Mikroskopi, Kültür ve PCR ile Saptanması[#]

Mehmet Hamdi MUZ*, Teyfik TÜRGÜT*, Adile MUZ**

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,

** Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Tüberküloz günümüzde halen morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalık olarak seyretmektedir. Bu nedenle *Mycobacterium tuberculosis* infeksiyonlarının doğru ve hızlı teşhisine ihtiyaç vardır. Akciğer tüberkülozu şüpheli 62 hastadan elde edilen 186 balgam numunesi *M. tuberculosis*'in hızlı tespiti açısından direkt mikroskopik inceleme (Ziehl-Neelsen boyası ile boyanarak), kültür (Lowenstein-Jensen besiyerine ekilerek) ve PCR (polimerase chain reaction) yöntemleriyle incelendi. Direkt mikroskopik inceleme ve PCR sonuçları *M. tuberculosis*'in tanısında altın standart olarak bildiğimiz kültür sonuçları ile karşılaştırıldı. Altmışiki hastanın 33'ünde (%53.2) kültürde üreme görüldü. Kültür pozitif 33 hastanın 30'unda (%90.9) direkt yayma pozitif idi. Tüm kültür ve direkt yayma pozitif hastalarda *M. tuberculosis* PCR ile saptandı. İlaveten, klinik olarak tüberküloz şüpheli ancak kültür ve direkt yayma negatif 29 hastanın 5'inde de PCR ile *M. tuberculosis* saptanabildi. Böylece direkt yayma, 62 olgunun 30'unda (%48.4), PCR ise 38'inde (%61.2) pozitif olarak saptandı ($p < 0.01$). Kültür ile karşılaştırıldığı zaman *M. tuberculosis*'in saptanmasında direkt mikroskopinin sensitivitesi %90.9, spesifitesi %100, güvenilirliği %95.1, pozitif tahmin değeri (PPV) %100 ve negatif tahmin değeri (NPV) %90.6 olarak saptanırken PCR'in sensitivitesi %100, spesifitesi %82.7, güvenilirliği %91.9, PPV'si %86.8, NPV'si de %100 olarak saptandı. Sonuç olarak PCR, *M. tuberculosis*'in saptanmasında hızlı ve sensitif bir tanı metodu olup tedavinin erken başlanması açısından klinik kullanımda oldukça yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, PCR.

SUMMARY

Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Sputum Samples from Patients with Pulmonary Tuberculosis by Direct Microscopic Examination, Culture and Polymerase Chain Reaction

Tuberculosis remains a major global cause of morbidity and mortality. There are an urgent need for improved and rapid bacteriologic diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infections. Microscopic examination of acid-fast stained smears (stained by Ziehl-Neelsen), cultures on Lowenstein-Jensen medium, and a polymerase chain reaction (PCR) assay were used to evaluate 186 sputum specimens obtained from 62 patients with suspected pulmonary tuberculosis for the rapid detection of *M. tuberculosis*. The results of PCR and microscopic examination of acid-fast stained smears were compared with culture which is gold standart for the diagnosis of *M. tuberculosis* infection. Growth of *M. tuberculosis* was observed in 33

(53.2%) of the 62 patients. Smear were positive 30 (90.9%) of the 33 culture positive cases. *M. tuberculosis* was detected by PCR in all of the smear- and culture- positive cases. Additionally, PCR was capable of detecting 5 of 29 cases which were smear and culture negative but clinically suspected of tuberculosis. Thus, smear were positive 30 (48.4%) and PCR were positive 38 (61.2%) of the 62 cases ($p < 0.01$). Detection of *M. tuberculosis* by direct microscopy gave a sensitivity of 90.9%, a specificity of 100%, a efficiency of 95.1%, a positive predictive value (PPV) of 100% and a negative predictive value (NPV) of 90.6%. Amplification by PCR of a fragment of the insertion sequence IS6110 gave a sensitivity of 100%, a specificity of 82.7%, a efficiency of 91.9%, a PPV of 86.8% and a NPV of 100% when compared with culture. Thus, PCR was found to be very useful for the rapid diagnosis of *M. tuberculosis* infection and start of anti-tuberculous chemotherapy and it can be used in routine clinical practice.

Key Words: Tuberculosis, PCR.

XXII. Türk Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi'nde bildirilmiştir.

Halen dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık problemi olan tüberkülozun kesin tanısı, *Mycobacterium tuberculosis*'in klinik numunelerden izole edilmesini gerektirmektedir. *M. tuberculosis*'in tespitinde en hızlı ve ucuz yöntem, klinik numunelerden yapılan yaymaların Ziehl-Neelsen metodu ile boyanarak direkt mikroskopik incelenmesidir. Ancak klinik numunedeki mikobakteriyel popülasyon $10^4/\text{mL}$ 'den az olduğu zaman tespit edilemediği gibi *M. tuberculosis*, diğer mikobakterilerden de ayırt edilememektedir. *M. tuberculosis*'in kültürde üretilmesi ise 4-8 hafta gibi bir süreyi gerektirmektedir. Radyometrik Bactec sistemi ile bu süre büyük ölçüde azaltılmışsa da gene de 10-12 günlük bir zamana ihtiyaç vardır. Sonuç olarak *M. tuberculosis*'in tespitinde hızlı, sensitivitesi ve spesifitesi yüksek metodlar arzulanmış, bu amaçla Polymerase Chain Reaction'dan (PCR) yararlanmak istenmiştir (1-3).

PCR ilk kez 1985'te Mullis ve arkadaşları tarafından geliştirilen; in vitro DNA amplifikasyon esasına dayanan, incelenecek numunedeki mikroorganizma sayısının az olmasının önemsiz olduğu bir tanı yöntemidir.

Çalışmamızda, klinik ve radyolojik olarak akciğer tüberkülozu düşünülen hastaların balgam numunelerindeki *M. tuberculosis*'in tespitinde klasik yöntemlerden olan direkt mikroskopi ve kültür ile modern laboratuvar tanı yöntemleri arasında bir devrim olarak kabul edilen PCR'in hızı, spesifitesi ve sensitivitesini karşılaştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne Kasım 1996-Mayıs 1997 tarihleri arasında başvuran hastalardan klinik ve radyolojik olarak akciğer tüberkülozu düşünülen 62 hasta çalışma kapsamına alındı. Altmışiki olgunun 49'u ilk defa hekime başvuran ve daha önce hiç antitüberküloz tedavi görmeyen, 9'u başka merkezler ve/veya serbest hekimlerce klinik ve radyolojik olarak akciğer tüberkülozu tanısı konulup ancak mikrobiyolojik tanısı olmadan antitüberküloz tedavi başlanan, 4'ü de kronik akciğer tüberkülozu olup daha önce düzensiz tedavi gören ve en az 6 aydır ilaç kullanmayan hastalardan ibaretti. Her hastadan üç gün süreyle sabahları aç karnına steril petri kutularına balgam numuneleri alınarak Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile boyanıp direkt mikroskopik incelemeye tabi tutuldu ve Löwenstein-Jensen (L-7) besi yerine ekim yapıldı. Ayrıca balgam numuneleri $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanarak PCR'da kullanıldı.

Ziehl-Neelsen Boyama Yöntemi: Havada kurutulup alevde tespit edilen preparatlar üzerine preparatı tam kaplayacak şekilde bolca fenollü fuksin eriyiğinden dökülüp buhar çıkacak ancak kaynamayacak şekilde alttan ısıtıldı. Bu arada preparatın üzerindeki boya eriyiği azaldığı zamanlar üzerine damla damla eklenerek preparatın kurumaması sağlandı. Bu işlem sonunda preparat su ile yıkandı. Renksizleştirme için asitli alkol eriyiği kullanıldı. Renksizleştirme işlemi sonunda preparat su ile yıkandı. On kat sulandırılmış Löfflerin metilen mavisi eriyiği ile 15 saniye

karşıt boyama yapıldı. Su ile yıkanıp havada kurutulan preparat immersiyonla incelendi.

Kültür Yöntemi: Homojenize, dekontamine ve konsantre edilen materyalden ekimler, aseptik koşullarda Löwenstein-Jensen (L-7) besiyerine yapıldı. Tüplerdeki besiyerlerinin yüzeylerine ekim materyalinden pastör pipeti ile 3-4 damla damlatıldı. Kolonilerin oluşması için besiyerleri uygun biçimde eğdirilip doğrultuldu. Tüp ekimleri sıkıca kapatılarak 37°C'de inkübe edildi. Kültürler ilk olarak 2-4'üncü günlerde yoğun kontaminasyon varsa ortaya çıkarmak amacıyla, bunun dışında 6 hafta süreyle haftada bir incelendi. Altıncı haftanın sonunda üreme görülmedi ise 2-4 hafta daha beklendi. Bu durumda da üreme olmamışsa olumsuz kabul edildi. Üreme olduğunda koloniler, büyüklük, görünüm ve pigment bakımından incelenerek not edildi.

DNA'nın Ekstraksiyonu: N-asetil-L-sistein çözeltisiyle dekontamine edilmiş yaklaşık 1 mL'lik balgam örneklerinin herbirinin üstüne, 500 µL fosfat buffer solüsyonu (PBS) ilave edildi. Bu örneklerin 12.000 rpm'de 4 dakika santrifüjü gerçekleştirildi. Üst sıvı (süpernatant) döküldükten sonra alt kısımdan 50 µL alınarak yeni eppendorflara aktarıldı. Eppendorflara 500'er µL lizozim enzimi (20 mg/mL) katıldı. Karışım 30 saniye vortekslendi ve bu süre sonunda 37°C'de 2 saatlik inkübasyona bırakıldı. Santrifüj işlemi tekrarlandı. Tüp içeriğinin yaklaşık 3/4'lük kısmı pipetle uzaklaştırıldı. Kalan kısma %2'lik sodyum dodesil sulfat (SDS) ve 1 N NaOH karışımından eşit miktarlarda ilave edildi. Vorteks işlemi tekrarlandıktan sonra 100°C'de 5 dakika kaynatıldı. Oda ısısında soğutuldu. Örnek üzerine 1 M HCl ve 1 M Tris-HCl'den eşit miktarlarda eklendi. Vorteks işlemi ve 12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj işlemi tekrarlandı. Üst sıvı bir başka tüpe aktarıldı. Fenol-kloroform ekstraksiyonu ve etanol ile çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen DNA ekstraktı 10 mM trishidroklorit-1 mM EDTA (TE pH:8.0) ile resüspanse edildi.

PCR: Reaksiyon bileşenleri {10 µL kalıp DNA, 3 µL mTb1 primeri (5' CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG 3'), 3 µL mTb2 primeri (5' CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG 3'), 4 µL 100 mM d

NTPs, 5 µL 10xPCR tamponu, 5 µL 25 mM MgCl₂, 1 µL Taq DNA polimeraz (1U/mL), 19 µL steril saf su} steril eppendorf tüp içerisine konulduktan sonra reaksiyon karışımı üzerine yüzeyi tamamen kapatacak şekilde birkaç damla mineral yağı konuldu. Böylece yüksek ısılarda karışımın buharlaşması önlenmiş oldu. Tüpler ısıl döngü aletine yerleştirilerek çoğaltım işlemine geçildi. DNA çoğaltımı denatürasyon için 94°C'de 1 dakika, hibridizasyon için 55°C'de 1 dakika ve sentez için 72°C'de 1 dakika olmak üzere 33 döngü halinde gerçekleştirildi. Son döngüyü takiben 72°C'de 10 dakikalık bir uzama basamağı tatbik edildi. Tüpler oda ısısına getirildikten sonra çoğaltım işlemi ürünleri %2-2.5'luk agaroz jel elektroforeze tabi tutuldu. Sonuç alınan çoğaltım ürünleri +4°C'de saklandı.

Agaroz Jel Elektroforezi: İncelenecek DNA ürünlerinin kb büyüklüğüne uygun olacak şekilde tartılan agaroz 1xTBE tamponu içerisine konularak, ısıtıcı ile eritildi. TBE içerisinde eritilmiş agaroz soğumaya yakın 0.5 µL/mL olacak şekilde etidyum bromid ilave edildi ve elektroforez tankına uygun kalıba agaroz çözeltisi döküldü. Agaroz çözeltisinin oda sıcaklığına gelerek katılaşmasından sonra kalıptaki tarak alınarak jel elektroforez tankına yerleştirildi. Tarakların oluşturduğu kuyulara yükleme tamponu ile pipetle-nerek karıştırılan ürünler konuldu. Doğru akım sağlayan güç kaynağı açılarak, çoğaltım ürünlerinin agaroz jel içerisinde boylarına göre yürütülmesi sağlandı.

PCR çalışmasında negatif kontrol için saf su, pozitif kontrol için *Mycobacterium tuberculosis* H37 RV kökeni kullanıldı.

Direkt mikroskopi, kültür ve PCR'ın sensitivite (Se), spesifite (Sp), güvenilirlik, pozitif tahmin değeri (PPV) ve negatif tahmin değeri (NPV) hesaplandı. Mikroskopi, kültür ve PCR sonuçlarının istatistiksel analizinde; SPSS for windows release 6.0 paket programı kullanıldı ve iki yüzde arasındaki farkın önem kontrolü t-testi ile yapıldı.

BULGULAR

Klinik ve radyolojik olarak akciğer tüberkülozu düşünülen çalışmaya katılan 62 olgu-

nun 32'si erkek (%51.7) 30'u kadın (%48.3) olup yaşları 12-71 (34.91 ± 13.41) arasında değişmekte idi.

Olguların balgam numunelerine ait direkt mikroskopi, kültür ve PCR sonuçları toplu olarak Tablo 1'de sunulmuştur.

Tüberküloz tanısında altın standart olarak kabul edilen kültür sonuçları ile PCR sonuçları karşılaştırıldığında PCR'in tanı da istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$) (Tablo 2).

Kültür negatif, PCR pozitif 5 olgunun 3'ü daha önce antitüberküloz tedavi başlanan hastalardan, 2'si de düzensiz tedavi görmüş son 6 aydır tedavi görmeyen kronik olgulardandı.

Kültür ve direkt mikroskopi sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 3'de sunulmuştur. Kültür sonuçları ile direkt mikroskopi sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sonuç anlamsız idi ($p > 0.05$).

Direkt mikroskopi negatif olan olgulardan 3'ünde tüberküloz kültürü pozitif olarak tespit edildi.

Bu hastaların yeni tanı konulmuş tedavi başlanmamış olgular olduğu saptandı.

Direkt mikroskopi ile PCR sonuçları karşılaştırıldığında ise PCR pozitif olan 38 olgunun ancak 30'unda (%89.4) direkt mikroskopi pozitif olarak saptandı. Sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılmasında ise tanıda PCR'in oldukça anlamlı olarak üstün olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$) (Tablo 4).

Kültür sonuçları ile karşılaştırılan direkt mikroskopi ve PCR yönteminin sensitivite, spesifite, PPV, NPV ve güvenilirlik değerleri Tablo 5'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Artmış olan tanısal yöntemler ve etkili antibiyotiklerin bulunmasına rağmen tüberküloz hala gelişmekte olan ülkelerde ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Güney Amerika, Afrika, Hindistan ve Çin'in yanısıra Türkiye'de de hastalık küçümsemeyecek boyuttadır. Türkiye'de 1982'de yapılan yaygınlık çalışmasında prevalans 358/100.000 bulunmuş ve toplam

Tablo 1. Direkt mikroskopi, kültür ve PCR sonuçlarının dağılımı.

	Pozitif	Negatif	Toplam
Direkt mikroskopi	30 (%48.3)	32 (%51.7)	62 (%100)
Kültür	33 (%53.2)	29 (%46.8)	62 (%100)
PCR	38 (%61.2)	24 (%38.8)	62 (%100)

Tablo 2. Kültür ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması.

	Kültür pozitif	Kültür negatif	Toplam
PCR pozitif	33 (GP)	5 (YP)	38 (%61)*
PCR negatif	0 (YN)	24 (GN)	24 (%39)
Toplam	33 (%53)*	29 (%47)	62 (%100)

* $p < 0.05$

Tablo 3. Kültür ve direkt mikroskopi sonuçlarının karşılaştırılması.

	Kültür pozitif	Kültür negatif	Toplam
Direkt mikroskopi pozitif	30 (GP)	0 (YP)	30 (%48)*
Direkt mikroskopi negatif	3 (YN)	29 (GN)	32 (%52)
Toplam	33 (%53)*	29 (%47)	62 (%100)

* $p > 0.05$

Tablo 4. Direkt mikroskopi ve PCR sonuçlarının karşılaştırılması.

	Direkt mikroskopi pozitif	Direkt mikroskopi negatif	Toplam
PCR pozitif	30	8	38 (%61)*
PCR negatif	0	24	24 (%39)
Toplam	30 (%48)*	32 (%52)	62 (%100)

*p< 0.01

Tablo 5. Kültür sonuçlarına göre direkt mikroskopi ve PCR sonuçlarının tanısal değerleri.

	Direkt mikroskopi	PCR
Sensitivite (%)	90.9	100
Spesifite (%)	100	82.7
Güvenilirlik (%)	95.1	91.9
PPV (%)	100	86.8
NPV (%)	90.6	100

150-200 bin civarında hasta olduğu tahmin edilmiştir (4).

Günümüzde akciğer tüberkülozunun tanısı solunum yolu numunelerinin direkt mikroskopisi ve kültürü ile yapılmaktadır. Her ne kadar akciğer tüberkülozlu hastaların %50-60'ında direkt mikroskopi'de ARB'nin varlığı ile kuvvetle muhtemel tanı konulabilmekteyse de, kültür ile *M. tuberculosis*'in identifikasyonu teyid edilmelidir. Kültür için geleneksel solid vasatların kullanılmasında sonuçlar 4-8 haftada elde edilmektedir. Mikobakterilerin gelişiminin tespiti için radyometrik sistemin kombine kullanılmasında dahi hala 10-20 güne ihtiyaç vardır. Direkt mikroskopinin sensitivitesinin düşük olmasından dolayı klinisyenler bir hastayı kültür sonucu rapor edilinceye kadar tüberkülozlu olarak tanımlamaya bilirler. Dolayısıyla ilaç tedavisine başlamadaki gecikme *M. tuberculosis*'in başkalarına bulaşmasına neden olduğu gibi, hastalığın ilerlemesine de neden olmaktadır. Böyle durumlarda *M. tuberculosis*'in PCR ile hızlı tespit edilmesi anti tüberküloz tedavinin erkenden başlanmasına ve temaslıların araştırılmasına olanak sağlayacaktır (1,5,6).

Çalışmamızda 62 hastanın 33'ünde (%53.2) *M. tuberculosis* kültürde üretilbildi. Bunların 30'unda (%90.9) direkt mikroskopi de pozitif.

PCR ise kültür ve direkt mikroskopi pozitif olan olguların hepsinde pozitif olup ilaveten kültür ve direkt mikroskopi negatif olan 29 olgunun 5'inde de pozitif. Böylece direkt yayma, 62 hastanın 30'unda (%48.4) pozitif iken, PCR 38'inde (%61.2) pozitif bulundu ($p < 0.01$). Kültür negatif, PCR pozitif 5 olgunun 3'ü daha önce antitüberküloz tedavi başlanan hastalardan, 2'si de düzensiz tedavi görmüş son 6 aydır tedavi görmeyen kronik olgulardandı. Bu durum, tedavi altında mikroorganizmanın yaşama kabiliyetinin azalması nedeni ile kültürde üreyemediği halde PCR ile tespit edilebileceğini düşündürdü. Kültür sonuçları ile karşılaştırılan PCR yönteminin sensitivitesi %100, spesifitesi %82.7, güvenilirliği %91.9, PPV ve NPV değerleri sırasıyla %86.8 ve %100 olarak saptandı. Direkt mikroskopi yönteminin ise sensitivitesi %90.9, spesifitesi %100, güvenilirliği %95.1, PPV ve NPV değerleri sırasıyla %100 ve %90.6 olarak saptandı.

Nolte ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 313 balgam numunesinin 124'ünde klasik metodlarla *Mycobacterium tuberculosis*'i pozitif olarak bulmuş, bu numunelerin 113'ünde (%91) ise PCR'ı pozitif olarak saptamışlardır. Direkt mikroskopisi pozitif olan 110 numunenin 105'inde (%95) ve direkt mikroskopisi negatif olan 14 numunenin 8'inde (%57) PCR'ı pozitif olarak bulmuşlardır. PCR ile yalancı pozitif sonuçlar tespit etmemişler, dolayısıyla PCR'ın spesifitesini %100 olarak saptamışlardır (7). Çalışmamızda kültür negatif, PCR pozitif olan 5 olgu yalancı negatif olarak değerlendirildiği için PCR'ın spesifitesi %82.7 olarak bulunmuştur.

Savic ve arkadaşları 145 balgam numunesinin 38'inde kültürde üreme tespit etmişler ve kültür sonuçları ile direkt mikroskopi ve PCR'ı karşılaştırdıklarında sırası ile sensitivitesini %66 ve %95, spesifitesini de %100 ve %93 olarak saptamışlardır (8).

Yoon ve arkadaşları aktif tüberkülozlu hastalara ait 63 kültür pozitif numunenin 59'unda (%93.7) ve 46 kültür negatif numunenin de 29'unda (%63) PCR'ı pozitif olarak bulmuşlardır. Bu arada inaktif tüberkülozlu hastalara ait 41 örneğin 16'sında da (%39) PCR'ı pozitif olarak saptadıklarını bildirmişlerdir (9).

Chin ve arkadaşları yeni veya yetersiz tedavi almış akciğer tüberkülozlu 227 hastadan alınmış 535 numunede pozitiflik oranını PCR için %58, kültür içinse %59 olarak saptamışlar ve ikisi arasında istatistiksel fark olmadığını belirtmişlerdir. Direkt mikroskopinin pozitiflik oranını ise %22 olarak bulmuşlardır. Ayrıca direkt mikroskopisi negatif olan numunelerdeki PCR ve kültürün pozitiflik oranını da sırasıyla %46 ve %43 olarak tespit etmişlerdir (5).

Rylski ve arkadaşları 30 tüberküloz, 30 nontüberküloz hastadan elde ettikleri balgam numunelerinde PCR ve klasik yöntemleri karşılaştırmışlar ve PCR'ın spesifitesini %100 olarak saptamışlardır (10).

Kocagöz ve arkadaşları toplam 78 balgam numunesinde yaptıkları çalışmada; direkt mikroskopinin sensitivitesini %68, spesifitesini %100, PPV ve NPV değerlerini sırasıyla %100 ve %70, kültür sensitivitesini %76, spesifitesini %100, PPV ve NPV değerlerini sırasıyla %100 ve %76, PCR'ın sensitivitesini %87, spesifitesini %96, PPV ve NPV değerlerini sırasıyla %97 ve %84 olarak bulmuşlardır. Direkt mikroskopi negatif, kültür pozitif hastalarda PCR ile bakteriyolojik tanının 4-8 hafta daha erken konulabileceğini, direkt mikroskopi ve kültürü negatif hastalarda ise bakteriyolojik tanı için tek yöntem olduğunu vurgulamışlardır (6).

Zhuang ve arkadaşları 54 akciğer tüberkülozu ve 12 nontüberküloz akciğer hastalığı olan toplam 66 hastanın balgam numunelerinde klasik yöntemlerle PCR'ın sensitivitesini karşılaştırmışlar, sırasıyla PCR, kültür ve direkt mikroskopinin sensitivite oranlarını %37, %14.8 ve %16.7 olarak bulmuşlardır. Nontüberküloz akciğer hastalıklarında ise sonuçları negatif olarak saptamışlar ve PCR'ın akciğer tüberkülozunun hızlı tanısında, spesifik ve sensitif bir metod olduğunu vurgulamışlardır (11).

Moore ve arkadaşları tüberkülozlu hastaların balgam numunelerinde PCR ve kültürün spesifitesini sırasıyla %99.6 ve %100 olarak sensitivitesini sırasıyla %85 ve %87 olarak saptamışlar PCR ile 10 saat gibi kısa bir sürede sonuç alabilmenin avantajını vurgulamışlardır (12).

Hashimoto ve arkadaşları 70 balgam numunesinde yaptıkları çalışmada; direkt mikroskopi ve tüberküloz kültürü pozitif 13 olgunun tümünde, direkt mikroskopi negatif iken tüberküloz kültürü pozitif olan 8 olgunun 5'inde, direkt mikroskopi ve tüberküloz kültürü negatif olan 49 olgunun 1'inde PCR'ı pozitif olarak bulmuşlardır. Sonuç olarak PCR'ın sensitivitesini %85.7, spesifitesini ise %98 olarak saptamışlardır (13).

Begie ve arkadaşları 49 akciğer tüberkülozlu hastanın balgam numunelerinin 48'inde PCR'ı pozitif olarak tespit etmişler ve PCR'ın sensitivitesini %98 olarak saptamışlardır (14).

Sonuç olarak PCR tekniğinin solunum yollarındaki *Mycobacterium tuberculosis*'in tespitinde hızlı ve sensitif bir metod olduğu kanısına varılmıştır. Özellikle direkt mikroskopi negatif, muhtemelen kültürü pozitif çıkacak olgularda tanıda kültüre nazaran 4-8 hafta gibi bir zaman kazandırması, muhtemelen kültürü negatif çıkacak olgularda ise bakteriyolojik kesin tanı yöntemi olması gibi avantajları sözkonusudur. Ancak oldukça pahalı ve karmaşık bir yöntem olması, ölü ve canlı basili ayırtedememesi, bu konuda yetişmiş personele ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları da vardır.

KAYNAKLAR

1. Andersen AB, Thybo S, Faussett PG, Stoker NG. Polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 922-7.
2. Kikuchi Y, Oka S, Kimura S, et al. Clinical application of the polymerase chain reaction for a rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Intern Med* 1992; 31(8): 1016-22.
3. Özdemir Ö. Tüberkülozda Tanı Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi Tüberküloz Özel Sayısı* 1994; 14(6): 420-4.
4. Çelenk M. Tüberküloz Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi Tüberküloz Özel Sayısı* 1994; 14(6): 391-404.

5. Chin DP, Yajko DM, Hadley WK, et al. Clinical utility of a commercial test based on the polymerase chain reaction for detecting mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1872-7.
6. Kocagöz T, Yılmaz E, Özkara Ş, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum samples by polymerase chain reaction using a simplified procedure. *J Clin Microbiol* 1993; 31(6): 1435-8.
7. Nolte FS, Metchock B, Mc Gowan JE, et al. Direct detection of Mycobacterium tuberculosis in Sputum by polymerase chain reaction and DNA hybridization. *J Clin Microbiol* 1993; 31(7): 1777-82.
8. Savic B, Sjöbring U, Alugupalli S, et al. Evaluation of polymerase chain reaction, tuberculostearic acid analysis, and direct microscopy for the detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum. *J Infec Dis* 1992; 166: 1177-80.
9. Yoon KH, Cho SN, Lee TY, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples from patients with tuberculosis or other pulmonary diseases by Polymerase Chain Reaction. *Yonsei Med J* 1992; 33(3): 209-16.
10. Ryłski M, Lubinski J. Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infections using PCR methods. *Pneumonol Alergol Pol* 1995; 63(1-2): 8-13.
11. Zhuang Y, Wu X, Zhang X, Li G. Detection of Mycobacterium tuberculosis in sputum specimens of pulmonary tuberculosis by DNA amplification. *Wei Sheng Wu Hsueh Pao* 1992; 32(5): 364-9.
12. Moore DF, Curry JI. Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis directly from sputum sediments by Amplicor PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(10): 2686-91.
13. Hashimoto T, Suzuki K, Amitani R, Kuze F. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in sputa by the amplification of IS6110. *Intern Med* 1995; 34(7): 605-10.
14. Beige J, Lokies J, Schaberg T, et al. Clinical evaluation of a Mycobacterium tuberculosis PCR assay. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 90-5.

Yazışma Adresi:

Dr. Mehmet Hamdi MUZ
Fırat Üniversitesi Lojmanları
R-13 Blok No: 7
ELAZIĞ