



8. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu

06-07 Haziran 2024, ANKARA

Sempozyum Kitapçığı



İÇİNDEKİLER

Başkanın Mesajı	1
Sempozyum Düzenleme Kurulu	2
Sempozyum Bilim Kurulu	3
Bilimsel Program	4
Konuşmacı Listesi	6
Konuşma Özetleri	7
Sözlü Bildiri Özetleri	75
Poster Bildiri Özetleri	92
Yazar İndeksi	110



Değerli Meslektaşlarımız,

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Mikobakteri Çalışma Grubu tüberküloz başta olmak üzere mikobakteriyel hastalıklarla mücadelede bilimsel toplantılarla farkındalık oluşturmak ve mikrobiyolojik tanıdaki gelişmeleri yakından takip ederek bu konuda çalışan meslektaşlarımız arasındaki iletişimi ve bilgi paylaşımını arttırmak amacıyla kurulmuştur.

Bu yıl sekizincisini düzenlediğimiz Mikobakteri Sempozyumunu, T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı Tüberküloz Referans Laboratuvarı işbirliği ile 6-7 Haziran 2024 tarihleri arasında İstiklal mücadelesinin karargâhı, genç cumhuriyetimizin başkenti Ankara'da ve yoktan var edilen bir sağlık ordusuyla koruyucu sağlık hizmetlerini geliştirerek verem, sıtma, tifüs, trahom, su ve besinlerle bulaşan hastalıklar ile mücadelede gurur verici başarılar kazanılmasını sağlayan Türkiye Cumhuriyeti sağlık hizmetlerinin kalbi "Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı" bu günkü adıyla Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü "Necmettin ALKIŞ" Toplantı Salonunda gerçekleştirdik.

Etkinliğin alanında deneyimli konuşmacıları, araştırmacıları, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü yetkililerini ve sektör temsilcilerini bir araya getiren, tüberküloz ve tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonlarının tanı ve tedavisindeki yeniliklerin ve çalışmaların ulusal ve uluslararası düzeyde tartışıldığı verimli ve bilimsel anlamda doyurucu bir sempozyum olduğunu düşünüyoruz.

Sempozyumun başarısında katkısı olan başta katılımcılar olmak üzere, konuşmacılara, sözlü ve poster bildirisi sahibi araştırmacılara, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü'ne ve sektör temsilcilerine teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Prof. Dr. Nuri ÖZKÜTÜK

TMC Mikobakteri Çalışma Grubu Başkanı

Düzenleme Kurulu

Sempozyum Başkanları

Gönül ASLAN

Nuri ÖZKÜTÜK

Sempozyum Sekreterleri

Ahmet ARSLANTÜRK

M. Begüm KAYAR

Üyeler

Ali ALBAY

Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Nuran ESEN

Aydan ÖZKÜTÜK

Banu SANCAK

Hülya ŞİMŞEK

Nilay UÇARMAN

Bilim Kurulu

Filiz DUYAR AĞCA

Işın AKYAR

Aylin BABALIK

Orhan BAYLAN

Can BİÇMEN

Taylan BOZOK

Tülay BULUT

İsmail CEYHAN

Cengiz ÇAVUŞOĞLU

Ahmet YILMAZ ÇOBAN

Deniz GAZEL

Burcu GÜRER GİRAY

J. Sedef GÖÇMEN

Tekin KARSLIĞIL

Özgül KISA

Tanıl KOCAGÖZ

Barış OTLU

Süha ÖZKAN

Şeref ÖZKARA

Derya ÖZTOMURCUK

Zeynep SARIBAŞ

Asiye İNAN SÜER

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU

Dilek ŞATANA

Gülnur TARHAN

Sempozyumu Bilimsel Programı

6 Haziran 2024

09:00 – 09:30	Kayıt ve Açılış	
09:30-10:00	KONFERANS:	
	Oturum Başkanı: Candan ÇİÇEK	<i>Edibe Nurzen NAMLI BOZKURT</i>
	Türkiye’de ve Dünya’da Tüberküloz Sorunu ve Ulusal Kontrol Programı	<i>Emine AVCI</i>
10:00 – 11:00	PANEL: Tüberküloz immünolojisi ve bağışıklama	
	Oturum Başkanı: Tanıl KOCAGÖZ	
	Tüberkülozda Konak patojen etkileşimi ve bağışıklık	<i>Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI</i>
	Bağışıklamada yeni aşı çalışmaları ve hedefler	<i>Orhan BAYLAN</i>
	Sözel Bildiri (SS-01)	
11:00-11:30	Kahve Arası	
11:30 – 12:45	PANEL: Tüberküloz Tanısı	
	Oturum Başkanı: Fatih KÖKSAL	
	Akciğer Tüberkülozunun Mikrobiyolojik Tanısı	<i>Hülya ŞİMŞEK</i>
	Moleküler Hızlı Tanı Testleri	<i>Görkem YAMAN</i>
	TB tanı ve duyarlılık testlerinde BD Çözümleri (Becton Dickinson katkıları ile)	<i>Duygu Çelik</i>
	Sözel Bildiri (SS-02)	
12:45-13:45	Öğle Yemeği	
	Sözel Bildiriler (SS-03, SS-04, SS-05, SS-06)	
13:45-14.30	UYDU PANEL (Ant medikal katkıları ile)	
	Oturum Başkanı: Banu SANCAK	
	Cepheid Xpert®MTB/XDR Simplifying TB drug resistance testing	<i>MSC. Maria Terry</i>
	Sözel Bildiri (SS-07)	
14.30-15:30	PANEL: Olgular Eşliğinde Tüberküloz Tanısı Zor Olan Klinik Durumla	
	Oturum Başkanı: Süheyla SÜRÜCÜOĞLU	
	Akciğer Dışı Tüberkülozun Mikrobiyolojik Tanısı	<i>Gönül ASLAN</i>
	Pediyatrik Tüberküloz Tanısı	<i>Ergin ÇİFTÇİ</i>
	TB tanı ve duyarlılık testlerinde Bioneer çözümleri (Stargen katkıları ile)	<i>Ali Aytaç EMECEN</i>
	Sözel Bildiri (SS-08)	
15:30-16:00	Kahve Arası	
16:00-17:30	PANEL: Tüberkülozda İlaç Direnci Sorunu	
	Oturum Başkanı: Ali ALBAY	
	Antitüberküloz ajanlar ve direnç mekanizmaları	<i>Gölnur TARHAN</i>
	İlaç Direncinin tanısında yenilikle	<i>Khaoula BALGOUTHİ</i>
	Türkiye’de ve Dünya’da Dirençli tüberkülozun durumu ve tedavide sorunlar	<i>Şeref ÖZKARA</i>
	Sözel Bildiriler (SS-09, SS-10)	

7 Haziran 2024

- 09:00-10:30 PANEL: Latent Tüberküloz Enfeksiyonu (Qiagen katkıları ile)
Oturum Başkanı: Nuran ESEN, Özgül KISA
Tüberküloz Patogenezi *Nuran ESEN*
LTBE Tanısı *Deniz GAZEL*
LTBE Tanısında Umut Vadeden Testler ve Biyobelirteçler *Begüm KAYAR*
Sözel Bildiriler (SS-11, SS-12, SS-13)
- 10:30-11:00 Kahve Arası
- 11:00-12:30 PANEL: Tüberküloz Dışı Mikobakteriler
Oturum Başkanı: Nuri ÖZKÜTÜK
Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Klinik Önemi ve Klinik Tanı Algoritması *Ediz TÛTÛNCÛ*
Tüberküloz Dışı Mikobakteri Tanısında Yeni Gelişmeler *Leyla ERSOY*
Tüberküloz Dışı Mikobakterilerde Direnç sorunu ve Duyarlılık testleri *Sedat VEZİR*
Sözel Bildiri (SS-14)
- 12:30-13.15 Öğle Yemeği
- 13.15-14.15 UYDU PANEL (Euroimmun katkıları ile)
Oturum Başkanı: Görkem YAMAN
Advanced Tuberculosis Diagnostics : T-SPOT. TB and Automation solutions *Anona BAMFORD*
- 14:15 – 15:45 PANEL: Tüberküloz Tanı Laboratuvarları
Oturum Başkanı: Ahmet ASLANTÛRK – Köksal HAMZAOĞLU
Ulusal Tüberküloz Laboratuvarları Ağı ve Standardizasyonu *Nilay UÇARMAN*
Türkiye’de Tüberküloz Laboratuvarları, Sorunlar ve hedefler *Ahmet ASLANTÛRK*
Tüberküloz Laboratuvarlarında Kalite Kontrol ve iyi laboratuvar Uygulamaları *Aydan ÖZKÛTÛK*
Sözel Bildiri (SS-15)
- 15:45-16:15 Kahve Arası
- 16:15-17:45 PANEL: Tüberküloz Epidemiyolojisi
Oturum Başkanı: Sedef GÖÇMEN
Moleküler Epidemiyolojik Yöntemlerde Gelişmeler *Gülfer YAKICI*
Tüberkülozda Tüm Genom Diziliminin Uygulanması *Taylan BOZOK*
Türkiye’de ve Dünyada Tüberküloz Epidemiyolojisindeki Değişimler *Burcu GÛRER GİRAY*
Sözel Bildiri (SS-16)
- 17.45-18.15 KAPANIŞ

Konuşmacı Listesi

Ahmet ASLANTÜRK
Anona BAMFORD
Aydan ÖZKÜTÜK
Begüm KAYAR
Burcu Gürer GİRAY
Deniz GAZEL
Duygu ÇELİK
Edibe Nurzen NAMLI BOZKURT
Ediz TÜTÜNCÜ
Emine AVCI
Ergin ÇİFTÇİ
Gönül ASLAN
Görkem YAMAN
Gülfer YAKICI
Gölnur TARHAN
Hülya ŞİMŞEK
Khaoula BALGOUTHİ
Leyla ERSOY
Maria TERRY
Nilay UÇARMAN
Nuran ESEN
Orhan BAYLAN
Sedat VEZİR
Şeref ÖZKARA
Taylan BOZOK
Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI

**Konuşmacı listesi alfabetik isim sırasına göre düzenlenmiştir*

Konuşma Metinleri

KM1. Tüberkülozda Konak-Patojen Etkileşimi Ve Bağışıklık

Dr. Yeliz TANRIVERDİ

İnsanlık yüzyıllardır tüberküloz (TB) ile mücadele etmektedir, TB bulaşıcı bir bakteriyel hastalıktır ve dünya çapında ölümlerin ana nedenlerinden biri olarak konumlanmıştır. Bu enfeksiyona temel olarak MTB kompleksinde bulunan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) basili neden olur; esas olarak aktif tüberküloz hastasından dışarı atılan infekte aerosoller yoluyla bulaşır. Hastalığın ilerlemesini yavaşlatmaya yönelik çabalar; epidemiyoloji, risk faktörleri, immün yanıt, tüberküloz patofizyolojisi, tüm enfeksiyon türleri için yeni tanı ve tedavi araçları ve hastalığın kendisi ile ilgili alanlardaki çalışmaları içermektedir (Furin ve ark. 2019).

Klasik yaklaşıma göre TB öncelikli olarak bir akciğer hastalığı olarak kabul edilmiştir; ancak MTB, başlangıçtaki enfeksiyon kaynağından farklı yollarla yayılabilir ve akciğer dışında diğer organlarında etkili olabilir.

MTB, inhale edildikten sonra, hava yolu epitel hücreleri (AEC) ve fagositik hücrelerden (nötrofiller (N), monositler (M) ve dendritik hücreler (DC) oluşan) ilk bağışıklık savunma hattıyla karşı karşıya kalır. Savunma hattı MTB'yi hızla ortadan kaldırmayı başarır, aksi takdirde fagositler enfekte olur ve MTB fagositler içinde çoğalır.

MTB ile enfekte kişilerin çoğu, enfeksiyonu müdahale olmaksızın kontrol eder; bu tür klinik olarak aktif olmayan enfeksiyon aşamasına latent TB denmektedir; latent enfeksiyona sahip olanların küçük bir yüzdesi, birincil enfeksiyondan yıllar veya on yıllar sonra aktif TB aşamasına ilerleme ihtimaline sahiptir.

Tüberküloza Karşı İmmün Yanıt

Mikobakteriler solunum yolu yoluyla konakçının vücuduna girdiğinde bağışıklık sistemi tarafından algılanırlar ve bu üç sonuca yol açabilir. Doğal bağışıklığa bağlı olarak; kompleman faktörleri mikobakterilere bağlanabilir ve mikroorganizmaların parçalanmasına yol açan bir gözenek oluşturabilir; nötrofiller (N), makrofajlar ($M\phi$) ve dendritik hücreler (DC) gibi hücreler ise mikobakterileri fagosite ederek enfeksiyonu kontrol etmeye çalışır ve dolayısıyla, antijen sunumu gerçekleşir. Böylece, B-lenfositleri (BL) tarafından sitokin üretiminin yanı sıra, mikroorganizmayı hedef alan farklı efektör fonksiyonlara sahip olan MTB'ye özgü antikorların (Ab) üretildiği adaptif bir bağışıklık tepkisi indüklenir. Bu tür Ab üretimine genellikle BL'yi Ab üreten plazma hücrelerine dönüştüren CD4+T lenfositleri (TL) aracılık eder. CD4+TL hücreleri ayrıca enfekte olmuş hücrelerdeki mikobakterilerin hücre içi olarak yok edilmesine yardımcı olurken, sitotoksik hücreler (CD8+TL) tüberküloz basili taşıyan hücreleri doğrudan yok eder. Adaptif bağışıklığın rolü dikkate değerdir; böyle bir kavram, bağışıklık sistemi hücrelerinin ve Ab'lerin, başlangıçtaki bağışıklık reaksiyonuna yol açanlara benzer veya farklı patojenlere saldırmak üzere önceden eğitilmiş olduklarını ileri sürer. Bununla birlikte, MTB, alveoler epitel hücrelerini (AEH) ve nötrofilleri (N) manipüle etmenin yanı sıra, bir niş oluşturup çoğalabileceği $M\phi$ gibi hücreleri manipüle ederek bir konağın bağışıklık tepkisine karşı farklı kaçınma mekanizmaları geliştirmiştir. Aynı zamanda fagolizozom oluşumunun gerekli olduğu ve MTB'nin yok edilmesi gereken antijen işleme ve sunumundan da kaçınır, ancak MTB bunu önler veya tolere eder. Antijen sunumunun olmaması, lenfosit aracılı bir bağışıklık tepkisini, özellikle de T aracılı bir yanıtı etkiler. Granülom oluşumu MTB'yi içerecek ve ortadan kaldıracak şekilde tasarlanmıştır; bu, patojen tarafından diğer konakçı hücrelerde kolonileşmeyi beklerken latent

durumda kalmak için kullanılır. MTB, PE-PGRS proteinlerini kodlayan genlere sahiptir, böylece bir konakçıda hayatta kalmasını ve yanıtını olumlu şekilde immünomodülasyonunu sağlar. Dolayısıyla, eğer bir konağın bağışıklık tepkisi yetersizse ve/veya MTB bunu doğru bir şekilde atlatabiliyorsa, bu tür bir enfeksiyon aktif tüberkülozla, sonlanır.

Doğal İmmun Yanıt

Bir MTB'i aktif TB'si olan hastadan ortama salınan bronş ağaçlarına ulaşan ve daha sonra solunum mukozası ile temas ettiği mikrodamları soluduğunda konakçıya girer; solunum yolları, antimikobakteriyel peptitler, immünooglobulinler, sitokinler ve kemokinler içeren hava yolu yüzey sıvısı (ASL) ile kaplanmıştır. Mikroorganizma solunum mukozasından kaçabilir ve tip II epitel hücreleri (AEHII), makrofajlar (MA) ve dendritik hücrelerden (DH) oluşan alveollere ulaşabilir. Doğal öldürücü (NK) hücreler, IL-2 kaynaklı degranülasyon ve IFN- γ gibi sitokin sinyali yoluyla hücre sitotoksitesine aracılık eder. Doğal bağışıklık tepkisine, MTB enfeksiyonunu kontrol eden sitokinler üreten nötrofiller (N) aracılık eder. Monositler (MO), basilin kaçışını teşvik eden apoptotik cisimcikler (apoptoz) üreten makrofajlara (M ϕ) farklılaşırken, diğer makrofajlar basili fagositoze edip enfeksiyonu kontrol eder.

Mikroorganizma solunum yolu mukozasından kaçabilir ve Mtb hücre duvarını etkileyen hidrolazlar gibi yüzey aktif madde antimikrobiyal maddeler üreten tip II epitelyal hücreleri (AECII) içeren alveollere ulaşabilir. Doğal Öldürücü hücreler (NK) damar dışına taşar; bunlar, IL-2 tarafından indüklenen degranülasyon ve IFN- γ gibi sitokin sinyalleme (IL-12 tarafından indüklenen) yoluyla hücre sitotoksitesine aracılık eder. IL-12 ile aktive olan NK hücrelerinin, MTB ve Mycobacterium avium büyümesini inhibe edebildiği ve ayrıca antijenlere maruz kalarak hafızayı geliştirebildiği, böylece doğuştan gelen ve adaptif tepkiler arasında bir köprü kurabildiği gösterilmiştir (Denis 1994; Bermudez ve ark. 1995; Garand ve ark. 1995). Ayrıca NK hücrelerinin MTB ile enfekte hücrelerin yok edilmesine ve etkili sitotoksik CD8+ lenfosit fonksiyonunun artmasına doğrudan katkıda bulunduğu gösterilmiş olup, bazı raporlarda aktif TB'si olan kişilerde bu tür hücrelerin fonksiyonunun azaldığı belirtilmektedir (Vankayalapati ve Barnes 2009). NK hücreleri, Mtb ile enfekte alveoler monositleri ve makrofajları (AM) lize eder, mikobakteriyel hücre içi büyümeyi inhibe eden ve sitokinler gibi çözünebilir faktörler için reseptörleri eksprese eden IL-22'yi üretir (Paidipally ve ark. 2018). NK hücreleri, sağlıklı donörler enfekte olduğunda monositleri parçalayarak Mtb'nin hücre içi büyümesini azaltır (Liu ve ark. 2017). Nötrofiller ayrıca mikobakteriyel enfeksiyonun kontrolünde rol oynayan IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17, TNF-a, IFN- γ ve IL-22 üretimine katılan solunum yolu mukozasına da ekstrasözölür. Apoptoz yoluyla nötrofil ölümü yoluyla enfeksiyon kontrolü rapor edilmiştir. DH'ler mikobakteriyel antijenin daha fazla lenfosit sunulması için lenf düğümlerine göç eder; ancak polimorfonükleer hücreler fagositoz yoluyla Mtb'yi temizleyemeyebilir, bu da doku enflamasyonunun ve hasarının şiddetlenmesine yol açabilir (Dallenga ve Schaible 2016; Warren ve ark. 2017). Basilin alveolar makrofaj (AM) tarafından tanınması, periferik kandaki monositlerin enfeksiyon bölgesine göçünü ve bunların M ϕ 'ye farklılaşmasını düzenler; M ϕ fagositozlu basiller fagolizozomda ölebilir. Enfekte M ϕ 'nin apoptozu başlatıldığında basiller apoptotik cisimciklerden kaçabilir ve lezyon bölgesine göç eden yeni M ϕ tarafından fagosite edilir, böylece mikroorganizmaların çoğalması için yeni bir niş kolaylaşır. Apoptotik veziküller aynı zamanda DC'ler ve sitotoksik CD8+TL'ye sunulan HLA-I lokus bozunma ürünleri tarafından fagosite edilerek çapraz sunumu da kolaylaştırır. Bunlar, mikobakterileri ortadan kaldırmak için IFN- γ aracılığıyla aktivasyonlarına katkıda bulunmanın yanı sıra enfekte M ϕ 'nin parçalanmasını indükleyebilen hafıza ve efektör hücrelerin üretildiği göz önüne alındığında, Mtb'ye karşı koruyucu bağışıklık açısından önemli efektörlerdir (Winau ve ark. 2006).

Adaptif Bağışıklık

Uyarlanabilir bir bağışıklık tepkisine HLA-II-peptid-TCR etkileşimi aracılık eder ve efektör hafıza CD4+TL'nin gelişimini sağlar. Th1-TL, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aracılı bakterisidal aktiviteyi indükleyerek HLA-II ekspresyonunu artırır, apoptozu ve otofajiyi teşvik eder. MTB enfeksiyonu, Mφ aktivasyonu ile ilişkili sitokinlerin üretimini indükleyen Th2 lenfositlerine yol açar, Th17, IL-17 (Th1 profiline sahip hücrelerin toplanmasında rol oynayan) ve düzenleyici T hücrelerini (Treg) üretir. Mtb enfeksiyonunun kontrolünü inhibe ederek aktif TB'si olan kişilerde IFN- γ üretimini azaltır.

Lenfositler

TCR, MTB antijenlerini tanır ve MTB enfeksiyonuna karşı koymak için önemli granüller üretir ve IFN- γ seviyesini azaltan MAIT hücreleri de mevcuttur.

Humoral İmmün Yanıt

Ancak mikobakteriyellerin hedef konakçıya girişi hem humoral hem de hücrel tepkilere neden olur. Bunda B-lenfosit katılımı gözden geçirilmiştir. Bu hücreler hakkında üç ana gerçek rapor edilmiştir. Mtb antijenine özgü Ab transferi, konakçının enfeksiyonunu kontrol etmesine yardımcı olur (Li ve ark. 2017), Mtb'yi hedefleyen Abs (enfeksiyona karşı daha düşük duyarlılıkla ilişkilidir) ve Ab veya B lenfosit üretimi konusunda eksikliği olan konakçılarda TB gelişimi kolaylaştırılır (Casadevall 2004).

Kaynaklar

1. Bermudez L., Wu M., Young L.S. (1995). Interleukin-12-stimulated natural killer cells can activate human macrophages to inhibit growth of *Mycobacterium avium*. *Infect Immun* 63(10):4099–4104.
2. Casadevall A. (2004). The methodology for determining the efficacy of antibody-mediated immunity. *J Immunol Methods* 291(1–2):1–10.
3. Dallenga T., Schaible U.E. (2016) Neutrophils in tuberculosis—first line of defence or booster of disease and targets for host-directed therapy? *Pathog Dis.* <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw012>
4. Denis M. (1994) Interleukin-12 (IL-12) augments cytolytic activity of natural killer T-cells toward *Mycobacterium tuberculosis* infected human monocytes. *Cell Immunol* 156(2):529–536.
5. Furin J., Cox H., Pai M. (2019) Tuberculosis. *The Lancet* 393(10181):1642–1656.
6. Garand M., Goodier M., Owolabi O., Donkor S., Kampmann B., Sutherland J.S. (2018) Functional and phenotypic changes of natural killer cells in whole blood during *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease. *Front Immunol* 9:257.
7. Li H., Wang X.X., Wang B., Fu L., Liu G., Lu Y., Cao M., Huang H., Javid B. (2017) Latently and uninfected healthcare workers exposed to TB make protective antibodies against *Mycobacterium tuberculosis*.
8. Liu C.H., Liu H., Ge B. (2017) Innate immunity in tuberculosis: host defense vs pathogen evasion. *Cell Mol Immunol* 14(12):963–975.
9. Paidipally P., Tripathi D., Van A., Radhakrishnan R.K., Dhiman R., Venkatasubramanian S., Devalraju K.P., Tvinnereim A.R., Valluri V.L., Vankayalapati R (2018) Interleukin-21 regulates natural killer cell responses during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Infect Dis* 217(8):1323–1333.
10. Vankayalapati R., Barnes P.F. (2009) Innate and adaptive immune responses to human *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Tuberculosis* 89:S77–S80.
11. Warren E., Teskey G., Venketaraman V. (2017) Effector mechanisms of neutrophils within the innate immune system in response *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Clin Med* 6(2):15–20.
12. Winau F., Weber S., Sad S., de Diego J., Hoops S.L., Breiden B., Sandhoff K., Brinkmann V., Kaufmann S.H.E., Schaible U.E. (2006) Apoptotic vesicles crossprime CD8 T cells and protect against tuberculosis. *Immunity* 24(1):105–117.

KM2. Başıklamada Yeni Aşı Çalışmaları ve Hedefler**Dr. Orhan BAYLAN**

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), “Tüberküloza Son [Stop TB]” stratejisi kapsamında, 2015 yılı ile kıyas edildiğinde 2035 yılına kadar tüberküloz (TB) insidansında %90 ve TB kaynaklı ölümlerde %95 azalmayı, 2050 yılına kadar ise TB’yi tamamen ortadan kaldırmayı amaçlayan iddialı hedefler belirlemiştir (1-5). DSÖ'nün 2050 yılına kadar TB'nin eliminasyonu hedefine ulaşabilmesi için, TB insidansının yılda <1/1.000.000 olgu olması gerekmektedir. Yakın zamana kadar bu hedefin gerçekleşmesinde ancak erken tanı almış ve aktif TB hastalığı olan kişilerin etkin bir şekilde tedavi edilmesi gerektiğine inanılmış iken artık bu inancın hedefe ulaşmada ne yazık ki yeterli olmadığı anlaşılmıştır. DSÖ'nün de belirttiği gibi, mevcut Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısından daha iyi özelliklere sahip etkili ve güvenilir yeni bir TB aşısı olmadan hastalığın yayılmasının durdurulması ve küresel acil TB sorununa çare bulunması mümkün gözükmemektedir. Bu nedenle, günümüzde özellikle temas öncesi olmak üzere temas sonrası ve hastalığın tedavisi amaçlı etkin aşılama programları daha da önem kazanmıştır. İnsanları her türlü TB formundan koruyan etkilive güvenli bir TB aşısı ile aşılama, hem maliyet etkin olacak hem de TB’yi küresel bir sağlık sorunu olmaktan çıkaracaktır. Son yirmi yılda, BCG aşısını geliştirmek veya yerine daha etkili ve güvenilir bir aşı koymak için çeşitli stratejiler denenmiş ve birçok aşı teknolojisi test edilmiştir (1-8).

Bir aşının geliştirilebilmesi, ancak mikroorganizmanın koruyucu immün yanıtı uyarabilme kapasitesinde olan antijenik bileşenlerinin tanımlanmasıyla başlayabilir. TB’de hem patojenin genomunun ve yapısının hem de buna karşı gelişen konak immün yanıtının oldukça karmaşık olması, etkili ve güvenilir bir aşı geliştirmeyi zorlaştırmaktadır (1,3). TB enfeksiyonu ve hastalığının, asemptomatik evreden semptomatik evreye kadar değişen çok farklı formları vardır. Hastada enfekte akciğer lezyonları ile lenf nodülleri lezyonları eşzamanlı olmadan ve birbirlerinden bağımsız olarak gelişirler. Bu nedenle, aynı hastada bakteri yükü az olan kalsifiye granülomlarla birlikte bakteri yükü çok fazla olan kazeöz, nekrotik lezyonlara ait çeşitli evrelerde patolojiler görülebilir. Granülomlar içinde replikasyonu azalmış ve metabolizması yavaşlamış olan *M.tuberculosis* basillerinin devamlı bulunması, enfeksiyonun kronikleşmesi ile ilişkilidir (6,9).

TB hastalığında antijen araştırmalarının karmaşık olma nedenlerinden diğeri, bu enfeksiyonların kronik ve latent/persistan fazlara geçebilme özelliklerinin olmasıdır. İnsan vücudundaki mikobakteriler, farklı metabolik aktivite aşamalarında olan, dolayısıyla farklı antijenlerin eksprese edildiği bakterilerden oluşur. *M.tuberculosis* suşları, çoğu $\alpha\beta$ tip T hücre reseptörü (TCR) tarafından tanınan epitoplara içeren yaklaşık 4000 kadar protein eksprese etmektedirler. Antijenlere spesifik T hücre yanıtları incelendiğinde; enfeksiyon süresi boyunca yüksek düzeyde ve devamlı eksprese edilen “6 kDa erken sekretuar antijenik hedef” (ESAT-6) ile esas olarak

enfeksiyonun erken döneminde eksprese edilen “antijen 85B” (Ag85B) gibi antijenlerin farklı ekspresyon profilleri, oluşan immün yanıtın kalitesinde belirgin olarak etkinlik göstermektedir. Latent TB enfeksiyonu olan kişilere ESAT-6 içeren bir aşı uygulandığında, kişilerde sınırlı fonksiyonel kapasiteye sahip CD4+ (cluster of differentiation) T hücrelerinin arttığı gözlenmektedir. Bu sonuç, aşılarda latent TB enfeksiyonu olan kişilerde etkinliğinin az olduğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, enfeksiyonun veya hastalığın belirli evrelerinde devamlı antijenik uyarı olmasının, T hücre fonksiyonlarının etkinliğinde azalmaya yol açtığı saptanmıştır. Bu sonuç, latent TB enfeksiyonu veya aktif TB enfeksiyonu olan kişilere uygulanacak olan TB aşısının tasarlanmasında dikkate alınmalıdır. Dolayısıyla TB enfeksiyonu ve hastalığında mikobakteriler, dormant veya replike halde olabilirler, farklı metabolik aktivite aşamalarında bulunabilirler ve tüm bunlara bağlı olarak farklı antijenleri eksprese edebilirler. TB aşılarının geniş bir yelpazede immünite sağlayabilmeleri için, *M.tuberculosis*'in farklı metabolik evrelerinde eksprese edilen antijenleri mutlak içermeleri sağlanmalıdır. Aşılarda, TB basillerinin buldukları hayat döngülerindeki evrelerine göre eksprese ettikleri farklı antijenler esas alınmalıdır. TB için ideal aşı stratejisi, primer enfeksiyonun ve temas sonrası hastalığın engellenmesi, latent enfeksiyonun re-aktivasyonunun önlenmesi ve standart TB tedavisi ile birlikte immünoterapötik adjuvan etki ile hastanın iyileşmesini mümkün kılacak bileşenlerin de sağlanmasıdır (6,9-14). *M.tuberculosis*'in özellikle glikolipidler olmak üzere fazla miktarda lipid içeren hücre duvarı bileşenleri, CD1 aracılı antijen sunumu ile bilhassa T hücrelerini aktive ederler. Bu sabit yapılar da eksprese edilen antijenlerden farklı alternatif antijenler olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Mikolik asit, glikoz monomikolat, mannozil-fosfatidilinozitol temelli glikolipidler gibi çeşitli lipidler, gecikmiş tip hipersensitivite yanıtını uyandırabilirler ve mikobakteri enfeksiyonlarına karşı koruyucu immünitede rol oynarlar. İmmünojenitesi en güçlü olan lipidlerin tanımlanarak aşı üretimine dahil edilmesi önerilmektedir (6,10).

Yeni aşılarda, kolay uygulanabilir, ucuz ve güvenilir olmaları dışında, yeterince immünojen olmaları, tüberkülin reaktivitesine yol açmadan yenidoğan ve çocuklarda etkili immünite oluşturmaları, latent enfeksiyon, aktif hastalık, reenfeksiyon ve reaktivasyonda kullanılabilirliği, akciğer, akciğer dışı ve dissemine TB'yi önleyebilme kapasitelerinin bulunmaları, non-tüberküloz mikobakteriler (NTM'ler) ile enfekte bireylerde veya BCG ile aşılanlarda yeterli bağışıklık yanıtı oluşturabilmeleri, immün yetmezlikli ve malnütrisyonlu hastalarda güvenli bir şekilde kullanılabilirliği ve etkin olmaları gibi birçok özelliği taşımaları beklenmektedir. Dolayısıyla TB'de aşı geliştirmede; bireyin klinik durumu (latent enfeksiyon, aktif TB hastalığı), yaşı (yenidoğan, çocuk, adolesan, yetişkin), BCG aşı durumu, NTM enfeksiyonu geçirip geçirmediği, malnütrisyonlu olup olmadığı, immün durumu (immün süpresif, immün yeterli) gibi dikkate alınması gereken pek çok husus vardır. Ayrıca bazı deney hayvanlarında latent enfeksiyon gelişmesi, aşı çalışmalarında kısıtlılık oluşturmaktadır (6,8,13).

Yeni TB aşılarının araştırılmasında ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen, TB aşısı klinik deneylerinin zayıf sürdürülebilirliği, antijen epitop seçiminde zorluklar, hamile kadınların mevcut TB aşısı denemelerinden dışlanması, TB aşısı klinik deneylerinin son aşamalarının değerlendirilmesinde yaşanan tartışmalar, aşı adjuvanları ve dağıtım sistemlerindeki sınırlı seçenekler ve TB aşılarını, özellikle de epitop-bazlı aşıları değerlendirmek için uygun hayvan modellerinin eksikliği gibi bazı zorluklar devam etmektedir (14). Bütün bunlar nedeniyle TB'de aşı çalışmaları, yüksek maliyetli, yoğun emek gerektiren, çok zaman alıcı ve takibi yıllar boyu süren zorlu bir süreci gerektirmektedir (1,6,7).

M.tuberculosis'e karşı immün mekanizmalar, proteomiks, genetik ve moleküler biyolojiye ilişkin son yıllarda yaşanan ilerlemeler, daha güvenli ve daha etkili yeni TB aşılarının geliştirilmesini hızlandırmıştır. Biyoinformatik ve genom temelli yapılan çalışmalarda ve yapısal biyoloji alanında elde edilen önemli gelişmeler, mikroorganizmaların üretilmesine ve her bir antijenin saflaştırılmasına gerek kalmaksızın gelecek vaat eden aşı antijenlerinin in silico taramasına ve tanımlanmasına büyük katkı sağlamıştır. Bu şekilde teknolojilerin ilerlemesi ve aşı tasarım stratejilerinin daha rasyonel yapılması nedeniyle son yıllarda aşı çalışmalarında büyük ivme yakalanmış ve son derece aktif araştırmalar başlatılmıştır. Bu genom temelli yaklaşım, sıklıkla **ters aşılama (reverse vaccination)** olarak tanımlanır. Ters aşılama, ilk kez 1990'ların başında *Neisseria meningitidis*'in serogrup B (MenB) suşlarına karşı geliştirilen aşıda kullanılmıştır. Ters aşılama, geleneksel yaklaşımlar ile gözden kaçması muhtemel yeni antijenlerin keşfedilmesine ve yeni bilgilerin elde edilebilmesine katkıda bulunmuştur. Aşı tasarımında etkili ve güvenli antijenlerin seçimi, her zaman birincil amaç olmuştur. Antijenlerin yapısal durumlarının daha fazla öğrenilmesi, TB enfeksiyonlarında karmaşık konak immün yanıtının daha iyi anlaşılması, TB aşılarının daha hızlı geliştirilmesinde güçlü dayanak noktaları olmuştur (1,3,14).

TB aşı adayları ile ilgili günümüze kadar 200 civarında farklı faz çalışmaları yapılmıştır. Bu aday aşılar; kullanım amaçlarına göre, BCG gibi **geleneksel aşılar**, **profilaktik (prime, ilk, birinci, başlangıç) aşılar**, **güçlendirici (takviye, booster) aşılar**, **temas sonrası aşıları**, **re-enfeksiyonu önlemeye yönelik aşılar** ve **terapötik aşılar** olarak gruplandırılabilir gibi, biyokimyasal formlarına göre hem yenidoğanların ilk aşılmasını (BCG replasmanını) hem de adolesanlarda ve yetişkinlerde TB'nin önlenmesini hedefleyen **canlı-zayıflatılmış (atenüe) tam hücreli mikobakteri aşıları**, immünoterapötik amaçlı tamamen öldürülmüş ve parçalanmış **inaktif tam hücre mikobakteri aşıları**, etkene temas öncesinde ve sonrasında önleyici olarak bir veya daha fazla rekombinant *M.tuberculosis* füzyon proteinini içeren **adjuvanlı subünit aşılar**, hedefi BCG bağışıklığını arttırmak olan **viral vektörlü subünit aşılar** ve moleküler **DNA/mRNA aşıları** olarak da gruplandırılabilirler (1,2,6,9,14,15).

Profilaktik aşılar, enfeksiyonu veya klinik hastalığı önlemek için BCG gibi *M.tuberculosis* ile ilk karşılaşmadan önce yenidoğanlara uygulanması hedeflenen aşılardır. TB basiline maruz kalmadan

önce uygulanır (2,6,13,15,16).

Güçlendirici aşilar, profilaktik aşı yapılmış adölesan ve yetişkinlerdeprofilaktik aşiların neden olduğu immün yanıtı arttırmaya, daha kuvvetli ve daha uzun süreli bağışıklık sağlamaya odaklanmışaşılardır. Profilaktik aşilar gibi TB basiline maruz kalmadan önce uygulanır (2,6,13,15,16).

Temas sonrası aşilar, *M.tuberculosis* ile enfekte kişilerdeaktif hastalık gelişimini önlemek ve reaktivasyonu engellemek amacıyla uygulanan aşılardır. Esas hedef grup, BCG ile aşılanmış latent TB enfeksiyonlu kişilerdir. Latent TB'li kişilerin aşılama programına alınması büyük bir avantaj sağlayacağından aşilara latentlik ile ilişkili antijenler (örneğin; DosRregülonda eksprese edilen antijenler) eklenmektedir. İlk ve güçlendirici aşiların birçoğu,aynı zamanda temas sonrası aşısı olarak geliştirilmektedir. Bu aşiların, enfeksiyon sonucu oluşan immün yanıtı artırma ve destekleyebilme özellikleri kullanılmaktadır (2,6,9,13,15,16).

İmmünoterapötik aşilar ise aktif hastalığı olan hastalarda kemoterapiyi güçlendirmek, bakteriyel temizlenme oranını arttırmak, rekürensi önlemek için antibiyotik tedavisi ile birlikte veya antibiyotik tedavisinden sonra uygulanan aşılardır. DSÖ'nün 2018 yılı TB Raporu'na göre; immünoterapötik aşiların, tedavi oranlarını yükseltmesi, ilaç tedavi süresini kısaltması, kullanılacak ilaç sayısını azaltması ve rekürens insidansını düşürmesi gibi özelliklere sahip olması hedeflenmektedir (2,4,6,9,16,17).

Sonuç olarak; TB'yi önlemeye yönelik yeni aşilar üzerinde yapılan araştırmalar, son yirmi yılda büyük ivme kazanmıştır. 2024 yılına gelindiğinde küresel TB aşı portföyü, klinik denemelerin farklı faz aşamalarında olan 17 tip yeniaşı adayını içermektedir. Bu aşilardan dördü **Faz 1** (AdHu5Ag85A, GX-70, TB/FLU-01L veTB/FLU-04L), üçü **Faz 2a** (ID93+GLA-SE, AEC+BC02 veChAdOx1.85A), beşi **Faz 2b**(RUTI, DAR-901, H56:IC31, H4:IC31 ve MVA85A) ve beşi **Faz 3**(MIP, SRL172, MTBVAC, VPM1002 ve M72/AS01E) klinik deney aşamasındadır (14). Bu aşilarda kullanılan antijenler, birden fazla *Mycobacterium* suşu ve bir düzineden fazla yapısal veya salgısal *M.tuberculosis* proteinini içerir (3).

Tam Hücre Bakteri Aşiları

BCG aşısının kısıtlılıklarını gidermek ve özgüllüğünü arttırmak için şu anda klinik deneylerde birçok yeni tam hücre bakteri aşısı ve aşılama stratejileri üzerinde çalışılmaktadır. BCG ile güvenlik ve etkinlikleri açısından karşılaştırıldığında, yeni tam hücre bakteri aşilarının daha iyi alternatif olma potansiyelleri vardır. Tam hücre bakteri aşiları; **canlı-atenüe**, **inaktif** ve **rekombinant** varyasyonları kapsar (3).

Canlı-atenüe tam hücre bakteri aşiları

Önceleri yenidoğanlarda BCG aşılamaşının yerini alması amaçlanan ve **temas öncesiprofilaktik aşı** olarak geliştirilen canlı-atenüe tam hücre bakteri aşiları, artık günümüzde adölesan ve

yetişkinlerde TB enfeksiyonunun aktif TB hastalığına dönmesinin önlenmesi için kullanılan **temas sonrası aşılar** olarak da değerlendirilmektedir (1,6,14).

Gen defektleri olan canlı-atenüe tam hücre TB aşıları, *M.tuberculosis*'te bulunan virülans genlerinin bir kısmının çıkarılmasıyla (delesyonuyla) elde edilen atenüe suşlardan hazırlanır. Atenüe suşlar, patojenitesini kaybeden, çoklu antijeni önemli düzeyde eksprese eden, farklı tip T hücrelerini aktive eden ve immünojeniteyi artıran suşlardır (6,10,14). Bu teknolojinin başlıca dezavantajları, emek yoğun olması ve sıkı kalite kontrol işlemlerine tabii olmasıdır. Bu da, üretim maliyetlerinin artmasına ve bir pandemi esnasında yanıt verme reaksiyonunun yavaş olmasına neden olur (1). Canlı-atenüe tam hücre bakteri aşılarındaki basillerin virülanslarını yeniden geri kazanabilme potansiyelleri, immün kompleks oluşturma olasılıkları ve immün sistemi baskılanmış hastalarda komplikasyon oluşturabilmeleri gibi diğer sakıncaları da mevcuttur (4,6,14,18). Bu yüzden bu aşıların immün yetmezlikli veya insan immün yetmezlik virüsü (HIV) taşıyan kişilere uygulanması kontrendikedir. Bu gibi durumlarda **subünit** veya **inaktif tam hücre bakteri aşılarının** geliştirilmesi, bu popülasyon için daha acil ve daha uygundur. Diğer taraftan BCG'de bildirildiği gibi, NTM enfeksiyonu geçirmiş olan bireylerde oluşan immünolojik duyarlılık nedeni ile bu aşılara yanıtta interferans gelişebilir (3,6,9,16).

Tüm bu olumsuz özelliklerinin aksine diğer aşılarla karşılaştırıldığında bu aşıların, sahip oldukları yoğun ve geniş antijenik epitop aralığına bağlı olarak potansiyel olarak daha geniş ve çeşitli bir immün yanıt oluşturma yetenekleri bulunmaktadır. Bu özelliği ile canlı-atenüe tam hücre bakteri aşıları, içerdikleri sınırlı sayıdaki antijene karşı kısıtlı immün yanıt oluşturan subünit aşılara göre üstündürler (1,3,6,14). Gerçekten de bu aşılar, hastalık oluşturan *M.tuberculosis* suşlarında bulunan antijenlerin neredeyse tamamına sahip olduklarından doğal *M.tuberculosis* enfeksiyonuna benzer bir immün yanıt indükleyerek bireye uzunsürelili koruma sağlarlar (1,6,10,14,18,19). İnaktif tam hücre bakteri aşıları ile karşılaştırıldığında ise canlı-atenüe tam hücre bakteri aşılarının daha geniş yelpazede bir immün yanıt oluşturmaları yanısıra, düşük maliyet, kolay nakliye ve basit uygulanabilirlik gibi avantajları da mevcuttur. Canlı-atenüe tam hücre bakteri aşılarına örnek olarak **MTBVAC** ve **BCG (yeniden aşılama) aşıları** verilebilir (1,4,6,14).

MTBVAC aşısı: Faz 3 aşamasında olan MTBVAC aşısı, *M.tuberculosis* MT103 suşunun genomunda bulunan *phoP* (Rv0757) ve *fadD26* (Rv2930) genlerinin delesyonu ile elde edilmiştir. Bu genler, *M.tuberculosis*'in iki ana virülans faktörünü kodlar. Bunlardan biri olan *phoP* geni, TB basilinin makrofajlarda üremesi için gereklidir ve ESAT-6 gibi çeşitli önemli virülans genlerinin transkripsiyonunda görev alır. Diğer gen *fadD26* ise virülansla ilişkili hücre duvarı lipidlerinin biyosentezi ve taşınımı için gereklidir ve *M.tuberculosis* hücre duvarının ana bileşeni olan fitoseroldimikokerosatın sentezini sağlar. Fitoseroldimikokerosat, aynı zamanda *M.tuberculosis*'i konak savunmasından koruyan bir virülans faktörüdür (1,2,4,6,9,14).

MTBVAC aşısının iki hedef grubu vardır. İlk hedef grubu yenidoğanlardır ve öncelikle BCG yerine **profilaktik** amaçlı kullanılması düşünülmüştür. İkinci hedef grubu ise adölesan ve yetişkin grubudur ve immün sistemi **güçlendirici** aşı olarak uygulanması planlanmıştır. Klinik öncesi fare ve kobay modellerinde yapılan kapsamlı çalışmalarda, MTBVAC'ın BCG ile karşılaştırılabilir bir güvenlikte üstün immünojenite ve etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Kobay modelinde BCG'yi güçlendirici aşı olarak uygulandığında daha uzun süreli bir bağışıklık sağlamıştır (2,6,14).

İsviçre'de 2013 yılında, HIV negatif gönüllülerde, BCG ile karşılaştırılmalı olarak MTBVAC'ın güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmek için çift kör, randomize, kontrollü ve doz artırımlı Faz 1 çalışması (NCT02013245) (20) yapılmıştır. Çalışma sonuçları, üç farklı doz grubunda (5×10^3 , 5×10^4 ve 5×10^5 koloni oluşturan ünite [CFU] MTBVAC) MTBVAC'ın güvenilirliğinin, BCG ile karşılaştırılabilir olduğunu ve aşılardan sonra MTBVAC'a bağlı hiçbir ciddi yan etkinin görülmediğini ortaya koymuştur (20). Ek olarak, TB'nin endemik olduğu bölgelerde yetişkinlerde ve yenidoğanlarda MTBVAC'ın güvenliğini ve immünojenitesini, BCG ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirmek üzere; Güney Afrika'da TB yükünün yüksek olduğu bir bölgede, randomize, çift kör, doz artırımlı Faz 1b klinik çalışması (NCT02729571) (21) yürütülmüştür. Sonuçlar, iki gruptaki yan etkilerin sıklığının, şiddetinin ve çeşitlerinin benzer olduğunu ve MTBVAC aşısına bağlı ciddi bir yan etkinin olmadığını göstermiştir. Ek olarak çalışmada, yardımcı T lenfosit 1 (Th1) tipi CD4 hücrelerinin uygulanan MTBVAC dozuna bağlı olarak yanıt verdiklerini ve MTBVAC'ın pik yanıtının (yani 70. günde), 2.5×10^5 CFU doz grubunda ve 360. günde BCG aşı yanıtlarından daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Düşük doz grubunda (2.5×10^3 CFU) Th1 tipi CD4 hücrelerinin MTBVAC'a yanıtı, 70. ve 360. günlerde BCG veya yüksek doz MTBVAC'a olan yanıtlardan önemli ölçüde düşük bulunmuştur (21). Yukarıdaki immünojenite sonuçları, yüksek doz MTBVAC'ın güçlü bir immün yanıtı neden olduğunu göstermektedir. Gelecekteki çalışmalara, düşük doz MTBVAC grubunun dahil edilmemesi düşünülebilir (14).

Şu anda Güney Afrika'da MTBVAC aşısının farklı yönlerini araştıran iki klinik çalışma (NCT02933281 ve NCT03536117) başlatılmıştır. NCT02933281 çalışması, latent TB enfeksiyonu olan veya olmayan yetişkinlerde dört doz (5×10^3 , 5×10^4 , 5×10^5 ve 5×10^6 CFU MTBVAC) aşılamanın güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmeye odaklanmış iken NCT03536117 çalışması, yenidoğanlarda üç dozluk (2.5×10^4 , 2.5×10^5 ve 2.5×10^6 CFU MTBVAC) aşılamanın güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. Ayrıca, randomize, çift-kör, kontrollü bir Faz 3 klinik çalışması (NCT04975178), HIV'li ve HIV'li olmayan yenidoğanlarda MTBVAC'ın etkinliğini, güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmek üzere Sahraaltı Afrika'daki TB endemik bölgelerinde planlanmış olup şu anda çalışmaya katılımcı alımları devam etmektedir (14). MTBVAC aşısı, BCG aşısından sonra

insanlarda klinik çalışmalarına başlanmış olan ilk ve Faz 3 aşamasına gelmiş olan tek canlı-atenüe tam hücre bakteri aşısıdır (NCT04975178) (1,6,9,14,15).

Ayrıca MTBVAC'ın bir vektör olarak kullanıldığı TB-HIV ikili aşısı yapılmıştır. TB-HIV ikili aşısı, **MTBVAC.HIVA2auxo** olarak adlandırılmıştır. Deneysel hayvan çalışmalarında ikili aşının koruyuculuğu, MTBVAC'ın koruyuculuğuna benzer ve güvenilirliği ise BCG ve MTBVAC aşlarına göre daha iyi bulunmuştur. Bu nedenlerle MTBVAC.HIVA2auxo aşısının ciddi enfeksiyon riski altında olan immünsüprese kişiler için ümit verici olduğu bildirilmiştir (6,15).

İnaktif Tam Hücre Bakteri Aşıları

İnaktif aşılar, çoklu *M.tuberculosis* antijenlerine karşı immün yanıt oluşturabilmek için inaktif edilmiş *M.tuberculosis*'in tamamını (tam hücre) veya bunların fiziksel ya da kimyasal yöntemler ile parçalanmış fragmanlarını kullanırlar (1,4,6,14,16). *M.tuberculosis* ile *M.tuberculosis*'in virülan bileşenlerinden yoksun saprofitik mikobakteriler arasında bazı antijenler ortak olduğundan inaktif aşılar içinde saprofitik mikobakteriler de bulunabilir. Saprofitik mikobakterilerden oluşturulan inaktif tam hücre bakteri aşılarının kullanımı, saprofitik mikobakterilerde bulunan bu ortak antijenlerin, *M.tuberculosis*'e karşı gelişen koruyucu bağışıklığı oluşturabildiği varsayımına dayanmaktadır. İnaktif tam hücre bakteri aşıları, temas öncesi (profilaktik), temas sonrası ve immünoterapötik amaçlı kullanım stratejileri için geliştirilmişlerdir (1,6,14).

İnaktif tam hücre bakteri aşıları, hücre dışı *M.tuberculosis* enfeksiyonlarına karşı savunma yaparak hem Th1 hücresel hem de hümorale immün yanıtı indüklerler ve TB'nin kontrolünde iyi immünoterapötik etki gösterirler. İnaktif tam hücre bakteri aşılarının, stabil ve güvenli olmaları, üretim ve uygulama kolaylıkları gibi avantajlarının bulunması, onları hızla gelişen bir aşı türü haline getirmektedir (4,6,14,15). Diğer taraftan bu aşılarda, nispeten kuvvetli olmayan koruyucu etkileri, sitotoksik T lenfosit yanıtını yeterince uyaramamaları, immün yanıt süresinin kısa olması, aşılama süresinin kısa olması, yüksek doz ve birden fazla enjeksiyon (çoklu doz) gereksinimi gibi kısıtlılıkları da mevcuttur. Şu anda klinik denemelerden geçen inaktif tam hücre bakteri aşıları arasında **DAR-901, MIP, Utilins, Mycobacterium vaccae (SLR172), RUTI ve Mycobacterium smegmatis aşıları** bulunur (1,2,4,6,14-17).

DAR-901 aşısı: Halen Faz 2b aşamasında olan DAR-901 aşısı, çevresel, non-patojen, hızlı üreyen, pigmentli bir NTM olan *Mycobacterium obuense*'den hazırlanmış ve ısı ile inaktive edilmiş olan lipozomal bir tam hücre bakteri aşısıdır. *M.obuense*, *M.tuberculosis* ile aynı çoklu antijenlere sahip olduğundan TB'ye karşı çapraz koruma sağlayacağı varsayılmaktadır (1-3,6,16).

DAR-901 aşısı, profilaktik, BCG'yi güçlendirici ve immünoterapötik amaçlı geliştirilmiştir. Klinik öncesi çalışmalarda BCG'yi güçlendirici olarak etkinlik göstererek TB hastalığını etkili bir şekilde önlediği yönünde umut vermiştir. DAR-901 aşısının Th1 immün yanıtını indüklediği, yapısal ve çoğalma ile ilişkili antijenlere karşı spesifik immüniteyi hızlandırıp güçlendirdiği, böylece basil yükünü azalttığı ve akciğerin patolojik hasarını hafiflettiği bilinmektedir (4,14,16). A.B.D.'de

yürütülen bir Faz 1 klinik araştırmada (NCT02063555), daha önce BCG ile aşılanmış HIV enfeksiyonlu veya HIV enfeksiyonu bulunmayan yetişkinlerde aşının güvenliği, tolere edilebilirliği ve immünojenitesi farklı dozlarda (0.1 mg, 0.3 mg ve 1 mg) değerlendirilmiş ve değerlendirme sonunda aşının, her üç doz seviyesinde de iyi tolere edildiğini, *M.tuberculosis* antijenlerine spesifik hücresel ve hümoral immün yanıtı indüklediğini ve hiçbir ciddi yan etki göstermediği saptanmıştır (2,14). Tanzania'da yürütülen başka bir Faz 2b klinik araştırmada (NCT02712424), aşının güçlendirici etkinliği, daha önce BCG ile aşılanmış sağlıklı adölesanlarda değerlendirilmiş olup bulgular, üç dozluk 1 mg DAR-901 serisinin güvenli kabul edildiğini ve iyi tolere edildiğini göstermiştir. Ancak başlangıç veya kalıcı IGRA konversiyonunu önlemede etkinlik göstermemiştir. İlginç bir Şekilde, konversiyon gösteren kişilerde ESAT-6'ya karşı immün yanıtları artmıştır. Bu nedenle, hastalığın önlenmesi, enfeksiyona karşı korumadan farklı immün yanıtları gerektirebileceğinden, TB'nin önlenmesi konusunda daha fazla klinik deneylere ihtiyaç vardır (14). Diğer taraftan bazı çalışmalarda ise endemik ülkelerdeki yetişkin ve çocuklarda BCG'yi güçlendirici aşı olarak TB'ye karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (2,6,22). Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre; DAR-901 aşısının, hücresel ve hümoral immün yanıtı indükleyebildiği ve homolog BCG tekrar aşısına göre daha iyi koruma sağladığı bildirilmektedir (3,4,6).

MIP (Mw) aşısı: Faz 3 aşamasında olan MIP (Mw) aşısı,ısı ile inaktive edilmiş *Mycobacterium indicus pranii* türünü içerir (1-4,6). Önceleri *Mycobacterium w* (Mw) olarak isimlendirilen *M.indicus pranii*; Runyon Grup IV'te yer alan, NTM'lerden *M.avium* kompleks yesi, hızlı üreyen, non-patojen, günümüzde genomu tam olarak sekanslanan bir türdür (1-4,6,14). MIP aşısı, toll-benzeri reseptör (TLR)4 sinyali üzerinden nükleer faktör kappab(NF-kB)'yi aktive eder. NF-kB aktivasyonu da, *M.tuberculosis* ile enfekte makrofajlarda proinflamatuvar sitokin ve nitrik oksit üretiminin artmasına ve koruyucu immün yanıt oluşmasına yol açar (4,6,14).

MIP, *Mycobacterium leprae* antijenlerine benzer antijenler içerir. MIP aşısı, başlangıçta yaygın olarak lepra tedavisinde bir immünomodülatör olarak kullanılmış, daha sonra bu aşının aynı zamanda fare ve kobaylarda TB enfeksiyonunu engellediği grlmştr. Bir Faz 2 çalışmasında MIP'in, hem lepra hem de TB hastaları üzerinde güvenli bir Şekilde immünoterapötik etkiye sahip olduğu saptanmıştır (2,4,6,14).

MIP aşısının profilaktik koruyucu etkinliği, Hindistan Ghatampur Kanpur'da 272 köyde ikamet eden yaklaşık 28.948 kişiden oluşan kırsal bir nüfusta yürütülen bir klinik çalışmada araştırılmıştır (4,6,14,23,24). Sonuçlar, plasebo grubuyla karşılaştırıldığında, aşılanan grupta akciğer TB insidansında önemli bir azalma olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu azalma, aşılamadan 10-13 yıl sonra gözlenmiştir (24). Ayrıca MIP ile birlikte DOTS alan TB hastalarının, sadece DOTS tedavisi alanlara göre balgam klirensi açısından daha hızlı iyileşme gösterdiği bildirilmiştir. Bu sonuç, MIP'in tedavi rejimine dahil edilmesinin, TB hastalarında DOTS'un terapötik etkinliğini

arttıracağını göstermektedir (14).

MIP'in TB'de güçlendirici aşı olarak BCG aşısına destek olma potansiyeli, terapötik etkinliği ve güvenliği, Hindistan'da bir Faz 3 randomize, çift kör, plasebo kontrollü, çok merkezli klinik çalışmada (NCT00265226) (25) gösterilmiştir (1-4,6,14). MIP ve plasebo ile tedavi edilen hastalarda iki hafta sonra balgam yayma konversiyon oranlarının sırasıyla %53.35 ve %48.72 ile anlamlı bir fark göstermediği görülmüştür. Bununla birlikte, dört haftalık tedaviden sonra ise MIP grubundaki balgam kültürü konversiyon oranı (%67.1), plasebo grubundan (%57) daha yüksek bulunmuştur. Her ne kadar lokal reaksiyonlar, MIP grubunda plasebo grubuna göre daha yüksek olsa da, bu lokal yan etkiler hızla kendiliğinden düzelmiş ve ortadan kaybolmuştur (25). Bu sonuçlar, MIP'in iyi bir güvenliğe sahip olduğunu, bakterileri temizleme yeteneğini, yani TB hastalarında *M.tuberculosis*'i akciğerlerden temizleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (1-4,6,14,25). Ayrıca çok sayıda yapılan diğer deneysel çalışmalarda da; aşının terapötik etkisi olduğu saptanmıştır (6,17).

Utilins aşısı: Utilins aşısı, ısı ile inaktive edilmiş olan *Mycobacterium phlei* F.U.36 aşısıdır. *M.phlei*, 28°C ila 52°C arasındaki sıcaklıklarda hızlı üreyen bir NTM'dir. Derin kas içi enjeksiyonlardan sonra T lenfositlerini, interlökin (IL)-2, IL-4, tümör nekroz faktör (TNF)- α , interferon (IFN)- γ , makrofaj aktive edici faktör (MAF), migrasyon inhibe edici faktör (MIF) ve makrofaj sitotoksikite faktörü (MCF) gibi çeşitli sitokinleri salgılaması için uyarır. Bu sitokinler, patojenleri temizlemek için makrofajları, doğal öldürücü (NK) hücrelerini ve B lenfositlerini indükler ve aktive ederler. Önceki çalışmalar, bu aşının CD4+CD25+ hücrelerinde TLR4 ekspresyonunu artırdığını, CD4+CD25+ düzenleyici T hücrelerinden IL-10 salınımını desteklediğini ve astımlı farelerde Th17 hücrelerinden IL-17 salgılanmasını inhibe ettiğini göstermiştir (4).

Utilins aşısı, ilk olarak Çin'de üretilmiş olup Çin İlaç ve Gıda Dairesi (CFDA)'nden aldığı ilaç sertifikası ile Çin'de immünomodülatör ve immünoterapötik aşı olarak şu anda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, anti-TB ilaçlarla kombine edilen Utilins aşısı ile aşılama yaşı akciğer TB'liveya yeni yayma pozitif akciğer TB'li hastalarda balgam negatifliği konversiyon oranının, fokus absorpsiyon oranının ve kavite kapanma oranının, sadece anti-TB ilaçlar ile tedavi edilen kontrol grubunda saptanan oranlardan önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bugüne kadar elde edilen kanıtlar bu aşının, akciğer TB'si tedavisi yanında astım, atopik dermatit, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, malign plevral efüzyon, verruka vulgaris ve kondiloma aküminatum olgularında etkili immünomodülatör etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Ek olarak, inhale Utilins aşısının Çin'de orta dereceli bronşiyal astımın önlenmesi ve tedavisi üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere bir Faz 3 denemesi yürütülmektedir (4).

***Mycobacterium vaccae* (SLR172) aşısı:**Faz 3 aşamasında diğer bir aşı olan *Mycobacterium vaccae* aşısı, *M.vaccae*türünden hazırlanmış inaktif bir aşıdır (3,4). *M.vaccae*, NTM üyesi, insanlara

karşı düşük patojeniteye sahip, toprakta bulunan vehızlı üreyen bir çevresel mikobakteridir (2,4,14). Aşı hazırlanmasında *M.vaccae* suşunun ısıyla, ışınla veya yüksek basınçlı hava değişimi yoluyla inaktive edilen preparatları kullanılmaktadır (2-4).

İlk kez 1964 yılında R. Boenickse ve E. Juhasz tarafından ineklerin meme bezlerinden izole edilen *M.vaccae*'nin, sonraki yıllarda immün sistemi uyaran, immünomodülatör etkili birçok ortak mikobakteriyel antijene sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu ortak mikobakteriyel antijenler, farelerde yüksek titrede spesifik IgG üretimini, Th1 immün yanıtını, sitokin yapımını ve sitotoksik T lenfosit etkisini indüklediği ve sonuçta, TB'ye karşı etkili bir koruma sağladığını ve TB tedavisinde rol oynayabileceğini göstermiştir (2,4,6,14,17).

M.vaccae aşısı, profilaktik amaçlı *M.tuberculosis*'in çoğalmasını ve aktivasyonunu etkili bir şekilde baskılayabilir. Ancak bu aşı, koruyucu profilaktik aşidan ziyade immünoterapötik bir aşı olarak geliştirilmiş ve inaktif *M.vaccae*'nin adjuvan immünoterapötik etkisine odaklanmıştır. Ancak çalışmalardan elde edilen sonuçlar, heterojenlik göstermiştir (2,3,14). Kuzey Nijerya'nın Kano kentinde 1995 yılında akciğer tüberkülozlu hastalara uygulanan *M.vaccae*'nin immünoterapötik etkinliğini değerlendirmek üzere bir klinik çalışma (26) yürütülmüş ve üç haftalık anti-TB tedavi sonunda *M.vaccae* immünoterapisi alan hastaların balgam konversiyon oranının, sadece kemoterapi alan (plasebo) hastalarından önemli ölçüde daha yüksek olduğu (%73'e karşılık %19) gösterilmiştir. Bu bulgular, *M.vaccae* immünoterapisinin enjeksiyondan sonraki ilk iki haftada faydalı etkileri olduğunu göstermektedir (26). İki yıl sonra yapılan başka bir klinik çalışma (27), *M.vaccae* immünoterapisinin dirençli TB hastalarının tedavi başarı oranını, önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (%77'ye karşılık %52). Bu iki klinik çalışma sonucu, *M.vaccae* immünoterapisinin TB tedavisinde kesin adjuvan etkiye sahip olduğunu göstermektedir (14).

Ancak bazı klinik araştırmalar, *M.vaccae*'nin adjuvan immünoterapötik etkisi bakımından tam tersi sonuca ulaşmıştır (14). Örneğin, 1999 yılında The Lancet dergisinde yayımlanan bir klinik araştırmada (28), *M.vaccae*'nin standart kısa süreli anti-TB kemoterapisindeki rolü değerlendirilmiş ve *M.vaccae* immünoterapisinin, TB hastalarında balgam konversiyon süresinibelirgin olarak azaltmadığı sonucuna ulaşılmıştır (28). Bu sonuç, *M.vaccae* immünoterapisinin standart anti-TB kemoterapisinde herhangi bir fayda sağlamadığını düşündürmüştür (14).

M.vaccae'nin immünoterapötik etkisi konusunda önemli başka çalışmalar da (29,30) yapılmıştır. Standart anti-TB kemoterapisine tek doz SRL172 (öldürülmüş *M.vaccae*) immünoterapisinin eklenmesinin, HIV ile enfekte TB hastalarının (n=760) ölüm oranı üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmada (29); tek doz SRL172 tedavisinin, güvenli olduğu ve iyi tolere edildiği, ancak standart anti-TB tedavisinde bir adjuvan immünoterapi olarak HIV enfeksiyonlu yetişkin akciğer TB'li hastaların hayatta kalma süresini veya mikrobiyolojik sonuçlarını önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür. Chen-Yi Huang ve arkadaşları (30), yukarıda bahsedilen klinik deney

sonuçlarındaki heterojenlik sorununu ele almak için 2017 yılında 13 klinik çalışmadan elde edilen verileri içeren bir meta-analiz gerçekleştirmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, *M.vaccae* immünoterapisi alan TB hastalarının, plasebo grubuna kıyasla 1-2 ay ve altı ayda kayda değer oranda daha yüksek negatif balgam yayma oranları sergilediğini göstermiştir. Ek olarak, bu aktif TB'li hastalarda bir veya iki ayda balgam kültüründe negatif sonuç görülme olasılığı daha yüksek bulunmuştur. Meta-analizden elde edilen bu bulgular, *M.vaccae* immünoterapisinin akciğer TB'si için etkili bir tedavi olarak umut vaat ettiğini göstermektedir (30). Sonuçta, yukarıda bahsedilen klinik araştırmalar, inaktif *M.vaccae* preparatlarının, anti-TB kemoterapisine yardımcı olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (14). *M.vaccae* aşısı, akciğer TB'sinin tedavisinde kemoterapi süresini kısaltmaktadır (4,6,15-17). Çoğu klinik çalışma, *M.vaccae* aşısının yardımcı tedavi aracı olarak kullanılmasının balgam yaymasının negatif konversiyon oranını önemli ölçüde artırdığını, lezyonun iyileşmesini ve kavitenin kapanmasını kolaylaştırdığını, tedavi süresini kısalttığını ve kemoterapiye bağlı hasarı azalttığını göstermiştir (3).

Daha önce BCG ile aşılanmış HIV ile enfekte yetişkinler arasında Finlandiya (31) ve Zambiya'da (32) gerçekleştirilen Faz 1 ve 2 klinik araştırmaları, güçlendirici olarak *M.vaccae* aşısının iyi bir güvenlik ve immünojeniteye sahip olduğunu göstermiş, HIV pozitif popülasyonlarda TB'yi önleyebildiğini bulmuştur. Ek olarak, Tanzania'da yapılan çift-kör, plasebo kontrollü bir Faz 3 klinik çalışmasında (33), *M.vaccae*'nin koruyucu aşı olarak kullanıldığında hem güvenli hem de iyi tolere edildiği ve TB enfeksiyonuna karşı belirgin bir koruma sağladığı saptanmıştır. Bu bulgular, *M.vaccae*'nin TB'ye karşı önleyici bir tedbir olarak potansiyelini göstermektedir (2-4,14).

Temas sonrası kullanımda *M.vaccae* aşısı, latent TB enfeksiyonunun ilerlemesini engelleyebilir ve hastalık oranını azaltabilir (3). Dört yıl boyunca takip edilen PPD testi güçlü pozitif latent TB enfeksiyonlu bireylere *M.vaccae* aşısı uygulanmıştır. Sonuçlar, TB hastalığı görülme sıklığının kontrol grubuna göre, *M.vaccae* aşı grubu ile izoniazid tedavi grubunda anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca *M.vaccae* aşı grubu ile izoniazid tedavi grubuna göre önemli ölçüde daha düşük olduğu saptanmıştır (4). Bu sonuçlar, *M.vaccae* aşısının latent TB enfeksiyonunda temas sonrası aşı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (4,15).

Çin'in Pekin kentindeki Çin Ulusal Gıda ve İlaç Kontrolü Enstitüleri ile Pekin'deki PLA Genel Hastanesi, işbirliği içinde birlikte *M.vaccae* aşısını geliştirmişler ve aşıya, Vaccae™ adını vermişlerdir (14). Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical Co., Ltd. (şu anda Anhui Zhifei Biological Products Co, Ltd, Hefei tarafından sağlanmaktadır) tarafından üretilen Vaccae™ aşısı, bağışıklığı güçlendirme, fagositozu uyarma, bağışıklık tepkilerini her iki yönde düzenleme, patolojik hasarı en aza indirme yeteneği ile bilinmektedir (4,14,34). Vaccae™'nin latent TB enfeksiyonlu hastalarda TB hastalığını önlemedeki etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için tüberkülin deri testi (TST) >15 mm pozitif olan, 15-65 yaşları arasındaki 10.000 hastayı kapsayan Faz III klinik çalışması (NCT01979900) Çin Guangxi'de başlatılmış, ancak

çalışma sonuçları henüz yayınlanmamıştır. Vaccae™, TB'nin yardımcı tedavisi için kullanılmak üzere CFDA tarafından onaylanmıştır (onay numarası: S20010003) (14). Ayrıca Vaccae™, DSÖ tarafından TB'nin immünoterapisi için önerilen tek aşıdır (4,6,14,17). Vaccae™ aşısı, aşılama sonrası çok az sayıda insanda lokal deri döküntüsü, endürasyon veya vücut ısı artışı gibi bazı yan etkiler göstermiştir (14).

RUTI aşısı: Halen Faz 2b aşamasında olan ve İspanya (Archivel Farma S.L., Badalona) ile A.B.D. (Parexel, Glendale, CA) arasındaki ortak çalışmayla geliştirilen RUTI aşısı, *M.tuberculosis* hücre duvarının saflaştırılmış fragmanlarını içeren lipozomal bir aşıdır. Bu basillerin kültürleri, granülomlar içindeki ortamı simüle etmek için stres koşulları altında yapılır. Böylece tipik olarak bağışıklık sisteminden gizlenen latent spesifik antijenlerin üretimi tetiklenir (3,14). Aşı uygulamasından sonra hem aktif olarak çoğalan hem de dormant (latent) durumdaki basillerde bulunan antijenlere karşı güçlü ve etkili hümmoral ve hüccresel (özellikle Th1 yanıtı) immün yanıt gelişmektedir (2,3,6,14). RUTI, hem latent TB enfeksiyonundan aktif hastalığa geçişi engellemek (temas sonrası) hem de anti-TB kemoterapi süresini kısaltmak (immünoterapötik) üzere tasarlanmıştır (2). Fareleri, kobayları, keçileri ve mini domuzları içeren deneysel modeller, RUTI'nin kısa süreli kemoterapiden sonra latent TB enfeksiyonunu kontrol etmedeki etkinliğini göstermiştir (14).

Şu anda daha çok yetişkinlerde standart anti-TB tedaviyle birlikte kullanılabilecek immünoterapötik bir aşı olarak önerilmektedir (1,2,6,7,15,16). RUTI ile yapılan bir çalışmada, mikobakteri üreme inhibisyon testinde mikobakteri sayısında azalma olduğu saptanmıştır (5,15). Deneysel hayvanlardaki başarılı sonuçlara dayanarak, dört dozun (5 µg, 25 µg, 100 µg ve 200 µg) güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmek üzere 2007 yılında sağlıklı gönüllüler üzerinde randomize, çift kör ve plasebo kontrollü bir Faz 1 klinik çalışması (NCT00546273) (35) yürütülmüştür. Çalışmada, farklı dozlarda RUTI aşılmasının gönüllülerde sadece enjeksiyon bölgesinde seğirme semptomlarına neden olduğu ve iki kişide (2/16), muhtemelen RUTI aşısı ürününde kullanılan aktif olmayan bir bileşikle ilişkili olarak steril granülatöz enflamasyon geliştiği bildirilmiştir. Ek olarak bu klinik çalışma (35), RUTI aşısının gönüllülerde spesifik hümmoral ve hüccresel immün yanıtı ortaya çıkarabildiğini kanıtlamıştır. RUTI aşısını değerlendiren ilk klinik çalışma olan bu Faz 1 çalışmasının sonuçları, RUTI aşısının daha sonraki klinik çalışmaları için bir temel oluşturmuştur (14).

Bu Faz 1 klinik çalışmasının sonuçlarının yayınlandığı yılda (2010), üç Güney Afrika bölgesinde HIV pozitif (n=47) ve negatif (n=48) latent TB enfeksiyonlu bireylerde üç RUTI dozunun (5 µg, 25 µg ve 50 µg) güvenliğini, tolere edilebilirliğini ve immünojenitesini değerlendirmek üzere RUTI aşısının Faz 2 (NCT01136161) klinik çalışması (36) başlatılmıştır. 2014 yılında, RUTI aşısı alan bireylerdeki yan etki reaksiyonlarına ilişkin bulguları gösteren Faz 2 klinik çalışmasının sonuçları açıklanmıştır. En sık gözlemlenen yan etki reaksiyonları, lokal enjeksiyon bölgesi tepkileriyle

ilişkilidir. Bunlar arasında eritem (91/92), steril apse (6/6), endürasyon (94/92), şişlik (74/83), lokal nodüller (46/25), lokal ağrı (66/75), ülser (20/11), nazofarenjit (20/5) ve baş ağrısı (17/22) yer almaktadır. Bu reaksiyonların çoğunluğunun hafif nitelikte olduğu ve katılımcılar tarafından iyi tolere edildiği belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada, 5 µg veya 25 µg RUTI alan HIV negatif hastaların ikinci aşılama sonrası gelişen immün yanıtların iyi olduğu ve immün yanıt yoğunluğunda hafif bir artış gösterdiği, 25 µg veya 50 µg RUTI alan HIV pozitif hastaların ise ilk aşılama sonrası benzer bir poliantijenik immün yanıt profili gösterdiğini, ancak ikinci aşılama sonrası immün yanıtta anlamlı bir artışın olmadığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, RUTI aşısının neden olduğu immün yanıtların HIV negatif ve pozitif popülasyonlar arasında farklılık gösterdiğini, bunun muhtemelen HIV pozitif bireylerdeki bozulmuş CD4+ T lenfositlerinden kaynaklandığını göstermektedir (36). Yukarıdaki iki klinik araştırmanın sonuçları, RUTI aşısının kabul edilebilir düzeyde tolere edildiği, güvenli olduğu, hümmoral ve hüccresel immün yanıtları indüklediği kanıtlanmış olsa da, aşının etkinliğini doğrulamak için daha büyük ölçekli klinik araştırmalara ihtiyaç vardır. Şu anda, RUTI'nin hem TB kemoterapisi için bir adjuvan olarak etkinliğini hem de standart tedavilerle karşılaştırıldığında TB hastalarında immünoterapisinin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirecek iki farklı Faz 2b klinik çalışması (NCT04919239 ve NCT05455112) planlanmaktadır. Ek olarak, halihazırda yayınlanmış olan klinik araştırma verilerine göre, olumsuz olayların sıklığı ile gönüllülere uygulanan RUTI aşısının dozları arasında bir korelasyon olduğu görülmektedir. Gelecekteki RUTI klinik çalışmalarında ana konulardan bazıları, gönüllülerdeki yan etkileri azaltmak için aşının nasıl geliştirileceği ve aşı için uygun doz aralığının nasıl belirleneceği olacaktır (14).

***Mycobacterium smegmatis* aşısı:** *Mycobacterium smegmatis* aşısı, non-patojen, hızlı üreyen bir NTM olan *M.smegmatis* ile hazırlanmış inaktif tam hücre bakteri aşısıdır (4,6,15). *M.smegmatis*, 2000'den fazla homolog geni içermesiveaynı hücre duvar yapısına sahip olması ile *M.tuberculosis*'e çok benzemektedir. Ayrıca *M.smegmatis*, patojen mikobakterilere ve BCG'ye göre, makrofajlardandaha fazla enflamatuvar sitokin salınımını indükleyebilir (4,6,37). Majör doku uygunluk kompleksi (MHC) sınıf 1 moleküllerini düzenleyerek dentritik hücrelerin (DH'lerin) olgunlaşmasını aktive edebilir ve mikobakteriyel antijenlerin daha verimli bir şekilde sunulmasını sağlayabilir (4,6).

Yapılan bir çalışmada, *M.smegmatis* aşısının *M.tuberculosis* ile enfekte fare ve kobayların akciğerlerinde bakteri yükünü çok düşürdüğü saptanmıştır. Bu aşının güvenliğini, toleransını ve PPD cilt reaksiyonlarını değerlendirmek için Çin'de 55 sağlıklı gönüllüyle bir Faz 1 klinik çalışması gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, 14 gönüllüde hafif yan etkilerin gözlemlendiğini, ancak tüm gönüllülerin bu aşıyı iyi tolere ettiğini ve kuvvetli pozitif PPD reaksiyonu verdikleri göstermiştir (4,6,18).

Rekombinant Tam Hücre Bakteri Aşıları

Rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretilen aşılar, rekombinant aşılar olarak adlandırılırlar. Rekombinant TB aşısı hazırlanmasında amaç, *M.tuberculosis*'e ait bir antijeni kodlayan geni içeren DNA parçasının bakteriden çıkarılması (delesyonu), bu DNA parçasının virüs, bakteri, maya, memeli hücresi gibi bir vektöre transferi, DNA parçasında bulunan genin ürünü olan antijenik proteinin vektörde ekspresyonu ile vektörün söz konusu antijeni fazla miktarda üretmesidir. Rekombinant aşılar, *M.tuberculosis* antijenlerini eksprese edecek vektör organizmalara göre mikobakteriyel (*M.bovis*, *M.vaccae*, *M.smegmatis*, *M.bovis* BCG), bakteriyel (*Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus*, *Streptococcus mitis*, *Salmonella*) ve viral (Vaccinia virus Ankara, Adenovirus, Sendaivirus, Influenza virus) aşılar olarak gruplandırılmışlardır. Rekombinant TB aşıları, tek doz uygulama ile hümmoral ve hüccresel immün yanıtı indükleyerek TB'ye karşı spesifik, kuvvetli ve kalıcı bir immünite oluşturabilmektedir (4,6,15).

Yetişkinlere yönelik koruyucu etkinliği sınırlı olsa da BCG suşu, emniyetli, stabil ve kalıcı olması yanısıra immün sistemi non-spesifik olarak indükleyebilmesi gibi nedenlerle rekombinant aşı teknolojisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (4,6,14). KonakT hücre immünitesini artırabilmek amacıyla BCG aşısından, BCG genomuna ekzojen hedef genleri yerleştirilmesiyle modifiye edilerek **rekombinant BCG (rBCG) aşıları** hazırlanmaktadır. Bu amaçla, yeni *M.tuberculosis* antijenlerini eksprese etmeleri ya da eksprese ettikleri mevcut antijenlerin immünojenitesini arttırmaları için doğal BCG genomuna *M.tuberculosis*'e spesifik immünodominant antijenleri kodlayan RD1 ve RD2 gen lokusları gibi yeni genler entegre edilmektedir (2,6,13,14). rBCG aşıları, öncelikle **profilaktik** aşılar olarak düzenlenmişlerdir. Bu şekilde oluşturulan rBCG suşlarının, adaptif immüniteyi indükleyerek koruyuculuk sağlayabilecekleri düşünülmektedir. rBCG aşıları arasında; **VPM1002**, **rBCG30**, **Pnz8149-Ag85A/NZ3900** ve ***Streptococcus mitis* aşıları** sayılabilir (1-4,6).

VPM1002 aşısı: Faz 3 aşamasında olan VPM1002 (rBCG Δ ureC::hly) aşısı, rBCG teknolojisine göre hazırlanmış bir aşıdır (3). Bu aşı, fakültatif anaerobik bir bakteri olan *Listeria monocytogenes*'in listeriolizin O (LLO) enziminin (*hyl*) bakteri genomundan çıkartılması, çıkarılan *hyl* geninin BCG genomuna eklenmesi ve aynı zamanda BCG genomunda bulunan üreaz C geninin (*ureC*) BCG genomundan çıkartılması sonucu elde edilir. BCG genomuna eklenen *hyl* geninin ürettiği LLO enzimi, mikobakterilerin fagosite edildikleri fagozomun membranını perfore etmektedir. Fagozomal membranın parçalanması ile fagosit sitozölüne rekombinant mikobakteriyel antijenler salınmaktadır (1-3,6). BCG genomunda *ureC* gen kaybı, LLO'nun optimum fonksiyonu için fagozom içinde 5,5'lik asidik pH sağlamaktadır. Fagosit sitozölüne salınan mikobakteriyel antijenler, antijene spesifik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin yapımını arttırmakta, inflamazom aktivasyonu ile enflamatuvar aktiviteyi, otofajiyi ve apoptozu tetiklemektedir (1,2,4,6,38).

VPM1002 aşısının, immün yetmezlikli fare, kobay, tavşan ve insan harici primatlarda Th1 ve Th17 sitokin yanıtlarını indükleyebildiği ve BCG'den daha etkili ve güvenli olduğu çalışmalarda

gösterilmiştir. Sonuçlar, aşının IFN-γ üreten multifonksiyonel T hücrelerini ve antikor üreten B hücrelerini stimüle edebildiğine işaret etmektedir (4,6,10).

VPM1002 aşısı, BCG aşısının yerini alması amacı ile profilaktik ve ayrıca TB tedavisinden sonra aktif TB'nin rekürrensini önlemek için immünoterapötik amaçlı tasarlanmıştır. Ayrıca bu aşı, BCG'ye alternatif olarak mesane kanserinde immünomodülatör olarak kullanılmıştır. VPM1002 aşısı, geliştirilmekte olan aşı adaylarından en çok çalışılanıdır (2,6,7,9).

Bugüne kadar elde edilen sonuçlar, VPM1002'nin, özellikle Güney Afrika'daki HIV'li ve non-HIV'li yenidoğan bebeklerde yapılan bir klinik çalışmada gösterildiği gibi, BCG aşısından önemli ölçüde daha güvenli olduğunu ve daha düşük yan etki gösterdiğini ortaya koymuştur (1-3). MTBVAC gibi, tam hücre bakteri aşısı olarak birçok antijene immün yanıt oluşturabildiği için, sınırlı sayıdaki antijene immün yanıt oluşturabilen subünit aşılara göre daha avantajlıdır (6). Bununla birlikte VPM1002'nin immünojenitesinin, BCG aşısından daha düşük olduğunu ileri süren çalışma da bulunmaktadır (3). Ayrıca bu tür canlı aşılar, BCG'de belirtilmiş olduğu gibi, önceden NTM ile karşılaşmış bireylerde interferansa bağlı etkisiz kalabilir (6,9).

VPM1002, yetişkinlerde ve yenidoğanlarda Faz 1 ve 2 klinik denemelerini başarıyla geçmiş olup şu anda Faz 3 aşamasında çalışmaları devam etmektedir (NCT0435685) (1).

rBCG30 aşısı: rBCG30 aşısı, BCG Tice veya BCG Conn parental suşlarından hazırlanmış rBCG aşılardan diğeridir. Hayvanlarda TB'ye karşı yüksek koruma sağlayan ilk rBCG aşısıdır. BCG aşısı ile karşılaştırıldığında, rBCG30 aşısının *M.tuberculosis* proteini olan Ag85B'yi daha fazla eksprese ettiği ve hücre içi mikobakterileri inhibe eden Th1 immün yanıtını daha güçlü indüklediği görülmüştür. Faz 1 çalışmaları tamamlanmış, sağlıklı bireylerde immünojenitesi gösterilmiş, ciddi bir yan etkisi gözlenmemiştir. Ancak rBCG30 aşısının hazırlanması esnasında BCG genomuna eklenen lokuslarda aynı zamanda antibiyotik direnç geni de saptandığı için bu konudaki çalışmalar zayıf etkinlik ve güvenlik sorunları nedeniyle şimdilik durdurulmuştur (2,4,6,14).

AERAS-422 aşısı: AERAS-422 aşısı (rBCG::Ag85A-Ag85B-Rv3407), Ag85A, Ag85B ve Rv3407 olmak üzere *M.tuberculosis*'in üç immünodominant antijenini kodlayan bir plazmidin BCG suşuna transferi ile hazırlanmıştır. Bu plazmid, ayrıca *Clostridium perfringens*'in perfringolizin O (PFO) proteinini kodlayan *pfo* geninin bir modifikasyonunu da taşımaktadır. Aşı, insan CD8+ T hücrelerinde iyi bir immün yanıt oluşturmaktadır. Ancak iki yetişkin gönüllüde çok ağırlı zona gelişince AERAS-422 aşısının çalışmaları zayıf etkinlik ve güvenlik sorunları nedeniyle şimdilik durdurulmuştur. Zona gelişmesinin hastalarda latent fazda bulunan herpes zoster virüsünün PfoA lizozimi ile aktivasyonu sonucu gelişmiş olabileceği görüşüne varılmıştır (4,6,14).

Pnz8149-Ag85A/NZ3900 aşısı: *M.bovis* BCG suşu dışında diğer bakteriler ile de rekombinant aşı çalışmaları yapılmaktadır. Pnz8149-Ag85A/NZ3900 aşısı, *M.tuberculosis* Ag85A antijenini eksprese eden canlı bir rekombinant *Lactococcus lactis* aşısıdır. Farelerde intragastrik yoldan uygulanan aşı, lokal mukozal immüniteyi indükleyerek daha yüksek düzeyde spesifik sIgA

salgılanmasına neden olmuştur. Bu aşı, henüz preklinik aşama safhasındadır (4,6,15).

Streptococcus mitis aşısı: *M.bovis* BCG suşu dışında diğer bakterilerden hazırlanmış bir diğer aşı ise *M.tuberculosis* proteini Ag85B'yi eksprese eden rekombinant *Streptococcus mitis* aşısıdır. Deney hayvanlarında oral kolonizasyon sonucunda oral ve sistemik anti-Ag85B spesifik IgA ve IgG antikoru saptanmıştır (4,6).

Subünit Aşılar

TB tarafından indüklenen doğal ve adaptif immün yanıtlara ilişkin elde edilebilecek kapsamlı bilgiler, immün mekanizmaları uyarabilen daha fazla türde etkili antijenlerin tasarımını mümkün kılacaktır. Ayrıca, antijenlerin bağışıklığı uyarıcı etkilerini arttırmak için yeniden yapılandırılmalarına yönelik etkin çalışmalar da yapılmalıdır. *M.tuberculosis* genomunun sekans çalışmaları, aşı adayı olarak kullanılabilir yeni antijenlerin bulunmasına imkân vermiştir (1,16).

TB subünit aşıları, genellikle *M.tuberculosis*'ten izole ve pürifiye edilmiş polipeptidler, mikolik asitler gibi bazı immün aktif yapılar içerirler. *M.tuberculosis*, 4000 kadar protein eksprese ettiği için immün hedef olabilecek çok fazla seçenek bulunmaktadır. Aşı geliştirme sürecinde, aşı içeriğinde bulunacak olan en iyi antijenlerin nasıl seçileceği ve kaç antijenin aşıya dahil edileceği gibi henüz tam yanıtı bulunamamış kritik sorular bulunmaktadır (4,6,9,15).

TB subünit aşılardaki antijenler, esas olarak iki şekilde seçilirler. Bunlardan birincisi, hayvan veya insan çalışmalarında gösterdikleri immün dominant olma özelliğine, diğeri ise aktif TB hastalarında ve latent TB enfeksiyonlu kişilerde görülen ekspresyon profil özelliklerine göre seçilirler. Çoğu, ESAT-6, MPT64, Ag85B, Ag85A gibi sekrete edilen ve ısı şok proteinleri (HSP), lipY lipaz gibi hücre duvarında bulunan proteinlerden oluşan antijenlerdir. Yüksek immünojenite gösteren Rv0232, Rv1031, Rv1198, Rv2016, Rv3874, Rv3875, Rv2031c, Rv3620, PPE39 proteinleri de kullanılabilir. Bir çalışmada, *Escherichia coli*'de *M.tuberculosis* proteinleri eksprese ve pürifiye edilmiş, insan örneklerinde humoral ve hücrel immün yanıtları araştırılmış, sonuçta yüksek immünojeniteye sahip aşı adayı olabilecek dört adet protein (Rv0232, Rv1031, Rv1198 ve Rv2016) tanımlanmıştır. *M.tuberculosis* hücre duvarı proteinlerinden biri olan lipY lipaz, aynı zamanda virülans faktörü olarak da hareket etmektedir (6,10,15). Subünit lipY ile yapılan hayvan immünizasyon deneylerinden alınan sonuçlar; önemli bir antijen olan lipY ve benzeri lipolitik enzimlerin, BCG aşısına eklenebileceğini veya yeni terapötik aşı adayı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (6,39).

TB subünit aşıları, genellikle profilaktik veya güçlendirici olarak ya da önceden BCG aşısı yapılmış veya *M.tuberculosis* ile enfekte olmuş bireylerde temas sonrası aşısı olarak geliştirilmişlerdir. Bu aşılar, BCG aşıları kişilerde korunmayı arttırmak veya BCG aşısının etki süresini uzatmak amacı güçlendirici olarak veya *M.tuberculosis* ile enfekte kişilerde ise aktif TB hastalığı gelişmesini ve/veya tedavi görmüş hastalarda re-enfeksiyonu önlemek amacı ile terapötik olarak kullanılırlar.

BCG tekrarı ile subünit güçlendirici aşının birlikte uygulanma stratejisi, sinerjik etki ile aşının daha etkili olmasını sağlayabilir. Bu etki gösterilebilirse, BCG tekrarı ve birlikte subünit aşı kombinasyonu, yeni bir aşılama stratejisi olabilir. Diğer yandan bu aşılar, aynı zamanda terapötik değerleri açısından da değerlendirilmektedir (1,6,9,16,18).

Antijen olarak tüm patojenleri kullanan geleneksel inaktif ve atenüe tam hücre bakteri aşuların aksine subünit aşular, spesifik patojen proteinlerini içerir veya eksprese ederler. Bu da aşılanmış bireylerde hastalık olasılığını azaltır. TB subünit aşularının T hücrelerinde devamlı immün hafıza oluşturabilmeleri önemli bir avantajdır. Ayrıca düşük maliyet, kolay hazırlanma, yüksek saflık ve güvenilirliği de diğer avantajlarından (3,4,6).

Spesifik ve güvenli olmalarına rağmen sınırlı sayıda antijen içermeleri nedeniyle subünit aşuların daha önce tarif edilen canlı-atenüe veya inaktif bakterilerden oluşan tam hücre aşuları ile karşılaştırıldıklarında, immün yanıt uyarma kapasitelerinin düşük olduğu görülür. BCG ile karşılaştırıldıklarında; subünit aşuların immünojenitesinin daha kısa süreli olması, hafıza immünitesinin zayıf olması ve adjuvanlara gereksinim duyması gibi bazı kısıtlılıkları vardır. Bu nedenle bu aşuların, immünojenitelerini artıracak, ihtiyaç duyulan antijen dozunu azaltacak, hedeflenen teslimatı sağlayacak, antijen dağıtımını ve bağışıklık hücreleriyle etkileşimini optimize edecek şekilde tasarlanmaları gerekir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu kısıtlılıkları giderici bir miktar ilerlemeler kaydedilmeye başlanmıştır. Ayrıca, TB subünit aşularının immünojenite ve koruyucu etkilerini arttırmak için lipozomlar, emülsiyonlar ve virozomlar gibi yeni adjuvanlar veya dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Adjuvanların kullanımı,indüklenmiş immün yanıtı arttırmak için gereklidir. Bazıları, latent TB enfeksiyonu tedavisi için oldukça umut verici potansiyel aşılardır. Bu TB subünit aşularının özellikle HIV gibi ko-morbiditeleri olan popülasyonlarda uzun vadeli etkinlik ve güvenlik profilini daha iyi anlamak için daha fazla veri toplamak ve çalışma yürütmek önemlidir. Devam eden çalışmalar, bu aşuların klinik uygulamalarda potansiyel kullanımına ilişkin değerli bilgiler sağlayacaktır. Subünit aşular; **viral vektörlü subünit aşuları** ve **adjuvanlı protein subünit aşuları** içerirler (1,3,6).

Viral vektörlü subünit aşular

Viral vektörlü subünit aşılarda, konakta immün yanıt oluşturabilmek için *M.tuberculosis*'e spesifik antijeni kodlayan genetik dizi, virüslere (viral vektörlere) transfer edilmektedir. Viral vektörler, antijen kodlayan genleri konak hücreye sokarlar.Viral vektörlü subünit aşı eldesi için çeşitli viral vektörler test edilmiştir. Yeni viral vektörlü subünit aşuları, aynı zamanda hem çoğalan hem de dormant bakterilerin antijenlerini içermeleri nedeniyle, daha geniş ve farklı evrelerdeki antijenlere spesifik immün yanıtı uyarabilirler. Genetik mühendisliği kullanılarak yapılan diğer aşılara oranla daha büyük gen parçalarını taşıyabilirler. Ayrıca, güvenli olmaları, kolay üretilibilmeleri yanı sıra maliyet açısından da avantajlıdırlar. İmalat sürecinin çok yönlülüğü ve

acil durum esnasında hızlı dağıtım olasılığı nedeniyle viral vektörlerin kullanımı hızlı bir şekilde artmaktadır (1,3,6,10).

Bu aşılar, antijenden bağımsız olarak CD4+ ve CD8+ Th1 immün yanıtı indükleyerek efektör T hücrelerini uyaran ve en fazla immünojen olan aşılar arasındadır. Antijenlerin hücre içinde üretilip doğal immün sistemin uyarılmasını sağlarlar. Profilaktik ve temas sonrası aşısı olarak üretilmektedirler. İmmün yanıtı arttıran güçlendirici aşı olarak da kullanılabilirler. Kuvvetli immün yanıt uyarmaları için adjuvanlara gereksinimleri yoktur. İnaktive aşılardan aksine, güçlü ve kalıcı bir immün yanıt oluşturarak uzun süreli bağışıklık sağlama kapasitesine sahiptirler (3,6,10). Ancak viral vektörlü aşılardan güvenliği ve etkinliğine ilişkin bazı sınırlamaların dikkate alınması gerekir. Endişelerden biri, vektöre karşı önceden var olan bağışıklığın, vektörün etkinliğini etkileyip etkilemeyeceği ve virüslerin virülanslarını geri kazanabilme potansiyelleridir. Vektöre karşı immünite gelişebildiği için sonraki uygulamalarda yeterli etkiyi oluşturamayabilirler (3,6,16). Çalışmalar, influenza virüsüne daha önce maruz kalmanın, hedeflenen antijenlere verilen immün yanıtı etkileyebileceğini göstermiştir. Bireylerde saptanan yüksek seviyedeki adenovirüs nötralizan antikoları, rekombinant adenovirüs aşılardan immünojenitesini baskılama yeteneği gösterdiğinden benzer zorluklar adenovirüs aşılardan da görülmektedir. Bazı vektörler kullanıldığında, konak kromozomuna entegrasyon ve antijen toleransı gelişebilmektedir. Ayrıca, dolaşımdaki vahşi tip virüslerle genetik yeniden düzenlenme (genetic reassortment) riski vardır; bu da potansiyel olarak antijen geninin kaybına ve virülansın yeniden sağlanmasına neden olabilir (3,6,40). Viral vektörlü subünit aşılardan diğer sınırlaması, aşı güvenliğini ve etkinliğini etkileyen immünotoksitesidir. Enflamatuvar yanıtları baskılamak ve gen terapisine aracılık etmek için doğru bir vektör tasarımı zorunludur (1). Bunların yanında, adjuvanlı protein subünit aşılardan oranla daha az merkezi hafıza T hücresi (TCM) indüksiyonu yapmaları ve taşıdıkları yabancı gen ekspresyonundaki kararsızlık gibi istenmeyen durumlar da olabilir (4,6,10,15,16).

Viral vektör aşı geliştirilmesi aşamasında birkaç aday bulunmaktadır. Aşılar vektör olarak; atenüe, replikasyon defektli Poxvirus grubundan modifiye Vaccinia Ankara (MVA) virüsü, insan veya şempanzeye spesifik adenovirüsler, sitomegalovirüs (CMV), H1N1 influenza virüsüne Sendai virüs kullanılmaktadır (4,6,7). Viral vektörlü subünit aşılar **CMV-9 Ag aşısı** prelinik, **AdHu5Ag85A** ve **AERAS-402 aşısı** Faz 1, **TB/FLU-04L**, **ChAdOx1.85A** ve **MVA85A aşısı** ise Faz 2b aşamasındadır (1,3,7,34,41). AdHu5Ag85A, AERAS-402 ve ChAdOx185A aşısı, sırasıyla insan adenovirüs serotip 5 (AdHu5), insan adenovirüs serotip 35 (AdHu35) ve simian adenovirüsüne (ChAd) dayanmaktadır. MVA85A aşısı, modifiye vaccinia Ankara virüsü içermekte iken TB/FLU-04L aşısı, influenza A virüsünü, CMV-9 Ag aşısı ise CMV içerir. Bu aşılar, *M.tuberculosis* proteini Ag85A'yı eksprese ederler. Aynı zamanda TB/FLU-04L aşısı, ESAT-6 antijenini; AERAS-402 aşısı, Ag85B ve TB10.4 antijenlerini; CMV-6 Ag aşısı ise ESAT-6, Ag85B, Rv3407, Rv1733, Rv2626, Rpf A, Rpf C ve Rpf D antijenlerini de eksprese ederler (1,3,7).

CMV-6 Ag ve CMV-9 Ag aşısı: Preklinik aşamada olan CMV-6 Ag aşısı, altı; CMV-9 Ag aşısı ise dokuz TB antijeni (ESAT-6, Ag85A, Ag85B, Rv3407, Rv1733, Rv2626, Rpf A, Rpf C ve Rpf D) içermektedir. Aşılandıktan bir yıl sonra oluşturulan deneysel enfeksiyona karşı makak maymunlarında %41 oranında koruyuculuk olduğu gösterilmiştir. Koruyucu etki mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, muhtemel etki mekanizması, diğer pek çok aşidan farklı olarak, devam eden antijen ekspresyonu sonucu akciğerler dahil olmak üzere bütün organlarda bulunan efektör T hücrelerini indükleyerek devamlı yerine konulması şeklinde açıklanabilmektedir. Çoğu Thücre hedefli aşılar, uzun süreli TCM yanıtını indüklerler. CMV temelli, **RhCMV/TB** olarak adlandırılmış yeni bir aşının CD4+ ve CD8+ hafıza T hücre yanıtını indükleyebileceği ve hem akciğer hem de akciğer dışı TB olgularında *M.tuberculosis* yükünü azaltabileceği bildirilmiştir (4,6,7,42).

AdHu5Ag85A (eski adıyla Ad5Ag85A) aşısı: Daha önce Ad5Ag85A olarak bilinen AdHu5Ag85A (insan adenovirüs serotip 5 Ag85A) aşısı, *M.tuberculosis* Ag85A antijenini eksprese eden rekombinant replikasyon eksikliği olan bir insan adenovirüs serotip 5 vektörü kaynaklıdır (1,2,6,14).

Klinik çalışmalara başlanılmış olup aşının Faz 1 denemesinde; HIV negatif bireylerde güvenli, iyi tolere edilebilen ve immünojen olduğu gösterilmiştir (2,6,23). Başka bir çalışma, AdHu5Ag85A aşısının insanlara kas içi verilmesinin güvenli ve immünojenik olduğunu ve özellikle BCG aşıli bireylerde multifonksiyonel CD4+ ve CD8+ T hücresi yanıtını BCG'den daha güçlü uyardığını göstermiştir (1-3,6,34). Ancak antijenin, mevcut insan adenovirüs serotip 5 antikorları ile nötralizasyonu, AdHu5 vektör bazlı aşı ile klinik deneylerin gerçekleştirilmesindeki en büyük zorluktur. Bu durumda aşılama sonrasında gerekli bağışıklık ve hafıza hücreleri sağlanamadan antijen dokulardan uzaklaştırılmaktadır. AdHu5Ag85A'nın Faz 1 çalışmaları devam etmektedir (2,6,23).

AERAS-402 aşısı: AERAS-402 aşısı, replikasyon defektli rekombinant insan adenovirus serotip 35 (AdHu35) aşısıdır. Bu aşı, füzyon proteinleri Ag85A, Ag85B ve TB10.4.'ü eksprese etmektedir. Klinik çalışmalarda, BCG uygulamasından sonra AERAS-402 uygulanmış ve CD4+ ve CD8+ T hücre yanıtının arttığı sonucuna varılmıştır. Akciğer TB'si tedavisi görmüş yetişkinlerde yapılan bir klinik çalışmada ise kuvvetli CD8+ ve orta düzeyde CD4+ T hücre yanıtı uyardığı saptanmıştır (4,6). AdHu5Ag85A aşısı, iyi tolere edilmiş ve Faz 1 denemelerinde iyi güvenlik profilleri göstermiş olsa da Sahra altı Afrika'da AdHu5'e karşı nötraleedici antikor titrelerinin %90'a varan yaygınlığı ve bu vektörün kullanılabilirliğinin sınırlı olması, AdHu35 gibi alternatif insan adenoviral vektörlerin araştırılmasına yol açmıştır. AdHu35'e yönelik seroprevalans ve nötrale edici antikor titresi seviyeleri, Sahra altı Afrika da dahil olmak üzere dünya çapında AdHu5'inkinden daha düşüktür (sırasıyla %20'ye karşı %90). Sahra altı Afrika'daki kişilerin ancak <%5'inde önemli düzeyde nötrale edici antikor titreleri (>200) bulunur (43).

TB/FLU-01L ve TB/FLU-04L aşıları: Klinik deneylerde bu viral vektörlü aşılar, mukozal uygulama yoluyla influenza A vektör platformunu kullanırlar. Canlı rekombinant TB/FLU-01L aşısı, *M.tuberculosis* ESAT-6 antijenini eksprese eden zayıflatılmış replikasyon eksikliği olan bir influenza A virüsüne dayanırken, canlı rekombinant TB/FLU-04L viral vektörü ise hem *M.tuberculosis* Ag85A hem de *M.tuberculosis* ESAT-6 antijenlerini eksprese edecek şekilde tasarlanmıştır. 28-50 yaş aralığında yapılan Faz 1 denemeleri, intranazal ve sublingual olarak uygulanan bu aday aşılardan, BCG ile aşılanmış sağlıklı yetişkinlerde güvenli, tolere edilebilir ve immünojenik olduğunu göstermiştir (NCT03017378, NCT02501421) (1,6,23). Bu aşılar, esas olarak BCG'den sonra uygulanacak güçlendirici aşı olarak düzenlenmişlerdir. Faz 2b aşamasında olan TB/FLU-04L aşısının güvenli olduğu ve *M.tuberculosis*'e özgü Th1 immün yanıtı ortaya çıkardığı tespit edilmiştir (3,6).

ChAdOx1.85A: ChAdOx1.85A (şempanze adenovirüs vektörlü Oxford 1 Ag85A) aşısı, *M.tuberculosis* Ag85A antijenini eksprese eden bir simian adenovirüs aşısıdır. ChAdOx1, replikasyonu önlemek için modifiye edilmiş bir maymun adenovirüs vektörüdür. Hayvan deneylerinde CD4+ ve CD8+ T hücre yanıtını, akciğerlerde ve dalakta arttırdığı gözlenmiştir. Ancak farelerde, akciğer TB enfeksiyonuna karşı korumada yetersiz kalmıştır (1,4,6).

MVA85A aşısı: MVA vektörü, endemik ortamlarda profilaktik aşı platformu olarak kapsamlı bir şekilde test edilmiştir. MVA85A aşısında bulunan MVA, 10 kbp'ye kadar büyük immünojenik dizilerin insersiyonuna izin veren, immünodominant mikobakteriyel antijen olan *M.tuberculosis* Ag85A antijenini eksprese eden ve spesifik T hücre yanıtlarının uyarılmasında etkili olan rekombinant, replikasyonu eksik, modifiye edilmiş bir aşı virüsüdür (1,6,2,34,44).

Hayvan deneylerinde humoral ve hücrel immün yanıtları stimüle edebildiği gösterilmiştir. Klinik öncesi çalışmalarda MVA85A aşısının, farelerde TB'ye karşı koruyucu immüniteyi arttırdığı, kuvvetli CD4+ T hücre yanıtı oluşturduğu, güvenli ve uygulanabilir bulunduğu bildirilmiştir (1,6,34).

MVA85A, Faz 2b etkinlik denemesinde değerlendirilen ilk profilaktik TB aşı adayıdır. Aynı zamanda BCG aşıları bireylerde güçlendirici aşı olarak kullanılabilirliği denenmiştir (1,2). BCG ile aşıları iki aylık bebeklere uygulanan MVA85A aşısının bebeklerin iyi tolere ettiği ve aşının, ılımlı immünojenik etkisi bulunduğu belirtilmiş olsa da yan etkiler ve güçlendirilmiş immünizasyon açısından değerlendirildiğinde; kombine BCG+MVA85A ve sadece BCG ile yapılan immünize grupları arasında önemli bir fark olmadığı, hatta sadece BCG ile immünize edilmiş grupta korumanın daha iyi bir şekilde 10-15 yıl sürdüğü, MVA85A aşısı ile güçlendirilmiş korumanın ise iki yıllık sürede gözlemlenemediği saptanmıştır. Çalışma sonunda; aşının sadece tek inokülasyonda etkin olduğu, bebeklerde tekrar aşılama uygun olmadığı, bebeklerde yetişkinlerden farklı bir immün yanıt oluştuğu sonucuna varılmıştır (4,6). Diğer bir çalışmada (12), MVA85A'nın hayvan deneylerinde IFN- γ üreten CD4+ T hücrelerini artırsa da koruma

oluşturmadığı ve insanlarda yeni enfeksiyonları engelleyemediği belirlenmiştir (12). Yapılan diğer bir çalışma, MVA85A aşısının güvenilir olduğunu, ancak BCG'nin etkinliğini artıramadığını göstermiştir (1). Dolayısıyla bu aşıya karşı oluşan immün yanıtlar, farklı birey gruplarında gerçekleştirilen çalışmalarda değişkenlik göstermektedir. Sonuçta bu aşı, Faz 2b klinik çalışmalarda TB'ye karşı koruyucu bir etkinlik göstermemiştir (2).

ChAdOx1.85A+MVA85A aşısı: ChAdOx1.85A+MVA85A aşısında, MVA ve ChAdOx1 vektörleri beraber kombinasyon halinde kullanılmıştır (1,7). ChAdOx1.85A, MVA85A (NCT01829490, NCT03681860) ile kombinasyon halinde BCG aşılama sürecini destekleyici olarak Faz 1 ve Faz 2a klinik çalışmalarını tamamlamıştır (1).

Klinik öncesi fare çalışmaları, ChAdOx1.85A'nın, BCG+ChAdOx1.85A+MVA85A aşılama rejiminin bir parçası olarak kullanıldığında sürekli olarak koruyucu etkinliği olduğunu göstermiştir (1). Klinik çalışma sonuçları, ChAdOx1.85A+MVA85A aşısının spesifik CD4+ ve CD8+ T hücre immün yanıtlarını indüklediğini, IgG antikorları ürettiğini ve ciddi yan etkiye neden olmadığını göstermiştir (3).

ChAdOx1.85A, MVA85A ile birlikte güçlendirici aşı olarak mukozal yoldan uygulandığında, BCG aşısının immünojenitesini ve koruyucu etkisini arttırdığı gözlenmiştir (6,34). Ayrıca Faz 1 klinik deneyi, ChAdOx1.85A prime-MVA85A takviyesinin sağlıklı Birleşik Krallık yetişkinlerinde iyi tolere edildiğini ve immünojenik olduğunu göstermiştir (1).

Diğer taraftan hem Ag85A hem de PPE15 antijenlerini kodlayan **ChAdOx.1/MVA PPE15-85A aşısı**, klinik öncesi değerlendirme aşamasındadır ve tek başına BCG'ye göre daha üstün koruma sağladığı gösterilmiştir (1,7).

Adjuvanlı Protein Subünit Aşılı

Adjuvanlı protein subünit aşılı, güvenlik kaygılarının üstesinden gelmeleri ve antijen hedeflemeyi optimize etmeleri nedeniyle son derece umut verici TB aşılı adaylarıdır. Özellikle son yıllarda aşılı adjuvanlarının geliştirilmesi, protein subünit aşılı, daha az antijenik olsa da en güvenilir olma yönünde ulaşılabılır bir hedef haline getirmiştir. Ancak immün sistemi uyarıcı etkilerini arttırmak için subünit aşılı rasyonel olarak yeniden yapılandırılmaları gerekir (1).

Adjuvanlar, çoğunlukla enjeksiyon bölgesinde birikim oluşumu, antijenin degradasyondan korunması ve immün sistemin uyarılması yoluyla antijene özgü bağışıklığın artırılmasında ve/veya şekillendirilmesinde rol oynarlar. Ne yazık ki aşılı adjuvanları, tıp tarihinde bugüne kadar en yavaş gelişen süreçlerden biri olmuştur ve bu da alüminyum bazlı bileşiklere, onlarca yıldır tek lisanslı adjuvan olma özelliği kazandırmıştır. Adjuvanlar, humoral immüniteyi etkilerken hücrel immüniteyi pek etkilememektedirler. Protein subünit aşılılarda, Th1 tip hücrel immün yanıtı da indükleyebilecek yeni adjuvanlara gereksinim vardır (1,6,10,45).

Aşılı adjuvanları; yapılarına, uygulanma sistemlerine ve doğal bağışıklığı tetikleyebilme özelliklerine göre gruplandırılmaktadırlar. Aşının sahip olması istenen özelliğe göre adjuvan

seçilir (6,45). Adjuvan seçimi, uyarılan immün yanıtın sadece şiddetini değil kalitesini de etkilemektedir (6,11). Hem sitokinlerin fonksiyonunu arttıran, hem de Th1 hücreli immün yanıt süresini uzatan adjuvanların seçimi, TB immünolojisi açısından önemlidir (6,17). TB aşısının geliştirilmesinde en çok kullanılan adjuvanlar arasında (i) **glikopiranozil lipid adjuvanı (GLA), adjuvan sistem 01 (AS01)** ve AS02 adjuvanı gibi emülsiyonlar ve lipozomlar, (ii) **IC31** gibi füzyon proteinleri, (iii) **Sitozin fosfat guanozin (CpG) nükleotidi venişasta, kitosan** veya **selüloz** gibi polisakkaritler yer alır (1,6).

Lipopolisakkarit (LPS)'in sentetik bir türeği olan **GLA**, TLR4 agonisti olup oldukça güçlü bir adjuvandır (1,46). LPS gibi immün sistemi uyarıcı aktiviteye sahip olmasına rağmen toksisitesi oldukça azaltılmıştır (1). Hümorale ve hücreli immün yanıtları büyük ölçüde artırabilir. Antijen sunan hücrelerin (APC'lerin) hücre yüzeyindeki TLR4'ün uyarılması, doğal ve adaptif immün yanıtların uyarılması için önemli bir yoldur. Daha reseptöre spesifik olan ve daha az yan etkiye sahip olan, ancak adjuvan aktivitesini koruyan veya artıran GLA gibi sentetik lipid A benzeri moleküller dahil olmak üzere yeni nesil TLR4 agonistleri geliştirilmektedir. GLA, fare DH'sinde doğal olarak türetilen monofosfat lipid A'ya (MPL) benzer şekilde, enflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin, DH olgunlaşmasının ve antijen sunma fonksiyonlarının üretimi dahil olmak üzere çok işlevli immünomodülatör aktivitelere sahiptir. GLA adjuvanlarının, DH olgunlaşmasını indükleyerek ve pro-enflamatuvar sitokinleri ve kemokinleri salınmasına yol açarak doğal ve adaptif immün yanıtları uyardığı ve yönlendirdiği saptanmıştır (46). GLA, tescilli, stabil bir su içinde yağ skualen emülsiyonu (GLA-SE) olarak ve sulu formda formüle edilmiştir (1,3,46).

AS01 ve **AS02** adjuvan sistemlerinin her ikisi de immün uyarıcılar olan 3-O-desasil-4'-monofosforil lipid A (MPL) ile saflaştırılmış bir saponin fraksiyonu olan Quillaja Saponaria fraksiyonu 1'i (QS21) içerir. AS01, kolesterol içeren lipozom bazlı bir adjuvan iken AS02 ise su-yağ emülsiyonu içinde formüle edilmiştir. QS-21, APC'lerin aktivasyonuna yol açan sinyal yolunun uyarıcısı ve TLR4 aktivatörü olarak görev yapan doğal bir saponindir. QS-21'in doğrudan etkisi açık olmasa da, hem APC'lerin hem de Th1 immün yanıtının aktivatörü olarak görev yaptığı ileri sürülmektedir. MPL, TLR4 ligandıdır. TLR uyarımı, sitokinlerin üretimine ve gelişmiş antijen sunumuna yol açar. Bu nedenle MPL'nin, antijene spesifik CD4+ T hücrelerinin in vivo aktivasyonunu ve genişlemesini teşvik ettiği düşünülmektedir. Farelerde MPL'nin, hücreli immün yanıtı arttırmada QS21 ile sinerjik çalıştığı gösterilmiştir. AS01 ve AS02 formülasyonlarının her ikisi de etkili ve devamlı bir antikor yanıtı oluştururken AS01, antijene spesifik Th1 yanıtını daha yüksek düzeyde indüklemektedir. AS01, FDA onaylı zona aşısı "Shingrix"te kullanılmaktadır ve sıtma aşısında da kullanılmak üzere klinik geliştirme aşamasındadır. Bu başarılar, gelecekteki TB aşılarının klinik gelişimine umut vermektedir (1,6,47).

IC31, pozitif yüklü bir peptid olan KLK (KLKL5KLK) ve sırasıyla 25:1 moleküler oranda deoksiinozin ve deoksisitozin (ODN1a) dinükleotidlerinin tekrarlarından oluşan bir fosfodiester

omurgalı DNA oligonükleotidinden oluşan, klinik değerlendirmede iki bileşenli bir adjuvandır. Burada KKK, ODN1a'yı hücre zarı geçirgenliği olmadan hücre içine translokasyonu için bir taşıyıcı olarak çalışır. Hücrenin içinde ODN1a, normalde bakteri DNA'sı tarafından aktive edilen TLR9 reseptörü üzerinde agonist olarak görev görür (1).

Sitozin fosfat guanozinoligodeoksinükleotid (CpG ODN), sıklıkla bakteriyel ve viral DNA'da gözlenen, kısa, tek sarmallı sentetik DNA molekülleridir. CpG, TLR agonistleridir ve spesifik olarak TLR9 agonistleri tarafından tanınırlar. CpG ODN'nin güvenilirliği ve güçlü adjuvan etkinliği, klinik çalışmalarda etkili bir şekilde doğrulanmıştır (1,3).

Nişastanın bir adjuvan olarak güvenli, biyolojik olarak uyumlu ve çözünür olduğu kanıtlanmıştır. Karbonhidrat yapısındaki nişasta, mikobakteri kapsüler polisakkaritleri oluşturan glikojen benzeri α -1, 4 glukana benzer bir α -glukan olduğundan spesifik immün yanıtı ortaya çıkarır. Nişasta, aynı zamanda dağıtım sistemi olarak ve mukozal TB aşısına doğru bir adım olarak değerlendirilmektedir. İntranazal olarak uygulandığında nişasta mikropartikülleri, solunum yolunda bulunan glukana reseptörleri tarafından tanınırlar ve bakteri ile olan etkileşimi taklit ederek spesifik immün yanıt oluştururlar (1,6).

Kitosan, D-glukozamin ve N-asetil glukozaminden oluşan polisakkarid yapısında bir adjuvan olup düşük toksisiteli, biyolojik olarak uyumlu ve çözünür bir moleküldür. Mukozaya adezyon yapan, hücreler arasına penetre olabilen, hücre tarafından kolay alınan, antijenin kontrollü salınımını sağlayan ve özelleşmiş hücrelere sunulmasını arttıran özellikleri vardır. İnflamasyonları aktive ederek, bilhassa IL-1 β ve IL-18 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına ve sonucunda Th1, Th2 ve Th17 hücrel immün yanıtların aktivasyonuna neden olurlar (6,10).

Adjuvanlı protein subünit aşuları arasında Faz 2a'da **ID93+GLA-SE** (QTP101) ve **AEC+BC02**, Faz 2b'de **H56+IC31** ve **M72+AS01E** ve Faz 3'te **GamTBvac** yer almaktadır (1,3).

ID93+GLA-SE aşısı: Rekombinant füzyon proteini olan ID93, *M.tuberculosis*'in iki dış membran proteini olan Rv1813 ve Rv2608'i ile ESAT6 ailesine ait iki salgısal protein olan Rv3619 ve Rv3620'yi içerir. Rv2608, Rv3619 ve Rv3620 antijenleri, virülans ile ilişkili iken Rv1813 antijeni, latentlik ile ilişkilidir. ID93+GLA-SE aşısında GLA-SE adjuvanı bulunur. BCG aşı ve aşısız deney hayvanlarında TB'ye karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (1,3,6). Ayrıca, terapötik aşı olarak intramusküler uygulama ile primatlarda tedavide etkili bulunmuştur. ID93+GLA-SE aşısı, CD4+ T hücrelerini stimüle ederek yüksek düzeyde Th1 kaynaklı sitokinlerin salgılanmasına neden olur (6,21).

Son beş yılda ID93+GLA-SE aşısı üzerinde, BCG ile aşılanmış sağlıklı yetişkinlerde immünojenitesini değerlendirmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır (1). Faz 1 klinik çalışmaları, güçlü antijene spesifik serum antikorları ve Th1 tipi hücrel immün yanıtları uyarmada güvenliğini ve etkinliğini göstermiştir (3). Klinik çalışmalar, aşının kabul edilebilir güvenlikte olduğunu göstermektedir (4,6,48). *M.tuberculosis*'in W-Beijing suşu (Mtb HN878) ile

oluşan enfeksiyonlara karşı koruma sağlayabileceği bildirilmektedir. Bu korumayı da bakteri yükünü ve akciğer harabiyetini azaltarak ve uzun süreli Th1 immünitesini indükleyerek yapabildiği düşünülmektedir (6). Bu aşı, ilaca duyarlı akciğer TB tanısı konulan HIV ile enfekte olmayan hastalarda rekürrensi önleyebilmesinin, T hücre yanıtını ortaya çıkarabilmesinin ve tolere edilebilirliğinin araştırıldığı Faz 2a çalışmasında ümit vericidir (1).

AEC+BC02 aşısı: Rekombinant *M.tuberculosis* antijeni olan Ag85B antijeni, füzyon proteinleri olan ESAT6 ve “10-kDa kültür filtresi protein antijeni” CFP10, kompleks bir adjuvan sistemi olan BC02 (BCG CpG DNA bileşiği 02) ve alüminyum tuzundan türetilmiştir (1,3,6). Bu aşı, kobay latent enfeksiyon modelinde dalak ve akciğerlerdeki canlı bakteri yükünü azaltarak iyi bir koruyucu etki göstermiştir (1). Ayrıca deney hayvanlarında antijene spesifik uzun süreli hücresel immün yanıt, terapötik etki ve tip 1 hipersensitiviteyi indüklediği gösterilmiştir (4,6).

Bu aşı adayının, Faz 1 klinik deneyleri 2019 yılında tamamlanmış olup Faz 2a çalışmaları devam etmektedir (NCT05284812) (1,6,15,23). AEC+BC02 aşısı, temas öncesi profilaktik aşı olarak etkili olmasa da, klinik öncesi latent TB enfeksiyonu modellerinde ilerleyici hastalığı önleyici immünoterapötik olarak potansiyel göstermektedir (3). AEC+BC02 aşısının, izoniazid ve rifapentin ile birlikte kemoterapi sonrasında terapötik bir etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (1).

H56+IC31 aşısı (AERAS-456):IC31 adjuvanı ile birlikte immünojenik üç *M.tuberculosis* antijeni (Ag85B, ESAT-6 ve latent TB ile ilişkili Rv2660c) içeren füzyon protein aşısıdır (1-3,6,9). TB basilinin enfeksiyonun başlangıcında makrofajlar tarafından fagosite edilmesinden sonra, Ag85B ve ESAT-6 antijenlerinin bakterilerin hayatta kalması için önemli olduğu düşünülmektedir. H56+IC31 aday aşısı, profilaktik veya güçlendirici olarak fare ve kobaylarla yapılan klinik öncesi aşı çalışmalarında oldukça immünojenik olduğu gösterilmiştir (2). Deney hayvanlarında doğal ve adaptif immüniteyi indüklemektedir (6,15). Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışma, H56+IC31’in güçlendirici aşısının geç dönem *M.tuberculosis* enfeksiyonunu kontrol etme ve latent TB’yi sınırlama potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (3). Aşı, hayvan deneylerinde temas sonrası olarak uygulandığında, reaktivasyonu engelleyebilmekte ve bakteri yükünü belirgin şekilde azaltabilmektedir (6). Aşının hem aktif çoğalan hem de dormant basillere karşı Th1 immünitesini indüklediği gösterilmiştir (6,17,48).

H56+IC31 aşısı, profilaktik, temas sonrası ve terapötik olarak kullanılması amaçlanmıştır (6,9). Profilaktik aşılama iyi sonuçlar elde edilen H56:IC31 aşısı ile terapötik amaç için intramüsküler uygulama çalışmaları da yapılmaktadır (6,17). Faz 1 çalışmalarında bazı bireylerde geçici kardiyovasküler yan etkiler gözlenmiş olsa da aşı, antijene spesifik IgG yanıtlarını ve Th1 sitokin ekspresyonunu CD4+ T hücrelerini uyarmıştır (3,4,6). Faz 1 çalışmaları, H56+IC31 ile aşılamanın, *M.tuberculosis* enfeksiyonu olsun veya olmasın BCG ile aşılama sonrası yetişkinlerde güvenli ve immünojenik olduğunu göstermiştir (1,6). Aktif TB’li yetişkin ve adölesanlarda güvenlik ve immünojenisiteye yönelik yapılan çalışmalarda güvenilir bir aşı olduğu gösterilmiştir (2). Ayrıca

diğer araştırmalar, bu aşının hem ilaca duyarlı hem de çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB'nintedavisinde terapötik potansiyelini kanıtlamıştır (1). Aşının Faz 2b çalışmaları devam etmektedir (4,6,48).

H1+IC31, H1+CAF01 ve H1+LTK63 aşıları: Hibrid 1 (H1), *M.tuberculosis* enfeksiyonunun akut fazında sekrete edilen Ag85B ve ESAT-6 antijenlerinden oluşan füzyon proteindir. H1, BCG aşısının etkinliğini arttırmak için geliştirilmiştir. Latent TB enfeksiyonunun reaktivasyonunu önlemez. H1'in koruyucu etkisini geliştirmek için IC31, CAF01, LTK63 gibi çeşitli adjuvanlar ile birleştirilerek çalışmalar yapılmıştır (4,6). Yapılan çalışmalarda H1+IC31 aşısının, Th1'i uyaran sitokinleri eksprese eden CD4+ T hücre hafıza yanıtını daha fazla indüklediği, HIV ile enfekte erişkinlerde de güvenilir olduğu ve antijene spesifik CD4+ T hücrelerini indüklediği gösterilmiştir (6,15,44). Diğer taraftan H1+CAF01 aşısının yüksek düzeylerde IL-2 ve TNF- α salınmasını indükleyen güvenilir bir aşı olduğu bildirilmiştir. H1+LTK63 aşısının ise nazal uygulandığı klinik çalışmada, aşılamadan 44 ve 60 gün sonra iki kişide periferel yüz felci gelişmesi üzerine çalışma sonlandırılmıştır (4,6).

H4+IC31 (AERAS-404) aşısı: H4+IC31 aşısı, H4 (Ag85B ve TB10.4) füzyon proteinleri ile IC31 adjuvanını içerir. Faz 1 klinik çalışmalarda, IFN- γ ve multifonksiyonel CD4+ Th1 yanıtını uyardığı ve kabul edilebilir düzeyde güvenli olduğu görölmüştür. Faz 2 çalışmalarında 15 μ g dozun optimal immün yanıtı indüklediği saptanmıştır (4,6,9).

M72+AS01Eve M72+AS02A aşıları: M72+AS01E aşısı, lipozom bazlı AS01E adjuvanı ile M72 rekombinant füzyon proteininden oluşur. M72 füzyon proteinini ise *M.tuberculosis*'in immünojenik antijenleri olan Mtb32A (PepA) ve Mtb39A(PPE18) antijenleri oluşturur (1-4,6). M72+AS02A aşısında ise AS02A adjuvanı kullanılmaktadır (6). Mtb39A ve Mtb32A antijenleri, PPT testi pozitif olan enfekte bireylerde periferik kan mononükleer hücrelerini uyarabilmektedir. *M.tuberculosis*'in membranla ilişkili bir proteini olan Mtb39A ile temel olarak eksprese edilen bir protein ve bir serin proteaz olan Mtb32A, hücre antijen taramasıyla seçilmişlerdir. Her ikisi de Th1 immün yanıtları tetikler. Bunlar sadece *M.tuberculosis* ve BCG suşlarından eksprese edilirken diğer mikobakterilerden eksprese edilmezler (2).Yapılan klinik çalışmalarda, aşının CD8+ T hücre yanıtından ziyade CD4+ T hücre yanıtını kuvvetli indüklediği görölmüştür (4,6).

M72+AS01E subünit aşısı, güçlendirici, profilaktik ve temas sonrası aşısı olarak kullanılmaktadır (6,9). M72+AS01E aşısı, aşılanan popölasyonlarda genel olarak iyi tolere edilmiş olup üç yıla kadar etkin hem hücresel hem de humoral bir bağışıklık yanıtı oluşturmuştur (1,2,16). PPD pozitif enfekte bireylerde, T hücre proliferasyonu ve IFN- γ sekresyonunu stimüle eder. şu anda Faz 2b klinik denemesinde olup kayda değer bir güvenlik sorunu olmaksızın Kenya, Güney Afrika ve Zambiya'da HIV negatif latent TB enfeksiyonu olan yetişkinlerin %54'ünde en az üç yıl boyunca akciğer TB hastalığı gelişimine karşı koruma sağladığı yönünde umut verici sonuçlar ve etkinlik saptanmıştır (1-3,6). Enfeksiyonun akciğer TB hastalığına ilerlemesini birkaç yıl geciktirebilmektedir (6,7,48). *M.tuberculosis* ile enfekte bireylere temas sonrası olarak

uygulandığında, hastalığın ilerlemesini %50'nin üzerinde engellemesi nedeni ile önceden bakteri ile teması olan kişilere uygulanabileceği bildirilmiştir (49). Bir çalışmada, aşının erkeklerde (%75.2) kadınlara göre (%27.4) ve 25 yaş altındaki kişilerde (%84.4) 25 yaşından büyük olanlara (%10.2) göre daha etkin olduğu gösterilmiştir (6,7,50).

GamTBvac: Yeni bir BCG güçlendirici aşısı olan GamTBvac, dekstran üzerinde immobilize edilen *M.tuberculosis* Ag85A, ESAT6 ve CFP10 antijenlerini kapsayan füzyon proteini içerir. Aşı, aynı zamanda dietilaminoetil (DEAE)-dekstran hidroklorid çekirdeği yanısıra olan CpG oligodeoksinükleotid (CpG ODN) adjuvanını da içerir. CpG ODN, şu anda Faz 2a denemelerinde olan AEC/BC02 aşı formülasyonunun da üyesidir. GamTBvac aşısı, hem fare hem de kobay TB'si modellerinde güçlü immünojenite ve *M.tuberculosis* H37Rv suşuna karşı dikkate değer bir koruyucu etki göstermiştir. Faz 2 çalışmaları, sağlıklı yetişkinlerde antijene spesifik IFN- γ salınımını ve CD4+ T hücrelerini indüklemeye yeteneğini göstermiştir. GamTBvac aşısı, şu anda Faz 3 denemelerinde tek olan ve en gelişmiş TB subünit aşısıdır (1,3).

BCG polisakkarid ve nükleik asit (BCG-PSN) aşısı: BCG-PSN, Çin Ulusal Gıda ve İlaç İdaresi (SFDA) tarafından onaylanmış, sıcak fenol yöntemi kullanılarak BCG'den ekstrakte edilen polisakkarid ve nükleik asit içeren, %0.9 NaCl'de çözünmeden önce saflaştırılan bir immünomodülatördür. BCG-PSN'nin atopik dermatit ve diğer alerjik hastalıkların tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu hastalarda genellikle birkaç ay süren kas içi enjeksiyonlar uygulanır. Deri katmanlarında APC'lerin bol miktarda bulunduğu göz önüne alındığında, BCG-PSN'nin cilde verilmesiyle daha iyi immünoterapötik etkiler elde edilebileceği varsayılabilir. Kronik bronşit, soğuk algınlığı, astım olgularında da yıllardır kullanılmaktadır. BCG-PSN, retiküloendotelial sistemi stimüle eder, monositler ve makrofajlar aktive olarak hücrel ve humoral immünite regüle edilir, böylece TB enfeksiyonuna karşı korunmanın sağlanacağı düşünülmektedir. BCG-PSN, Çin'de TB'nin adjuvan kemoterapisi olarak kullanılmaktadır. Mikroigneler yoluyla uygulanan BCG toz aşıları, uzun saklama ömrü ve yüksek reaktogenite gibi avantajlara sahiptir. Ancak uzun tedavi döngüleri, nodül oluşumu, döküntü ve hafif ateş yükselmesine neden olması gibi istenmeyen yan etkileri de vardır. BCG-PSN'nin TB konusunda preklinik çalışmaları devam etmektedir (6,15,51).

DNA ve mRNA Aşıları

DNA Aşıları

DNA aşıları, plazmid içermektedir. Bu plazmidin DNA'sında bir patojenin antijenik proteinlerini kodlayan genler bulunmaktadır. Plazmidler, enfekte ettikleri konak hücresinde söz konusu patojenin antijenleri eksprese ederek konakta humoral ve hücrel immün yanıt oluşmasını indüklerler (6,40).

Üçüncü nesil bir aşı olarak DNA aşıları, birinci nesil (canlı-atenüe, inaktif aşılar) ve ikinci nesil (subünit aşılar) aşılara göre çeşitli avantajlar gösterirler. DNA aşılarının, ucuz, hızlı ve

ölçeklenebilir üretim süreçlerinin olması, güvenli bulunmaları, sadece hedef antijeni kodlayan gen barındırdıkları için hastalık oluşturan patojen formuna dönmemeleri, vektör içermediklerinden vektöre karşı immünite oluşmaması, Ar-Ge faaliyetlerinin hızlı ve esnek olması, ortam sıcaklıklarında nispeten stabil olmaları, sürekli hümorale ve hücresele immün yanıtları tetikleyebilmeleri, profilaktik ve güçlendirici aşı olarak uygulanabilmeleri, genellikle konak genomuna entegre olmamaları, genellikle antijen toleransının gelişmemesi, yenidoğanlara da uygulanabilir olması gibi avantajlı yönleri vardır (6,14).

Ancak DNA aşılarının uygulanmasında aşılması gereken bazı engeller de vardır. DNA aşıları bozulmaya eğilimlidir ve kullanım oranları düşüktür. Farklı biyolojik engeller, DNA aşılarının hedeflerine ulaşmasını engelleyebilir. İnsan hücre çekirdeğindeki düşük ekspresyon, DNA aşılarının düşük immünojenitesine yol açabilir. DNA aşıları tarafından eksprese edilen mikroproteinler, daha az uyarıcı olduklarından, aşılanmış bireylerde oluşturdukları immün yanıt, canlı tam hücre aşılara göre daha düşük seviyededir. Bunun nedeni, DNA aşılarındaki antijenleri kodlayan genlerin muhtemelen canlı aşılarıdaki geniş yelpazede bulunan genler kadar fazla replike olamamalarıdır. Vücudun, otoimmün hastalıkları tetikleyebilen anti-DNA IgG üretimini tetikleyebilirler. DNA aşılarının en büyük riski, yabancı DNA'nın insan hücrelerinin çekirdeğindeki DNA'ya müdahale etmesidir (4,6,14). DNA aşılarında antijen ve kombinasyonlarının optimize ve standardize edilmeleri, antijenlerin immünojenitesinin geliştirilmesi ve güvenilirliklerinin artırılması konularında çalışmalar yapılmalıdır (4,6,40).

TB DNA aşıları, konakta immün yanıtı uyarabilmek için *M.tuberculosis*'ten gelen küçük bir DNA segmentini kullanan yenilikçi bir aşı türüdür. TB DNA aşılarında bulunan plazmid, spesifik *M.tuberculosis* antijenini kodlayan geni içeren DNA segmentinin konağa iletilmesini sağlar. Plazmid, konak organizmaya sokulduktan sonra, DNA fragmanı alıcı hücreler tarafından asimile edilir ve *M.tuberculosis* koruyucu antijenleri sentezlenmeye başlar (14). İşlemden sonra hedef antijen, konak hücre MHC sınıf 1 ve MHC sınıf 2 moleküllerine bağlanan antijenik peptitler oluşturur ve konağın immün tanıma sistemine sunulur (4,6,14,40,52). İlgili hastalıkları önlemek veya tedavi etmek için spesifik hümorale ve hücresele immün yanıtların üretimini indükler. Bu temele göre DNA aşıları, spesifik sitotoksik T lenfosit yanıtını stimüle ederek enfekte hücreleri öldürür ve hücre içi patojeni ortadan kaldırır. DNA aşılarının spesifik IgG düzeylerini arttırarak kuvvetli bir immün yanıt oluşturduğu belirtilmektedir (4,6,14).

Ag85B ve MPT64 antijenlerini kodlayan divalant DNA aşısının, BCG'den daha fazla hümorale ve Th1 hücresele yanıtını uyardığı gösterilmiştir. Mikobakteri antijenlerini kodlayan plazmid DNA ile immünizasyonları sonucu, farelerde güçlü Th2 yanıtı saptanması ve IL-2 ile IFN- γ düzeylerinde artış görülmesi, bu aşılarda immün yanıt oluşturduğunun bir kanıtıdır. DNA aşıları birden fazla antijeni, immünomodülatör sitokinleri kodlayabilirler ve bu özellikleri ile daha etkin hale gelirler

(6,53). IFN- γ veya IL-12'yi kodlayan genlerin birlikte kullanılması ile DNA aşularının etkinliğinin daha da artacağı öne sürülmektedir (4,6).

TB DNA aşuları, konvansiyonel aşulara göre daha güvenli, etkili ve düşük maliyetlidir. Sadece vektör olan plazmide klonlandığı için üretimi kolay, hızlı, ucuzdur (4,6,40). Hedef olan patojenin üretilmesine gerek yoktur (6,53). Oda ısısında stabildir, soğuk zincire gereksinim yoktur. Uygulamada gen tabancası, enjeksiyon, mikroigne, elektroporasyon, bakteriler, viral vektörler, nanopartiküller, lipozomlar, virozomlar gibi farklı sistemler kullanılabilir (6,40).

En sık kullanılan proteinler; Ag85A, Ag85B, HSP65, HSP-X, ESAT-6, CFP-10'dur. Klinik öncesi çalışmalar, DNA aşularının immünojenitesi, koruyuculuğu ve terapötik etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Çalışmalarda kullanılan DNA aşuları; **HSP65 DNA aşısı, HSP70 DNA aşısı, Ag85A DNA aşısı, Ag85B DNA aşısı, Ag85A/TB10.4 kimerik DNA aşısı, fosfat-spesifik transport sistem (PST-S) DNA aşısı, MPT64 DNA aşısı, ve pIRES-IL-21-Ag85A-ESAT-6 DNA aşılarıdır** (6,40,53).

ESAT-6 ve CFP-10, doğal ve adaptif immün sistemi stimüle eden virülans ile ilgili antijenlerdir. ESAT-6'nın inaktif edilmesi, *M.tuberculosis*'in virülansını belirgin derecede azaltır. ESAT-6, HSP70, Ag85A kodlayan çoklu epitop DNA aşularının, farelerde IgG düzeyi artışına ve IFN- γ stimülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (6,53). Bir diğer çalışmada, enfeksiyonun latent, akut ve kronik evrelerinde CD4+ ve CD8+ T hücreleri tarafından eksprese edilen immünodominant antijenler kullanılarak çoklu epitop DNA aşısı ve BCG aşısının birlikte kullanılması ile IFN- γ and TNF- α salınımının arttığını göstermişlerdir (6,54).

Farelerde yapılan bir deneysel çalışmada, Ag85B, ESAT-6 ve HSP-X antijenlerini kodlayan bir DNA aşısının, yüksek immünite ve daha iyi bir koruyuculuk geliştirdiği gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bazı çalışmalarda HSP-X, yüksek düzeyde IFN- γ salınımını indüklemiştir. Ayrıca, latent TB enfeksiyonlu bireylerde HSP-X antijenine karşı antikor sentezlendiği görülmüştür. Nanopartikül temelli, ESAT-6 içeren DNA aşısının farelerde artmış T hücresi yanıtına, ayrıca artmış immünojenik ve koruyucu etkiye neden olduğu gösterilmiştir (6,40).

Adjuvan olarak; alüminyum, polisakkaridler, yağ emülsiyonları, lipozomlar ve polimer temelli nanopartiküller, ayrıca sitokin ve kemokin başta olmak üzere çeşitli moleküller kullanılmaktadır (6,40). VR 1020, pmTOR-KD gibi plazmidler de kullanılmaktadır (6,53). Beş adet antijen epitopu (MTB10.4, ESAT-6, Ag85B, PPE25, PE19) içeren nanopartikül DNA aşı adayının farelere intranasal uygulandığı başka bir çalışmada, akciğerlerde kuvvetli hücresel ve IgA yanıtının indüklendiği gösterilmiştir. Bu aşı, akciğer TB'sine karşı korunmayı arttırmıştır (6,40). DNA aşuları, muhtemelen uyardıkları immün yanıt sonucu ÇİD *M.tuberculosis*'i öldürmeleri nedeniyle ÇİD *M.tuberculosis*'ten etkilenmemektedir (4,6).

Günümüzde klinik çalışma aşamasında olan tek DNA bazlı terapötik TB aşısı, **GX-70 aşısıdır**. GX-70 DNA aşısı, *M.tuberculosis*'ten türetilmiş dört antijen plazmidinin yanı sıra rekombinant Flt3

ligandından oluşan bir aşıdır (4,6,14). Yonsei Üniversitesi, tedavi başarısızlığı veya nüksetme yaşayan yüksek riskli akciğer TB'li hastalarda GX-70'in tolere edilebilirliğini, güvenliğini ve immünojenitesini değerlendirmek için açık etiketli, doz artırımlı, Faz 1 klinik deneyi (NCT03159975) gerçekleştirmiştir. Bu denemede katılımcılar, üç gruba ayrılmış ve toplam beş aşılama için her dört haftada bir deltoid kasa elektroporasyon yoluyla farklı dozlarda GX-70 aşısı (0,26 mg, 1 mg ve 4 mg) uygulanmıştır. Ancak günümüzde GX-70 aşısı ile ilgili çalışmalar, güvenlik endişeleri nedeniyle sonlandırılmıştır (14).

Mrna Aşıları

İmmünoinformatik yaklaşımlar; epitop tanımlamayı, mRNA yapımını ve optimizasyonu ve immün simülasyonu birleştirerek TB'ye karşı mRNA aşılarının in siliko modelleri için yararlı araçlar sağlar ve daha ileri in vivo değerlendirmelere rehberlik eder (55). mRNA aşıları, özellikle COVID-19 mRNA aşılarının geliştirilmesi ve onaylanmasıyla birlikte son yıllarda önemli ilgi ve başarı kazanan yeni bir aşı kategorisi olarak karşımıza çıkmıştır (3). mRNA aşılarının COVID-19'u yenmedeki büyük başarısından bu yana, lipid nanoparçacık dağıtım sistemlerine sahip mRNA aşıları büyük ilgi uyandırmıştır. COVID-19 salgını sırasında Moderna ve Pfizer/BioNTech tarafından geliştirilen mRNA aşılarına ilk kez insanlarda kullanım için izin ve lisans verilmiştir. COVID-19 mRNA aşılarının muazzam başarısından esinlenerek, maymun çiçeği ve TB gibi diğer bulaşıcı hastalıklara karşı mRNA aşılarının geliştirilmesi, benzeri görülmemiş bir ilgi görmüştür (56).

mRNA aşılarının tasarımı, dikkatli antijen seçimine bağlıdır. İdeal bir hedef antijen, immünojenik olmalı ve koruyucu bir immün yanıtı ortaya çıkarabilmeli, böylece aşının spesifik patojene karşı istenen immün reaksiyonu etkili bir şekilde oluşturmasını sağlamalıdır (3). Canlı virüs ve DNA aşılarıyla karşılaştırıldığında mRNA'nın faydaları arasında, immün yanıtı daha iyi uyarabilmesi ve konakta genomik entegrasyon riski olmaksızın antijen üretimi ve gelişmiş in vivo stabilite için kapsamlı bir şekilde tasarlanabilmesiyer alır (56). Tasarımındaki esnekliği, kısa üretim süresi, maliyet etkinliği ve hem hücrel hem de humoral immün yanıtları ortaya çıkarma kapasitesi nedeniyle mRNA aşıları, enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede önde gelen adaylardan biri olmaya adaydır (3).

Ancak mRNA aşılarının termostabilitesi, özellikle güvenilir soğutma sistemlerine erişimin sınırlı olduğu ortamlarda zorluklar ortaya çıkarabilir. mRNA, hassastır ve uygun sıcaklıklarda saklanmadığı ve taşınmadığı takdirde bozulmaya eğilimlidir. Şu anda mRNA, aşılarının saklanması, dağıtımı ve teslimatı için soğuk zincir gerektirmektedir ve yapımı pahalıdır; ancak talebe yanıt olarak üretim maliyetleri kesinlikle düşecektir. Geliştirilmiş termostabiliteye sahip mRNA aşıları geliştirerek bu sınırlamanın üstesinden gelmek, kaynakların kısıtlı olduğu bölgelerde fizibilitesini ve erişilebilirliğini artıracaktır (3,56).

İlginçtir ki, TB'ye karşı mRNA aşısı kavramına dair ilk kanıt, 2004 yılında rapor edilmiştir (55). 2004 yılında RNA aşısının TB'ye karşı koruyucu etkisi gösterilmiş, ancak koruyuculuğu, BCG ile elde edilenden daha az olmuştur (56). Yazarlar, farelerin immünodominant antijen MPT83'ü kodlayan in vitro transkripsiyon mRNA ile immünizasyonunun (üç hafta aralıklarla dört enjeksiyon), spesifik hümmoral ve hüccresel yanıtları indüklediğini ve TB enfeksiyonuna karşı mütevazi, ama anlamlı bir koruma sağladığını göstermişlerdir. HSP65 proteinini kodlayan mRNA ile intranazal immünizasyon da fare modelinde *M.tuberculosis*'e karşı anlamlı bir koruma göstermiştir (55).

BioNTech, Bill ve Melinda Gates Vakfı ile ortaklaşa, TB'yi hedef alan ilk mRNA aşı adayı olan **BNT164**'ün üç dozluk bir programda, güvenli ve iyi tolere edilen bir dozajı belirlemek için randomize, kontrollü Faz 1 klinik denemesini 2023 yılında başlatmıştır. Klinik deneme, BNT164a1 ve BNT164b1'in TB'ye karşı güvenliğini, reaktogenitesini ve immünojenitesini değerlendirecektir. TB'nin önlenmesinde BNT164'ün koruyucu etkileri, immünojenitesi ve güvenliği ile ilgili kamuya açık henüz hiçbir rapor bulunmamaktadır. mRNA aşılarının TB'ye karşı daha güçlü ve daha kapsamlı bir immün yanıtı oluşturup oluşturamayacağını doğrulamak için çok fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (3,56).

Tüberküloz Aşılarının Uygulama Yolları

TB'de yeni aşı çalışmaları, sadece aşı yapımında değil aşıların uygulanma yollarında da yeni bakış açılarını gündeme getirmiştir. Aşıların intravenöz, intradermal, oral ve solunum yolu gibi çeşitli uygulama yolları konusunda, uygulama kolaylıkları, yan etki oluşturmaları ve immün yanıt oluşturma güçlerini değerlendirmek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin, **intramüsküler** adenoviral vektör aşılarından sonra intramüsküler MVA aşısı uygulamasından da umutlandırıcı sonuçlar alındığı bildirilmiştir. TB DNA aşılarının **transmukozal**, **intramüsküler**, **subkütan**, **intradermal** gibi çeşitli uygulama yolları araştırılmaktadır (6,10).

Adenoviral vektörler, solunum yolu epiteline olan tropizmleri nedeni ile çalışmalarda **intranazal** yoldan da uygulanmaktadırlar (6,49,57). Klinik öncesi çalışmalar, AdHu5Ag85A aşısının, farelerde BCG güçlendirici aşısı olarak **intranazal** olarak uygulandığında TB'ye karşı koruduğunu, BCG'ye göre belirgin şekilde artmış bir koruma sağladığını ve solunum yolu aracılığıyla immünizasyona uygun olduğunu göstermiştir (1,2). AdHu5Ag85A aşısının profilaktik olarak hem **parenteral** hem **solunum mukozası** yolundan uygulanan çalışmaları vardır. Fare deneylerinde TB/FLU-04L aşısının **intranazal** yoldan uygulanmasıyla, BCG'nin koruyucu etkinliğinin arttığı gözlenmiştir (4,6). Katyonik lipozom içinde uygulanan HSP65 DNA aşısının etkinliği, **intranazal** uygulamada **intramüsküler** uygulamaya göre daha etkin bulunmuştur (6,58).

Preklinik çalışmalarda yeni aşıların **intratrakeal** uygulamalarında serum IgA düzeylerinde artış gözlenmiştir. Serum IgA düzeylerindeki artış, *M.tuberculosis*'e karşı artmış korunma ile ilişkili bulunmuştur. İntratrakeal aşılama, subkütan aşılamaya göre, solunum yollarında ve

interstisyumda CD4+ ve CD8+ T hücrelerinde daha fazla artışa neden olmuştur (6,19). Bir diğer uygulama yolu **endobronşiyal uygulamadır**. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalara göre; aşının doğrudan solunum mukozasına uygulanması, doğal enfeksiyon yolunu taklit ettiği için intradermal veya intramüsküler uygulamadan daha fazla koruyuculuk sağlayabilir. Akciğer parankimindeki antijene spesifik T hücreleri, korunmada önemli rol oynamaktadır. Aşıların **aerosol** uygulama çalışmaları da yapılmaktadır. Tek veya kombine uygulanabilecek aerosol aşıların kullanımları ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Aerosol MVA85A ve aerosol adenoviral vektör aşılarının birlikte uygulanmasının planlandığı bildirilmiştir (6,10). **Solunum yolu** mukozasından yapılan MIP aşı uygulamasının, parenteral aşılama göre daha iyi immünolojik yanıt oluşturduğu belirtilmiştir (6,17). MVA85A aşısının Faz 1 klinik çalışmasında, intradermal ve aerosol formülasyonları denenmiş; **intradermal** uygulamaya nazaran **aerosol** yolla uygulandığında hücresel bağışıklığı daha iyi uyardığı anlaşılmıştır (2).

Oral yoldan aşılama, komplians açısından kolaylık sağlamak ve uzak mukozal bölgelerde immün yanıtı indükleyebilmesi açısından avantajlı bir yol olarak da görülmektedir. Ancak mide asiditesinden etkilenmemesinin sağlanması ve tolerans gelişme riskine karşı adjuvan ilavesinin gerektiği bildirilmektedir. Aşıların antijen sunan hücreler tarafından daha etkin bir şekilde alınabilmeleri için, **lipozom, virüs benzeri partiküller ve nanopartiküllerin kullanımları** gibi farklı uygulama yaklaşımları da bulunmaktadır (6,58).

Bazı araştırmacılar ise yeni aşı adaylarının uygulama yollarını denemek yerine BCG'nin yeni yollardan uygulanmasını araştırmaktadırlar (6). BCG aşısı, insanlara ilk olarak 1921 yılında **oral** yoldan, 1927 yılında ise **intradermal** yoldan uygulanmıştır (52). Primatlarda tekrarlanan düşük doz *M.tuberculosis* enfeksiyon modelinde, **endobronşiyal** BCG uygulamasının TB'ye karşı önemli derecede koruma sağladığı ve bakteriye spesifik ESAT-6 ve CFP-10 antijenlerinin stimülasyonu ve IFN- γ salgılandığı bildirilmiştir (6,50). Yakın zamanda insanlarda yapılan iki çalışmada, **aerosol** olarak yüksek doz BCG uygulanmasının iyi tolere edildiği anlaşılmıştır (6,10). İnsan harici primat deneylerinde, **intravenöz** yoldan uygulanan BCG'nin, **intradermal** yoldan uygulanan BCG'ye göre *M.tuberculosis* enfeksiyonuna karşı daha iyi koruma sağladığı bildirilmiştir. BCG aşısının, **intravenöz** uygulanması sonucu, **intradermal** ve **aerosol** uygulamalara göre akciğerlerde çok daha fazla T hücre infiltrasyonu görülmektedir. İntravenöz yoldan aşılama altı ay sonra hayvanların *M.tuberculosis* ile karşılaşması sonucunda, uzun ömürlü T hücrelerinin hâlâ görülebilmemesinin enfeksiyon ile hemen aktive olup çok fazla efektör T hücresinin yapılmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu artışı, intravenöz aşılama ile akciğerlere daha yüksek dozda BCG'nin ulaşabilmesine dayandırmışlardır. Ancak yine de solunum yolu, intravenöz ve intradermal uygulamalarda immün yanıtın kalitatif veya kantitatif olarak farklı indüklenip indüklenmediği konusu halen tartışmalıdır. Düşük ve orta gelirli toplumlarda yenidoğanlara intravenöz uygulama kolay görülmemektedir (6,16,50).

Sonuç

TB, HIV ko-enfeksiyonu ve ilaca dirençli türlerin ortaya çıkması nedeniyle önlenmesi ve kontrolü çok zor olan en ölümcül enfeksiyon hastalıklarından birisidir (14). BCG aşısının 1921 yılında TB'ye karşı keşfedilmesinden bu yana çok büyük bilimsel ilerlemeler kaydedilmiştir. Gerçekten de, 1940'lı ve 1950'li yıllardan bu yana geliştirilen antibiyotikler, TB'den kaynaklanan ölüm oranlarının %5'e, hatta daha düşük oranlara azalmasına neden olmuştur. 1970'li yıllarda TB tedavisi formülasyonuna rifampisin eklenmesiyle ortaya çıkan "kısa süreli" tedavi yöntemi, tedavi süresini 6-8 aya indirmiştir. TB görülme oranlarında sağlanan bu keskin düşüş sayesinde o dönem TB'nin artık ortadan kalktığına inanılmıştır. Ancak tüm dünyada 1980'li yıllarda ortaya çıkan HIV salgını, TB olgu sayılarında artışa yol açınca, DSÖ'nün Küresel TB Programı, ilaçlara dirençli TB suşlarının da gelişmesine bağlı olarak 1993 yılında TB'yi "küresel acil bir durum" ilan etmiş ve "Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisini (DOTS)" başlatmıştır. DOTS'un amacı, sıklıkla ölümcül olan ve tedavisi neredeyse 100 kat daha pahalı olan ilaca dirençli TB suşlarının gelişimini önlemektir. Bununla birlikte, aradan 30 yıl geçmesine, halen BCG'nin TB'ye karşı lisanslı tek aşı olmasına ve etkinliğinin sorgulanmasına rağmen TB'yi önleme başarısına henüz erişilememiştir. Bu arada ve nasıl olduysa, çeşitli nedenlerle TB'nin kökünün kazındığına inanılan dönemler, artık geçmişte kalmıştır (1).

Güvenli, etkili ve uygun fiyatlı bir aşı, birçok bulaşıcı hastalığa karşı korunmanın en temel yollarından birisidir. TB'nin kontrol altına alınması ve peşisıra sonlandırılması için, her yaş grubunda, aktif ve latent fazlar dahil enfeksiyonun ve hastalığın tüm formlarına karşı etkin, kuvvetli, uzun süreli hücrel ve humoral immün yanıt oluşturabilen, güvenilir bir aşı üretilmesi gerekliliği çok açıktır. Özellikle *M.tuberculosis*'in ilaca dirençli suşlarının yayılmasının önlenmesi acil bir ihtiyaçtır. Bunu başarabilmek için, *M.tuberculosis*'in patogenez ve immün korunma mekanizmalarının tam olarak açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Konağın immün yanıtına ait yapılan son çalışmaların sonucunda elde edilen yeni veriler ve yoğun bir şekilde yeni aşı çalışmalarının yürütülüyor olması, koruyucu ve uzun süreli hafıza immün yanıtı oluşturabilecek aşılarda geliştirilebileceği ümidini vermektedir (2,6).

Başarılı bir aşılama için aşılama stratejileri de önemlidir. Aşıların kombine edilerek uygulanması ile yüksek etkinlik sağlayan ve uluslararası klinik uygulamaları başlatabilecek yeni bir aşılama stratejisi oluşturulabilir. Yeni aşıların geliştirilmesinde büyük sayıda gruplar ve uzun süreli takiplere gereksinim vardır. Yüksek TB prevalansı olan ve yaygın BCG uygulanan ülkelerde yeterli sayıda örnek bularak saha çalışması yapmak zordur. Bu nedenlerden dolayı ileride yapılacak çalışmalarda, yeni aşı tipleri ve uygulanma sıraları, uygulama aralıkları ve kaç sefer uygulama yapılacağı gibi noktalara da odaklanılmalıdır. Aşı uygulamaları, toplumun özelliklerine göre yapılmalıdır. Yaşlı gruptaki TB olgularının çoğunun eski TB enfeksiyonunun reaktivasyonu

sonucu geliştiği ve 60 yaş üstü kişilerin aşılmasının TB insidansını azaltmada en etkili yol olarak görüldüğü belirtilmiştir. En hızlı global epidemiyolojik etkinin, adölesan ve yetişkinleri aşılama ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Her aşı grubunun avantaj ve dezavantajlarının olduğu unutulmamalıdır (2,4,6,7).

Yeni antijenler, yeni adjuvanlar, yeni aşı kombinasyonları, yeni uygulama yolları, yeni teknolojik gelişmeler (nanopartiküller vb.) gibi çeşitli olanakların kullanılması, TB'yi önleyebilecek etkili aşılardan üretilerek TB morbidite ve mortalitesini sırasıyla %90 ve %95 azaltma hedefine ulaşmada katkı sağlayacaktır. Ancak, TB'yi önleme ve tedavi maliyeti, DSÖ'ye göre 2020 yılı için 12.3 milyar dolar olarak hesaplanmıştır. Harcamaların bu kadar fazla olmasının muhtemelen en büyük nedeni, ÇİD TB'li ve HIV-TB ko-enfeksiyonlu hasta sayılarının gittikçe artması ve bu gruplarda normal TB hastalarına göre harcamaların 10 kat kadar daha fazla olmasıdır. TB, sonuçta düşük gelirli toplumların hastalığıdır. Maliyetin yüksek olması da TB'ye karşı mücadelede geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerin engeli olarak karşımıza çıkmaktadır (4,6). TB aşı çalışmalarına 2017 yılında 74 milyon dolar bütçe ayrılmışken, sıtma aşı çalışmalarının bütçesi 174 milyon dolar, HIV aşı çalışmalarının bütçesi ise 700 milyon dolardır. Yeni aşı geliştirme çalışmaları ve bunları ürün haline getirmek, hele ki TB'de, oldukça yüksek maliyetlidir. Maalesef fonlar yeterli olmadığından, mali kaynak bulmak gereksinimi ortaya çıkmaktadır (6,58).

Zengin, fakir bütün ülkeleri 2020 yılında etkisi altına alan COVID-19 pandemisinde şimdiye kadar görülmemiş kısa bir sürede yeni aşılardan üretilmesi ve toplumlara uygulanmaları göz önüne alındığında; COVID-19 tecrübelerinden faydalanılarak gelişmemiş ve sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlar için çok önemli bir enfeksiyon olan TB'ye karşı da aşılardan artık üretilebileceğini beklemek uzun vadeli bir hedef değildir. Bugünkü durumda en kısa sürede etkili ve güvenilir yeni aşılardan kullanıma sunulacağı beklentisi artmaktadır (6).

Şu anda klinik deneylerin çeşitli aşamalarında olan 17 tip yeni aşı adayının olması, TB aşısını geliştirmede son yirmi yılda güçlü bir ivmenin yakalandığını açıkça ortaya koymaktadır. Aşı geliştirme çalışmalarında biyoinformatiğin ve yapısal biyolojinin büyük etkisi göz önüne alındığında; bu hızlanmanın daha da ilerleyeceğine inanmak için güçlü nedenlerimiz vardır. Ekonomik, politik ve sosyal kısıtlamalar da dahil olmak üzere TB aşısı geliştirme alanında karşılaşılan çok sayıda zorluğa rağmen, yeni TB aşılardan geliştirilmesinin insanlığın refahını destekleyen bir halk sağlığı çabası olduğunun kabul edilmesi önemlidir. Hükümetler ve uluslararası kuruluşlar, bu çabada güçlü destek sağlamalı ve uluslararası işbirliğini aktif olarak teşvik etmelidir. Yeni TB aşılardan keşfedilmeden TB ne kontrol altına alınabilecek ne de ortadan kaldırılabilecektir (1,2,14).

Kaynaklar

1. Romano M, Squeglia F, Kramarska E, Barra G, Choi HG, Kim HJ, et al. A structural view at vaccine development against *M.tuberculosis*. *Cells* 2023; 12(2): 317.
2. KısaÖ. BCG vaccine and new tuberculosis vaccines against *Mycobacterium tuberculosis*: A review. *Aurum J Health Sci* 2020; 2(2): 141-53.
3. Yang Y, Chen YZ, Xia T. Optimizing antigen selection for the development of tuberculosis vaccines. *Cell Insight* 2024; 3(3): 100163.
4. Gong W, Liang Y, Wu X. The current status, challenges, and future developments of new tuberculosis vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2018; 14(7): 1697-716.
5. World Health Organization. Tuberculosis (TB): The End TB Strategy. Geneva, Switzerland, 2015. <http://www.who.int/tb/strategy/end-tb/en/>.
6. Rota S. BCG'nin saltanatı bitiyor mu? Yeni aşı arayışları. Akciğer Sağlığı ve Yoğun Bakım Derneği (ASYOD) Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi Kitapları. Sayı Editörleri: Gönenç Ortaköylü M, Özlü T. 2021; s: 63-78. Dünya Tıp Kitabevi, Ankara.
7. Stockdale L, Fletcher H. The future of vaccines for tuberculosis. *Clin Chest Med* 2019; 40(4): 849-56.
8. Tezol Ö, Kuyucu N. BCG ve yeni TB aşıları. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2016; 12(3): 97-104.
9. Andersen P, Scriba TJ. Moving tuberculosis vaccines from theory to practice. *Nat Rev Immunol* 2019; 19(9): 550-62.
10. Zhu B, Dockrell HM, Ottenhoff THM, Evans TG, Zhang Y. Tuberculosis vaccines: Opportunities and challenges. *Respirology* 2018; 23(4): 359-68.
11. Li H, Javid B. Antibodies and tuberculosis: finally coming of age? *NatRev Immunol* 2018; 18(9): 591-6.
12. Ernst JD. Mechanisms of *M.tuberculosis* immune evasion as challenges to TB vaccine design. *Cell Host Microbe* 2018; 24(1): 34-42.
13. Izzo AA. Tuberculosis vaccines - perspectives from the NIH/NIAID Mycobacteria vaccine testing program. *Curr Opin Immunol* 2017; 47: 78-84.
14. Zhuang L, Ye Z, Li L, Yang L, Gong W. Next-generation TB vaccines: Progress, challenges, and prospects. *Vaccines* 2023; 11(8): 1304.
15. Whitlow E, Mustafa AS, Hanif SNM. An overview of the development of new vaccines for tuberculosis. *Vaccines* 2020; 8(4): 586.
16. Fatima S, Kumari A, Das G, Dwivedi VP. Tuberculosis vaccine: A journey from BCG to present. *Life Sci* 2020; 252: 117594.
17. Afkhami S, Villela AD, D'Agostino MR, Jeyanathan M, Gillgrass A, Xing Z. Advancing immunotherapeutic vaccine strategies against pulmonary tuberculosis. *Front Immunol* 2020; 11: 557809.
18. Watt J, Liu J. Preclinical progress of subunit and live attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccines: A review following the first in human efficacy trial. *Pharmaceutics* 2020;12(9):848.
19. Muruganandah V, Sathkumara HD, Pai S, Rush CM, Brosch R, Waardenberg AJ, et al. A systematic approach to simultaneously evaluate safety, immunogenicity, and efficacy of novel tuberculosis vaccination strategies. *Sci Adv* 2020; 6(10): 1767.
20. Spertini F, Audran R, Chakour R, Karoui O, Steiner-Monard V, Thierry AC, et al. Safety of human immunisation with a live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine: A randomised, double-blind, controlled phase I trial. *Lancet Respir Med* 2015; 3(12): 953-62.
21. Tameris M, Mearns H, Penn-Nicholson A, Gregg Y, Bilek N, Mabwe S, et al. Live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis* vaccine MTBVAC versus BCG in adults and neonates: A randomised controlled, double-blind dose-escalation trial. *Lancet Respir Med* 2019; 7(9): 757-70.
22. Masonou U, Hokey DA, Lahey T, Halliday A, Berrocal-Almanza LC, Wieland-Alter WF, et al. CD4+ T cell cytokine responses to the DAR-901 booster vaccine in BCG-primed adults: A randomized, placebo-controlled trial. *PloSOne*

2019;14(5): e0217091.

23. Weerasuriya CK, Clark RA, White RG, Harris RC. New tuberculosis vaccines: advances in clinical development and modelling. *J Intern Med* 2020; 288(6): 661-81.

24. Katoch K, Singh P, Adhikari T, Benara, SK, Singh HB, Chauhan DS, et al. Potential of Mw as a prophylactic vaccine against pulmonary tuberculosis. *Vaccine* 2008; 26(9): 1228-34.

25. Sharma SK, Katoch K, Sarin R, Balambal R, Kumar Jain N, Patel N, et al. Efficacy and safety of *Mycobacterium indicus pranii* as an adjunct therapy in Category II pulmonary tuberculosis in a randomized trial. *Sci Rep* 2017; 7(1): 3354.

26. Onyebujoh PC, Abdulmumini T, Robinson S, Rook GA, Stanford JL. Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* as an addition to chemotherapy for the treatment of pulmonary tuberculosis under difficult conditions in Africa. *Respir Med* 1995; 89(3): 199-207.

27. Corlan E, Marica C, Macavei C, Stanford JL, Stanford CA. Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in the treatment of tuberculosis in Romania. 2. Chronic or relapsed disease. *Respir Med* 1997; 91(1): 21-9.

28. Durban Immunotherapy Trial Group. Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis: A randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 354(9173): 116-9.

29. Mwinga A, Nunn A, Ngwira B, Chintu C, Warndorff, D, Fine P, et al. *Mycobacterium vaccae* (SRL172) immunotherapy as an adjunct to standard antituberculosis treatment in HIV-infected adults with pulmonary tuberculosis: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360(9339): 1050-5.

30. Huang, CY, Hsieh WY. Efficacy of *Mycobacterium vaccae* immunotherapy for patients with tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *Hum. Vaccines Immunother* 2017; 13(9): 1960-71.

31. Vuola JM, Ristola MA, Cole B, Järviluoma A, Tvaroha S, Rönkkö T, et al. Immunogenicity of an inactivated mycobacterial vaccine for the prevention of HIV-associated tuberculosis: A randomized, controlled trial. *AIDS* 2003; 17(16): 2351-5.

32. Waddell RD, Chintu C, Lein AD, Zumla A, Karagas MR, Baboo KS, et al. Safety and immunogenicity of a five-dose series of inactivated *Mycobacterium vaccae* vaccination for the prevention of HIV-associated tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2000; 30 (Suppl. S3): 309-15.

33. Von Reyn CF, Mtei L, Arbeit RD, Waddell R, Cole B, Mackenzie T, et al. Prevention of tuberculosis in Bacille Calmette-Guérin-primed, HIV-infected adults boosted with an inactivated whole-cell mycobacterial vaccine. *AIDS* 2010; 24(5): 675-85.

34. Li J, Zhao A, Tang J, Wang G, Shi Y, Zhan L, et al. Tuberculosis vaccine development: from classic to clinical candidates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39(8): 1405-25.

35. Vilaplana C, Montané E, Pinto S, Barriocanal AM, Domenech G, Torres F, et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled Phase I Clinical Trial of the therapeutical antituberculous vaccine RUTI. *Vaccine* 2010; 28(4): 1106-16.

36. Nell AS, D'Lom E, Bouic P, Sabate M, Bosser R, Picas J, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of the novel antituberculous vaccine RUTI: Randomized, placebo-controlled phase II clinical trial in patients with latent tuberculosis infection. *PLoS ONE* 2014; 9(2): e89612.

37. Junqueira-Kipnis AP, Trentini MM, Marques Neto LM, Kipnis A. Live vaccines have different NK cells and neutrophils requirements for the development of a protective immune response against tuberculosis. *Front Immunol* 2020; 11: 741.

38. Scriba TJ, Kaufmann SHE, Lambert PH, Sanicas M, Martin C, Neyrolles O. Vaccination against tuberculosis with whole-cell mycobacterial vaccines. *J Infect Dis* 2016; 214(5): 659-64.

39. Srivastava BS, Singh VK, Kashyap VK, Srivastava R, Khan A, Jagannath C. Commentary: Bettering BCG: a tough task for a tuberculosis vaccine? *Front Immunol* 2019; 10: 2195.

40. Sefidi-Heris Y, Jahangiri A, Mokhtarzadeh A, Shahbazi MA, Khalili S, Baradaran B, et al. Recent progress in the design of DNA vaccines against tuberculosis. *Drug Discov Today* 2020; 25(11): 1971-87.

41. Bagcchi S. Who's global tuberculosis report 2022. *Lancet Microbe* 2023; 4(1): e20.

42. White RG, Hanekom WA, Vekemans J, Harris RC. The way forward for tuberculosis vaccines. *Lancet Respir Med* 2019;

7(3): 204-6.

43. Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D, et al. The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4+ and CD8+ T cells in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181(12): 1407-17.

44. Dockrell HM. Towards new TB vaccines: What are the challenges? *Pathog Dis* 2016; 74(4): ftw016.

45. Khader SA, Divangahi M, Hanekom W, Hill PC, Maeurer M, Makar KW, et al. Targeting innate immunity for tuberculosis vaccination. *J Clin Invest* 2019; 129(9): 3482-91.

46. Coler RN, Bertholet S, Moutafsi M, Guderian JA, Windish HP, Baldwin SL, et al. Development and characterization of synthetic glucopyranosyl lipid adjuvant system as a vaccine adjuvant. *PLoS One* 2011, 6(1): e16333.

47. Leroux-Roels I, Forgue S, Boever FD, Clement F, Demoitie MA, Mettens P. Improved CD4 + T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis* in PPD-negative adults by M72/AS01 as compared to the M72/AS02 and Mtb72F/AS02 tuberculosis candidate vaccine formulations: A randomized trial. *Vaccine* 2012; 31(17): 2196-206.

48. Bellini C, Horvati K. Recent advances in the development of protein- and peptide-based subunit vaccines against tuberculosis. *Cells* 2020; 9(12): 2673.

49. Brazier B, McShane H. Towards new tuberculosis vaccines. *Semin Immunopathol* 2020; 42(3): 315-31.

50. McShane H. Insights and challenges in tuberculosis vaccine development. *Lancet Respir Med* 2019; 7(9): 810-9.

51. Yan Q, Liu H, Cheng Z, Xue Y, Cheng Z, Dai X, et al. Immunotherapeutic effect of BCG-polysaccharide nucleic acid powder on *Mycobacterium tuberculosis*-infected mice using microneedle patches. *Drug Delivery* 2017; 24(1): 1648-53.

52. Bhargava S, Choubey S, Mishra S. Vaccines against tuberculosis: A review. *Indian J Tuberc* 2016; 63(1): 13-8.

53. Mobed A. DNA based vaccines against *Mycobacterium tuberculosis*: Recent progress and discovery research in vaccine development and delivery system. *Iran J Immunol* 2020; 17(4): 255-74.

54. Maurya SK, Aqdas M, Das DK, Singh S, Nadeem S, Kaur G, et al. A multiple T cell epitope comprising DNA vaccine boosts the protective efficacy of Bacillus Calmette-Guérin (BCG) against *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Infect Dis* 2020; 20(1): 677.

55. Matarazzo L, Bettencourt PJG. mRNA vaccines: a new opportunity for malaria, tuberculosis, and HIV. *Front Immunol* 2023; 14: 1172691.

56. Zhou F, Zhang D. Recent advance in the development of tuberculosis vaccines in clinical trials and virus-like particle-based vaccine candidates. *Front Immunol* 2023; 14: 1238649.

57. Stylianou E, Paul MJ, Reljic R, McShane H. Mucosal delivery of tuberculosis vaccines: a review of current approaches and challenges. *Expert Rev Vaccines*. 2019; 18(12): 1271-84.

58. Vekemans J, O'Brien KL, Farrar J. Tuberculosis vaccines: Rising opportunities. *PLoS Med* 2019; 16(4): e1002791.

KM3. Akciğer Tüberkülozünün Mikrobiyolojik Tanısı

Dr. Hülya ŞİMŞEK

Tüberküloz (TB), tanısındaki metodolojik gelişmelere ve tedavisi mümkün olmasına rağmen hala dünya genelinde önemli bir halk sağlığı sorunu olmayı sürdürmektedir. Çünkü çok ilaca dirençli suşların varlığı bu hastalığı kötüleştirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2023 Global TB Raporunda 2022'de TB'nin, koronavirüs hastalığından (COVID-19) sonra dünyada tek bir bulaşıcı ajandan kaynaklanan ölümlerden ikinci sırada yer aldığını ve HIV/AIDS'in neredeyse iki katı ölüme neden olduğunu ifade etmiştir (1).

Bulaşıcı bir hastalık olan TB'nin primer odağı akciğerlerdir ama akciğer dışı diğer tüm organlarda (görülme sıklığına göre sırasıyla lenf nodları, plevra, genitoüriner sistem, kemikler ve eklemler, gastrointestinal sistem, santral sinir sistemi ve omurga) görülebilir. Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC)'nin 2022 yılındaki yayınladığı rapora göre 2020 yılındaki TB vakalarının %73,1'i Akciğer TB (ATB) ve %21,5'i Akciğer Dışı TB (ADTB) olduğu bildirilmiştir (2). ADTB'nin bulaşıcılığı ATB'ye göre düşüktür. Dolayısıyla ATB'nin toplum sağlığı açısından hızlı tanı konulup tedaviye geçilmesi bulaş zincirinin kırılmasında önemli bir basamaktır.

TB'den sorumlu etken *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC)'tir. MTBC üyeleri *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. caprae*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. pinnipedii*, *M. canettii*, *M. orygis* ve *M. mungi*'den oluşur. Bu üyeler farklı hücrel bileşenlere, insandan insana bulaşma yeteneğine ve hastalığın ciddiyetine sahiptirler. İlk kez 1822 yılında Robert Koch tarafından keşfedilen *M. tuberculosis* (MTB), dünyada insan TB'sinden en fazla (%93-%99.5) sorumlu olan türdür ve sıklıkla TB hastalarının balgamında bulunur ve dolayısıyla toprağı ve havayı kirletir. İlk kez 1896 yılında tanımlanan *M. bovis* temel olarak sığır TB'sinden sorumludur ama tüm memelileri enfekte edebilmektedir (3). *M. caprae* keçilerde etkendir. *M. bovis* ve *M. caprae* insan TB'sinin %0,5-%7'sinden sorumludurlar. *M. bovis* BCG ağır hücrel immün yetmezlikli bireylerde yaygın enfeksiyonlara neden olabilmektedir. *M. africanum* ise ilk kez 1968 yılında Afrika ATB hastalarından izole edilmiştir ve kültürde MTB'den daha yavaş ürer (10 hafta).

TB'nin tanısında hastanın anamnezi, klinik bulgular ve akciğer grafisi yol göstericidir. Ama hem ATB hem de ADTB'de kesin tanı mikrobiyolojiktir. Bazı durumlarda tanıda histopatolojik yöntemlerden de faydalanılır. Mikrobiyolojik tanıda direkt testlerden konvansiyonel ve moleküler yöntemler ve indirekt testlerden immünolojik yöntemler kullanılmaktadır. Geçmişten günümüze kadar konvansiyonel yöntemler arasında geçerliliğini koruyan mikroskopik inceleme ve kültür (tanımlama ve ilaç duyarlılık testleri [İDT]) TB tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Yeni dekontaminasyon-homojenizasyon-konsantrasyon (DHK) teknikleri, mikroskopide kullanılan LED aydınlatmalı mikroskoplar, yeni sıvı ve katı kültür ortamlarının birleşimi ve gittikçe sayıları artan hızlı ve iş gücü gerektirmeyen moleküler teknikler sayesinde MTBC'nin tanı kalitesini artırmıştır ve kısa sürede izolasyonuna olanak sağlamıştır. Konvansiyonel metotlarla birlikte moleküler tekniklerin de eş zamanlı kullanımı TB tanısının yanı sıra bakterinin genotipik direncini belirleyerek hızlı tedaviye geçişi sağlamıştır. İmmünolojik yöntemler aktif TB ile latent TB enfeksiyonu (LTBE) ayırımını yapamamakta ancak LTBE tanısında kullanılmaktadır.

Burada ATB'nin tanısında en yeni kullanıma giren metotlardan ziyade ülkelerin ekonomisine uygun temel testler ve kullanılan metotlarda önemli basamaklar vurgulanmıştır.

I-Direkt Testler

Akciğer Tüberkülozunun Direkt Tanısında kullanılan Klinik Örnekler:

Mikrobiyolojik tanıda örnek seçimi ve kalitesi, örneğin transferi gibi analiz öncesi aşamalar da pozitifliği etkilemektedir. Balgam örneğinin kültürde üretilmesi ATB'nin tanısında altın standart yöntemdir. TB kuşkulu hastalardan usulüne uygun olarak ardışık üç gün boyunca balgam örneği alınır. Alınan bir ve ikinci örnekler vakaların %99'unu tanımlar, üçüncü örneğin vakaya katkısı ise %1'dir (4). Bu nedenle DSÖ mikroskopik vaka tespitinde incelenecek örnek sayısının uygun bir dış kalite güvencesi ile belgelendirilmiş yüksek kaliteli mikroskopi laboratuvarlarında 3'ten 2'ye düşürülmesini tavsiye etmiştir (5). Balgam çıkaramayan hastalardan veya mikrobiyolojik tanıyı artırmak amacıyla diğer solunum yolu örnekleri düşünülebilir. Bunlar indükte balgam, açlık mide suyu (her ikisinin de üçer kez alınması önerilir), bronko alveolar lavaj (BAL), bronşiyal aspirat ve nadiren akciğer biyopsi örneklerini içerir (6). Transbronşiyal biyopsiler ATB'nin mikrobiyolojik tanısına katkı sağlamamaktadır. Ancak, herhangi bir akciğer cerrahi parçasından alınan biyopsi örneğinin sistematik olarak mikobakteri taraması için bakteriyoloji laboratuvarına gönderilmesi gerektiği unutulmamalıdır (4). Ayrıca dışkı örneklerinin de ATB tanısında kullanılabileceği de gösterilmiştir (7).

1. Konvansiyonel Yöntemler

A. Mikroskopik İnceleme:

TB'nin erken mikrobiyolojik tanısı hala mikroskopiye dayanmaktadır. Neredeyse yüzyıllardır kullanımda olan yayma mikroskopisi en bulaşıcı ATB vakalarının tespitinde etkili, basit ve ucuz bir yöntem olması nedeni ile kaynakları sınırlı olan ülkelerde TB'ye karşı mücadelede tanı yöntemleri arasında en iyi seçimdir (8). Bu yöntemin önemli bir sınırlaması, duyarlılığının düşük olması (kültürle karşılaştırıldığında %25-75) ve pozitiflik için gereken yüksek basil sayısının (ml başına 5000-10.000 basil aralığında) olmasıdır.

Prensibi: Mikobakteriler hücre duvarlarındaki kalın mikolik asit tabaka nedeniyle ve hidrofobik özelliklere sahip oldukları için suda çözünen boyalarla zor boyanırlar. Bu bakteriler suda kolay eriyen fenol gibi organik bir madde içinde çözünen boyalar ile boyanabilirler. Mikobakteriler bir kez boyayı hücre içine aldıkları zaman asit-alkol çözeltisi ile muamele edildiklerinde bile bırakmadıkları için "aside dirençli bakteri (ARB)" olarak adlandırılır. Tüberkülozun erken tanısında, mikroskop ile örnekte ARB varlığının aranması, her düzey tanı laboratuvarında uygulanabilen bir yöntemdir (9).

Hali hazırda klinik örneklerde mikobakterileri tespit etmek için iki ARB boyama yöntemi kullanılmaktadır:

a) **Karbol-fuksin boyama yöntemleri** (Erlich Ziehl-Neelsen [EZN] boyama ve Kinyon boyama [Kinyoun soğuk boyama]). Kinyoun boyaması, boyama sırasında ısıtma adımını hariç tutan klasik EZN boyamasının bir modifikasyonudur. EZN ve Kinyoun tarafından uygun şekilde

boyanan mikobakteriler mavi zeminde kırmızı çubuklar şeklinde görünürler. Kinyoun boyaması EZN kadar etkili olmadığı için bu prosedürün yalnızca subkültür yada kültürde üremiş basilleri doğrulamak amacıyla kullanılması önerilmektedir (10). Ayrıca DSÖ, değerlendirme amacıyla kullanılan ışık mikroskopunun yerine LED aydınlatmalı ışık mikroskobu kullanıldığı takdirde %10 oranında duyarlılığı artırdığını ifade etmiştir (11).

b) **Florokrom (Auramin O veya Auramin-rodamin) boyama.** Uzun yıllardır kullanılan bu boyama metodunda değerlendirme floresan mikroskop ile yapılır ve mikobakteriler, daha koyu bir zeminde parlak floresan çubuklar olarak tespit edilirler. Değerlendirmede duyarlılığı artırdığı için LED aydınlatmalı floresan mikroskoplar önerilmektedir (11).

Rutin tanıda en sık karbol fuksinli boyama yöntemleri tercih edilmektedir. Ancak çok sayıda hasta örneği incelenecek ise daha duyarlı ve hazırlanan preparatların daha hızlı taranmasını sağlayan florokrom boyalar tercih edilmelidir. Florokrom boyama yöntemleri ile mikroskopta daha küçük objektifler (25x ve 40x) ile daha geniş alan taranır; böylece preparatın taranması için gereken süre yaklaşık olarak onda bire düşer (9).

Eğer EZN, Kinyoun ve Auromin O/ Auromin-rhodamin boyama yöntemlerini karşılaştırmak gerekirse; göreceli duyarlılıkları sırasıyla orta, düşük ve yüksektir. Göreceli özgüllükleri ise yine sırasıyla yüksek, orta ve düşüktür. Dolayısıyla florokrom boyası ile pozitif bulunan örneklerin EZN ile teyit edilmesi gereklidir (10). Florokrom boyanan preparatların erken solması nedeniyle bekletmeden bakılmalıdır.

Mikroskopik inceleme bize ATB'nin hızlı tanısı, hasta takibi ve iyileşme hakkında bilgi verir. Ancak mikroskopik değerlendirmede "negatif sonuç" hastanın TB olmadığı anlamına gelmez; ARB pozitif sonuç; MTBC / TB Dışı Mikobakteri (TDM) ayrımı, canlı / ölü basil ayrımı, duyarlı/dirençli ayrımı yapmaz/yapılamaz.

Mikroskopinin duyarlılığı ve pozitif prediktif değeri (PPV), hastalığın prevalansı ve şiddeti, örneğin türü ve kalitesi, örnekteki mikobakteri sayısı ve hazırlanan yaymanın kalitesi boyama ve değerlendirme işlemi gibi birçok faktörden etkilenir. Dolayısıyla mikroskopide yalancı pozitiflik ve yalancı negatifliklerin olabileceği unutulmamalıdır. Bunun önlenmesi için örnek yönetiminden mikroskopik değerlendirmeye kadar olan aşamalarda dikkat edilmesi, her aşamanın gerekli kalite kontrollerinin yapılması ve çözüm önerilerinin bilinmesi gerekir.

B. Kültür

TB için en eski mikrobiyolojik tanı testi olan kültür, en düşük tespit limitine sahip referans yöntem olmayı sürdürmektedir. Kültürde mikobakterilerin üretilmesi için hasta örneklerinin mililitresinde 10-100 canlı basilin olması yeterlidir. Kültür, TB basillerinin üremesine,

tanımlanmasına, İDT ve epidemiyolojik çalışmaların yapılmasına olanak sağlar. Mikobakteriyel kültürün duyarlılığı %98,8 ve özgüllüğü %100'dür (12).

Prensibi:

TB'nin kesin tanısı basili üreterek tanımlamaya dayanır. Ancak MTB'nin bölünme süresi 18-24 saat arasında olduğu için uzun inkübasyon (genellikle 6-8 hafta) gerektirir. Ayrıca MTB genel üretim besiyerlerinde üretilmez, çünkü üreme için ortamda özel maddelere ihtiyaç vardır. Bu yüzden özgün besiyerleri kullanılır. Sıklıkla gliserol ve asparajin içeren yumurta temelli besiyerleri, agar bazlı besiyerleri, serum ve sığır albümini ile zenginleştirilmiş sıvı besiyerleri kullanılır (9). Besiyerlerine diğer kontaminant mikroorganizmaların üremesini engellemek için malaşit yeşili gibi inhibitörler veya çeşitli antibiyotikler eklenebilir (9).

Kültür yönteminde ekim öncesinde örneklerin biyogüvenlik kabini (Sınıf IIA) içinde işlenmesi (Dekontaminasyon-Homojenizasyon-Konsantrasyon [DHK]) gerekir. Bu amaçla en çok NALC-NaOH metodu kullanılır. Bu işlemin amacı örnek içerisinde bulunan basilleri serbestleştirmek, bir araya toplayarak yoğunlaştırmak ve diğer mikroorganizmaları yok etmektir.

Kültür yöntemleri katı ve sıvı besiyeri sistemleri olarak ikiye ayrılır:

a) **Katı besiyerleri:** Ekimden sonra kolonilerin değerlendirilmesi için 6-8 haftaya ihtiyaç vardır. Katı kültür besiyerleri yumurta bazlı ve agar bazlı olmak üzere ikiye ayrılır:

- Yumurta bazlı besiyerleri:

- Löwenstein Jensen (LJ): Malaşit yeşili içerir. Gliserol içeren LJ MTB üremesini sağlar ama gliserol yerine pruvat eklenirse *M. bovis* üremesi lehinedir.
- Ogawa: Asparajin içermeyen LJ'dir.

Yumurta bazlı besiyerlerinin hazırlaması zahmetli, raf ömrü 6 ay, besiyerinin görünümü opak, koloni morfolojileri ayırt edilebilir, basilin besiyerinde üreme süresi 21-42 gün, izolasyon şansı yüksek ve maliyeti ise düşüktür.

- **Agar bazlı besiyerleri** (Middlebrook 7H10 ve Middlebrook 7H11) Hazırlaması kolay, raf ömrü 4 hafta, besiyerinin görünümü şeffaf, koloni morfolojileri ayırt edilebilir, basilin besiyerinde üreme süresi 18-28 gün, izolasyon şansı yüksek ve maliyeti ise orta düzeydedir.

b) **Sıvı besiyerleri:** Katı besiyerleri ile karşılaştırıldığında sıvı besiyerlerinin duyarlılığı %20 kadar daha yüksektir. Ama kontaminasyon oranı da katı besiyerine göre yüksektir. Hazırlaması kolay, raf ömrü kullanılan sisteme göre değişir, besiyerinin görünümü şeffaf, koloni morfolojileri sıvı besiyerlerinde ayırt edilemez, basilin besiyerinde üreme süresi 7-14 gün, izolasyon şansı çok yüksek ve maliyeti ise orta-yüksek düzeydedir.

- **Manuel sıvı besiyerleri:** Middlebrook 7H9 ve MGIT Manuel

- **Otomatize sıvı besiyerleri:** BACTEC (Becton Dickinson, USA), Bact/Alert(Biomerieux, Fransa), MGIT 960 (Becton Dickinson, USA), VersaTREC (Thermoscientific, USA) ve TK Kültür Sistemi (TİBO)

TK Medium kullanıma hazır olup OADC (oleik asit, albumin, Dekstroz ve katalaz) ve seçici antimikrobiyal eklemek gerektirmemektedir. Besiyerinin rengi kırmızıdan sarıya değiştirerek mikobakteriyel büyümeyi gösterir. Hem kültür hem de İDT sonuçları için gereken süreyi kısaltan (7-15 gün), pratik ve güvenilir bir otomatik sistemdir. Ayrıca test sırasındaki kontaminasyon besiyerinin renginin yeşile dönmesi ile kolayca anlaşılabilir (13).

DSÖ mikobakterilerin ilk izolasyonunda izolasyon şansını artırmak için hem katı hem de sıvı besiyerinin birlikte kullanımını önermektedir (14). Mikobakterilerin üremesini artırmak amacıyla Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinin içerisine %10 OADC ve PANTA (polimiksin, amfoterisin B, nalidiksik asit, trimethoprim ve Azlosilin'den oluşan bir antibiyotik karışımı) ilave edilir (15).

C-Tanımlama (MTBC ve TDM Ayrımı)

Uygun tedavi tanımını belirlemede esastır. Kültürde üreyen izolatların MTBC-TDM ayrımında önceleri üreme özellikleri ve biyokimyasal testler kullanılmakta idi (Tablo 1). Ancak son yıllarda kullanıma giren hızlı genotipik ve immünokromatografik yöntemler tür tanımında büyük kolaylık sağlamıştır. İmmünokromatografik kart testler MTBC'ye özgül MPT64 proteininin, monoklonal MPT64 antikoları kullanılarak saptanmasına dayanır. MPT64, MTB, *M. africanum* ve *M. bovis*'i içine alan MTBC üyelerine ait 23 kDa ağırlığında bir membran proteindir; Kültür filtratları ve biyopsi materyallerinde yüksek düzeyde bulunmaktadır (16,17). Şu ana kadar yapılan çalışmalardan TB Ag MPT64 testinin, MTBC ve TDM'nin ayrımında kullanılabilir basit, hızlı ve etkili bir yöntem olduğu anlaşılmıştır (18,19).

Tablo 1. MTBC/TDM ayrımında kullanılan yöntemler

Fenotipik yöntemler	Genotipik yöntemler	İmmünokromatografik yöntemler
Üreme özellikleri	PCR restriksiyon enzim analizi PCR-REA)-hsp65 geni	MTBC'nin hücre duvarındaki MPT-64 Antijenini saptamaya yönelik çeşitli ticari kitler mevcut (SD BIOLINE TB AgMPT64 RAPID® test vs)
Biyokimyasal testler (Katalaz testi, Nitrat indirgenme testi, Niasin birikim testi,PNB)	Ters hibridizasyon testleri: Line Probe Assay (LPA)	
HPLC (High Performance Liquid Chromatography)		

D-İlaç Duyarlılık Testleri

Fenotipik yöntemler olarak LJ ve Middlebrook 7H10 Agar üzerinde proporsiyon metodu ve MGIT960 en sık kullanılan yöntemler arasındadır. MGIT 960 4-13 gün içinde sonuçları sergilemektedir.

Genotip yöntemlerde Çok İlaça Dirençli (ÇİD)-TB ve Yaygın İlaça Dirençli (YİD)-TB'yi kısa sürede tanımlamaya yönelik testler geliştirilmiştir ve DSÖ tarafından laboratuvarlarda kullanımı desteklenmektedir. Bunlardan GeneXpert-Cepheid, USA (Semi-nested PCR yöntemine dayalı GenXpert MTB/RIF ve GenXpert MTB/RIF ultra)ve Line Probe Assay -Hain Life Science, Almanya (PCR ve ters hibridizasyon yöntemlerine dayalı GenoType MTBDR plus versiyon 1 ve 2) ve DNA dizi analizi teknikleri (yeni nesil dizileme temelli İDT'yi saptayan Tüm genom analizi) kullanılmaktadır. Tüm genom dizileme analizi kültüre ihtiyaç duymadan direkt balgam örneklerinden çalışılabilmektedir. Bu analiz TB'nin yönetiminde büyük iyileştirme vaad etmekle birlikte analizlerin çalışması ve yorumu kompleks,özelleşmiş uzman ve yazılım gerektirmektedir. Bu yöntemlerle genel olarak dirence yol açan rpoB (rifampisin direnci), katG ve inhA (izoniyazid direnci), embB (etambutol direnci), rrs (amikasin, kanamisin direnci) ve gyrA (kinolon direnci) gibi gen bölgelerindeki mutasyonlar saptanır.

Rutinde en çok kullanılan GeneXpert MTB/RIF testi, MTB ve rifampisin direncinin saptanmasında faydalı olmasına rağmen bazı dezavantajlara sahiptir: Rifampisin direncinin yanlış tanımlandığı durumlar ve yayma negatif balgam örneği kullanıldığında testin duyarlılığının azalabildiği rapor edilmiştir (20). GeneXpert MTB/RIF Ultra, bu testin sınırlamalarını gidermek için geliştirilmiştir (20). Bir karşılaştırma analizinde, Xpert MTB/RIF Ultra'nın duyarlılığının, Xpert MTB/RIF'in duyarlılığına kıyasla %5 daha yüksek olduğu ortaya çıkarılmıştır (21).

2. Moleküler Tanı Yöntemleri

PCR kullanarak MTB'yi saptamaya yönelik pek çok ticari ve in-house yöntemler bulunmaktadır. Nükleik asit amplifikasyon testleri MTB'nin tanısında en önemli gelişmelerden biridir. Son yıllarda yeni moleküler teknikler (Real-time PCR, PCR-Restriction fragment length polymorphism, DNA sekans analizi ve DNA strip testleri vs) kullanıma girmiştir.

a) Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri (NAAT):

Son on yılda, genellikle nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) olarak adlandırılan yeni moleküler testlerin geliştirilmesi sayesinde moleküler biyoloji, TB tanısında önemli bir yere gelmiştir. Bu analizler, MTBC'nin hedeflenen genlerinin amplifikasyonuna dayanır ve geleneksel/kültür bazlı yöntemlere göre TB'nin ve ilaca dirençli TB'nin daha hızlı (2 saat) tespit edilmesini sağlar. Birçok çalışma, TB tanısı için moleküler biyoloji testlerinin faydasını ortaya koymuştur. Bu NAAT'ler, özellikle aktif TB'nin belirgin semptomları olan hastalarda daha yüksek performans sunarak %81'lik bir duyarlılık göstermiştir.

Tüberküloz ilaç direncinin hızlı taranması için artık yeni moleküler teknolojiler mevcuttur. DSÖ, ÇİD-TB'yi saptamak için GenoType MTBDRplus (LPA testi) ve GeneXpert MTB/RIF gibi çeşitli moleküler testleri onayladı. Pek çok ülkede, özellikle de kaynakları sınırlı olanlarda, bu moleküler testler yalnızca referans laboratuvarlarda mevcuttur. PCR, mikroskopiden daha düşük bir saptama limiti ve IS6110 gibi spesifik MTB DNA dizilerini hedef alan PCR için artan bir spesifiklik ile TB tanısını geliştirmiştir (12). Hem NAAT hem de ARB yayma mikroskopisi pozitif olan hastada TB olduğunu kuvvetle düşündürmektedir ve kültür sonuçları beklenirken anti-TB tedaviye başlanması gerekmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde TB için FDA onaylı NAAT'nin PPD'si, ARB yayması pozitif olan vakalarda >%95'tir. NAAT sonucu negatif ve ARB yayma sonucu pozitif ise hastanın TDM enfeksiyonu olduğu varsayılabilir (22).

II-İndirek Testler

1-Serolojik Yöntemler

Serolojik yöntemler, alınan hasta kanında MTB'ye karşı oluşan antikorları saptayan çabuk ve maaliyet etkin sonuçlar sağlayan testleri kapsar. Ancak son meta analizler ve sistematik gözlemler mevcut olan ticari serolojik testlerin çapraz reaksiyon ve duyarlılıklarının düşük olması nedeniyle uyumsuz sonuçlara sahip olduğunu göstermiştir. Çalışma sonuçlarından Serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllüklerinin hem ATB ve hem de ADTB için tutarsız ve kesin olmadığı sonucuna varılmıştır ve dolayısıyla DSÖ bu testlerin kullanımını önermemektedir (23). Ancak TB'ye özgü antijenleri saptamaya yönelik immüno-PCR ve real-time immüno-PCR teknikleri ELISA'ya göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllük sergilemektedir. Bu tür çalışmaların özellikle basil yükünün az olduğu ADTB'nin tanısında iyileşme sağlayacağı düşünülmektedir (23).

Mikrobiyolojik Tanıda Yapay zekanın kullanımı

Otomatik mikroskopik inceleme yöntemi: Patoloğlara TB tanısında yardımcı olmak ve geleneksel, zaman alıcı manuel tarama sürecinden kaçınmak için, EZN boyamada TB'yi çeşitli özgüllük ve duyarlılık sergileyen Yapay Zeka Tabanlı Yöntemler belirler. Bu yöntem, operatörden bağımsız bir inceleme gerçekleştirmek için otomatik bir mikroskop ve özel bir yazılım kullanır (23-25). Otomatik yöntem, 100 basil/ml balgam tespit limiti ve M. bovis, M. bovis BCG veya MTB H37Rv suşları ile inoküle edilen balgamın değerlendirilmesinde %100 pozitiflik oranı gösterdi. 93 balgam örneğinin değerlendirilmesinde otomatik yöntemle %97,06 duyarlılık ve %86,44 özgüllük elde edildi. Bu yöntem, 100'e kadar yayma preparatlarının saklanmasına, okunmasına ve sonuçların laboratuvar bilgi sistemine aktarılmasına olanak tanır. Ön sonuçlara dayanarak, bu otomatik yöntemin rutin iş akışında uygulanması önerilmektedir; burada yalnızca otomatik mikroskopik incelemeyle pozitif olarak tespit edilen smearlar, standart mikroskopik incelemeyle doğrulanacaktır (26).

Konvansiyonel kültür temelli tanı yayma-negatif hastalarda TB'yi saptamak için hala önemlidir. Geleneksel İDT, uygun tedavi seçimine rehberlik etmek için gereklidir. TB tanısını başlatmak için mikroskopi ile karşılaştırıldığında moleküler tanının katma değeri konusunda hiç şüphe yoktur. Ancak direncin moleküler tespiti, ilaç direnciyle ilişkili spesifik mutasyonun tanımlanmasına bağlı olsa da, diğer direnç mekanizmaları gelişebilir veya testin tespit etmek üzere tasarlanmamış yeni mutasyonlar ortaya çıkabileceği unutulmamalıdır.

GeneXpert gibi yeni teknolojiler henüz ekonomik nedenlerden dolayı yaygınlaştırılmamıştır. Özellikle yayma negatif akciğer TB'si veya klinik olarak tanı konmuş TB ve ilaca dirençli TB hastalarında akciğer bilgisayarlı tomografisi, biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesi ve yeni moleküler tanı testleri daha erken ve gelişmiş tanı için kullanılabilir.

KAYNAKLAR

1. WHO. (2023). Global Tuberculosis Report. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports> (Erişim tarihi: 31.05.2024)
2. Rolo, M., González-Blanco, B., Reyes, C.A., Rosillo, N., López-Roa, P. (2023). Epidemiology and factors associated with Extra-pulmonary tuberculosis in a Low-prevalence area. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*, 32,100377.
3. Zhang, H., Liu, M., Fan, W., Sun, S., Fan, X. (2022). The impact of *Mycobacterium tuberculosis* complex in the environment on one health approach. *Front Public Health*, 10,994745.
4. El Khéchine, A., Drancourt, M. (2011). Diagnosis of pulmonary tuberculosis in a microbiological laboratory. *Médecine et maladies infectieuses*, 41, 509–517.
5. WHO. (2011). Same-day diagnosis of tuberculosis: policy statement. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/44603>
6. WHO. (2021c). WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 2: screening – systematic screening for tuberculosis disease Geneva: World Health Organization; 2021. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
7. El Khéchine, A., Henry, M., Raoult, D., Drancourt, M. (2009). Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms in the stools of patients with pulmonary tuberculosis. *Microbiology*, 155,2384–2389.
8. ECDC Technical report. (2022). Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union.
9. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi. (2014). Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara.
10. Rieder, H.L., Van Deun, A., Kam, K.M., Kim, S.J., Chonde, T.M., Trébuçq, A., et al. (2007). Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries. 2nd ed. Paris: International Union against Tuberculosis and Lung Disease.
11. WHO. (2010). Fluorescent light emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis: policy statement [Internet]. Geneva: World Health Organization. http://www.who.int/tb/laboratory/who_policy_led_microscopy_july10.pdf.
12. Boldi, M.O., Denis-Lessard, J., Neziri, R., Brouillet, R., von-Garnier, C., Chavez, V., Mazza-Stalder, J., Jatton, K., Greub, G., Opota, O. (2023). Performance of microbiological tests for tuberculosis diagnostic according to the type of respiratory specimen: A 10-year retrospective study. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 13,1131241.
13. Kocagöz, T., Altın, S., Türkyılmaz, Ö., Taş, İ., Karaduman, P., Bolaban, D. et al. (2012). Efficiency of the TK Culture System in the diagnosis of tuberculosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 72(4), 350-357.

14. Moreira, Ad.S.R., Huf, G., Vieira, M.A.M.dS., Costa, P.Ad., Aguiar, F., Marsico, A.G., et al. (2015). Liquid vs solid culture medium to evaluate proportion and time to change in management of suspects of tuberculosis—a pragmatic randomized trial in secondary and tertiary health care units in Brazil. *PLoS ONE*, 10:e0127588.
15. Gill, C.M., Dolan, L., Piggott, L.M., McLaughlin, A.M. (2022). New developments in tuberculosis diagnosis and treatment. *Breathe*, 18, 210149.
16. Nagai, S., Wiker, H.G., Harboe, M., Kinomoto, M. (1991). Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*, 59(1), 372-382.
17. Purohit, M.R., Mustafa, T., Wiker, H.G., Morkve, O., Sviland, L. (2007). Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex specific antigen MPT64. *Diagn Pathol*, 2, 36.
18. Abe, C., Hirano, K., Tomiyama, T. (1999). Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol*, 37(11), 3693-3697.
19. Hasegawa, N., Miura, T., Ishii, K., et al. (2002). New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol*, 40(3), 908-912.
20. Mugenyi, N., Ssewante, N., Baluku, J.B., Bongomin, F., Irene, M.M., Andama, A., et al. (2024). Innovative laboratory methods for improved tuberculosis diagnosis and drug-susceptibility testing. *Front Tuberc*, 1, 1295979.
21. Zifodya, J.S., Kreniske, J.S., Schiller, I., Kohli, M., Dendukuri, N., Schumacher, S.G., et al. (2021). Xpert Ultra versus Xpert MTB/RIF for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults with presumptive pulmonary tuberculosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2, Cd009593.
22. Ryu, Y.J. (2015). Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: Recent Advances and Diagnostic Algorithms. *Tuberc Respir Dis*, 78,64-71.
23. Xiong, Y., Ba, X., Hou, A., Zhang, K., Chen, L., Li, T. (2018). Automatic detection of mycobacterium tuberculosis using artificial intelligence. *J Thorac Dis*,10(3),1936-1940.
24. Zurac, S., Mogodici, C., Poncu, T., et al. (2022). A New Artificial Intelligence-Based Method for Identifying *Mycobacterium tuberculosis* in Ziehl-Neelsen Stain on Tissue. *Diagnostics (Basel)*, 12(6),1484.
25. del Carpio, C., Dianderas, E., Zimic, M., Sheen, P., Coronel, J., Lavarello, R. et al. (2019). An algorithm for detection of Tuberculosis bacilli in Ziehl-Neelsen sputum smear images. *International Journal of Electrical and Computer Engineering*, 9(4),2968-2981.
26. Mittal, V., Haider, F., Singhal, S., Jamal, S. (2014). Is universal sample processing methodology better than conventional techniques for detection of tuberculosis? *Indian J Med Microbiol*, 32(4),404-407.

KM4. Anti Tüberküloz Ajanlar ve Direnç Mekanizmaları**Dr.Gülnur TARHAN**

Tüberküloz (TB), insanlık tarihinin en eski bulaşıcı hastalıklarından biridir. 1882 yılında Robert Koch tarafından TB'a neden olan basilin izolasyonu yapılmış, 1921 yılında TB aşısı olan Bacillus Calmette Guerin (BCG)'nin bulunması ve 1950'li yıllardan itibaren ilaçla tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen, günümüzde halen tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir (1).

Dünya nüfusunun 1/3'ü TB ile enfektedir. Bu oran uzun yıllardır değişmemektedir. Dünya sağlık örgütünün 2023 yılına ait tüberküloz raporunda, 2022 yılında dünya çapında tahminen 10,6 milyon kişi (5,8 milyonu erkek, 3,5 milyonu kadın ve 1,3 milyonu çocuk) tüberküloz hastalığına yakalanmıştır. Tahmini 1,5 milyon TB hastası da ölmüştür. TB görülme oranı 2020 ile 2022 arasında %3,9 artmıştır ve son 20 yılın çoğunda yıllık yaklaşık %2'lik düşüşler tersine dönmüştür. DSÖ'nün Küresel TB 2020 Raporunda Türkiye'nin 2019 yılı tahmini insidans hızı yüz binde 16 ve tahmini mortalite hızı yüz binde 0,39 olarak verilmiştir. Küresel TB 2021 Raporunda ise tahmini insidans hızı yüz binde 15 ve tahmini mortalite hızı yüz binde 0,55 olarak bildirilmiştir (2,3).

Günümüzde TB'un dünyada hala bu kadar önemli bir sorun olmasının en önemli nedeni, antitüberküloz ilaçlara gelişen dirençtir. İlaça dirençli *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) suşlarının oranı günden güne dramatik bir şekilde artmaktadır. Bu durum, hastalığın kontrolünde başarısızlığa, etkisiz tedavi rejimlerine ve dirençli suşların yayılması problemlerine neden olmaktadır (4).

TB'nin ilk kemoterapötik tedavisi, 1944 yılında streptomisin (SM) ve paraaminosalisilik asit (PAS)'in keşfedilmesi ile başlamıştır. Bu tedavi kombinasyonuna 1952 yılında üçüncü bir ilaç olan INH'nin eklenmesi, tedavi etkinliğini büyük ölçüde artırmış, fakat tedavi süresinin uzun olması bazı sıkıntıları beraberinde getirmiştir. 1960'larda etambutol (EMB)'un keşfedilmesi ile hastalar tarafından zor tolere edilen PAS'ın yerini EMB almış ve böylece tedavi süresi kısalmıştır. 1971 yılında RIF'in etkinliğinin bildirilmesi ile hastalığın tedavi süresi önemli bir kısalma saptanmıştır. (8,9,10). 1980'lerde pirazinamid (PZA)'in hücre içinde basil üzerindeki etkisinin gösterilmesi ile altı aylık tedavi süresinin TB tedavisinde yeterli olduğu kabul edilmiştir. 1990'lı yıllarda AIDS'li TB hastalarının sayısının artması ile tedavi süresi dokuz aya kadar ya da kültür negatife döndükten sonra altı ay daha tedaviye devam edilmesi şeklinde yeniden uzamıştır. Ayrıca çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) oluşumu nedeniyle de tedavi süreleri uzamış ve kullanılan ilaçların etkinliği düşmüştür (5,6).

TB tedavisi genel olarak hastada kür sağlamak, ölümleri engellemek, relapsı engellemek, TB bulaşını azaltmak, ve ilaç direnci kazanmış bakterilerin gelişmesini durdurmak amacı ile yapılmaktadır. AntiTB ilaçları temel olarak ise 3 ana özelliği vardır: hastalanmış konağın

dokularında çoğalmakta olan çok büyük sayıdaki basilleri hızla öldürmek, ilaca dirençli klinik olarak anlamlı mutant suşların ortaya çıkmalarını önlemek ve hastalık bölgelerini etkin şekilde sterilize etmek amacı ile kullanılmaktadır (6).

Günümüzde TB tedavisinde kullanılan ilaçlar temel olarak birinci sıra (primer, majör) ve ikinci sıra (sekonder, minör) ilaçlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

Son 20 yılda AIDS olgularının artması ve bu hastalığın ileri döneminde olguların yaklaşık 1/3'ünde *Mycobacteriu avium* kompleksi (MAC) bakterilere bağlı dissemine atipik tüberküloz enfeksiyonu tanımlanmıştır. MAC mikobakterileri birinci sınıftaki ilaçlara ve ikinci sınıftakilerin çoğuna dirençlidir. Bu nedenle sınıflamaya 3. grup olarak "MAC türü mikobakterilere karşı kullanılan" ilaçlar eklenmiştir. (Tablo 1) (6-8).

Tablo 1: Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar

Birinci Sıra (primer, majör)	İkinci Sıra (sekonder, minör)	MAC türü mikobakterilere karşı kullanılan" ilaçlar
İzoniazid (INH) Rifampisin (RIF) Streptomisin (SM) Pirazinamid (PZA) Etambutol (EMB)	Etionamid Paraminosalisilik asid, Tiasetazon(amitiozon), Sikloserin, Siprofloksasin, Ofloksasin Streptomisin-dışı aminoglikozidler (viomisin, kapreomisin, kanamisin amikasin)	Rifabutin, Klaritromisin Azitromisin, Siprofloksasin Ofloksasin, Amikasin Klofazimin

Birinci ve ikinci kuşak ilaç gruplarının etki mekanizmaları ile TB tedavisindeki önemi Tablo 2'te verilmiştir (6,9).

Tablo2 : Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar, etki mekanizmaları ve önemi			
İlaç	İlaç	Etki Mekanizması	Önemi
Birinci kuşak ilaçlar	INH	Hücre duvarının mikolik asit sentezini inhibe eder	Yüksek bakterisidal etki, hücre içi penetrasyon uyumu, iyi absorbe edilmesi, kolay alınması ve dar spektrumlu etki göstermesi
	RIF	RNA sentezini inhibe eder	Güçlü sterilan aktivite ve geniş spektrumlu etki göstermesi
	SM	Protein sentezini inhibe eder	TB ve Gram negatif basillerin tedavisinde çoklu kombine ilaç olarak kullanılması
	EMB	Hücre duvarı arabinogalaktan sentezini inhibe eder	Sadece mikobakterilere bakteriyostatik etki göstermesi
	PZA	Hücre membranının yapısı ve fonksiyonunu bozar	Sadece mikobakterilere karşı,semi-dorman durumdaki basillere bakterisidal etki göstermesi
	Sikloserin	D-alanin'in analogudur.Alanin rakemaz ve D-alanil-Dalanil	Gram pozitif,gram negatif ve M.tuberculosis'e bakteriyostatik etki gösterir

İkinci kuşak ilaçlar		sentazın hareketini kompetitif olarak inhibe eder	
	Ethionamid	Hücre duvarının mikolik asit sentezini inhibe ettiği düşünülmektedir.	ÇİD-TB tedavisi için diğer ilaçlar ile birlikte kullanılması
	Kanamisin	Protein sentezini inhibe eder	Geniş spektrumlu ve bakterisidal etki göstermesi
	Kapreomisin	Protein sentezini inhibe eder	Geniş spektrumlu ve bakterisidal etki göstermesi
	Florokinolonlar	DNA sentezini inhibe eder	ÇİD-TB tedavisi için kullanılması
	PAS	Folat yolağı ve mikobakterinin sentezini inhibe eder	Sadece M.tuberculosis üzerinde bakteriyostatik etki gösteren dar spektrumlu anti enfektif etki göstermesi

TB hastalarının büyük çoğunluğu birinci kuşak ilaçlar ile başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Bu gruptaki ilaçlar ilaca duyarlı TB'li hastaların tedavisinde kullanılan, kısa süreli tedavi rejiminin temelini oluşturan ilaçlardır. Etambutol hariç diğerleri bakterisidal ilaçlardır. Toksisiteleri daha düşük ve tüberküloz tedavisinde etkileri yüksek düzeydedir.

Başlangıçta ilk iki ay boyunca INH, RIF, PZA ve EMB kombinasyonunun uygulanmasına ve ardından dört ile yedi aydan daha uzun süreli INH ve RIF tedavisine dayanmaktadır. İkinci seçenek ilaçlar, genellikle birinci seçenek ilaçlara karşı direnç geliştiğinde ya da toksik etki meydana geldiği durumlarda kullanılmaktadır. İkinci kuşak anti-TB ilaçların tedavi süresi altı ila dokuz ay gibi uzun bir tedavi sürecine dayanmaktadır. Bu ilaçlar daha toksik ve yan etkileri daha fazla olmasından dolayı tedavi deneyimli belirli merkezlerde (hastanlerde) yapılmaktadır (6).

Birinci kuşak ilaçlardan INH ve RIF'e dirençli suşlar çoklu ilaca dirençli TB (ÇİD-TB) ve RD-TB/ÇİD-TB tanımına uyan ve aynı zamanda herhangi bir florokinolon ile linezolid ve bedakuilin ilaçlarından en az birine dirençli olan suşlar YİD-TB olarak tanımlanmaktadır. (Tablo 4) (6).

Tablo:4 Tüberküloz Direnci ile İlgili Tanımlar	
Dirençli olgu:	En az bir TB ilacına dirençli hasta
Primer direnç:	Bir aydan kısa süre ya da hiç ilaç kullanmamış hastada görülen direnç türüdür. Basilin alındığı kaynağa ait olan dirençtir.
Sekonder direnç (kazanılmış):	Başlangıçta duyarlı olan basillerle enfekte olan TB hastasında, uygun olmayan tedaviye (ilaç seçimi, erken ilaç kesme, tedaviye uyumsuzluk) bağlı olarak dirençli mutantların artması sonucu gelişen dirençtir.
Çok ilaca dirençli TB (ÇİD-TB):	TB tedavisinde kullanılan birinci seçenek ilaçlardan en az INH ve rifampisine karşı direncin birlikte bulunması olarak tanımlanır
Yaygın ilaç dirençli TB (YİD-TB):	INH ve RIF yanında bir florokinolona ve enjekte edilebilir üç aminoglikozidden (kanamisin, kapreomisin ve amikasin) en az birine direnç durumudur

Dirençli TB hastaların ortaya çıkışı, o ülkede uygulanan tedavi programlarının yetersizliğinden ve insan kökenli hatalardan oluşmaktadır.

ÇİD-TB tedavisi zor ve pahalı olup, ilaçların daha uzun süre kullanımını gerektirmektedir. Hastalar uzun süre yayma pozitif kaldıklarından daha çok kişiyi enfekte edebilirler. YİD-TB tedavisi, ÇİD-

TB göre daha masraflı ve zordur. Bunun yanı sıra YİD-TB'da mortalite daha yüksektir. Dünya genelinde YİD-TB olgusu, tüm TB olguları arasında %9 oranında görülmektedir (10).

DSÖ'nün 2023 yılında yayınladığı küresel rapora göre Dünya çapında, 2022'de tahminen 410.000 kişide çok ilaca dirençli veya rifampisine dirençli TB (ÇİDTB/RD-TB) gelişmiştir. Teşhis konulan ve tedaviye başlanan kişi sayısı çok daha düşüktür, 2022'de 175.650 kişi (ihtiyacı olanların yaklaşık beşte ikisi) olarak 2019'da pandemi öncesi seviye olan 181.533 kişinin altında saptanmıştır. İlaça dirençli tüberkülozda tedavi başarı oranı dünya genelinde %63 olarak saptanmıştır. Tedavi başarı oranları, ilaca duyarlı TB tedavisi gören kişilerde %88'e ve ÇİDTB/RD-TB hastalarında %63 olarak saptanmıştır (2).

M.tuberculosis'de ilaç direnci plasmidler veya horizontal gen transferi ile değil, antibiyotığın etkisini gösterdiği hedef bölgelerdeki kromozomal odaklarda rastgele mutasyonlarla oluşmaktadır. İlaç direnci genellikle düzensiz ve aralıklı ilaç kullanımına, hasta uyumsuzluğuna ve yanlış kombinasyonlara bağlı olarak gelişmektedir. İlaça duyarlı bakterilerin ölmesiyle varolan dirençli mutantlar belirgin hale gelir (6,11).

M.tuberculosis'de antimikrobiyal ajanlara direnç gelişimine neden olan faktörler;

1. Antimikrobiyal hedef veya reseptör değişimi
2. Antimikrobiyal modifikasyon ve/veya tahribatı
3. Antimikrobiyalin hedefe ulaşmasının engellenmesi:
 - a) Hücre duvarındaki lipopolisakkarit tabakası nedeniyle geçirgenliğin az olması
 - b) Dışa atım pompalarının antimikrobiyali hücre dışına atması temel olarak üç şekilde gelişmektedir (11).

Spontan direnç oranları sırasıyla INH, RİF, ETM ve SM için 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-5} olarak gerçekleşmektedir. Kromozomlar üzerindeki direnç bölgeleri birbirleriyle bağlantılı olmadıklarından , bakterinin iki ilaca birden spontan direnç geliştirmesi , olasılıkların çarpımına eşittir. Örneğin; INH+RFM içi 10^{-14} dür. Diğer taraftan ilerlemiş kaviteli olgularda bile toplam bakteri sayısı ender olarak bu sayıya erişir. Tüberküloz tedavisinde multiple ilaçların kullanılması, direnç mutasyonlarına çok az sıklıkla rastlanması ve duyarlı bakterilere nakledilememesi temeline dayanır. Dolayısıyla birden fazla ilaç kullanılması dirençi önleyici en önemli faktörlerden birisidir (12).

YİD-TB'nin ortaya çıkmasından itibaren dirençli TB tedavisinde kullanılan ikinci uşak ilaçlarda TB tedavisinde yetersiz kalmaya başlamıştır. Mevcut tedavi süresini daha da kısaltabilmek, ÇİD/YİD TB olgularında başarı sağlamak ve latent tüberkülozlu olguların tedavisinde daha etkin tedavi sağlamak amacı ile TB tedavisinde yeni ilaç arayışları devam etmektedir. Geliştirilen bazı ilaç grupları Tablo 5'te verilmiştir (13).

Tablo 5:	
Diarilkinolinler	TMC207 (Bedaquiline)
Nitroimidazoller	PA-824 , OPC-67683 (Delamanid), TBA-354
Oksazolidinonlar	PNU-100480 (Sutezolid) AZD-5847 (Posizolid)
Etilendiamin Türevleri	SQ-109
Benzotiazinonlar	BTZ-043
Caprazene nükleozitleri	CPZEN-45 , DC-159a , Q-201, SQ-641

Üzerinde en çok çalışılan yeni ilaçlar diarilkinolinler, yeni florokinolonlar, oksazolidinonlar ve nitroimidazopiranlar'dır. Bu ilaçlardan Bedaquiline Aralık 2012 yılında tüberküloz tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanan ilk yeni ilaçtır. Etkisini mikobakterinin adenozin trifosfat (ATP) sentezi için önemli bir enzim olan mikobakteriyel ATP sentazın proton pompasını inhibe etmek suretiyle göstermektedir. Mikobakterinin ATP sine karşı yüksek seçicilik göstermektedir. Delamanid PA-824'ün yapısal analogu olup, mikolik asit biyosentezini inhibe etmektedir. Hem ilaca duyarlı hem de ilaca dirençli *M. tuberculosis* izolatlarına karşı aktiftir. Florokinolon grubundan moxifloksasin ve gatifloksasin ilaç duyarlı tüberküloz olgularında başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir. Oksazolidinonların öncü üyesi olan linezolid tüberküloz olgularının tedavisinde kullanılan bir başka ilaç grubudur (14).

KAYNAKLAR

1. Keskinbora, K. (2016). Savaşta Düşmanlardan Bir Diğeri: Tüberküloz. *Lokman Hekim Dergisi*, 6 (3):174-184.
2. Global Tuberculosis Report , WHO, <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023>.
3. Global Tuberculosis Report , WHO, <https://www.who.int/publications/digital/global-tuberculosis-report-2021>.
4. Iseman, M.D (2002). Tuberculosis therapy: past, present and future. *European Respiratory Journal* , 20: 87S-94.
5. Hopewell, PC (2016). Treatment of Tuberculosis. İçinde: Raviglione, MC, Ed. *Tuberculosis: the Essentials* (Vol. 237). 4.Baskı. *Informa Healthcare USA, Inc.* p113-122.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı, Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2. Baskı. Ankara, Artı6 Medya Tanıtım Matbaa Ltd. Şti, 2019.
7. Gupta-Wright, A., Tomlinson, G.S., Rangaka, M.X., Fletcher, H.A (2018). World TB Day 2018: The Challenge of Drug Resistant Tuberculosis. *F1000 Res.* 2018;7:217.
8. Çilli A (2003). Antitüberküloz İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kurs Kitabı. Ofset Basım, s163- 170.
9. Özkara, S., Aktaş, Z., Özkan, S., Ecevit H (2003). Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı, Sağlık Bakanlığı, Verem Savaş Daire Başkanlığı.
10. Baylan O (2011). Çok ilaca dirençli tüberkülozdan sonra yaygın ilaca dirençli ve tüm ilaçlara dirençli tüberküloz formları: Eski hastalığın yeni yüzleri. *Mikrobiyol Bul*, 45(1): 181-95.
11. Palomino, J.C., Martin, A (2014). Drug Resistance Mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics (Basel)*, 3(3): 317-340.
12. Catalogue of mutations in *Mycobacterium tuberculosis* complex and their association with drug resistance, WHO, 2012, <https://www.who.int/publications/i/item/9789240028173>
13. Biltekin, N., Ülger, M (2023). Tüberküloz tedavisinde kullanılan antitüberküloz ilaçlar, *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg*, 16(3):525-542
14. Aguilar Diaz, J.M., Abulfathi, A.A., Brake Lindsey, H.M., Van Ingen, J., Kuipers, S., Escurra, C.M., Raaijmakers, J., Svensson, E.M., Boeree, M.J (2023). New and Repurposed Drugs for the Treatment of Active Tuberculosis: An Update for Clinicians. *Respiration* 2023; 102 (2): 83-100.

KM5. İlaç Direncinin tanısında yenilikler

Dr. Khaoula BALGOUTHİ

Her yıl antibiyotikler, antifungaller, antiviraller ve antiparaziterler de dahil olmak üzere antimikrobiyal ilaçlar milyonlarca hayat kurtarmaktadır. Ancak bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler antimikrobiyal ilaçları yenme kapasitesini geliştirdiğinde, bu ilaçlar etkisiz hale gelir, enfeksiyonların tedavisi zorlaşır veya imkânsız hale gelir ve hastalığın yayılma, ciddi hastalık ve ölüm riski artmıştır.

Son yıllarda ilaca dirençli TB'nin tanı ve tedavisinde birçok yeni gelişme meydana gelmiştir. Hem TB'yi hem de ilaç direncini tespit eden hızlı moleküler teşhis analizleri, yetenekleri genişletilerek yaygın olarak kullanıma sunulmuştur. DSÖ onaylı referans kataloğu ve biyoformatik sistemler tarafından NGS gibi diğer moleküler teknolojiler desteklenmektedir. İD TB tanısına yönelik daha erişilebilir altın standartların araştırılmasına yönelik çalışmalar devam ederken, referans laboratuvarlara dayalı kültür tabanlı teknolojiler, TB ve direnç tespiti ve standartların belirlenmesi ile ilgili olmaya devam etmektedir. Tüberküloz tanımında herhangi bir standart araştırma, artık Rifampisin direnci için moleküler bir test içermelidir ve Rifampisin direnci tespit edilirse daha fazla direnç için ek testler yapılmalıdır.

İD-TB'nin tanı ve tedavisinde birçok zorluk devam etmektedir. Özellikle, XDR-TB için yeni DSÖ tanımları şüphesiz bölgedeki savunuculuğu ve teknolojik gelişmeleri teşvik edecek olsa da yeni ve başka amaçlara yönelik ilaçlar için direnç testi için altyapı eksikliği nedeniyle çoğu ortamda uygulanması zorlanmıştır. Her ne kadar fenotipik kültüre dayalı yöntemler ilk olarak ilaç direncini tespit etmek için tasarlanmış olsa da EUCAST tarafından oluşturulan prensiplere göre diğer bakteriler için yapıldığı gibi antimikrobiyal duyarlılık testinin (AST) geliştirilmesine yönelik artan bir ihtiyaç vardır. 2016 yılında, M. tuberculosis'te (AST-MTB) AST için evrensel bir referans yöntemi yoktur; Bedaquiline ve Delamanid dahil olmak üzere eski ve yeni ilaçlar için klinik referans noktalarının belirlenmesinde zorludur. Ek olarak, potansiyel ilaç direnci mutasyonlarının tam genom dizileme verileri kullanılarak değerlendirilmesi, büyük ölçüde AST-MTB için iyi tanımlanmış bir referans yöntemine bağlıdır. Direncin genotip tespiti giderek daha fazla kullanıldıkça, ilaca direnç mutasyonlarının, ECOFF'lara yakın olma eğiliminde olan MIC'lerde düşük bir artışla ilişkili olduğu rapor edilmektedir.

Bazı ilaca direnç mutasyonları için, iyi tanımlanmamış sınır değerleri, duyarlılık ve direnç arasında AST raporlarının salınmasına neden olur; bu durum, tedavisi zor MDR/XDR-TB hastalarında klinik yönetimi olumsuz yönde etkileyebilir ve genotipik ve fenotipik karşılaştırma çalışmalarında yanlılığa yol açabilir. Yaygın olarak düşük düzeyde dirence sahip olarak adlandırılan bu tür izolatların, optimize edilmiş dozaj ve terapötik ilaç izleme kullanılarak tedavi için erişilebilir olması mümkün olabilir. Ancak bu hipotezin doğrulanması için FK/PD ve klinik sonuç verilerinin klinik çalışmalarda araştırılması gerekmektedir. Bu tür izolatların artan doz ve terapötik ilaç izleme ile tedavi edilebileceğini gösteren bir ara kategori, diğer bakteriyel patojenlerde olduğu gibi, vahşi tipte, tamamen duyarlı izolatları direnç mutasyonlarına sahip olanlardan ayırmak için dikkate alınmalıdır. Yanlışlıkla duyarlı olarak sınıflandırılan düşük düzeyde dirençli izolatlara sahip hastalara verilen yetersiz doz, kötü tedavi sonuçlarına ve direncin daha da gelişmesine yol açabilir. Geçtiğimiz birkaç yılda, özellikle ikinci basamak ilaçlar için yeni direnç mekanizmalarının aydınlatılmasında istikrarlı ilerleme kaydedilmiştir. Ancak genotipik ve fenotipik sonuçlar arasında kalan farklılıkların yalnızca henüz bilinmeyen direnç mekanizmalarından kaynaklanmadığının anlaşılması önemlidir [15], [16]. Bunun yerine, mevcut kritik konsantrasyonlarla, birincil ve kazanılmış direnç, sıralamanın yetersiz tespit sınırları, rastgele hatalar ve genotip ile fenotip arasındaki yanlış ilişkiler gibi faktörlerin tümü bir rol oynamaktadır.

Bu faktörlerin göreceli önemi antibiyotikler arasında farklılık gösterir ve dikkatle tasarlanmış çalışmalarda incelenmelidir. Örneğin, toplam popülasyonun yaklaşık %30'undan daha azında meydana gelen ve bu nedenle Sanger dizilimi ile tespit edilemeyen hetero dirençli mutasyonların, florokinolonlara karşı dirençte önemli bir rol oynadığı giderek daha açık hale gelmektedir. Fenotipik AST, *M. tuberculosis*'te antimikrobiyal direnci ve duyarlılığı belirlemek için hala en güvenilir laboratuvar yaklaşımıdır; avantajları kalite kontrol ağları ve genel olarak iyi klinik korelasyondur. Genotipik yöntemlerin avantajları arasında direncin kolay ve hızlı bir şekilde tespit edilebilmesi yer almaktadır, ancak doğruluk (güçlü kalite kontrol ihtiyaçları), tedavi ve klinik sonuçları ile korelasyon konusunda hâlâ sınırlamalar vardır çünkü yalnızca bazı mutasyonların tutarlı ve güvenilir bir şekilde yüksek değerler kazandırdığı gösterilmiştir.

KM6. Tüberküloz Patogenezi

Dr. Nuran ESEN

Mycobacterium tuberculosis, akciğer tüberkülozlu hastalardan sağlıklı bireylere inhalasyon yoluyla bulaşır. Tüberküloz patogenezi, basillerin akciğerlere ulaşmasıyla başlar. Solunum yoluyla alınan bu bakteriler, akciğer alveollerine ulaştığında alveolar makrofajlar yüzeyinde bulunan belirli reseptörlere bağlanarak hücre içine girer. Patogeneizde önemli rol oynayan reseptörler arasında yer alan; mannoz reseptörü, mikobakterinin yüzeyindeki mannoz yapılarına bağlanarak fagositozun başlamasını sağlar, kompleman reseptörleri, opsonize edilmiş bakterilerin tanınmasında ve fagositozunda görev alır, Toll-benzeri reseptörler (özellikle TLR2 ve TLR4) ise mikobakteriyel lipoproteinleri ve lipoglikanları tanır ve doğal bağışıklık yanıtını tetikler. Bağlanma sonucunda, *M. tuberculosis* makrofajlar tarafından fagosite edilir. Makrofajlar tarafından fagosite edilen bakteriler, inflamatuvar yanıt başlatarak enfeksiyon bölgesine monosit, lenfosit ve diğer bağışıklık hücrelerini çeker. Bu hücreler enfekte makrofajların etrafında toplanarak bir granülom formasyonu oluşturur; bu granümler, enfeksiyonu kontrol altında tutmaya çalışan hücresel bir bariyer görevi görür.

Granülom içinde, *M. tuberculosis* latent kalabilir ve bağışıklık sistemi tarafından baskı altında tutulur. Bu duruma latent tüberküloz enfeksiyonu, son yıllarda ise “tüberküloz enfeksiyonu” denmektedir. Tüberküloz enfeksiyonunda birey enfekte olmuş olsa da, bakteriler aktif değildir ve hastalık belirtileri göstermez. Bireyler bulaşıcı değildir ancak bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda, örneğin HIV enfeksiyonu, yetersiz beslenme, diyabet veya yaşlılık gibi durumlarda, granülom yapısı bozulabilir ve bakteriler yeniden aktive olabilir.

M. tuberculosis makrofajların içinde çoğalabilme yeteneğine sahiptir ve fagolizozomal füzyonu engelleyerek fagozom içinde hayatta kalır ve çoğalabilir. Bu durum, bakterinin hücresel bağışıklık sisteminden kaçmasını sağlar.

Reaktif olan bakteriler, granülomun merkezinde kazeöz nekroz adı verilen peynirimsi nekroz oluşturur ve bu nekrotik dokunun erimesiyle birlikte kavite formasyonu gerçekleşir. Bu kavite, bakterilerin bronşlara dökülmesine ve öksürük yoluyla havaya yayılmasına neden olur, böylece bulaşıcı hale gelen tüberküloz hastalığı oluşur.

Tüberküloz hastalığı, akciğer dokusunun zedelenmesine, fibrozis ve skar dokusu oluşumuna yol açar. Semptomlar arasında kronik öksürük, hemoptizi, ateş, gece terlemeleri ve kilo kaybı bulunur. Bakterinin kan dolaşımına girmesiyle miliyer tüberküloz gibi daha yaygın ve ciddi sonuçlar oluşabilir. Tüberkülozun patogenezi, hem bakterinin virülans faktörlerine hem de konakçının immün yanıtına bağlı kompleks bir süreçtir.

Tüberküloz enfeksiyonun aktif hastalığa dönüşmesi, tüberkülozun yayılmasına ve halk sağlığı için ciddi tehdit oluşturmasına yol açabilir. Bu nedenle, yüksek risk gruplarında tüberküloz enfeksiyonunun saptanması ve tedavisi, tüberküloz kontrol programlarının önemli bir bileşenidir.

KM7. Latent Tüberküloz Enfeksiyonunun Tanısı

Dr. Deniz GAZEL

Dünya nüfusunun yaklaşık dörtte birinde latent tüberküloz enfeksiyonlu (LTBE) olduğu kabul edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2023 verilerine göre dünyada 10,6 milyon tüberküloz (TB) hastası ve iki milyardan fazla latent tüberküloz enfeksiyonlu kişi vardır. LTBE'li kişilerin %5-10'u yaşamlarının bir döneminde tüberküloz hastası olma riskine sahiptir. Bu nedenle tüberkülozun kontrolü için LTBE'li kişilerin tanısı ve tedavisi büyük önem taşır. Tüm dünya nüfusunun kitlesel olarak taranarak iki milyardan fazla kişiye koruyucu ilaç tedavisi verilmesi olası olmadığından aktif tüberküloz hastalığı gelişme riski yüksek olan (yüksek riskli) LTBE'li kişilerin tanısı önceliklidir. **Öncelikli gruplar:** Akciğer TB hastası ile yakın zamanda temas, HIV (+) kişiler, anti-TNF tedavisi başlanacak hastalar, diyaliz tedavisi alanlar, solid organ veya kemik iliği transplantasyonu yapılacak hastalar ve silikozisli hastalardır. Ek olarak, hapisanede kalanlar, sağlık çalışanları, insidansı yüksek ülkelerden göç edenler, evsizler ve bağımlılar için de LTBE taraması düşünülebilir.

LTBE tanısında kullanılan altın standart bir yöntem yoktur. Günümüzde yüz yıldan beri tüberkülin deri testi (TDT) ve son on yıldır interferon gamma salınım testleri (İGST) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır. Her iki yöntem de konağın TB antijenlerine karşı hücrel bağışıklığını (bellek T hücre yanıtı) araştıran dolaylı tanı araçlarıdır ve LTBE ile aktif TB hastalığını birbirinden ayırt edemez.

Tüberkülin deri testi

TDT'de *Mycobacterium tuberculosis*'den saflaştırılarak elde edilen protein türevleri (purified protein derivatives, PPD) antijen olarak kullanılarak deri içine enjekte edilir. PPD, *M. tuberculosis* kompleksine ait çok sayıda antijenin bir karışımıdır, Yalnız aşılama kullanılan, *M. bovis* BCG ve pek çok TDM için de ortaktır. Tüberküloz basili ile karşılaşan ve hücrel bağışık yanıt gelişen kişilerde, 48-72 saat sonra deride gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonuna bağlı endürasyon oluşur. Endürasyonun büyüklüğü milimetrik olarak ölçülerek değerlendirilir. Ülkemizde kullanılan kriterlere göre bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri, BCG aşısı olmayanlarda 10 mm ve üzeri, aşılarında ise 15 mm ve üzeri pozitif kabul edilir. Kültür ile doğrulanmış TB'li hastalarda TDT'nin duyarlılığının %75-90 arasında olduğu bildirilmiştir. Bağışık sistemi baskılanmış hastalarda, ağır hastalarda, gençlerde veya yaşlılarda yanlış negatif sonuç alınabilir. Kullanılan antijenin tüberküloz dışı mikobakterilerde ve BCG aşı kökeninde bulunması ise testin özgüllüğünü düşürmektedir. Testin yanlış uygulandığı durumlarda ve değerlendirme hatalarında da yanlış pozitif veya negatif sonuçlar alınabilmektedir. Hastanın iki kez sağlık kurumunu ziyaret etme zorunluğunun olması da testin olumsuz yönlerindedir.

Yeni nesil PPD testleri

PPD yerine spesifik antijenlerin kullanıldığı yeni nesil testler geliştirilmektedir: C-Tb test ve Diaskintest (ESAT-6 ve CFP-10), ESAT-6-deri testi. Burada amaç PPD bazlı testlere göre spesifiteyi arttırmaktır ancak sensitivite, immün yetmezlikli bireylerde düşüktür. C-Tb deri testi ve TDT indürasyon genişliklerinin benzer olduğu ve testin BCG aşısından etkilenmediği raporlanmıştır.

İnterferon Gama Salınım Testleri

Bu testler canlı dışında (in-vitro) uygulanan ve konakta antijene karşı gelişen hücrel bağışık yanıtın değerlendirildiği kan testleridir. İGST'lerde kullanılan antijenler *M. tuberculosis*

kompleksine özgüdür ve bakteri DNA'sının RD1 lokusunda bulunan genler tarafından kodlanır. Bu antijenler *M. marinum*, *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. flavescens* dışındaki tüberküloz dışı mikobakterilerin çoğunda ve BCG aşı kökeninde bulunmaz. Günümüzde Amerika Ulusal Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan iki farklı ticari test kullanılmaktadır: QuantiFERON-TB Gold In-Tube ve Gold Plus (QFT) testi (Qiagen, Avustralya) ve T-SPOT TB testi (Oxford Immunotec, İngiltere). Her iki testte de hastadan periferik kan örneği alınarak antijenler ile karşılaştırılır. Antijen ile daha önce karşılaşan kişilerde antijeni tanıyan T lenfositler interferon (IFN) gama üretir. QFT testinde salınan IFN gama ELISA ile ölçülür ve sonuç mililitredeki birim olarak verilir. T-SPOT TB testinde ise ELISPOT tekniği ile IFN-gama üreten T lenfosit sayısı belirlenir ve sonuç spot oluşturan birim olarak verilir.

İGST'lerin TDT'ye başlıca üstünlükleri: 1. Kullanılan antijenler *M. tuberculosis* komplekse özgüdür. 2. Elde edilen sonuç sayısal olduğundan değerlendirmek kolaydır. 3. Hasta sağlık kurumuna bir kez gelir. 4. Yineleyen testler için pekiştirici etkisi (boosting) yoktur.

Hangi testi seçelim?

Son on yılda İGST'lerin TDT'ne göre performansını değerlendiren çok sayıda araştırma yayınlanmıştır. Çalışmalar çoğunlukla TB hastası ile teması olanlar, çocuklar, HIV (+) kişiler, göçmenler ve sağlık çalışanlarını kapsamaktadır. Ancak bu çalışmaların yöntemlerine ilişkin iki önemli sorun vardır. İlk sorun LTBE tanısında altın standart bir yöntem olmamasıdır. Testin duyarlılığı genellikle TB hastalarının sonuçlarına göre, özgüllüğü ise TB için risk taşımayan kişilerin sonuçlarına göre hesaplanır. Bu sınırlamalara karşın İGST'nin duyarlılık ve özgüllüğü TDT'den daha az değildir, BCG ile aşılarında ise TDT'den daha özgüdür. İGST testlerinin TB insidansı düşük ve orta düzeyde olan ülkelerde kullanımı giderek artmaktadır. Ancak, İGST çalışmalarının çoğunun yüksek gelir düzeyi olan ülkelerde yapılmış olması ve enfeksiyon oranları yüksek olan düşük ve orta gelirli bölgeler için yalnızca tahmini değerlendirmelerin yapılması nedeniyle DSÖ tarafından düşük ve orta gelirli ülkelerde İGST'lerin TDT yerine kullanılmaması önerilmiştir. Yüksek ve üst-orta gelir düzeyine sahip ülkelerde ise iki testten birinin tercih edilebileceği belirtilmiştir. DSÖ HIV (+) hastalarda TDT kullanımını önermektedir. Diğer rehberlerde ise duyarlılığı artırmak için TDT negatif olan hastalarda İGST kullanımı veya her iki testin birden kullanımı önerilmektedir.

LTBE tanısında yeni belirteçler

LTBE tanısında kullanılacak tanı değeri yüksek olan yeni testlere gereksinim vardır ve İGST'lerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar sürmektedir. IFN gama dışında farklı sitokin ölçümlerinin eklenmesi veya farklı antijenlerin kullanılması ile yeni kuşak İGST'ler geliştirilebilir. IFN gama tarafından indüklenen protein 10 (IP-10) ölçümünün, tek başına IFN gama ölçümüne oranla %4 daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. İnterlökin 2 (IL-2) ölçümü çalışmaları da umut vericidir. Çünkü hem IFN gama hem de IL-2 sekresyonunun, hastalardaki bakteri yükü ve TB tedavisine yanıt ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Bunların dışında Monocyte chemotactic protein-2 (MCP-2), T Hücre Farklılaşma Belirteçleri, sitokin üretiminden sorumlu efektör hücre alt gruplarını analizlerini LTBE tanısında kullanabilmek için çalışmalar devam etmektedir.

Sonuç: LTBE tanısında kullanılan testler, hastaların risk grupları göz önüne alınarak, iyi bir klinik değerlendirme sonrası yapılmalı, bu testler tek başlarına tanı ve tedaviye yol gösterici olmamalıdır.

KM8. Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Klinik Önemi ve Klinik Tanı Algoritması**Ediz Tütüncü**

Mycobacterium tuberculosis kompleksi ve *M. leprae* dışında kalan *Mycobacterium* cinsine ait farklı türleri tanımlamak için geçmişte “atipik mikobakteriler” ya da “tüberküloz olmayan mikobakteriler” gibi terimler kullanılmıştır. Günümüzde ise moleküler identifikasyon teknikleri ile 200’den fazla türün tanımlandığı bu gruba “tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM)” adı verilmektedir. TDM’ler doğada son derece yaygın biçimde bulunmaktadır. Hava, toprak, doğal ve içme suyu kaynakları, süt ve gıda ürünleri, bitkiler ve hayvan rezervuarları daha az öneme sahip olmakla birlikte evcil ve vahşi hayvanlardan izole edilebilirler. Ancak bu kadar yaygın bulunmalarına karşın etken oldukları infeksiyonlar bu derece yaygın değildir. Bununla birlikte hem immünkompetan hem de immünsüprese bireylerde hastalık tablolarına yol açabilirler. İnsanlarda hastalık tablosuna en sık neden olan türler *M. avium* kompleks (MAC), *M. kansasii* ve *M. abscessus* komplekstir.

Çoğu ülkede TDM’lerin neden olduğu hastalıklar bildirim zorunlu hastalıklar kategorisinde yer almadığı için sistematik olarak izlenmemelerine karşın, son yıllarda prevalansın arttığını gösteren çalışmalar vardır. Toplumun yaşlanması, eşlik eden kronik hastalıklar ve immünsüprese hastalarda artış, TDM hastalıkları konusunda farkındalık artışı ve tanı olanaklarının artması bu prevalans artışını açıklayabilir.

TDM’lerin en sık tuttuğu organ akciğerlerdir ve özellikle altta yatan akciğer hastalığı ya da kistik fibrozisi olan bireylerde görülen pulmoner hastalık en sık karşılaşılan hastalık tablosudur. Buna ek olarak esas olarak çocuklarda görülen ve en sık servikal lenf nodlarının tutulduğu süperfisyal lenfadenit ile deri yumuşak doku infeksiyonu gibi akciğer dışı tutulumlar ve konjenital ya da kazanılmış immün yetmezliği olan bireylerde dissemine hastalık tablosu ile karşılaşılabılır. Bununla birlikte TDM’lerin hastalardan izolasyonunun her zaman hastalık tablosu ile ilişkili olmayabileceği ve kolonizasyon olarak değerlendirilebileceği de akılda tutulmalıdır.

HIV pozitif hastalarda MAC’ın etken olduğu dissemine hastalık insidansı, potent antiretroviral tedavilerin kullanımıyla birlikte düşmüştür. Ateş, gece terlemesi, karın ağrısı, ishal gibi özgül olmayan semptomlarla karakterize dissemine hastalığın tanısı, MAC’ın kan kültüründe üretilmesi ile doğrulanır.

TDM türleri arasında tüm dünyada en sık pulmoner hastalık tablosu etkeni MAC’tır. MAC akciğer tutulumunda semptom ve bulgular özgül değildir; öksürük, halsizlik, güçsüzlük, dispne ve nadiren hemoptizi görülebilir. Ateş ve kilo kaybı tüberkülozdaki kadar ön planda değildir.

Pulmoner hastalıkta iki klinik tablo öne çıkar. Özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve bronşiektazi gibi akciğer hastalıkları zemininde gelişen pulmoner hastalıkta, öksürük, kilo kaybı, üst loblarda infiltrasyon ve kavitelerle karakterize hastalık tablosu görülür. Daha önceden bir akciğer hastalığı tanısı almamış olan ancak radyolojik olarak bronşiektazisi olan kimi hastalarda ise nodüler / bronşiektazik hastalık tablosu gelişir.

ATS/IDSA tarafından geliştirilen tanısal kriterlere göre, semptomatik hastada hem pulmoner hastalıkla uyumlu görüntüleme bulguları olması hem de etkenin bir BAL örneğinde ya da ardışık iki balgam örneğinde üretilmesi halinde TDM pulmoner hastalık tanısı konulabilir. TDM pulmoner hastalık ön tanısı ile değerlendirilen ancak tanısal kriterleri karşılamayan hastaların, tanı kesin olarak doğrulanana ya da dışlanana dek izlenmesi önerilir.

Bununla birlikte, TDM pulmoner hastalık tanısı konmasının mutlaka tedavi başlanması anlamına gelmeyeceği, tedavi kararının hasta özelinde bireyselleştirilmesi gerektiği akılda tutulmalıdır. Tedavi başlama kararında hastalığın tipi ve ilerleme riski göz önüne alınır. Kaviter hastalık

genellikle hızlı ve destrüktif bir seyre sahip olduğu için, tanı konulduktan sonra tedavi edilmesi önerilir. Benzer biçimde balgam yayması pozitif olan hastalarda mikrobiyolojik yük fazla olduğu ve bu durum hızlı seyirle ilişkili olduğu için tedavi önerilir. Balgam yaymasının negatif olduğu nodüler bronşiektazik hastalık tablosunda ise kültür ve görüntüleme tekrarları ile klinik izlem tercih edilebilir. Omurgasını makrolidlerin oluşturduğu antimikobakteriyel tedaviler ile balgam yayması negatifliğinin %80'in üzerinde elde edildiği ancak relaps ve reinfeksiyon oranlarının yüksek olduğu unutulmamalıdır.

KM9. Tüberküloz Dışı Mikobakteri Tanısında Yeni Gelişmeler

Dr. Leyla ERSOY

Tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) *Mycobacterium tuberculosis* kompleks ve *M. lepra* dışında kalan mikobakterilerdir. TDM'ler, toprakta ve suda doğal olarak bulunan saprofitik bakterilerdir. Tanı yöntemlerinin gelişmesiyle beraber tespit edilen tür ve alttür sayısı 200'den fazladır. Çoğu kommensal olan bu bakterilerin yaklaşık 50-60 türü fırsatçı patojendir ve özellikle bağışıklığı düşük bireylerde pulmoner (sıklıkla) ve ekstrapulmoner hastalık gelişiminde rol oynar. TDM'nin hem klinik görünümü hem de fenotipik olarak tüberküloz (TB) ile benzerliği, bu iki farklı hastalık profiline sahip olan mikobakterilerin kolaylıkla karıştırılabilmesine neden olmaktadır. TDM, anti-TB ilaçlara karşı yüksek direnç oranlarına sahiptir; TDM'lerin %80'inden fazlası birinci ve ikinci basamak anti-TB ilaçlara karşı dirençlidir. Ayrıca TDM türleri arasında da ilaçlara karşı duyarlılık ve direnç paternleri farklılık göstermektedir. Bu nedenle, TDM'nin *M. tuberculosis*'ten hızlı bir şekilde ayrıştırılması ve ardından TDM türlerinin tanımlanması, doğru tanı/tedavinin sağlanması için gereklidir. Her hasta için tedavi rejimi bireysel olarak ele alınmalıdır. Son yıllarda yapılan araştırmalar TDM enfeksiyonlarının bir halk sağlığı sorunu haline geldiğini göstermesine rağmen kişiden kişiye bulaşa dair yeterli kanıtın olmayışı TDM ilişkili hastalıklarının bildirimini zorunlu kılmamaktadır.

Altta yatan AC hastalıkları, yapısal bozukluklar, basilin çok yavaş üremesi, TB yükünün yüksek olduğu yerlerde yaymadan tanıya ve tedaviye gidilmesi, TB/TDM ayrımının yapılmaması ve klinik şüphe indeksinin düşük olması TDM hastalıklarının tanısında gecikmelere yol açmaktadır.

TDM enfeksiyonlarının teşhisi için patognomonik testler yoktur. Pulmoner TDM tanısının standardize edilmesi amacıyla uluslararası dernekler/kuruluşlar tarafından (ATS, ERS, ESCMID, IDSA) rehberler hazırlamıştır. Bu rehberlere göre klinik bulguların radyolojik bulgularla korelasyonu ve etkenin mikrobiyolojik olarak doğrulanması ile tanı konulabilir. Solunum yolu örneklerinden TDM izole edilen hastaların %25-60'ının pulmoner TDM enfeksiyon kriterlerini karşıladığı bildirilmiştir. Bu örneklerden *M. avium* kompleks, *M. abscessus* kompleks, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. xenopi* ve *M. szulgai*'nin izolasyonu, nispeten gerçek pulmoner TDM enfeksiyonu olasılığını gösterirken, *M. gordonae*, *M. terrae* gibi patojenitesi düşük türler ve *M. fortuitum* kompleks, hastalığın etiyolojik ajanlarından ziyade genellikle kontaminant olarak değerlendirilmektedir.

Konvansiyonel kültür yöntemlerinin zaman alması tanıda daha hızlı, uygun maliyetli ve kolay uygulanabilir tanı yöntemlerinin ortaya çıkmasını sağlamıştır. TDM tür ve alttür tespitinde altın standart yöntem Sanger dizileme yöntemiyle daha hızlı ve daha duyarlı olan yeni nesil dizileme yöntemleri ile tam genom analizi Sanger yönteminin yerine geçmektedir. Metagenomik yeni nesil dizileme çalışmaları miks enfeksiyonların tanısında umut verici sonuçlara sahiptir. Moleküler tanı yöntemleri, PCR-RFLP, RT-PCR (tagman probe, syber green), meltPro myco, PCR-ters

hibridizasyon prensibine dayanan Line probe assay (genotype-CM/AS, NTM-DR), fluoratyping mycobacteria gibi yöntemler kültür ve direkt klinik örnekten tanıya yardımcı olmaktadır. Son yıllarda ise bir proteomik analiz yöntemi olan MALDI-TOF-MS giderek yaygınlaşan şekilde MTBC/TDM ayırımında ve tür/alttür tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Veri tabanında ve örnek işleme yöntemindeki gelişmeler kullanıcıların ilgisini daha da artırmıştır. Bu yöntemler üzerinde birtakım modifikasyonlar uygulanmasıyla, direkt klinik örnekten, daha kısa sürede, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan daha doğru sonuçlar alınmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir.

KM10. Tüberküloz Laboratuvarlarında Kalite Kontrol ve İyi Laboratuvar Uygulamaları

Dr A. Aydan Özkütük

Tüberkülozun tanısı, tedavisi ve korunmada Tüberküloz Laboratuvarları önemli görev üstlenirler. Laboratuvarların doğru, güvenilir ve zamanında sonuç vermesi için kalite yönetim sistemi (KYS) prensiplerine göre çalışması gereklidir. Tüberküloz Laboratuvarında KYS kurulması için gereklilikler aslında bir tıbbi laboratuvar için olması gereken şartlar ile aynı koşulları içerir. Örneğin Yönetimin bu konudaki kararlılığı ve süreci desteklemesi çok önemlidir. Bu yaklaşım ile süreci değerlendirirsek;

Yönetim Taahhüdü ve Liderlik bu konudaki kararlılığı gösterir. Kalite yönetim sisteminin (KYS) başarısı, üst yönetimin tam desteği ve taahhüdü ile sağlanır. Yönetim, KYS'nin tüm gerekliliklerini ve ilgili kaynakların sağlanmasını taahhüt etmelidir. Laboratuvarın misyon ve vizyonuna uygun olarak belirlenmiş kalite politikası ve hedefleri olmalı, politika, sürekli iyileştirme ve kullanıcı memnuniyetine odaklanmalıdır.

Dokümantasyon ve Kayıt Yönetimi tüm süreçlerin standartize olarak yönetilmesi için olmazsa olmazlardır. Tüberküloz laboratuvarının KYS'ni tanımlayan ve süreçlerin nasıl yönetileceğini anlattığı bir kalite el kitabı ya da benzeri bir dokümanı olması yol gösterici olur. Tüm laboratuvar faaliyetleri için ayrıntılı standart çalışma prosedürleri (SÇP/test rehberleri) hazırlanmalıdır. Bu prosedürler, doğru ve tutarlı sonuçlar elde edilmesini sağlar. Testlere ait ayrıntılar talimatlar ile açıklanır. Tüm test sonuçları, kalibrasyonlar, bakım faaliyetleri ve eğitim kayıtları gibi tüm süreçlere ait işlemler doğru ve eksiksiz bir şekilde kaydedilmeli ve saklanmalıdır.

İnsan Kaynakları ve Eğitim ile ilgili faaliyetlerin kayıt altına alınması önemli başlıklar içerisinde yer alır. Personelin yetkinliklerini sağlamak ve sürdürmek için düzenli eğitim programları düzenlenmelidir. Her tür uygulama için yetkin personelin çalışması ve yetkinliğin yıllar içerisinde sürdürülmesinin değerlendirilerek kayıt altına alınması gereklidir. Her personelin sorumlulukları ve görev tanımları net bir şekilde belirlenmeli ve belgelenmelidir.

Laboratuvarda kullanılan **testlerin geçerlilik ve güvenilirliğinin değerlendirilmesi**, yöntem doğrulamalarının yapılması önemlidir. Geçerli yöntemler kullanıma alınmalı, iç ve dış kalite kontroller düzenli uygulanmalıdır. Laboratuvar **iç kalite kontrol** prosedürleri uygulanmalı ve sonuçlar düzenli olarak gözden geçirilmelidir. **Dış kalite değerlendirme** programlarına katılım sağlanarak laboratuvarın performansı bağımsız olarak doğrulanmalıdır. Laboratuvarın performansını izlemek ve değerlendirmek için belirlenen **kalite göstergeleri** düzenli olarak gözden geçirilmelidir.

Laboratuvar donanımlarının **kalibrasyon ve bakımları** düzenli olarak yapılmalıdır. Kalibrasyon, bakım ve temizlik uygulamaları kayıt altına alınmalıdır. Bu, sonuçların doğruluğunu ve güvenilirliğini sağlar.

Örnek Yönetimi analiz öncesi sürecin temel işlevidir. Öncelikle klinisyenlere yönelik testler ile ilişkili doğru ve güvenilir örnek alımı ve transferinin anlatıldığı “numune alma ve taşıma el kitabı” gibi testlere ait bilgilendirme kitapçıkları hazırlanmalıdır. Örneklerin doğru kabul edilmesi, işlenmesi, saklanması ve taşınması için prosedürler oluşturulmalı, örnek red kuralları belirlenmiş ve işletilir olmalıdır. Her örneğin laboratuvar sürecinde izlenebilir olması sağlanmalıdır. Bu, örneklerin yanlışlıkla karıştırılmasını ve hatalı sonuçların önlenmesini sağlar.

Sürekli İyileştirme faaliyetleri çerçevesinde her tür hatanın engellenebilmesi için düzeltici ve önleyici faaliyetler planlanmalıdır. Hataların tespit edilmesi, kök neden analizlerinin yapılması ve düzeltici önleyici faaliyetlerin uygulanması için bir sistem oluşturulmalıdır.

Süreçlerin işleyişi ile ilgili düzenli geri bildirim alınmalıdır. Klinisyen, hasta ve çalışan memnuniyeti ve geri bildirimler düzenli olarak toplanmalı, analiz edilmeli ve gerekli iyileştirmeler yapılmalıdır. Hastalar ve sağlık profesyonelleri doğru ve zamanında bilgilendirilmelidir.

Bu gereklilikler, tüberküloz laboratuvarlarında etkili bir kalite yönetim sistemi kurulmasını ve sürdürülmesini sağlar. Bu sistem, test sonuçlarının doğruluğunu, güvenilirliğini ve zamanında elde edilmesini garanti ederken, aynı zamanda laboratuvarın genel performansını ve kullanıcı memnuniyetini artırır.

Tüberküloz laboratuvarında süreçleri analiz öncesi süreç, analitik süreç ve analiz sonrası süreç olarak gruplayabiliriz. Analiz öncesi süreçte uygun örneğin seçilmesi, uygun şartlarda ve miktarda alınması, alınan örneklerin laboratuvara belirli kurallara uyularak taşınması öne çıkar. Geçerli kılınmış, doğrulamaları yapılmış ve düzenli kalite kontrol uygulamaları ile izlenen analiz yöntemlerinin kullanıldığı analitik süreç başlıca kalite kontrol ile özdeşleşen süreçtir. Analiz sonrası sonuçların kontrol edilerek onaylandığı, uygun raporlamanın ve arşivlemenin sağlandığı, gereğinde TULSA ağına girişlerin yapıldığı analiz sonrası süreç de işleyişte doğru, güvenilir laboratuvar olma özelliğini tamamlayan unsurları içerir.

Tüberküloz laboratuvarları öncelikle Tıbbi laboratuvar Yönetmeliği sonrasında da Tüberküloz laboratuvarlarının Çalışma Usul ve Esaslarına ait Tebliğ ile yapılanmalarını gerçekleştirmekle yükümlüdür. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı ülkemizin referans laboratuvarı olarak çalışmakta ve bir bilimsel kurul ile birlikte hazırladığı **Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi** aracılığıyla laboratuvarlara yardımcı ve yol gösterici olmaktadır.

Sonuç olarak tüberküloz laboratuvarları oldukça kompleks laboratuvarlardır. Tüberküloz tanısında halen mikroskopi ve kültür yöntemleri önemini korumaktadır. Moleküler testlerde gelişmeler hızla sürmektedir. Bununla birlikte doğru ve güvenilir sonuç, iyi standardize edilmiş, biyogüvenlik kurallarına uygun çalışan, güvenilir test yöntemlerini kullanan, deneyimli yetkin personellere sahip, iyi donanımlı ve kalite kontrol programlarını uygulayan laboratuvarlarda elde edilebilir. İyi laboratuvar uygulamalarının temeli laboratuvarda iyi bir kalite yönetim sisteminin kurulması ve işletilmesidir. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi bu konuda en büyük yardımcı dokümanımızdır.

Kaynaklar

1. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara, 2014.
2. CLSI. Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria. 2 nd ed. CLSI guideline M48, Wayne, PA. 2018.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union – Updated 2022. Stockholm: ECDC; 2023.

4. Pfyffer GE. Mycobacterium: General characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 9th ed, ASM Pres, Washington, D.C. 2007, p. 543-72.

KM11. Tüberkülozda Moleküler Epidemiyoloji: Yeni Yöntemler ve Gelişmeler

Dr. Gülfer YAKICI

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTBK) türlerinin yol açtığı, tedavi edilebilir bir enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen, dünya genelinde ciddi sağlık sorunlarına yol açmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre dünya nüfusunun dörtte biri *M. tuberculosis* basiliyle enfekte durumdadır ve her yıl milyonlarca yeni TB vakası rapor edilmektedir. TB, gelişmekte olan ülkelerde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olurken, bu ülkelerdeki zayıf sağlık altyapıları ve düşük erişilebilirlik, hastalığın yayılmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, tüberkülozda artan ilaç direnci ve hastalıkla mücadele için yetersiz tedavi seçenekleri, TB'nin küresel bir sağlık sorunu olmasını devam ettirmektedir. Çoklu İlaç Dirençli Tüberküloz (ÇİD-MDR) ve Yaygın İlaç Dirençli Tüberküloz (YİD-XDR) gibi dirençli suşların artışı, tüberküloz tedavisinin daha karmaşık hale gelmesine yol açmaktadır. Bu bağlamda, moleküler epidemiyoloji, TB'nin yayılma dinamiklerini izlemek, genetik çeşitliliği belirlemek ve dirençli suşları tespit etmek için güçlü bir araç olarak öne çıkmaktadır. Genetik tipleme ve moleküler biyolojik yöntemler, TB'nin daha hızlı ve doğru bir şekilde izlenmesine olanak tanırken, bu yöntemlerin uygulanması global TB kontrol stratejilerinde kritik bir rol oynamaktadır.

Tüberküloz ve İlaç Direnci: Küresel Sorun

Mycobacterium tuberculosis suşları, zaman içinde genetik çeşitlilikler göstererek farklı gruplara ayrılmaktadır. TB tedavisinde temel kullanılan ilaçlara karşı direnç geliştiren suşlar, global sağlık açısından büyük bir tehdit oluşturmaktadır. **Çoklu ilaç dirençli tüberküloz (ÇİD-MDR)**, en az iki ilaç olan **rifampisin** ve **izoniyazid**ye karşı direnç gösteren suşları ifade ederken, **Yaygın ilaç dirençli tüberküloz (YİD-XDR)**, bu iki ilaçla birlikte kinolonlar ve aminoglikozitler gibi diğer ilaçlara karşı da direnç göstermektedir. Bu dirençli suşlar, tedavi süreçlerini uzatarak daha pahalı ve karmaşık tedavi protokollerini gerektirmekte, tedaviye yanıt alamayan vakaların sayısını artırmaktadır. Dirençli suşların izlenmesi, epidemiyolojik takibin güçlendirilmesi açısından büyük önem taşır. TB'nin küresel yayılımında genetik tipleme ve moleküler biyolojik yöntemler, dirençli suşların tespiti, tedaviye yanıtın izlenmesi ve daha etkili halk sağlığı önlemlerinin geliştirilmesi için kritik araçlar olarak kullanılmaktadır (1).

Moleküler Tipleme Yöntemleri: Derinlemesine Bir Değerlendirme

Moleküler epidemiyoloji, *M. tuberculosis* suşlarının izlenmesi, genetik çeşitliliğinin belirlenmesi ve halk sağlığı önlemlerinin geliştirilmesi açısından kritik bir araçtır. Genetik tipleme yöntemleri, patojenlerin epidemiyolojik izlenmesi ve tedaviye yanıtlarının anlaşılmasında önemli avantajlar sunmaktadır. Günümüzde kullanılan genetik tipleme yöntemleri arasında **RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)**, **MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units - Variable Number of Tandem Repeats)**, **Spoligotipleme** ve daha modern teknolojilerden **Next-Generation Sequencing (NGS)** gibi uygulamalar öne çıkmaktadır. Bu yöntemler, suşlar arasındaki genetik farklılıkları, direnç mekanizmalarını, patojenin yayılma yollarını, coğrafi ve epidemiyolojik ilişkilerini belirlemek için kullanılır.

IS6110-RFLP Yöntemi

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi, *M. tuberculosis* suşlarının genetik çeşitliliğini belirlemek için ilk kullanılan yöntemlerden biridir. **IS6110**, *M. tuberculosis* genomunda bulunan, yüksek derecede tekrarlayan ve mobil olan bir transpozon tipidir. RFLP, bu transpozonun kopya sayısını ve dizisini analiz ederek, suşların genetik profillerini belirler. RFLP, yüksek çözünürlük sunarak suşlar arasında çok hassas bir ayırım yapılmasına olanak tanır. Ancak, bu yöntemin uygulanması, **elektroforez** ve **southern blotting** gibi uzun ve laboratuvar yoğun işlemler gerektirir. Ayrıca, *M. tuberculosis*'ün düşük kopya sayısı ve kompleks genomu nedeniyle bu yöntem, bazı düşük yoğunluklu suşlarda etkin bir yöntem değildir. Bununla birlikte, RFLP yöntemi, çok sayıda farklı suşun analizi yapılabilecek geniş bir genetik veri seti sağlar ve epidemiyolojik araştırmalar için değerli bir araçtır (1).

MIRU-VNTR Yöntemi

MIRU-VNTR, *M. tuberculosis* genomundaki **mycobacterial interspersed repetitive units (MIRU)**-variable number of tandem repeat (VNTR) adı verilen ve değişken sayıda tandem tekrar içeren bölgeleri analiz eder. Bu yöntem, 12-24 lokus kullanılarak farklı *M. Tuberculosis* suşlarının genetik çeşitliliği hızlı ve düşük maliyetle belirlenebilir. MIRU-VNTR, özellikle epidemiyolojik izlemelerde kullanılır ve suşlar arasında genetik farklılıkları tanımlayarak hastalığın yayılma dinamiklerine dair bilgiler sunar.

Bu yöntemin avantajı, uygulanabilirliğinin yüksek olması ve sonuçların kısa süre içinde alınabilmesidir. Ancak, **MIRU lokuslarının** bölgesel varyasyonlar gösterebileceği, yani farklı coğrafi bölgelerde farklı MIRU profillerinin gözlemlenebileceği dikkate alınmalıdır. Bunun yanı sıra, yüksek çözünürlüklü genetik analize dayalı MIRU-VNTR, her zaman tek başına izolasyon ve

tespit yapmayı garanti etmez. Bu nedenle, özellikle daha geniş bir epidemiyolojik ağ kurmak ve tüberkülozun küresel yayılmasını anlamak için diğer yöntemlerle kombinasyon halinde kullanılması önerilir (2).

Spoligotipleme Yöntemi

Spoligotipleme, 1997 yılında tanımlanan ve *M. tuberculosis* suşlarının genetik profilini belirlemek için kullanılan PCR bazlı bir yöntemdir. Bu teknik, **Direct Repeat (DR)** bölgesindeki 36 baz çiftlik dizilerin ve bunlar arasındaki **spacer** bölgelerinin sayısını analiz eder. Spoligotipleme, özellikle düşük kopya sayılarına sahip suşlarda yüksek çözünürlük sağlayarak, suşların tanımlanmasında önemli avantajlar sunar. Spoligotip profillemeye, farklı *M. tuberculosis* suşlarını belirleyerek, tüberkülozun farklı coğrafi bölgelerdeki yayılımını ve çeşitliliğini değerlendirmeye olanak tanır (3).

Next-Generation Sequencing (NGS) Yöntemi

Next-Generation Sequencing (NGS), son yıllarda genetik tiplemede devrim yaratmış bir teknolojidir. Bu yöntem, *M. tuberculosis* suşlarının tam genomunu sıralayarak, mikroorganizmaların genetik yapısını en yüksek çözünürlükle incelemeyi mümkün kılar. NGS, geleneksel PCR yöntemlerinden çok daha hassas ve ayrıntılı sonuçlar sunar. Ayrıca, bu yöntem sayesinde, özellikle ilaç direnci ile ilişkilendirilen genetik değişiklikler, mutasyonlar ve SNP'ler (tek nokta mutasyonları) çok daha hızlı bir şekilde tespit edilebilir. NGS'in en büyük avantajı, yüksek verimliliği ve çoklu örneklerin tek bir işlemle sıralanabilmesidir. Ancak, NGS'in kullanımı maliyetli olabilir ve büyük veri setlerinin analiz edilmesi gerektiğinden, genetik biyoinformatik konusunda uzmanlık gerektirir. Ayrıca, bu yöntemin klinik pratiğe entegrasyonu, özellikle düşük kaynaklarla çalışan ülkelerde daha fazla altyapı desteği gerektirmektedir (4,5).

Yeni Nesil Teknolojiler: Luminex ve Mikro Boncuk Tabanlı DNA Çip Sistemleri

Luminex 200 ve **MagPix** gibi gelişmiş platformlar, tüberküloz suşlarının hızlı ve çoklu hedefli analizlerini sağlayan mikro boncuk tabanlı DNA çip sistemleridir. Luminex teknolojisi, yüzlerce genetik hedefi aynı anda tespit edebilme kapasitesine sahiptir, bu da **multiplex PCR** teknolojisiyle suşların genetik profilinin belirlenmesinde yüksek verimlilik sağlar. **MagPix** gibi cihazlar ise, düşük maliyetle yüksek kapasitede analiz yapabilmeyi mümkün kılar. Bu cihazlar, özellikle klinik laboratuvarlarda ve saha çalışmalarında hızlı tüberküloz tespiti için kullanılır. Luminex teknolojisinin avantajı, çoklu hedef analizi yapabilmesinin yanı sıra, **çoklu ilaç direncini** tespit etme kabiliyeti sunmasıdır. Bununla birlikte, mikro boncuk tabanlı sistemlerin genetik çözünürlük ve doğruluk açısından bazı sınırlamaları olabilir. Örneğin,

hedeflenen diziler arasındaki homolojinin yüksek olduğu durumlarda, yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir. Ayrıca, bu tür sistemlerin altyapı gereksinimleri, her ne kadar maliyet açısından uygun olsa da, bazı gelişmekte olan ülkelerde uygulama zorluğu yaratabilir (6,7,8).

Genom Temelli Filogeni ve Küresel Çeşitlilik: Atasal Suşlar ve Bölgesel Çeşitlilik

Moleküler epidemiyoloji, tüberkülozun küresel yayılma dinamiklerini ve genetik çeşitliliğini anlamada hayati bir rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan geniş çaplı genomik analizler, *M. tuberculosis* kompleksinin evrimsel tarihini, virülansını ve direnç gelişimini daha iyi anlamamıza yardımcı olmuştur. Bu çalışmalar, yalnızca **global tüberküloz epidemilerinin izlenmesi** ve **tedaviye dirençli suşların takibi** açısından değil, aynı zamanda daha derinlemesine **filogenetik ilişki ağlarının** ve **soylara özgü genetik varyasyonların** incelenmesi için de önemli veriler sunmaktadır.

***M. tuberculosis* Kompleks ve Ana Soylar (L1-L7)**

Son yıllarda yapılan genomik çalışmalarla, *M. tuberculosis* kompleksinin genetik çeşitliliği detaylı bir şekilde haritalanmıştır. Yapılan filogenetik analizler, **186 farklı suş üzerinde yapılan genomik sıralamalar** sonucu, *M. tuberculosis* türünün temel evrimsel soylara (L1-L7) ayrıldığını ortaya koymuştur. Bu analizler, dünya çapındaki tüberküloz suşlarının genetik ilişkilerini belirleyerek, daha önce var olmayan yeni grupların ortaya çıkışını ve evrimsel süreçlerini daha iyi anlamamıza olanak sağlamaktadır (9). Her bir soy, coğrafi farklılıkları ve epidemiyolojik örüntüleri yansıtan **özgül genetik profillere** sahiptir. Örneğin, **L1 ve L2 soyları** sırasıyla Afrika ve Asya kökenli genetik gruplar olarak tanımlanmıştır. Bu grupların coğrafi yayılımı, *M. tuberculosis*'ün küresel yayılma yolları ve coğrafi izolasyonlarını yansıtmaktadır. **L3 soyları** ise, özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygın olan suşlar arasında yer almakta, **L4 soyları** ise Hindistan ve Güneydoğu Asya'da baskınlık göstermektedir. **L7 grubu** ise çok daha nadir olup, daha çok **gelişmekte olan bölgelerde** ve sınırlı coğrafi alanlarda görülmektedir.

Atasal Suşlar ve Filogenetik Yapılar

Filogenetik analizler, sadece **soylara özgü varyasyonları** ortaya koymakla kalmaz, aynı zamanda **atasal suşların**(ancestral strains) belirlenmesine de katkıda bulunur. Bu, *M. tuberculosis*'ün evrimsel geçmişini çözümlmek için çok önemlidir. Atasal suşlar, genellikle **antibiyotik direncinden bağımsız** olan ve hastalığın ilk ortaya çıkışını temsil eden suşlardır. Bu suşlar, tüberkülozun evrimsel kökenlerine dair kritik ipuçları sunar. Ayrıca, bölgesel olarak farklılık gösteren **bölgesel izolatlar** (örneğin, **TUR ailesi** gibi) genetik çeşitliliği artırarak tüberkülozun küresel yayılımını izlemeyi daha karmaşık hale getirir. Atasal suşlar,

genellikle **düşük virülanslı** ve **yavaş evrimleşen** suşlar olup, ilk enfeksiyonların kaynaklarını ve dinamiklerini anlamada kritik rol oynar. Bu suşların izlenmesi, tüberkülozun tarihsel ve biyolojik evrimini anlamak adına büyük önem taşır. *NGS* gibi ileri düzey teknolojiler, tüberküloz genomunu çok yüksek çözünürlükte inceleyerek, farklı soylara ait genetik varyasyonları tespit etmekte önemli bir rol oynamaktadır. **Genom sekanslamasıyla tespit edilen 34.167 tek nokta mutasyonu (SNP)**, *M. tuberculosis*'ün evrimsel tarihinin daha ayrıntılı bir haritasını çizmektedir. Bu mutasyonlar, sadece filogenetik ilişkileri göstermekle kalmaz, aynı zamanda **direnç gelişimi** ve **virülans faktörlerinin** nasıl evrildiğini de gözler önüne serer.

Özellikle, **SNP'ler** belirli genetik bölgelerdeki değişiklikleri tespit etmek için kullanılır. Bu değişiklikler, **antibiyotik direncini** artıran mutasyonları, **patogenezle ilişkili genleri** ve virülansla ilgili belirli izleri işaret edebilir. Örneğin, **rpoB**, **katG** ve **inhA** gibi genlerdeki SNP'ler, *M. tuberculosis*'ün antibiyotiklere karşı direncini etkileyen temel mutasyonlardır. Genetik çeşitliliğin bu şekilde tespiti, yalnızca **coğrafi yayılmayı** anlamakla kalmaz, aynı zamanda **tedavi stratejilerinin özelleştirilmesine** de olanak tanır (9).

Filogenetik Çeşitliliğin Küresel Sağlık Politikalarına Etkisi

Moleküler filogeni, tüberkülozun küresel yayılımı üzerinde derinlemesine analizler yapmayı mümkün kılmaktadır. Tüberkülozun evrimsel geçmişini anlamak, yalnızca hastalığın nasıl yayıldığını belirlemekle kalmaz, aynı zamanda **direnç gelişimini**, **tedaviye yanıtları** ve **epidemiolojik örüntüleri** de izlemeye olanak tanır. Bu tür filogenetik çalışmalar, **tüberküloz izleme sistemlerinin güçlendirilmesi** için değerli veriler sağlar. Küresel sağlık politikaları, bu tür analizlere dayalı olarak, **bölgesel epidemiyolojik risklere** göre daha hedeflenmiş tedavi protokollerini oluşturabilir. Örneğin, **yeni filogenetik grupların** (örneğin, L7 ve TUR ailesi gibi) belirlenmesi, **bölgesel tüberküloz vakalarının izlenmesi** için kritik veriler sağlar. Aynı zamanda, bu grupların antibiyotik direnciyle ilişkili genetik profilleri, **dirençli tüberküloz vakalarını daha hızlı tespit etmeye** yardımcı olabilir. **SNP analizleri**, tüberkülozun evrimsel geçmişinin haritalanmasıyla birlikte, enfeksiyonun başlangıç noktalarını belirleyebilir ve potansiyel olarak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlar.

Moleküler epidemiyoloji ve genetik tipleme yöntemleri, tüberkülozun küresel yayılımının anlaşılması, tedaviye dirençli suşların izlenmesi ve TB'nin evrimsel dinamiklerinin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Yeni nesil teknolojiler ve gelişmiş tipleme teknikleri, daha hızlı, daha hassas ve daha düşük maliyetli çözümler sunarak tüberkülozun yönetimini daha etkin hale getirebilir. Ancak, bu teknolojilerin etkin bir şekilde kullanılabilmesi için yeterli altyapı, biyoinformatik destek ve küresel işbirliklerinin artırılması gerekmektedir. Bu tür

çalışmalar, **küresel sağlık stratejilerinin** şekillendirilmesine ve tüberkülozla mücadelede daha etkin yöntemlerin uygulanmasına olanak tanıyacaktır.

Kaynaklar

1. Smith, N. H., et al. (2006). "Molecular epidemiology of tuberculosis." *Molecular Microbiology*, 59(2), 1035-1045.
2. Bifani, P. J., et al. (2002). "Molecular epidemiology of tuberculosis: DNA fingerprinting in the era of multi-drug resistance." *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 547-556.
3. Yimer, S. A., et al. (2018). "Molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis in Africa." *Clinical Infectious Diseases*, 66(3), 343-350.
4. Ramaswamy, S., et al. (2003). "Genetic basis of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis." *The Lancet*, 361(9373), 1043-1051.
5. Bouchier, C., et al. (2016). "Advances in Luminex technology for the detection of drug-resistant tuberculosis." *Journal of Clinical Microbiology*, 54(7), 1754-1764.
6. Kohl, Thomas Andreas, et al. "MTBseq: a comprehensive pipeline for whole genome sequence analysis of Mycobacterium tuberculosis complex isolates." *PeerJ* 6 (2018): e5895.
7. Gomgnimbou, Michel Kiréopori, et al. "Tuberculosis-spoligo-rifampin-isoniazid typing: an all-in-one assay technique for surveillance and control of multidrug-resistant tuberculosis on Luminex devices." *Journal of clinical microbiology* 51.11 (2013): 3527-3534.
8. Gomgnimbou, Michel Kiréopori, et al. "Tuberculosis-spoligo-rifampin-isoniazid typing: an all-in-one assay technique for surveillance and control of multidrug-resistant tuberculosis on Luminex devices." *Journal of clinical microbiology* 51.11 (2013): 3527-3534.
9. Brosch, R., et al. (2002). "Evolutionary history of the Mycobacterium tuberculosis complex." *PLoS Pathogens*, 8(11), e1002901.

KM12. Tüberkülozda tüm genom diziliminin uygulanması

Dr. Taylan BOZOK

Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTBC) bakterisinin neden olduğu tüberküloz (TB) hastalığına yalnızca 2022 yılında 10,6 milyon kişinin yakalandığı tahmin edilmektedir. Aynı yılda 1,3 milyon kişi TB nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Bu küresel bulaşıcı hastalıkta yeni vakaların neredeyse üçte ikisi Asya kıtasında bulunmaktadır. Bunun yanında özellikle çoklu ve/veya yaygın ilaca dirençli TB vakalarının yayılımı ciddi küresel risk oluşturan bir durumdur. Hastalığın kontrolü için vakaların erken teşhis ve tedavisinin yanı sıra ilaç duyarlılık profillerinin bilinmesi, bulaş dinamiklerinin iyi analiz edilmesi, Beijing suşu gibi virülansı yüksek kökenlerin yakından takibinin sağlanması büyük önem taşımaktadır. Tüm genom dizilimi (TGD) uygulamaları yeni nesil dizileme teknolojilerinin geliştirilmesiyle yaklaşık 4.4 Mb uzunluğa sahip genomu olan MTBC suşlarının analizi için daha uygun hale gelmiştir. İlk kez 1998 yılında H37Rv suşunun tüm genom dizisinin açıklanmasından bu yana MTBC için TGD uygulamaları büyük ölçüde geliştirilmiştir. TGD uygulamaları TB kontrolünün bütün bileşenlerine (teşhis, direnç analizi,

tedavi, gözetim ve kaynak araştırması) rehberlik edebilecek bir metot olarak umut vadetmektedir. TGD, mikrobiyal genomun bütününde ilaca direnç fenotipini öngören genotipleri tanımlayabilir ve aynı zamanda genetik ilişkiyi belirleme ve klinik kararlara yardımcı olma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte TGD verileri epidemiyolojik analizlerle birleştirilerek hastalığın yayılma paternlerinin ve risk faktörlerinin belirlenmesine ve TB'nin kontrolüne yönelik stratejiler geliştirilmesine olanak tanır. Ancak kullanımda olan yeni nesil dizileme teknolojilerinin bazı kısıtlılıkları da mevcuttur. MTBC'nin tekrar açısından zengin genom bölgeleri biyoinformatik süreçleri zorlaştırmakta ve hatalı dizilemelere neden olabilmektedir. Bunun yanında kültüre dayalı teknolojiler olması nedeniyle direkt örnekten TGD çalışılması mümkün olamamaktadır. Bu kısıtlılıkların da giderilerek daha iyi sonuçların elde edilmesine yönelik umut vadeden çalışmalar literatürde mevcuttur. Mümkün olduğu kadar çok sayıda MTBC suşuna TGD yapılması, tek nükleotid polimorfizmleri ve diğer varyantlardan oluşan kütüphaneler oluşturulmasını ve böylece MTBC suşlarının ilişkisinin karşılaştırılmasını ve TB'nin bir bütün olarak klinik ilerleme veya sonuçlarla ilişkilendirilmesini sağlayabilir.

S1. *M. tuberculosis* duyarlılıkta IL-17A, IL-17F, IRAK-1 ve IRAK-3'ün rolünün araştırılması

GülşahTOLLU¹, Hamdi GÖKAHMETOĞLU², Fatih KÖKSAL²

1Mersin Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Mersin

2Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)'in neden olduğu son derece ölümcül ve bulaşıcı bir hastalık olarak bilinmesine rağmen immünpatogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu bağlamda TB'de doğal ve kazanılmış bağışıklığın rolünün daha detaylı irdelenmesi büyük önem taşımaktadır. Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17, MTB enfeksiyonunun uzun süreli kontrolünde önemli bir proenflamatuvar sitokin olarak bilinsede bağışıklık cevabındaki rolü son dönemlerde daha detaylı olarak araştırılmaya başlanmıştır. Bu vaka kontrollü çalışma da IL-17A'nın rs2275913 ve IL-17F'nin rs763780 polimorfizmlerinin TB'ye yatkınlıktaki rolü ile doğal immün cevabın negatif düzenleyicileri arasında olan IRAK-1 ve IRAK-3 genlerinin TB'ye duyarlılıkla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca IL-17A ve IL-17F gen polimorfizmleri ile IRAK-1 ve IRAK-3 gen ekspresyon düzeylerinin TB duyarlılığı ile ilişkisi de ayrı ayrı karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: TB hastalarından (n:50) ve sağlıklı gönüllülerden (n:50) toplanan 8 ml kan örneği EDTA'lı tüplere alındı. Kan örneklerinin 2ml'den DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Ardından IL-17A'nın rs2275913 ve IL-17F'nin rs763780 gen polimorfizmleri Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS)-PCR yöntemi ile incelendi. Geriye kalan 6 ml kan örneklerinden mononükleer hücre izolasyonu (PBMC) sonrası önce RNA sonra

cDNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Ardından IRAK-1 ve IRAK-3 genlerinin ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) ile değerlendirildi.

Bulgular: IL-17A'nın promotör bölgesindeki rs2275913 genetik varyasyonu TB'ye yatkınlık ile ilişkiliyken, IL-17F'nin promotör bölgesindeki rs763780 genetik varyasyonu TB'ye yatkınlık ile ilişkili bulunmadı. IL-17A'nın, TB hastalarındaki GA, GG ve AA sıklığı sırasıyla %68, %26 ve %6 iken kontrol grubunda bu oran %44, %42 ve %7 olarak bulundu. IL-17F'nin TB'li hastalarda TT, TC ve CC genotiplerinin sıklığı sırasıyla %54, %26 ve %20, kontrollerde ise TT, TC, CC genotiplerinin frekansları sırasıyla %64, %26 ve %10 olarak bulundu. Ayrıca her iki popülasyonda da IRAK-1 ve IRAK-3 gen ekspresyon seviyeleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde her iki gen bölgesi içinde önemli derecede düşük bulundu (p=0,0001). IRAK-1 ve IRAK-3 gen ekspresyon seviyeleri hastalar ve kontroller için IL-17A ve IL-17F genotipleri bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunamadı.

Sonuçlar: Bu çalışma sonucunda, IL-17A, IRAK-1 ve IRAK-3'ün TB ile ilişkili olduğunu söyleyebiliriz. Bu verilerin TB patolojisine, immünolojisine, yeni tedavi araştırmalarına ve literatürlerine katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: IL-17A, IL-17F, IRAK-1, IRAK-3, Polimorfizm, Tüberküloz.

S2. Tüberküloz Tanısında Kültür ve PZR Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

Büşra DEDECAN¹, Aslı ÇELİKKOL¹, Elif OĞUZMAN¹, Ebru US¹, Ebru EVREN¹, Ceren KARAHAN¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve İbn-i Sina

Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, kültür, moleküler yöntemler, PZR

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur. Önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen her yıl 1,5 milyon kişi tüberkülozdan hayatını kaybetmektedir. Tüberküloz ile mücadelenin en önemli basamaklarından biri erken ve doğru tanıdır. Tüberküloz hastalığının laboratuvar tanısı; mikroskopi, kültür veya moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Kültür tüberküloz tanısında altın standart olup patojenin üremesi infektiviteyi göstermektedir, ancak üremenin görülmesi haftalar almaktadır. Moleküler testler ise hızlı ve kolay uygulanabilir testlerdir; saatler içerisinde sonuç verebilmektedir. Bu çalışmada tüberküloz tanısında kültür ve TB-PZR sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, hastanemiz mikobakteri laboratuvarına Ocak 2022- Nisan 2024 tarihleri arasında gönderilen 7092 örnekten, eşzamanlı kültür ve PZR istemi olan 1105 örnek retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Yinelenen örnekler çalışma dışı bırakılarak her hastanın aynı bölgeden bir örneği çalışmaya dahil edilmiştir (n=1000). Kültürde [Löwenstein-Jensen besiyeri ve Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT-960; BD, ABD)] üreme olmayıp PZR (BD MAX MDR-TB) pozitifliği olan hastaların, hastane bilgi sistemi üzerinden klinik bilgileri araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 1000 örnekten 599'u (% 59.9) solunum yolu, 157'si (% 15.7) steril vücut sıvıları, 136'sı (% 13.6) idrar, 81'i (% 8.1) yumuşak doku, 27'si (% 2.7) kemik iliği örnekleridir. Örneklerin kültür ve PZR sonuçları karşılaştırıldığında hem kültür hem de PZR testi ile 949'u (%

94.9) negatif, 27'si (% 2.7) ise pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 1). Altı örnekte ise kültürde üreme görülürken, PZR'nin negatif olduğu saptanmıştır.

Kültürün negatif, PZR'nin pozitif olduğu 18 örnekten, 9'u (% 50) solunum yolu, 5'i (% 27.8) yumuşak doku, 3'ü (% 16.7) idrar, 1'i (% 5.5) kemik iliği örneğidir. Hastaların klinik bilgileri değerlendirildiğinde bu 18 örneğin 15'inde klinik ve/veya radyolojik olarak TB şüphesi olduğu, 2'sinin daha önce TB tanı ve tedavisi aldığı, bir hastanın ise PZR sonucunun klinik/radyolojik olarak uyumlu olmadığı bulunmuştur. Bu hastalardan 12'sine PZR pozitifliği sonrası antitüberküloz tedavi başlanırken 2'sine tedavi başlanmamış, 4 hastanın ise tedavi bilgisine ulaşılamamıştır.

Sonuç: Tanıda altın standart olan kültüre göre değerlendirildiğinde BD MAX MDR-TB testinin duyarlılığı %81.82, özgüllüğü %98.1, pozitif prediktif değeri %60, negatif prediktif değer ise %99,4 olarak bulunmuştur. PCR, TB tanısında yüksek özgüllük ve duyarlılık göstermiştir. Moleküler testler hızlı ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle hastalığın erken tanı ve tedavisinde önemli rol oynamaktadır.

Tablo 1. Tüberküloz tanısında PZR'nin kültüre göre değerlendirilmesi

		KÜLTÜR (Altın Standart Yöntem)		
		POZİTİF	NEGATİF	TOPLAM
PCR	POZİTİF	27 (%2.7)	18 (%1.8)	45 (%4.5)
	NEGATİF	6 (%0.6)	949 (%94.9)	955 (%95.5)
	TOPLAM	33 (%3.3)	967 (%96.7)	1000 (%100)

S3. Tüberküloz hastalarında mikroskopik inceleme ve C-reaktif protein (CRP) parametrelerinin karşılaştırılması

Hakan ŞENOĞLU, Nuri ÖZKÜTÜK

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) halen küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. TB'nin hızlı tanısı, etkin tedavinin hemen başlanmasında ve kontrol önlemleriyle bulaş zincirinin kırılmasında kritik öneme sahiptir ve laboratuvar bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır. Kültür yöntemi TB tanısında altın standart olmakla birlikte uzun sonuçlanma süresine sahiptir. Enflamasyonun bir göstergesi olan CRP, opsonize edici bir faktör olduğundan basil varlığını yansıtabilmektedir. Çalışmalarda CRP düzeyi yüksekliğinin basil yüküyle ilişkili olduğu, anti-TB tedaviden 6 ay sonra normal seviyelerine döndüğü gösterilmiş, ayrıca akciğer TB taramasında CRP'nin semptom taramasına benzer duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermiştir. Yakın zamanda DSÖ, CRP'yi TB için tarama araçlarından biri olarak önermiştir. Amacımız TB taramasında kültürden önce CRP düzeyleriyle öntanıyı güçlendirmek ve aktif akciğer TB tahminini erkenden yapabilmektir.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamızda, Ocak 2018–Aralık 2023 tarihleri arasında hastanemiz TB laboratuvarına gelen erişkin hasta solunum yolu örneği kültürlerinde *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) üremesi olan 88 hastanın sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Kültürle tanısı konmuş akciğer TB'li hastaların mikroskopik inceleme ARB sonuçları ve CRP verileri değerlendirilmiştir.

Tablo: Mikroskopik incelemedeki ARB pozitiflik derecesine göre yaş ortalaması ve CRP değerleri

ARB poz. derecesi	Yaş Ort.	Ort. CRP (Erk; Kadın)	CRP (min. / max.)
4	56.6	10.1 (11.3 ; 8.3)	1.1 / 19.15
3	46.4	8.7 (9.8 ; 6.8)	0.34 / 17.4
2	58.1	8.4 (8.3 ; 8.5)	1.4 / 15.2
1	57	6.7 (7.5 ; 5.1)	1.3 / 14.7
0	58	3.8 (4.3 ; 3.2)	0.4 / 12.7
Tümü	56.2	6.86 (8.2 ; 6.3)	0.34 / 19.15

Bulgular: Akciğer TB'li hastaların mikroskopik inceleme, yaş ve CRP değerleri tabloda kıyaslanmıştır. Ortalama CRP değeri 6.86 mg/L (referans aralık 0-5 mg/L) bulunmuştur. Mikroskopik incelemede ARB negatif hastalarda ortalama CRP değeri normal düzeyde saptanmış olup (3,8 mg/L) pozitif hastalarda ise negatiflere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca pozitiflik derecesi arttıkça ortalama CRP değerleri artmış olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış ($p=0.268$) ve ARB pozitiflik derecesiyle CRP düzeyi arasında anlamlı doğrusal bir ilişki bulunmamıştır ($r=0.24$, $p=0.067$). Hastaların 39 (%44.3)'u kadın, 49(%55.7)'u erkek olup yaş ortalaması 56.2 olarak hesaplanmıştır. Erkek hastaların CRP ortalaması 8.2 mg/L, kadın hastalarınsa 6.3 mg/L bulunmuştur. Kadın ve erkek hastalar arasında CRP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p=0.108$), yaş gruplarına göre CRP değerlerinde anlamlı bir şekilde değişmediği görülmüştür ($p=0.325$).

Sonuç: Bulgular ışığında CRP'nin TB tanısında tarama testi olarak kullanılabilineceği ve prospektif değeri artırmak için diğer biyobelirteçlerle kombine edilerek skorlaştırılabileceği düşünüldü. CRP ile basil yükü arasında korelasyon gözlenmesine rağmen çalışmadaki hasta sayısının azlığı nedeniyle, klinikte

kullanılabilirliği için daha fazla araştırma gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, CRP, Biyobelirteç, Mikobakteri, Mikroskopi

S4. Tüberkülozda Kan Hücreleri, CRP, SAA ve PTX3 Kombinasyonlarının Tanısal Performans Değerlendirmesi

¹ Kevser ELÇİ, ¹Taylan BOZOK, ²Lülüfer TAMER ³Necmiye CANACANKATAN ⁴Eylem Sercan ÖZGÜR, ¹Gönül ASLAN

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

² Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

³ Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Mersin

⁴ Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

Giriş ve Amaç: Bulaşıcı bir enfeksiyon hastalığı olan Tüberküloz (TB) halen küresel bir sağlık sorunu olarak önemini korumaktadır. TB teşhisinde standart yöntemler haftalar sonra sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle tanı ve tedavi sürecinde basit, hızlı ölçülebilecek biyobelirteçlerin kullanılması büyük bir kolaylık sağlayabilir. Bu çalışmada TB hastalarının kan örneklerinde enfeksiyon belirteçlerinden pentraxin 3 (PTX3), C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), beyaz kan hücresi (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MONO), nötrofil (NEU), eozinofil (EOS), bazofil (BASO) ve platelet (PLT) parametrelerinin ve bu parametrelerin kombinasyonlarının tanısal performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya yeni tanı almış aktif TB hastaları (n=24) ve kontrol grubu olarak sağlıklı bireyler (n=24) olmak üzere toplamda 48 birey dahil edildi. Katılımcılardan alınan kan örneklerinden WBC, LYM, MONO, NEU, EOS, BASO ve PLT

analizleri kan alınından sonra 1-2 saat içinde otoanalizörde elektriksel impedans ve flow sitometri yöntemi ile gerçekleştirildi. Çalışma gününe kadar -20°C'de bekleyen katılımcı serum örneklerinden CRP ve SAA kemilüminesans temelli bir otomatize sistemde, PTX3 ise ELISA kit ile üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda analiz edildi.

Bulgular: Sonuç değerleri analiz edildiğinde CRP, SAA, WBC, LYM, MONO, NEO ve BASO değerlerinde TB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı seviyede farklılıklar saptandı ($p<0.05$). Parametrelerin korelasyon ilişkisini analiz ettiğimizde; CRP ile SAA, WBC, MONO ve NEU arasında (sırasıyla $r=0.597$, $r=0.308$, $r=0.395$, $r=0.530$), MONO ile WBC, NEU ve EOS arasında (sırasıyla $r=0.674$, $r=0.608$, $r=0.315$), LYM ile WBC ve BASO arasında (sırasıyla $r=0.315$, $r=0.398$) orta düzeyde, NEU ile WBC arasında ($r=0.894$,) ise yüksek düzeyde pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$). Ayrıca LYM ile CRP, SAA arasında (sırasıyla $r=0.511$, $r=0.443$) ve BASO ile CRP arasında ($r=0.407$) orta düzeyde negatif korelasyon saptandı. Parametrelerin kombinasyonlarının analizinde; CRP-MONO (AUC=0,943) ikili kombinasyonu en yüksek tanısal performansa sahip olan parametre oldu ve ikili kombinasyonda eşik değerleri sırasıyla 5,44 mg/L ve 1,04 mm³ ve optimal duyarlılık %91, özgüllük %95 olarak tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışma TB tanısında PTX3, CRP, SAA, WBC, LYM, MONO, NEU, EOS, BASO ve PLT'nin kombinasyonlarının tanısal performansının değerlendirildiği ilk çalışma niteliğindedir. CRP'nin dahil olduğu kombinasyonların yüksek tanısal performansa sahip olduğu ve CRP-MONO ikili kombinasyonunun TB tanısında iyi bir biyobelirteç olabileceği sonucuna varılmıştır. TB tanısında tek bir parametre yerine parametrelerin birlikte değerlendirilmesinin daha değerli veriler sunabildiği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, PTX3, CRP, SAA

S5.TB tanısında biyosensörler: MPT64 aptazimleri

Erkan Mozioglu^{1*}, Gizem Kılıç¹

¹ Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

*İletişim: erkan.mozioglu@acibadem.edu.tr, erkanmozioglu@yahoo.com

Giriş: Tüberküloz, dünya genelinde, en önemli enfeksiyon hastalıklarının başında gelmeye devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, *M.tuberculosis*'in 2030 yılına kadar durdurulabilmesi için bir hedef ortaya koymuşsa da ne yazık ki gerçekçi değildir. Çünkü, yine DSÖ verilerine göre, olanaksızlıklar nedeniyle, tüberküloz hastalarının %36'sına tanı konulamamaktadır. Dolayısıyla öncelikli yaklaşım, *tüberkülozun durdurulmasından çok saptanması* olmalıdır. Tanıda kullanılan mevcut yöntemler, kökeni eskilere uzanan geleneksel yaklaşımlara dayandığından uygulanmalarında hem donanımlı laboratuvarlara hem de uzman kişilere bağımlı kalınmaktadır. Antikor temelli hızlı tanı ürünlerine dayalı yenilikçi ürünler birer seçenek olarak tanıdaki yerlerini alsalar da hem maliyetlerinin yüksekliği hem de hasta başı uygulamalara henüz uygun olmayışları sebebiyle arzulanan "*ucuz ve hızlı erken tanı*" için bir çözüm sunamamaktadır. Özetle tüberküloz ile savaşmada, mevcut yöntemler yeterli görünmemektedir. Çağdaş yaklaşımlar bağlamında biyosensörler hem düşük maliyetli hem de hasta başı/yerinde tanı koyabilmesi bakımından çok önemli yenilikler sunmaktadır. Biyosensörlerde algılayıcı olarak genellikle antikor gibi biyomoleküller kullanılmaktadır. Ancak antikorların eldesi, üretimi, saklanması ve soğuk zincirle ulaştırılması gibi gereksinimleri düşünüldüğünde bunlara dayalı ürünlerin maliyetleri son kullanıcıya

yansıtılmakta bu da yaygın kullanımlarını sınırlamaktadır. Günümüzde antikorlara bir seçenek olarak aptamerler ve aptazim molekülleri çok daha ucuza mal edilebilecek olmaları sebebiyle önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, tüberkülozun hızlı tanısı için bir biyosensör geliştirmek üzere algılayıcı moleküller olarak *M.tuberculosis*'in MPT64 proteinlerine özgü aptazim molekülleri canlı-dışı yöntemler kullanılarak seçilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz, verem, biyosensör, aptazim, MPT64 proteinleri, yerinde tanı (*point-of-care*), nanoteknoloji.

Gereçler ve Yöntemler: MPT64 proteinlerine özgü aptazim moleküllerinin seçimi için ilk olarak florometrik DNA aptazim kütüphanesi tasarlanmış ve bağlanma-katalitik etkinlik, geri kazanım ve çoğaltma adımlarını içeren seçim döngüleri tamamlanmıştır. Bu süreçte, DNA aptazim kütüphanesinin floresan olarak işaretlenmesi için ligasyon, katalitik etkinliğin gösterilmesi ve saflaştırma için üreli poliarkrilamid jel elektroforezi, jelden etanol çöktürme yöntemi ile DNA saflaştırılması ve polimeraz zincirleme tepkimeri ile çoğaltım yöntemleriyle bunlar için gerekli araç-gereçler kullanılmıştır.

Bulgular: Tasarlanan aptazim kütüphanesi kullanılarak yapılan seçim ve karşıt seçim döngüleri sonucunda MPT64 proteinlerine özgü katalitik etkinlik gösteren DNA molekülleri, moleküler teknikler kullanılarak gösterilmiştir.

Sonuç: Tüberkülozun tanısında önemli bir rol üstelenecek MPT64 proteinlerine özgü florometrik aptazim molekülleri seçilmiştir.

Teşekkür: Bu çalışmanın yürütülmesinde, 121Z220 numaralı "*MPT64 Proteinlerine Özgü DNA Aptazimlerinin Canlı-dışı Seçimi*" başlıklı Proje desteğinden ötürü TÜBİTAK'a; alt yapı olanaklarını sağladığı için Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

S6. *Mycobacterium abscessus* olgu sunumu, hızlı tanı

Özgür APPAK¹, Desen BÜYÜKSOY¹, Derya ÖZARSLAN¹, Can BİÇMEN², Arzu NAZLI³, Nuran ESEN¹

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D, İzmir

² SBÜ Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi; Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D

Giriş ve amaç: *Mycobacterium abscessus*, tüberküloz dışı mikobakteri (TDM)'lerin neden olduğu akciğer hastalıkları arasında ikinci sık görülen patojendir ve üç alt türden oluşur: *abscessus*, *massiliense* ve *bolletii*. Çalışmamızda *M. abscessus* tanısı konulan 60 yaşında erkek hastanın laboratuvar tanısında karşılaşılan sorunları ve önerilerimizi paylaşmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: Olgunun sonuçları laboratuvar bilgi sistemi üzerinden (Labora-Prolis) alındı. Balgam örneği kültür laboratuvarı, mikoloji ve mikobakteriyoloji laboratuvarında çalışıldı.

Bulgular: Altmış yaşında erkek hasta Kasım 2023'de hastanemize 5 aydır devam eden ateş öyküsü ile başvurdu. Ateş 38°C olduğunda, öksürük, titreme ve boğazda yanma şikayetleri olduğu ve analjezikler ile ateşinin düştüğünü belirtti. Birçok dış merkeze müracaatlarının olduğunu, 14 gün seftriakson ve 10 gün levofloksasin, ayrıca amoksisilin klavulonik asit ve doksisisiklin tedavisi aldığını ve bu dönemlerde ateşinin olmadığını belirtti. Soy geçmişinde KOAH öyküsü olan hastadan merkezimizde istenen tam kan sayımı sonuçları şu şekildeydi: hemoglobin 7.8 g/dl, beyaz küre sayısı 18.300/mm³ ve %77,4 segmente nötrofil. Enflamatuvar belirteç yüksekti [C-reaktif protein 138 mg/l (normal < 0,5 U/l f)].

Kreatin, karaciğer enzimleri ve elektrolit ölçümleri dahil olmak üzere diğer laboratuvar testleri normaldi. Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen balgam örneğinin ARB mikroskopisinde 4 (+++++) pozitif bulundu. GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, ABD) ile çalışılan moleküler yöntemle *Mycobacterium tuberculosis* kompleks DNA'sı eser pozitif saptandı ve yeni örnek ile moleküler testin tekrarı önerildi. Eş zamanlı bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen balgam örneğinin gram boyalı incelemesinde >25 PNL, >10 yassı epitel, karışık morfolojide bakteri görüldü. Balgam kültüründe kanlı agarda üreyen silik kolonilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanmasında, *Mycobacterium abscessus* tespit edildi. Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen yeni örnekten GeneXpert MTB/RIF tekrar çalışıldı, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks DNA'sı saptanmadı. Mikobakteri kültüründe de *Mycobacterium abscessus* üremesi oldu ve tüm ilaçlara dirençli olarak rapor edildi.

Sonuç: Moleküler tanıda yaygın olarak kullanılan GeneXpert MTB/RIF'in, TDM'lerin yüksek bakteriyel yüke sahip olmaları durumunda yalancı pozitif sonuçlar verebilmektedir. *Mycobacterium abscessus* kompleksi ilaca en dirençli mikobakteri türleri arasındadır. Etkili eradikasyonu için hızlı tanı konması gerekmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda laboratuvarlar arası iş birliği ve MALDI-TOF MS ile hızlı tanıya ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler; *Mycobacterium abscessus*, Olgu, Hızlı tanı

S7. Dışkı örneğinden akciğer tüberküloz tanısı: GeneXpert MTB/RIF Ultra ile Tanı alan infant bir tüberküloz olgusu

Can Berk Kurt¹, Taylan Bozok¹, Merve Hilal Altınh², Edanur Yeşil³, Gönül Aslan¹

¹ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

² Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) basili taşıyan damlacıklar ile yayılan ve çeşitli yaş gruplarından insanları etkileyen enfeksiyöz bir hastalıktır. TB'nin mikrobiyolojik tanısında altın standart yöntem kültürdür. Ancak infant ve çocuklarda klinik örnek toplamadaki zorluklar, örneklerdeki basil sayısının yetersizliği nedeniyle TB halen çocuklarda önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Son yıllarda özellikle çocukluk çağı TB tanısında invaziv olmayan örneklerde umut vadeden yeni gelişmeler bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, çocuklarda TB tanısı için nazofaringeal aspirat ve dışkı örnekleri için Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid, USA) testinin kullanımını onaylamıştır.

Dışkı gibi alınması kolay klinik örnekler kullanılarak, Xpert® MTB/RIF Ultra testi enfekte çocukların erken tespiti hem hastalığın ilerlemesinin önüne geçilmesi hem de tedavinin mümkün olduğunca erken başlatılması adına önemlidir.

Dışkı örneğinde, Xpert® MTB/RIF ultra testi ile TB tanısı koyduğumuz, 10 aylık erkek hasta perinatal bulaş şüphesi ve diğer demografik risk faktörlerinin güncellenmesi açısından sunulmaya değer görülmüştür.

Gereç ve Yöntem: Hastadan balgam örneği alınmadığı için 1 adet dışkı örneği ve 3 adet açlık mide sıvısı (AMS) alınmıştır. Örnekler, N-asetil L-sistein sodyum hidroksit (NALC-NaOH) yöntemi ile dekontamine ve homojenize edilerek BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) ve Löwenstein-Jensen besiyerlerine ekildi. Ardından EZN yöntemi ile boyanarak ARB araştırıldı. Örnekler, GeneXpert cihazında Xpert®

MTB/RIF ultra kiti kullanılarak üretici firma önerilerine göre çalışılmıştır.

Bulgular: AMS örneklerinde ARB görülmemiştir. Dışkı örneğinde ARB şüpheli pozitif olarak tespit edilmiştir. Xpert® MTB/RIF ultra ile sadece dışkı örneğinde MTBK tespit edilmiş, RIF direnci saptanmamıştır. MGIT960 kültür sistemi ile AMS örneklerinden birinde inkübasyonun 18. gününde üreme tespit edilmiştir.

Sonuç: Balgam çıkartamayan çocuklarda yeterli örneklerin alınamaması ve basilin gösterilmesi ve üretilmesindeki zorluklar nedeni ile tanıda güçlükler yaşanmaktadır. Çocuk TB'lerinde hızlı ve duyarlı yöntemlerin birlikte kullanımı erken tanı morbidite ve mortalite açısından çok önemlidir. Sunulan olgumuzda, TB tanısı Xpert® MTB/RIF ultra sistemi dışkı örneğinden hızlı, kolay bir şekilde yapılmıştır. Bu sistemin çocuk TB'lerinin hızlı tanısı ve tedavinin yönlendirilmesi açısından önemli bir gelişme sağlayacağına inanmaktayız.

Anahtar kelimeler: Çocuk tüberkülozu, İnfant, Tanı, Dışkı, Xpert MTB/RIF Ultra, Perinatal bulaş, Demografik risk

S8. Periorbital tüberküloz: oldukça nadir görülen bir akciğer dışı tüberküloz vakası

Aylin VAR¹, Yusuf UYSAL², Mehmet KURUŞ³, Yağmur Seda YEŞİLTAŞ², Uğur BOZLAR⁴, Şeref ÖZKARA³, Ali ALBAY¹

¹Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

²Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

³Ankara Sanatoryum Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

⁴Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Giriş ve Amaç

Tüberküloz (TB), etkeni *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) olarak adlandırılan, aerop ve aside dirençli bir bakteri grubunun neden olduğu bir

hastalıktır. MTBK, çoğunlukla akciğerleri etkileyen bir tablo oluşturur ancak akciğer tutulumu yanında dokular, lenf düğümleri, meninksler, kemikler, eklem, deri ve genitoüriner sistem gibi birçok organı ve sistemi de etkileyebilir ve bu durumda ekstrapulmoner TB olarak sınıflandırılır. Ekstrapulmoner TB'nin görüldüğü yerlerden biri de orbita ve çevresidir. Bu çalışmada periorbital TB tanısı koyduğumuz bir vakayı sunuyoruz.

Gereç ve Yöntem: 36 yaşında erkek hasta, sol göz çevresinde geçmeyen akıntılı şişlik şikayetiyle hastanemiz Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği'ne başvurdu. Öyküsünde şişlik başlamadan bir hafta önce banyoda düşme sonucu zigomatik kemik üzerinde yara meydana gelen hastanın başka bir merkeze başvurduğu, burada apse drenajı yapıldığı ve oral ampicilin/sulbaktam ve siprofloksasin tedavisi başlandığı ancak bir haftalık antibiyotik tedavisi sonrası şikayetlerinde herhangi bir gerileme olmadığı öğrenildi. Hastanemizde hastanın apse drenajı yapıldı. Alınan drenaj materyali mikrobiyoloji laboratuvarına TB açısından ARB, PCR ve kültür yapılmak üzere gönderildi.



Resim: Sol göz üst ve alt göz kapağı hiperemik, maksillozigomatik bölgede hafif dalgalanma gösteren periorbital apse odağı.

Bulgular: Hastadan alınan apse materyalinin ARB sonucu şüpheli olarak bulundu. Sıvı kültür (BACTEC MGIT 960) ve katı kültüründe (Löwenstein-Jensen besiyeri) TB basili saptanırken moleküler incelemede de TB DNA saptandı (Xpert MTB/RIF Ultra). İlaç duyarlılık testi sonucunda birinci seçenek anti-TB ilaçların hepsine duyarlı bulundu. Hastaya izoniyazid, rifampisin, pirazinamid ve etambutol tedavisi başlandı.

Sonuç: TB tanısında kültür altın standart yöntemdir. Ancak ekstrapulmoner TB tanısında kültürün duyarlılığı çok düşüktür. Tanı koymadaki bu gibi güçlükler nedeniyle son yıllarda PCR gibi moleküler yöntemlerin ekstrapulmoner TB tanısındaki avantajları gösterilmektedir. Periorbital ve orbital TB'nin nadir görülmesinin yanında vakamızda olduğu gibi alta yatan primer TB hastalığının bulunmaması da tanıyı zorlaştırmaktadır. Hastadan TB açısından araştırılmak üzere hem moleküler tanı hem de kültür için örnek yollanmış ve kültürün sonucunun çıkması beklenmeden örnekte TB DNA saptandığı görülmüştür. Bu durum bizlere ekstrapulmoner TB'nin tanısında kültür ne kadar altın standart yöntem olsa da tanıda hem katı kültür hem sıvı kültür ve eş

zamanlı olarak moleküler yöntemlerin çalışılmasının ne kadar önemli olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Mikobakteri, Orbital tüberküloz, Ekstrapulmoner tüberküloz

S9.Rifampisin dirençli *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarında rifabutin duyarlılığı

Nalan YILDIZ, Süheyla Sürücüoğlu, Nuri Özkütük

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

Giriş ve Amaç: Tüberküloz tedavisinde rifampisin direnci en önemli sorunlardan biridir. Rifampisin direnci, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) izolatlarının %96'sında, *rpoB* geninin 81-bp'lik "RRDR" bölgesindeki mutasyonlar ile ilişkilidir. RRDR gen bölgesindeki bazı mutasyonların rifabutin çapraz direncine neden olmayıp rifabutin duyarlılığıyla ilişkili olduğu ve rifabutinin bu suşlar üzerinde klinik etkinliğe sahip olabileceği gösterilmiştir. Rifampisine dirençli MTBK kökenlerinde rifabutine karşı in vitro duyarlılık birçok çalışmada %15-27 oranlarında bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı bölgemizdeki rifampisine dirençli izolatlarda fenotipik olarak rifabutin çapraz direncinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, 06.01.2000-12.06.2022 tarihleri arasında Ege Bölgesinden izole edilen 45 rifampisine dirençli suş, kontrol grubu olarak 20 rifampisine duyarlı suş dahil edildi. Kalite kontrol suşu olarak *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen stoklanmış suşlar BACTEC MGIT 960 otomatize sıvı kültür sisteminde (BD Diagnostic Systems Systems, Sparks, MD, USA) pasajlanarak canlandırıldı. Fenotipik duyarlılık testi olarak MGIT 960 kültür sisteminde proporsiyon yöntemi kullanıldı.

Rifabutin (Sigma-Aldrich, ABD) ilaç tozu metanolde çözülerek stok solüsyonu elde edildi, %95 etanol ve distile su ile seyreltilerek çalışma konsantrasyonu hazırlandı. Rifampisin duyarlılık testi için ise MGIT SIRE kiti kullanıldı. Çalışma rifampisin için 1 µg/mL, rifabutin için 0.5 µg/mL kritik konsantrasyonlarında gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmamızda fenotipik duyarlılık testi rifampisin dirençli 42 ve rifampisin duyarlı 17 suş için tamamlanmıştır. Rifampisine dirençli 42 suşun altısı (%14.3) rifabutine duyarlı bulunmuştur. Rifampisine duyarlı 17 suşun tamamı aynı zamanda rifabutine de duyarlı bulunmuştur (Tablo 1).

Tablo 1: Rifampisin dirençli MTBK izolatlarında rifabutin duyarlılık oranları

Direnç Fenotipi	Sayı	Yüzde (%)
Rifampisin ve Rifabutin Dirençli	36	%85,7
Rifampisin Dirençli - Rifabutin Duyarlı	6	%14,3
Rifampisin ve Rifabutin Duyarlı	17	%100

Sonuç: Çalışmamızda rifampisine dirençli, rifabutine duyarlı izolatlar çalışma grubunun %14.3'nü oluşturmaktadır. Bu olguların tedavisinde rifabutinin etkili olma potansiyeli vardır. Rifampisine direnç varlığı durumunda yeni tedavi ajanlarına ulaşımın kısıtlı olması göz önünde bulundurulduğunda bu grup hastalar rifabutin tedavisiyle uzun süreli, toksisitesi ve maliyeti yüksek ikinci seçenek ilaç tedavisine gereksinim duymayabilirler.

Çalışmamızda gerçekleştirilmesi planlanan bir sonraki aşamada rifampisin direncinden sorumlu RRDR gen bölgesi dizi analizi yapılarak rifabutine çapraz direnç ve duyarlılıktan sorumlu mutasyonlarla ilişkilendirilecektir. Belirlenen mutasyonların literatüre katkı sağlaması beklenmektedir. Bu mutasyonların hızlı

moleküler testlerde yer alması rifampisine dirençli olguların tedavisinin planlanmasına destek olabilir.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, Rifampisin Direnci, Rifabutin

S10. *Mycobacterium tuberculosis'* in birincil Anti-tüberküloz ilaç duyarlılıklarını belirlemede TK besiyerinin etkinliğinin kalite kontrol suşları kullanılarak araştırılması

Meltem Ayaş¹, Gizem Sele², Neval Yurttutan Uyar^{3,4}, Tanıl Kocagöz^{3*}

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, İstanbul

²İnovatif Biyoteknoloji Organizasyonu Tic. Ltd. Şti., İstanbul

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi,, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁴Acıbadem Labmed Tıbbi Laboratuvarları, İstanbul.

Giriş ve Amaç: *Mycobacterium tuberculosis* için birincil ilaç duyarlılık testlerinin hızlı ve güvenilir olarak saptanması tüberkülozun etkili bir şekilde tedavi edilmesi ve ilaç direncinin izlenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada bir kolorimetrik besiyeri olan TK besiyeri ile hazırlanmış TK Anti Tb PNB Kit (TiBO, Türkiye) ile birincil anti-tüberküloz ilaçlara (izoniazid, ethambutol, rifampisin ve streptomisine) karşı ilaç duyarlılığının saptanmasındaki etkinliğinin ve güvenilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 2020-2023 yılları arasında Acıbadem Labmed Tıbbi Laboratuvarları'na dış kalite kontrol kökeni olarak gönderilen 13 adet *M. tuberculosis* (INSTAND, Almanya) suşunun birincil anti-tüberküloz ilaç (isoniazid, ethambutol, rifampisin ve streptomisin) duyarlılıkları TK Anti Tb PNB kiti kullanılarak test edilmiştir.

Kit yönergesine göre, *M. tuberculosis* suşlarından kitin içindeki süspansiyon tüpü ile 1 Mc Farland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve buradan seyreltim tüpüne 500µl aktarılmıştır. Son aşamada seyreltim tüpünden 200'er µl alınarak besiyeri (üreme kontrol), antibiyotik içeren besiyeri tüplerine ve para-nitro-benzoik (PNB) asit içeren tüpe dağıtılmıştır. Tüpler 37°C'de Mycolor TK (TiBO, Türkiye) aygıtında inkübe edilmiştir.

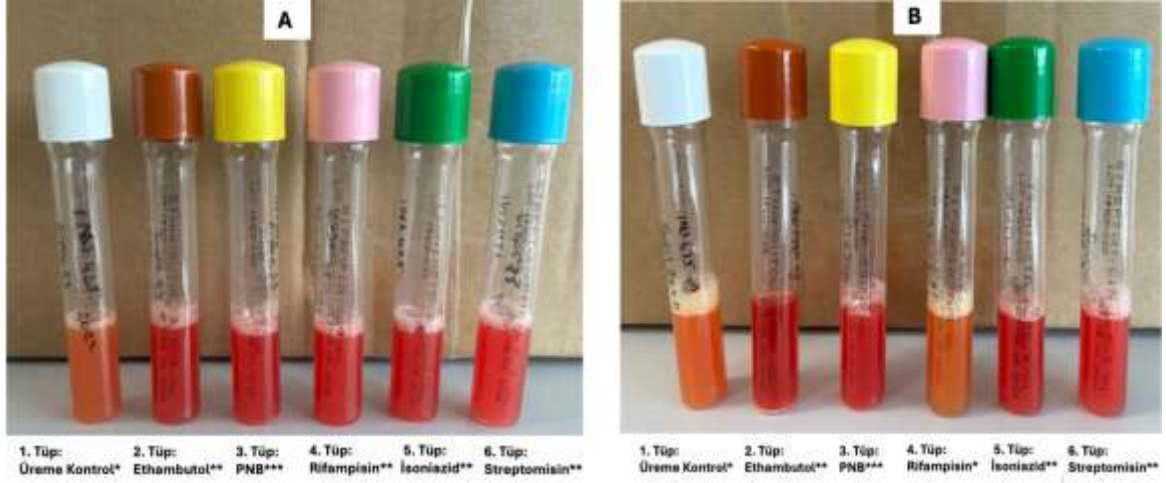
Bulgular: Tüm kökenler için üreme kontrol tüplerinde mikobakteri üremesini gösteren sarı renk değişimleri gözlenmiştir. Antibiyotikli besiyerlerinde sarı renk değişimi ve hiç renk değişimi olmaması ilgili antibiyotiğe karşı test edilen kökenin sırasıyla dirençli ve duyarlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Tüm suşların üremesi PNB içeren tüplerdeki besiyerinde engellenerek *M. tuberculosis* kompleks grubuna ait oldukları anlaşılmıştır (Resim 1).

TK anti tb besiyeri kullanılarak çalışılan birincil anti-tüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları standart yöntemle çalışılan dış kalite kontrol kökenlerinin sonuçları ile %100 uyumlu bulunmuştur (Tablo 1).

Sonuç: Sonuç olarak verilerimiz, sınırlı sayıda kökenle çalışmamıza rağmen, TK Anti Tb PNB Kitin birincil tüberküloz ilaçlara duyarlılığını %100 doğruluk ile göstererek güvenilir bir şekilde saptadığını göstermiştir. Kitte tüm ilaç içeren tüplerin kullanıma hazır olması, kullanmadan önce antibiyotikli tüplerin tek tek hazırlanmasının gerekmemesi, antibiyotik ekleme sırasında oluşabilecek hataları ayrıca bu işlemler sırasında ortaya

çıkabilecek kontaminasyonları ortadan kaldırması çok önemli avantajlardır. TK besiyerinin kolorimetrik olması sayesinde, otomatize bir kültür sistemi olmasa bile renk değişikliği gözle değerlendirilebildiğinden, standart bir inkübatör ile hızlı antibiyotik duyarlılık testinin yapılmasını sağlamaktadır. Nadir de olsa kontaminasyon varlığında besiyerinin renginin yeşile dönmesi, erken dönemde kontaminasyonun saptanmasını sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, tüberküloz, TK Anti Tb PNB



Resim 1. A: Instand 425 2023 Probe 21 numaralı kökenin TK Anti Tb PNB kiti ile birincil anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık sonuçları, **B:** Instand 425 2020 Probe 1 numaralı kökenin TK Anti Tb PNB kiti ile birincil anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık sonuçları

*Üreme kontrol ve antibiyotikli test tüplerinde sarı renk değişimi mikobakteri üremesini gösterirken yeşil renk değişimi kontaminasyonu temsil etmektedir.

**Tüplerde hiç renk değişimi olmaması ise üreme olmadığı anlamına gelmektedir.

*** PNB içeren tüpte mikobakterinin ürememesi bunun *M. tuberculosis* kompleks grubuna ait olduğunu, üreme olması tüberküloz dışı mikobakteri olduğunu göstermektedir.

Tablo1. TK Anti Tb PNB kiti ile test edilen kalite kontrol kökenlerinin birincil anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılıkları

Köken adı/ Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	İsoniazid		Rifampisin		Ethambutol		Streptomisin	
	Standard Method	TK anti tb	Standard Method	TK anti tb	Standard Method	TK anti tb	Standard Method	TK anti tb
INSTAND 425 2023 MAYIS Probe 21	S	S	S	S	S	S	S	S
INSTAND 425 2023 MAYIS Probe 22	S	S	S	S	S	S	S	S
INSTAND 425 2023 MAYIS Probe 23	R	R	S	S	S	S	R	R
INSTAND 425 2023 MAYIS Probe 24	R/I	R	S	S	S	S	S	S
INSTAND 425 2023 MAYIS Probe 25	R	R	S	S	S	S	R	R
INSTAND 425 2023 KASIM Probe 52	R	R	S	S	R	R	R	R
INSTAND 425 2023 KASIM Probe 53	R	R	S	S	S	S	R	R
INSTAND 425 2022 KASIM Probe 52	R	R	S	S	S	S	R	R
INSTAND 425 2022 KASIM Probe 53	S	S	S	S	S	S	S	S
INSTAND 425 2022 KASIM Probe 54	R	R	S	S	S	S	R	R
INSTAND 425 2020 EKİM Probe 1	S	S	R/I	R	S	S	S	S
INSTAND 425 2020 EKİM Probe 3	S	S	S	S	S	S	S	S
INSTAND 425 2020 EKİM Probe 4	S	S	S	S	S	S	S	S

S11.Pediatric yaş grubunda tüberküloz laboratuvarımıza gönderilen interferon gama salınım test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi

Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI, Esra Türken, Asuman BİRİNCİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

Giriş ve Amaç: Tüberküloz enfeksiyonu, günümüzde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Bu enfeksiyonun erken ve doğru tanısı oldukça önemlidir. Ancak özellikle çocukluk çağı tüberkülozunun tanısında birtakım güçlükler vardır. Örneğin; erişkinlerden farklı olarak çocuklarda basil gösterme oranı çok düşüktür. Basilin gösterilememesi durumunda tanıya yardımcı olabilecek testler kullanılabilir. Bir interferon- γ salınım testi (IGRA) olan Quantiferon testi başta latent tüberküloz enfeksiyonu tanısı olmak üzere aktif tüberküloz enfeksiyonu tanısında da yardımcı bir test olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda Tüberküloz Laboratuvarına gönderilmiş olan pediatrik yaş grubuna ait plazma örneklerinde IGRA sonuçlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarına Ocak 2019-Mart 2024 yılları arasında gönderilmiş olan pediatrik yaş grubuna ait klinik örnekler IGRA sonuçları açısından retrospektif olarak incelenmiştir. Dahil edilen 537 örneğin IGRA sonuçları ve örneklerin klinik dağılımı gözden geçirilmiştir. IGRA için Quantiferon TB Gold Plus Testi kullanılmıştır. Test, plazma örneklerinden üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır.

Klinik	Sayı
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları	293
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	100
Çocuk Gastroenterolojisi	34
Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi	23
Çocuk Romatolojisi	22
Deri ve Zührevi Hastalıkları	19
Çocuk İmmünolojisi ve Alerji Hastalıkları	19
Çocuk Nörolojisi	18
Diğer	50
Genel Toplam	578

Tablo 1: Klinik dağılımı ve gönderilen örnek sayıları

Bulgular: Toplam 537 hastanın plazma örneği çalışılmıştır. Çalışılan örneklerin 23'ünde Quantiferon testi pozitif, 492'sinde negatif sonuçlanmıştır. Kalan 22 örnekte ise sonuç elde edilememiştir. Pozitif sonuçlar cinsiyet açısından değerlendirildiğinde; 16'sı erkek, 7'si kız olarak belirlenmiştir.

Örneklerin klinik dağılımı incelendiğinde en fazla örnek, çocuk enfeksiyon hastalıklarından (n:293) gönderilmişken, takiben çocuk sağlığı ve hastalıkları (n:100) 2. sırada yer almıştır (Tablo 1).

Sonuç: Quantiferon testi hem latent tüberküloz enfeksiyonu hem de aktif tüberküloz enfeksiyonu tanısında kullanılabilen özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir testtir. Ancak tüberküloz enfeksiyonu tanısında tek başına yeterli bir test değildir; bu sebeple klinik olarak tüberküloz düşünülen ancak basilin gösterilemediği çocuklarda anamnez ve diğer testlerle birlikte tanıyı destekleyici bir test olarak kullanılmalıdır.

Anahtar Kelime: Tüberküloz, Quantiferon, Çocuk

S12. Latent tüberküloz enfeksiyonunun tanısında interferon gama salınım test (IGRA) sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi

¹Ülker Çuhacı

¹Yüksek İhtisas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

ulkercuhaci@yiu.edu.tr

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) *Mycobacterium tuberculosis* basilinin neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır, HIV ile birlikte ölüme neden olan en yaygın bulaşıcı hastalıklardan biridir ve genellikle akciğerleri etkiler ancak diğer organları da etkileyebilir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 'ne göre, her yıl yaklaşık 10 milyon kişiye TB teşhisi konulmaktadır. Latent TB enfeksiyonu (LTBI), TB basilinin vücutta bulunmasına rağmen, hastanın aktif TB hastalığı belirtilerini göstermediği bir durumdur. LTBI, aktif TB hastalığına dönüşme potansiyeli nedeniyle halk sağlığı açısından büyük önem taşır. LTBI'li kişilerin etkin bir şekilde saptanması ve tedavi edilmesi, TB'nin yayılmasını kontrol altına alabilir. Tedavi edilmeyen LTBI'li kişilerde yıllar sonra aktif TB hastalığı gelişebilir ve hastalığın yayılma riski artar. LTBI tanısında IGRA test sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2024- Mayıs 2024 tarihleri arasında Yüksek İhtisas Üniversitesi Özel Viromed Laboratuvarının IGRA (Quantiferon-TB Gold) test sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Laboratuvara gönderilen 580'i erkek 580'i kadın olmak üzere toplam 1160 kişinin IGRA test sonuçları değerlendirildi. Erkeklerin 66 (%11,4)'sı kadınların 43 (%7,4)'ü olmak üzere toplam 109 (%9,4) pozitif hasta saptandı. Test sonuçlarının yaş gruplarına göre sınıflandırıldığında; 0-18 yaş arası toplam 204 (%17,6) hastanın 4 (%2)'ü, 19-64 yaş arası toplam 804 (%69,3) hastanın

74 (%9,2)'ü, 65 yaş ve üstü toplam 152 (%13,1) hastanın 31 (%20,4)'i pozitif olarak belirlendi (Tablo1).

Sonuç: Değerlendirme sonuçlarımıza göre; 19-64 yaş arası yetişkinler arasında toplam 804 kişinin (%69,3) IGRA testi pozitif olarak saptandı. IGRA testleri her ne kadar aktif ve LTBI'yi birbirinden ayıramasa da TB kontrolü açısından TB insidansının yüksek olduğu bölgelerde ve TB hastası ile temas öyküsü olan kişilerde tarama testi olarak kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

	Toplam vaka n (%)	Pozitif vaka n (%)
Cinsiyet		
Kadın	580 (50)	43 (7,4)
Erkek	580 (50)	66 (11,4)
Yaş grupları		
0-18	204 (17,6)	4 (2)
19-64	804 (69,3)	74 (9,2)
65 ve üzeri	152 (13,1)	31 (20,4)
Toplam	1160 (100)	109 (9,4)

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, IGRA, Latent TB

S13. İmmünesüpresif tedavi planlanan enflamatuvar bağırsak hastalarında latent tüberküloz enfeksiyonunun araştırılması

Merve Hilal ALTINLI¹, Taylan BOZOK¹, Oktay BAYRAKTAR², Fehmi ATEŞ², Nuran DELİALİOĞLU¹, Gönül ASLAN¹

¹Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

²Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Mersin/Türkiye,

Giriş ve Amaç: Crohn hastalığı (CH) ve Ülseratif Kolit gastrointestinal sistemi etkileyen ülserasyon ve iltihaplanma ile karakterize, kronik, tekrarlayan

enflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Proenflamatuvar bir sitokin olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)'nın, enflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH)'nin patogeneğinde hayati bir rolü bulunmaktadır. TNF- α İBH'li bireylerde aşırı salındığı için, anti-tümör nekroz faktörü (anti-TNF) İBH tedavisinde potansiyel ve ideal bir terapötik hedefdir.

İBH'li hastaların tedavisinde anti-tümör nekroz faktörü (anti-TNF) ve steroid gibi immünsüpresif ajanların kullanılması, latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE)'nin yeniden aktivasyon riskini artırır. TNF- α ayrıca *Mycobacterium tuberculosis* ile ilk enfeksiyondan sonra makrofajlar tarafından öldürülmesi, granülom oluşumu, apoptosis ve diğer alanlara enfeksiyonun yayılımının önlenmesinde rol oynaması nedeniyle konakçının bağışıklığında önemli bir yeri vardır. TNF- α 'nın baskılanması, konakçı sisteminde latent halde bulunan basillerin kontrolünde de boşluklara yol açar, steroidler ise immün sistemin aşırı yanıtını baskılayarak bağışıklık sisteminde zayıflamaya neden olabilmektedir. LTBE'nin özellikle bu hasta popülasyonu için tedaviden önce taranması ve profilaksisi aktif TB riskini azaltır.

Ülkemizde bağışıklığı baskılanmış veya immünsüpresif tedavi adayı olan kişilerin İnterferon Gama Salınım Testleri (IGST) ile LTBE açısından taranması önerilmektedir.

Bu çalışmada, gastroenteroloji bölümüne başvuran, immünsüpresif tedavi planlanarak LTBE araştırılmış hastalarda IGST pozitiflik oranlarının klinik ve demografik özellikler ile arasındaki ilişkisinin analizi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2023 ve Mart 2024 tarihleri arasında IGST testi çalışılmış gastroenteroloji hastalarına ait veriler retrospektif olarak taranmıştır. LTBE'yi belirlemek için hastaların IGST sonuçları kullanılmıştır. IGST pozitifliği saptananlarda profilaksi durumları dahil edilmiştir.

Bireylerdeki IGST sonuçları ile demografik ve klinik verilerin karşılaştırmalı analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Toplam 317 hastanın dahil edildiği bu çalışmada pozitif IGST sonuçları değerlendirildiğinde; erkeklerdeki pozitiflik oranı (%17,9), kadınlara göre (%7,9) anlamlı bir şekilde daha yüksek tespit edildi ($p=0,009$). IGST pozitiflik oranının, 45 yaş ve üzeri hastalarda (%20,5), bu yaş grubu altındaki bireylere (%8) kıyasla daha yüksek olduğu saptandı ($p=0,001$). İBH'li hastalarda IGST pozitifliğine (%71,8), olmayanlara göre (%28,2) anlamlı düzeyde daha sık rastlandı ($p<0,0005$). Ayrıca IGST pozitif çıkan İBH'li hastaların profilaksi alma oranları (%95,5), diğer hastalara (%41,2) göre anlamlı bir şekilde yüksek tespit edildi ($p<0,0005$). IGST pozitif hastalarda, immünsüpresif tedavi alanlara profilaksi verilme oranı (%76,9) immünsüpresif tedavi almayanlara (%14,3) kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p<0,0005$).

Sonuç: Tedaviye başlamadan önce IGST testi negatif çıkan hastalar da dahil olmak üzere anti-TNF ajanlarının kullanımıyla TB riskinin arttığı bildirilmektedir. İmmünsüpresif tedavinin sık kullanıldığı İBH'de LTBE varlığının araştırılması, profilaksi endikasyonlarının iyi konması ve hastaların yan etkiler yönünden yakın olarak izlenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti- TNF, İmmünsüpresif tedavi, Enflamatuvar bağırsak hastalığı, Latent tüberküloz

S14. 2015-2022 Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Tüberküloz Dışı Mikobakteri Verileri

Nilay Uçarman, Figen Tursunoğlu, Derya Altun, Ahmet Arslantürk, Alper Sarıbaşı, Meryem Demir, TULSA Çalışma Grubu

SB Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara

ÖZET

GİRİŞ: Çevrede yaygın olarak bulunan Tüberküloz dışı mikobakterilerin (TDM) bazı özel hasta gruplarında hastalık yapabilmeleri ve TDM enfeksiyonlarının tedavisinin zor olması nedeniyle özellikle son yıllarda ön plana çıkarmıştır.

AMAÇ: Bu çalışmada, TULSA kapsamında Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarına (UTRL) gelen 2015-2022 yılları arasında çalışılmış ve TDM saptanmış örneklerden elde edilen sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiş ve yıllar içindeki değişim ve türler arasındaki dağılım incelenmiştir.

YÖNTEM: Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarına gelen ve TDM saptanan izolatların tür tanımlaması GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Almanya) ile yapılmıştır.

BULGULAR: 2015-2022 yılları arasında 4128 TDM şüpheli olarak gelen örneğe tür tanımlaması yapılmıştır. Bunun 265'inde *Mycobacterium* kompleks tespit edilmiş, 231'inde ise mikobakteri saptanamamıştır. Laboratuvarımıza gelen örneklerden en çok saptanan türlerin dağılımı; *M.abscessus* 557 (%15), *M.species* 559 (%15,4), *M.fortuitum* 463 (%12,7), *M.gordonae* 401(%11), *M.intracellulare* 359(%9,9), *M.chelonae* 281(%7,7), *M. kansasii* 258(%7,1), *M.lentiflavum* 212 (%5,8), *M.avium ssp* 208 (%5,7) şeklindedir.

SONUÇ: Her yıl yükselen bir grafik çizen TDM'lerin hastalık etkeni ya da kontaminasyon olup olmadığı kararı için klinik, radyolojik, histopatolojik ve mikrobiyolojik bulgular birlikte değerlendirilerek tedavi kararı alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz Dışı Mikobakteri, Tür tayini, UTRL

S15. Sığır tüberküloz ve paratüberküloz enfeksiyonlarının antemortem tanı yöntemleriyle ayrımı

Halil PİR¹, Hakan YARDIMCI²

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Tüberküloz, Paratüberküloz ve Ruam Teşhis Laboratuvarı, Etlik, Ankara

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara

Giriş ve Amaç: Memeli tüberkülozu *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) üyelerinin sebep olduğu insan ve hayvanlarda görülen kronik bakteriyel bir hastalıktır. Bu enfeksiyonun hayvanlardan insanlara bulaşması sonucu, ortaya çıkan "Zoonotik Tüberküloz" bir halk sağlığı problemini oluşturmaktadır. Sığır Paratüberkülozu (PTB) veya Johne's disease, dünya çapında evcil ve yabani ruminantları etkileyen, *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (*Map*) etkeninin sebep olduğu bir hastalıktır. Bu çalışmada, Sığır Tüberkülozunun antemortem tanısında kullanılan yöntemlerden faydalanarak, hayvanların Paratüberküloz enfeksiyonu yönünden enfekte olup olmadıklarını belirlemektir. Ayrıca, Türkiye'de endemik seyir izleyen Sığır Tüberküloz hastalığının antemortem tanı yöntemleri karşılaştırılıp, Gama İnterferon (IFN- γ) testinin sensitivite ve spesifite değerleri belirlenerek Sığır Tüberküloz hastalığının eradikasyon çalışmalarına katkı sağlayacak verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

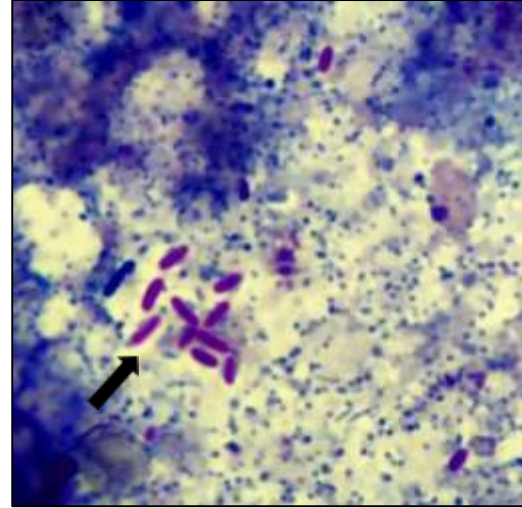
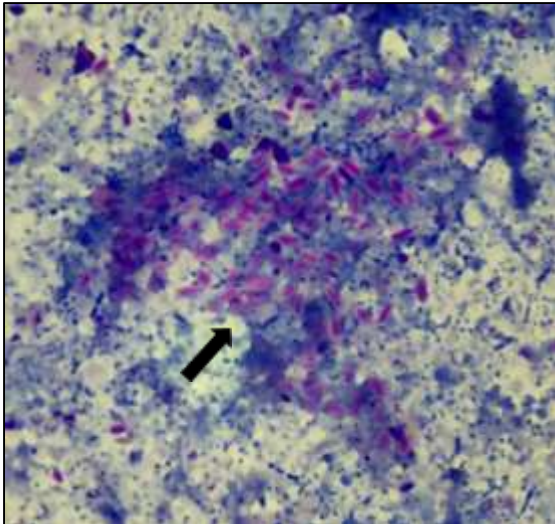
Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, Çankırı/Çerkeş, Çorum/Merkez, Ankara/Sincan, Eskişehir/Odunpazarı ve Konya/Ereğli ilçelerinde bulunan tüberküloz şüpheli toplam 5 süt sığır işletmesinden bulunan 423 adet sığır üzerinde gerçekleştirildi. Sığırlara Tüberküloz enfeksiyonu tanısı için Karşılaştırmalı İntradermal Tüberkülin Testi (CITT) PPD avian ve PPD bovine uygulanmadan önce IFN- γ ve *Mycobacterium paratuberculosis* antikor testi için her bir hayvandan 8 ml kan alındı. Ayrıca dışkı örnekleri her hayvandan EZN boyama yöntemi ile Paratüberküloz tanısı için alındı.

Bulgular: CITT uygulanan toplam 423 adet sığırın PPD uygulanan bölgedeki deri kalınlaşmaları değerlendirilme neticesinde 86 (%20,33) sığır PPD deri testine pozitif sonuç verirken, 84 (%19,86) sığır IFN- γ testinde Tüberküloz pozitif olarak tespit edildi. Tüberküloz şüphesi olan sığır sürülerinde IFN- γ testini CITT ile karşılaştırıldığında; IFN- γ testinin sensitivitesi % 86, spesifitesi ise % 97 bulundu.

IFN- γ Test Sonuçları	İntradermal Tüberkülin Testi		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	74	10	84
Negatif	12	327	339
Toplam	86	337	423

Tablo 1. IFN- γ testinin sensitivitesi ve spesifitesi.

Paratüberküloz enfeksiyonunun teşhisinde 423 adet sığırдан; antikor ELISA sonuçlarına göre 44 (%10,4)'ü pozitif, IFN- γ ELISA sonuçlarına göre 21 (%4,96)'inde pozitiflik ve EZN boyama yöntemi ile 23 (%5,44) hayvanda pozitiflik saptandı.



Şekil 1. EZN boyama yöntemi ile dışkı örneklerindeki ARB'lerin 100x objektifte mikroskopik görüntüsü (Kısa, kırmızı-pembe renkte, kalın ve iç içe girmiş kokobasil görünüm).

CITT uygulanan işletmelerde PPD avian uygulanan bölge PTB enfeksiyonu yönünden değerlendirildi. 423 adet sığırın 14 (%3,31)'ü şüpheli bulundu. Bu 14 adet sığırlardan 5 (%35,71)'i antikor ELISA'da, 6 (%42,86)'sı fekal mikroskopide, 3 (%21,43)'ü IFN- γ ELISA'da PTB enfeksiyonu yönünden pozitiflik saptandı.

Sonuç: Sığır tüberkülozu eradikasyon programlarında CITT'e alternatif bir test olarak IFN- γ testi yapılabileceği, tüberküloz enfeksiyonunun tanısı için yapılan CITT uygulamasında PPD aviana pozitif reaksiyon veren hayvanların Paratüberküloz tanısı için kullanılan diğer testlerle desteklenerek nonspesifik reaksiyonların ortaya çıkarılmasında ya da PTB enfekte hayvanların tespit edilmesinde belirleyici rol oynadığı görüldü.

Anahtar kelimeler: ELISA, Gama-İnterferon, *Mycobacterium bovis*, Paratüberküloz, Sığır

16. Göçmen popülasyonundaki artışın pediatrik tüberküloz prevalansına etkisi: 2007 - 2024 yıllarında Mersin bölgesi

Taylan BOZOK, Mehtap AKÇA, Kevser ELÇİ, Nuran DELİALİOĞLU, Necdet KUYUCU, Gönül ASLAN

Giriş ve Amaç: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporuna göre 2022 yılında tahmini olarak 1.3 milyon 0-14 yaş arası çocuk tüberküloz (TB) hastalığına yakalanmış ve bunların %51'i tanı almamıştır. Çocuklarda TB tanısı semptomların belirsizliği ve örnek alınmadaki zorluklar nedeniyle oldukça güçtür. Bunun yanında düşük sosyoekonomik düzey, göçler ve savaşlar gibi birçok etmen TB prevalansında artışa neden olmaktadır. Mersin bölgesi, Suriye'de yaşanan iç savaş nedeniyle oluşan göç dalgasından en çok etkilenen yerler arasında bulunmaktadır. Bu nedenle bölgemizdeki pediatrik TB vakalarının yakından takibi, salgının kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, bölgemizde 17 yıllık süreçte pediatrik TB şüphesi ile değerlendirilen hastaların demografik verileri ve sonuçlarının analiz edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne 2007 Mayıs - 2024 Mart tarihleri arasında başvurmuş ve mikobakteriyoloji laboratuvarına TB şüphesi ile örneği gönderilmiş hastalara ait bilgiler bilgi işlem sisteminden dosya taraması yapılarak elde edildi. Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen örnekler homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemi sonrası asidorezistan boyaması (ARB) yapılarak incelenmiştir. Örnekler Löwenstein-Jensen (LJ) ve MGIT 960 otomatize kültür sistemi (Becton Dickinson, ABD) besiyerlerine ekilip üreme takipleri yapılmıştır. Hastaların TB tanısı klinik, laboratuvar ve görüntüleme bulguları birlikte değerlendirilerek konulmuştur.

Bulgular: Klinik örneği gönderilen toplamda 969 çocuk hastadan 101 (%10,4)'ine TB tanısı konuldu. Bunların 66 (%65,3)'sını akciğer TB'li, 35 (%34,7)'ini akciğer dışı TB'li hastalar oluşturdu. Hastaların yaş ortalamaları $9,7 \pm 6,1$ 'di. 85 (%84,2) çocuk T.C. vatandaşı iken 16 (%15,8)'sı Suriye uyrukluydu. Hastaların 49 (%48,5)'unun en az bir örneğinde ARB pozitifliği mevcuttu. Toplamda 56 (%55,4) hastanın LJ ve/veya MGIT kültürlerinde *Mycobacterium tuberculosis* kompleks üremesi tespit edildi. ARB pozitifliği olan 12 hastanın kültürlerinde üreme olmadı. 33 (%32,7) hastaya sadece klinik ve radyolojik olarak tanı konuldu. Başvuran hastalardaki TB tanı oranlarına baktığımızda Suriyeli hastalarda anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görüldü (%21,1; $p=0.002$). Aynı şekilde ARB ve kültür pozitiflik oranları da anlamlı şekilde T.C. vatandaşlarına göre Suriyeli hastalarda daha yüksek bulundu (%13,2; $p=0.003$, %17,1; $p<0.0005$). Türkiye'deki göçmen nüfusun en üst düzeye ulaştığı 2015 yılından sonra gelen örneklerdeki ARB pozitiflik oranları anlamlı derecede daha fazlaydı (%3,6 - %6,4; $p=0.044$).

Sonuç: Tanısındaki zorluklar nedeniyle pediatrik TB günümüzde de çocuk sağlığını tehdit eden önemli riskler arasında bulunmaktadır. Mersin TB prevalansının yüksek olduğu bölgelerden göç alan bir konumda bulunması nedeniyle salgın riski yüksek iller arasındadır. Tanıdaki yetersizliklerin giderilmesi ve tedaviye hızlı ulaşım sağlanması bölgemizdeki pediatrik TB prevalansının azaltılmasında önemli bir rol oynayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Pediatrik tüberküloz, Tanı, Prevalans, Göçmenler

P1. *Mycobacterium tuberculosis* izolasyonunda Diagnostics TB SLC, Diagnostics LJ Fast, Diagnostics LJ besiyerlerinin performanslarının değerlendirilmesi

Abdurrahman ERSOY*¹, Zeynep SARIBAŞ¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Tüberküloz tanısında kültür altın standarttır. Bu nedenle etkenin hızlı üretilmesi, hızlı tanı ve tedavi için önemlidir. Klinik örneklerden *Mycobacterium tuberculosis*'in Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde üretilmesi 8 haftayı bulabilmektedir. Sıvı Diagnostics TB SLC ve katı Diagnostics LJ Fast besiyerleri, bu sürelerin kısaltılabilmesi için besiyerlerindeki renk değişimleri sayesinde üremenin anlaşılabilmesini amaçlamaktadır. Bu çalışmada besiyerlerinin bu konudaki performansının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 21 *M. tuberculosis* izolatu dahil edilmiştir. Diagnostics TB SLC, Diagnostics LJ Fast, Diagnostics LJ besiyerlerine ekilmiş, günlük olarak besiyerlerindeki üremeler değerlendirilmiştir. Referans suş olarak *M. tuberculosis* H37Ra suşu kullanılmıştır. Kontaminasyonun değerlendirilmesi amacıyla birer besiyerine *S. aureus* suşu ekilmiştir. Tüm izolatların MGIT besiyerinde 1×10^8 cfu/ml ve 1×10^4 cfu/ml konsantrasyonlarda süspansiyonları hazırlanmış, BD BACTEC MGIT'te inkübe edilmiştir. TB SLC ve LJ Fast besiyerlerine

ekimler yapıp inkübasyon 35 °C'de yapılmıştır.

Bulgular: 21 adet izolatu ve referans suşun üremeleri ilk olarak 8. günde TB SLC ve LJ Fast besiyerlerinde kırmızıdan sarıya doğru renk değişimleriyle gözlenmiştir (100 %). 5 izolatu 1×10^8 'lik süspansiyonları bu sürede LJ Fast besiyerinde TB SLC besiyerindekinden belirgin renk değişimine yol açmıştır. 1 suşun 1×10^4 'lük süspansiyonu LJ Fast besiyerinde 8 günde ürememiş, ancak 20. günde ürediği gözlenebilmiştir. *S. aureus* suşunun ekildiği TB SLC ve LJ Fast besiyerlerinin renkleriye yeşile dönmüştür.

Tüm suşların 1×10^8 'lik süspansiyonlarının iki besiyerinde de 1×10^4 'lük süspansiyonlarından yoğun renk değişimi oluşturduğu, ayrıca renk değişimlerinin LJ Fast besiyerinde TB SLC besiyerinden yoğun olduğu görülmüştür.

LJ besiyerindeki ilk üremeler 12. günde gözlenmiş, çalışmanın sonlandırıldığı 25. günün değerlendirmelerinde 15 suş üretken 6 suşta ve referans suşta üreme gözlenmemiştir (68 %).

Sonuç: Çalışmada renk değişimleriyle mikobakterilerin üremelerinin gözlenebildiği TB SLC ve LJ Fast besiyerlerinin rutinde kullanılanlara kıyasla üremenin hızlı anlaşılabilmesini sağladığı görülmüştür.

TB SLC ve LJ Fast besiyerlerinde yeşil renk ile kontaminasyonun hızla

değerlendirilebilmesi besiyerlerinin avantajlarından.

25. gün sonunda bazı LJ besiyerlerinde üreme gözlenmemesi, ekilen örnek miktarı, çalışma süresi gibi çeşitli etkenlere bağlanabilir. 25 günden daha fazla sürede üreme görülmesi mümkün olabilir.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, Diagnostis TB SLC, Diagno LJ Fast, Diagno LJ

P2. *M. tuberculosis* enfeksiyonunun immün regülasyonunda IL10'un rolü

Gülşah TOLLU¹, Burak ŞAHİN¹, Hamdi GÖKAHMETOĞLU², Gönül ASLAN³, Fatih KÖKSAL²

¹Mersin Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Mersin

²Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Giriş ve Amaç: *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) ile karşılaşan kişilerin yalnızca %5-10'unun yaşam boyu aktif hastalık riski vardır. Bu durum tüberküloz (TB) gelişimine yönelik güçlü bir konakçı bağışıklığını işaret etmektedir. Bağışıklığı sınırlayan mekanizmalardan biri, inhibitör ve antiinflamatuvar sitokin interlökin (IL)-10'dur. IL-10 birçok hematopoetik hücre tarafından yapılır ve *MTBK* gibi patojenlere karşı bağışıklık tepkilerinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada TB ile enfekte hastalar ve TB olmadığı çeşitli

testlerle doğrulanan kontrol grubu katılımcılarından elde edilen örneklerin IL-10 serum sitokin konsantrasyonlarının karşılaştırılarak hastalıkla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada TB ile enfekte ve kontrol hastalarından alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinin IL-10 sitokin seviyeleri ELISA (FineTest®) test kiti yardımı ile değerlendirildi. Serum örnekleri üretici firmanın önerilerine göre seri olarak seyreltilerek, protokolde belirtilen şekilde analiz edildi ve bir ELISA okuyucu yardımıyla sonuçlar belirlendi.

Bulgular: TB'li bireyler ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda IL-10 seviyeleri $29,70 \pm 10,21$ pg/mL iken kontrol grubunda $11,64 \pm 9,00$ pg/mL olarak bulundu ($p < 0.05$). TB'li bireylerin IL-10 seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu gözlemlendi.

Sonuçlar: Sonuç olarak hasta grubunda IL-10 seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla bir artış gözlemlenmiştir. Sonuçlar IL-10'un TB hastalığında önemli bir rol üstlendiğini destekler niteliktedir. Yapılacak daha kapsamlı çalışmaların insanlarda TB reaktivasyonunun önlenmesi açısından önemli tanısal ve terapötik etkileri ortaya koyabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: ELISA, IL10, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, Tüberküloz

P3.Tüberküloz tanısında sıvı kültür besiyeri ile birlikte kullanılan katı besiyerinin tanıya katkısı

Ferdi Çetin, Nuri Özkütük, Süheyla Sürücüoğlu

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) insanlarda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilen küresel çapta bir sağlık sorunudur. Tüberkülozun kontrolünde en önemli basamaklardan biri hızlı bir şekilde tanı konulması ile erken ve etkin tedaviye başlanması ve toplum içindeki bulaş zincirinin kırılmasından geçmektedir. TB'überkülozu tanısında kültür yöntemleri altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla katı ve sıvı besiyerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Çalışmamızda TB kuşkulu hasta örneklerinin kültüründe sıvı besiyeri temelli otomatik kültür sistemi ile birlikte kullanılan Lowenstein-Jensen (LJ) besiyerinin tanısal yararının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Mikobakteriyoloji laboratuvarında 01.01.2012-31.12.2021 tarihleri arasında TB tanısı amacı ile hem BACTEC MGIT 960 otomatize kültür sistemi hem de LJ besiyerinde kültürü yapılmış örneklerin verileri retrospektif olarak taranmıştır. Sıvı ve katı kültür besiyerindeki kültür

sonuçlarının istatistiksel analizleri yapılarak tanıya katkısı hesaplanmıştır.

Bulgular: Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen 11133 (%58.9)'ü akciğer, 7768 (%41.1)'i ise akciğer dışı olmak üzere toplam 18901 klinik örneğin hem katı hemde sıvı besiyerinde (LJ ve BACTEC MGIT) kültürü yapılmıştır. Bu örneklerin 18540'ına mikroskopik inceleme yapılmış, 560 (%3)'ü ARB pozitif bulunmuştur.

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış örneklerin 1130 (%5.98)'unda en az bir besiyerinde mikobakteri türü üremiştir. İzole edilen mikobakteri türlerinin 852 (%75.4)'si *M. tuberculosis* kompleks (MTBK), 278 (%24.6)'i Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) olarak tanımlanmıştır. Kontaminasyon oranı LJ'de %7.04, MGIT besiyerinde %5.23 oranında gözlenirken, 446 (%2.4) örneğin kültüründe her iki besiyerinde de kontaminasyon saptanmıştır.

MGIT besiyerinde mikobakteri izolasyon oranı %5.75, MTBC izolasyon oranı %4.37, TDM izolasyon oranı %1.38 iken, LJ besiyerinde sırası ile %3.89, %3.57 ve %0.32 bulunmuştur. MGIT besiyeri ile birlikte kullanılan LJ besiyerinin mikobakteri, MTBK ve TDM izolasyon oranına katkısı sırası ile %0.23, %0.14, ve %0.10 bulunmuştur. MGIT besiyerinin duyarlılığı mikobakteri, MTBC ve TDM için sırası ile %96.1, %96.9, ve %93.5 bulunurken, LJ besiyerinin için %65.0, %79.2, ve %21.6 olarak hesaplanmıştır.

Akciğer örneklerinde, akciğer dışı örneklerde, ARB pozitif ve negatif

örneklerde MGIT ve LJ besiyeri mikobakteri, MTBC ve TDM izolasyon oranları ve duyarlılıkları Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1: Katı ve sıvı besiyerinin mikobakteri izolasyon ve duyarlılık oranları

		İzolasyon oranı					Duyarlık	
		MGIT / LJ	MGIT	LJ	Sadece MGIT	Sadece LJ	MGIT	LJ
Tüm örnekler (n:18901)	Mikobakteri	1130 %5.98	1086 %5.75	735 %3.89	395 %2.09	44 %0.23	%96.1	%65.0
	MTBK	852 %4.51	826 %4.37	675 %3.57	177 %0.94	26 %0.14	%96.9	%79.2
	TDM	278 %1.47	260 %1.38	60 %0.32	218 %1.15	18 %0.10	%93.5	%21.6
Akç. Örnekleri (n:11133)	Mikobakteri	932 %8.37	894 %8.03	613 %5.51	319 %2.87	38 %0.34	%95.9	%65.8
	MTBK	668 %6.00	648 %5.82	557 %5.00	111 %1.00	20 %0.18	%97.0	%83.4
	TDM	264 %2.37	246 %2.21	56 %0.50	208 %1.87	18 %0.16	%93.2	%21.2
Akç. dışı örnekler (n:7768)	Mikobakteri	198 %2.55	192 %2.47	122 %1.57	76 %0.98	6 %0.08	%97.0	%61.6
	MTBK	184 %2.37	178 %2.29	118 %1.52	66 %0.85	6 %0.08	%96.7	%64.1
	TDM	14 %0.18	14 %0.18	4 %0.05	10 %0.13	0 %0.00	%100.0	%28.6
ARB (+) örnekler (n:560)	Mikobakteri	473 %84.46	467 %83.39	430 %76.79	43 %7.68	6 %1.07	%98.7	%90.9
	MTBK	449 %80.18	445 %79.46	413 %73.75	36 %6.43	4 %0.71	%99.1	%91.9
	TDM	24 %4.29	22 %3.93	17 %3.04	7 %1.25	2 %0.36	%91.6	%70.8
ARB (-) örnekler (n:17980)	Mikobakteri	655 %3.64	616 %3.43	304 %1.69	350 %1.95	38 %0.21	%94.0	%46.4
	MTBK	401 %2.23	379 %2.11	262 %1.46	139 %0.77	22 %0.12	%94.5	%65.3
	TDM	254 %1.41	237 %1.32	42 %0.23	211 %1.17	16 %0.09	%93.3	%16.5

Sonuç: Otomatize sıvı kültür sistemi ile birlikte kullanıldığında, LJ besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısının çok düşük olduğu görülmüş olup, özellikle iş yükü yüksek olan laboratuvarlarda TB tanısı için otomatize sıvı kültür sistemi ile birlikte LJ besiyeri kullanılması rehber önerisinin tekrar değerlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mikobakteri, Tüberküloz, Kültür, MGIT, LJ

P4.Laboratuvarımıza gönderilen örneklerde tüberküloz PZR sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi

Yeliz Tanrıverdi ÇAYCI, Esra TÜRKEN,
Asuman BİRİNCİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun

Giriş ve Amaç: Dünyada ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık problemi olan tüberküloz (TB)'un kesin tanısı, *Mycobacterium tuberculosis*'in klinik numunelerden izole edilmesini gerektirmektedir. Ancak örnekteki basil sayısının az olması, kültürde basilin üremesinin uzun zaman gerektirmesi, basilin akciğer dışı yerleşim gösterebilmesi gibi tanıda güçlükler sebep olabilecek birçok durum vardır. Bu sebeple *M. tuberculosis*'in tespitinde hızlı, sensitivitesi ve spesifitesi yüksek metotlar arzulanmış, bu amaçla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'ndan yararlanmak istenmiştir. Çalışmamızda

laboratuvarımıza gönderilmiş TB PZR test sonuçlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarına Mart 2020-Mart 2024 yılları arasında gönderilmiş olan klinik örneklerden çalışılan TB PZR sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. TB PCR çalışılmış 1025 örneğin sonuçları gözden geçirilmiş ve sonuçlar kültür ile birlikte değerlendirilmiştir. Örneklerin kültürü için LJ besiyeri kullanılmıştır. PZR çalışması BD MAX (Becton Dickinson, USA) sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 1025 TB PZR testinin 100'ünde *M. tuberculosis* saptanmış, 905'i ise negatif olarak sonuçlanmıştır. PZR pozitifliği olan 52 örnekte aynı zamanda kültür pozitifliği de saptanmışken 31'i kültür negatif olarak değerlendirilmiştir. PZR testi negatif olan 905 örneğin ise 9'unda kültür pozitifliği saptanmıştır.

Örneklerin klinik dağılımı incelendiğinde en fazla örnek gönderilen kliniklerin sırası ile göğüs hastalıkları (n:359), gastroenteroloji (n:156) ve enfeksiyon hastalıkları (n:117) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Klinik Dağılım

Klinikler	Sayı
Göğüs Hastalıkları	359
Gastroenteroloji	156
Enfeksiyon Hastalıkları	117
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları	98
Hematoloji	37
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	31
Diğer	227
Toplam	1025

Sonuç: TB'nin tanısında altın standart kültür olsa da PZR yöntemi *M. tuberculosis*'in tespitinde kullanılabilecek hızlı ve hassas bir yöntemdir. PZR testinin, özellikle ARB negatif olguların tanısında, kültüre göre 4-8 hafta zaman kazandırması gibi avantajları söz konusudur. Pahalı bir yöntem olması, ölü ve canlı basili ayırt edememesi gibi dezavantajları olsa da PZR testi, TB tanısında kültür ve diğer tanı testleri ile birlikte kullanılması tanı süresini kısaltacak ve erken tedavi şansını arttıracaktır.

Anahtar Kelime: Tüberküloz, PZR, Kültür

P5.*Mycobacterium tuberculosis* Kompleks'in Tanısında Kültür Öncesi Uygulanan Moleküler Tanı Testinin Önemi

Derya Altun, Ahmet Arslantürk, Nilay Uçarman, Alper Sarıbaş

SB Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB)'un erken ve hızlı tanısı özellikle son yıllarda çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB vakalarının artışı ile daha fazla önem kazanmıştır ve tedavinin etkinliği için klinisyenlere yardımcı olmaya devam etmektedir. *M. tuberculosis* kompleks (MTBK) tanısında hızlı moleküler testlerin gerekliliği, tanıda altın standart olan kültürün üreme zamanının uzunluğu ve tür düzeyinde tanıda yetersiz olması gibi dezavantajlardan dolayı ortaya çıkmıştır. GeneXpert MTB/RIF sistemi (Cepheid, Kaliforniya, ABD) doğrudan hasta materyalinden semikantitatif "nested" RT-PCR yöntemiyle MTBK ve Rifampisin direncini iki saatten kısa bir sürede saptayabilmektedir. Bu çalışmada GeneXpert sistemi sonuçlarının, kültür ve mikroskopi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 1 Ocak 2023-1 Nisan 2024 tarihlerinde laboratuvarımıza örnekten moleküler tanı testi çalışılması için gelen yayma, kültür ve GeneXpert sonucu olan 582(%52,2)'si akciğer, 535(%47,8)'i akciğer dışı olan toplam 1118 klinik örnek dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen klinik örnekler ön işlem sonrası üretici firmaların

önerileri doğrultusunda GeneXpert sistemi, ARB mikroskopisi (EZN yöntemi) ve kültür (LJ ve BACTEC MGIT 960 otomatize kültür sistemi-BD) işlemlerine alınmış; değerlendirme retrospektif yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan 1118 klinik örnekten 44(%3,9)'ünde (22 akciğer, 22 akciğer dışı) MTBK, 6(%0,5)'sında (tümü akciğer) Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) kültür ile saptanmış ve TDM üreyen örneklerin tamamında GeneXpert sistemi ile negatif sonuç alınmıştır. Kültür ile MTBK elde edilen 44 örneğin 40(%90,1)'i GeneXpert sistemi ile de MTBK olarak belirlenmiştir, 3(%6,8) örnekte negatif sonuç alınırken, 1 örnekte inhibisyon nedeniyle sonuç elde edilememiştir (Tablo1).

GeneXpert sistemi ile MTBK saptanan 36(%45)'sı akciğer dışı olan 79 örneğin 31(%38,75)'inde ARB pozitifliği, 50(%63,3)'sinde kültür pozitifliği tespit edilmiştir ve %100'ü rifampisin duyarlı olarak belirlenmiştir. GeneXpert sistemi ile elde edilen sonuçlar İlaç Duyarlılık Testi (IDT) ile doğrulanmıştır. GeneXpert sistemi ve kültür ile MTBK saptanan 40 örneğin 24(%60)'ünde ARB pozitifliği tespit edilmiştir. GeneXpert sistemi ile MTBK olarak saptanan 79 örneğin 39(%49,3)'u kültürde ürememiştir ve 7(%8,75)'sinin ARB'si de pozitif bulunmuştur (Tablo2).

Sadece GeneXpert istemi olan 258(%23,1) örneğin 4'ünde MTBK pozitif, 249'unda PCR negatif ve 5'inde geçersiz sonuç alınmıştır.

Bu durum sadece Genexpert testi sonucunun tedavi takibi ve tanı için yeterli olmadığını göstermektedir.

Tablo1. Kültür pozitif örneklerde Genexpert sistemi sonuçları

Gene Xpert	Kültür Pozitif Örnekler				Toplam
	MTBC		TDM		
	AC	AC DIŞI	AC	AC DIŞI	
Pozitif	22	18	-	-	40
Negatif	-	3	6	-	9
İnvalid	-	1	-	-	1
Toplam	44		6		50

Tablo2. Genexpert sistemi sonuçlarının mikroskopi ve kültür ile uyumu.

Gene Xpert	Kültür Pozitif			Kültür Negatif		
	ARB (+)	ARB (-)	Toplam	ARB (+)	ARB (-)	Toplam
	Pozitif	24	16	40	7	32
Negatif	3	6	9	2	1014	1016
İnvalid	-	1	1	-	13	13
Toplam	27	23	50	9	1059	1068

Sonuç: GeneXpert sistemi klinik örneklerde TB ve ÇİD-TB'nin erken tespitinde önemli bir yer tutmaktadır. Rifampisin direncinin erken tespit edilmesi, hastaların tedavisinin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Sonuçların kültür ve IDT ile uyumu izlenmelidir.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, GeneXpert, IDT, Rifampisin direnci.

P6. Adana bölge tüberküloz laboratuvarına 2023 Ocak-2024 Nisan arasında PCR çalışılması için gönderilen örneklerin tür profili

Hamdi GÖKAHMETOĞLU¹, Gülşah TOLLU²

¹ Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalı, Adana

² Mersin Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Mersin

Giriş ve Amaç: Bu çalışmada Türkiye’de bulunan Tüberküloz Bölge laboratuvarlarından biri olarak hizmet veren laboratuvarımıza 7 farklı ildeki hastane ve verem savaş dispanserlerinden 2023 yılı ve 2024 yılı Nisan ayına kadar gelen numunelerin PCR ve Sanger sekans yöntemleriyle profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu süre zarfında PCR için 926 numune gelmiş, Bunlar arasında büyük çoğunluğu balgam olmakla beraber beyin omurilik sıvısı(BOS), idrar, plevra, periton, bronkoalveolar lavaj (BAL), açlık mide sıvısı (AMS) gibi numuneleri içermektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızdaki örneklerin DNA izolasyonu mickle protokolü ve ticari kitlerle yapıldıktan sonra elde edilen DNA, Hsp65 ve Ins6110 gen bölgeleri için in house PCR yapılmış ve elektroforez işlemi ile de moleküler varlığı tespit edilmiştir. Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) olarak tespit edilen örnekler exosap ile temizleme, cycle sequence ile işaretleme ve çoğaltma, Sephadex ile saflaştırma basamaklarından sonra Sanger sekans dizileme yapılmış çıkan

sonuçlar <http://www.ncbi.nih.gov/BLAST> sitesinde analiz edilmiştir.

Bulgular: *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) tanısı için PCR yapılması amacıyla gönderilen 926 örnekten Hsp65 gen bölgesi için 441 bp’de bant veren örnekler mikobakteri olarak tanımlanmıştır. Bant vermeyen örnekler ise MTBK negatif olarak değerlendirilmiştir. Buna göre 21 pozitif, 905’i ise negatiftir. In house PCR ile MTBK pozitif çıkan 21 örnek için bu sefer Ins6110 gen bölgesi çalışılmış 245 bp’de bant veren örneklerden 8’i MTBK pozitif, bant vermeyen 13 örnek ise TDM olarak tanımlanmıştır.

Sonuç: Adana Bölge Tüberküloz laboratuvarı olarak işlev gören Çukurova Üniversitesi Tropikal Hastalıklar Araştırma ve Uygulama Merkezi’ne PCR yapılması için gönderilen 926 numuneden 905 inde Mikobakteri bulunamazken, 8’i MTBK pozitif, 13’ü ise TDM çıkmıştır. Bu 8 MTBK pozitif numunenin 4 tanesi balgam, 2’si BAL, 1’i BOS, 1 tanesi ise tiroid nodülüdür. TDM çıkan örneklerden 3’ü AMS, 2’si BOS, 5’i balgam, 1’er tanesi ise plevra, vücut sıvısı ve doku olarak kayıt altına alınmıştır. TDM saptanan örneklerin tür tanımlaması için Sanger sekans metodu çalışılmış, 5’i *M. abscessus*, 2’si *M. fortuitum*, 2’ si *M. gordonae*, 1’i *M. kansasii*, 1’i *M. Intracellulaire*, 2’si *M. avium* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, Mikobakteri, atipik

P7. Tıbbi laboratuvar teknikeri adaylarının tüberküloz hastalığı hakkındaki bilgi düzeyleri

Rukiye ASLAN¹, Aysel ARSLAN², Ahmet ALİM³

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sivas

²Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Eğitim Programları ve Öğretim Ana Bilim Dalı, Sivas

³Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Ana Bilim Dalı, Sivas

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) hastalığı, özellikle gelişmekte olan ülkelerde gün geçtikçe yaygınlaşan önemli bir halk sağlığı problemidir. TB'nin tetkik edilmesi sürecinde Tüberküloz Laboratuvarları (TBL)'nda çalışabilecek Tıbbi Laboratuvar Teknikeri (TLT) adayı olan öğrencilerin TB ile ilgili bilgi düzeyleri oldukça önemlidir. Bu çalışmada TBL'de, Laboratuvar Teknikeri olarak çalışacak TLT programı olan öğrenci bireylerin TB hakkındaki bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Tanımlayıcı, kesitsel tipte olan araştırma, 1-15 Mayıs 2024 tarihleri arasında, öğrenimlerine devam eden ve yeni mezun olmuş TLT adayı olan öğrencilerle gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda oluşturulan anket formu literatür taraması ile belirlenmiş olup, Sosyo-Demografik Bilgi Formu; 7-soru ve Tüberküloz Bilgi Formu;

14-soru olmak üzere toplam 21 sorudan oluşmaktadır. Sorular, araştırmaya katılmayı kabul eden 146 TLT adayı öğrenciye çevrimiçi platformlar aracılığıyla ulaştırılarak, cevaplandırmaları sağlanmıştır. Elde edilen veriler SPSS-23.0 programına aktarılarak istatistiksel analizi yapılmış ve $p<.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Araştırmaya katılan TLT adayı öğrencilerin %79.5 (n=116)'i kadın, %20.5(n=30)'i erkektir; %59.6(n=87)'si birinci sınıf, %37(n=54)'si ikinci sınıf öğrencisiyken, %3.4(n=5)'ü mezun konumundadır. Öğrencilerden %0.7 (n=1)'si daha önceden TB geçirmiş ve ailesinde TB geçirenlerin oranı %1.4(n=2)'dir. Öğrencilerden %24.7(n=36)'si daha önceden TB ile ilgili eğitim almıştır. TLT-adayı öğrencilerin TB bilgi düzeyleri ile cinsiyet, yaş, sigara kullanımı değişkenleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmezken ($p>.05$); sınıf düzeyi ve TB ile ilgili eğitim almış olma değişkenlerine göre anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<.05$). Adayların sorulara doğru cevap verme sıklığı en yüksek olan ilk üç soru: "Tüberküloz en sık akciğerde tutulum gösterir; (%95.2, n=139), Tüberkülozun en sık gözlenen semptomu öksürüktür; (%94.5, n=138) ve Tüberküloz damlacık (solunum) yoluyla bulaşır; (%91, n=133)" şeklindedir.

Tablo 1. Örnekleme Ait Demografik Bilgiler

Değişkenler		f	%
Cinsiyet	Kız	116	79.5
	Erkek	30	20.5
Yaş	18 yaş	18	12.5
	19 yaş	27	18.5
	20 yaş	41	28.1
	21 yaş	39	26.7
	22 yaş ve üzeri	21	14.4
Sınıf	1. sınıf	87	59.6
	2. sınıf	54	37.0
	Mezun	5	3.4
Sigara Kullanıyor musunuz?	Evet	31	21.2
	Hayır	115	78.8
Tüberküloz hastalığı geçirdiniz mi?	Evet	1	0.7
	Hayır	145	99.3
Ailenizde tüberküloz hastalığı geçiren var mı?	Evet	2	1.4
	Hayır	144	98.6
Daha önceden tüberkülozla ilgili herhangi bir eğitim aldınız mı?	Evet	36	24.7
	Hayır	110	75.3

Tablo 2. Anket Sorularına İlişkin Betimsel İstatistikler

Anket Soruları	Evet	%	Hayır	%
1. Tüberküloz etkeni olan mikroorganizma (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>) hakkında bilginiz var mıdır?	90	61.6	56	38.4
2. Tüberküloz damlacık (solunum) yoluyla bulaşır?	133	91.1	13	8.9
3. Tüberkülozu sağlık/laboratuvar personeline bulaşma riski fazladır?	131	89.7	15	10.3

4. Laboratuvar personeli olarak tüberkülozdan nasıl korunmam gerektiğini biliyorum?	95	65.1	51	34.9
5. Tüberküloza yakalanma riskini arttıran durumları biliyorum?	88	60.3	58	39.7
6. Tüberküloz en sık akciğerde tutulum gösterir?	139	95.2	7	4.8
7. Tüberkülozun en sık gözlenen semptomu öksürüktür?	138	94.5	8	5.5
8. Tüberküloz tanısının nasıl konulduğunu biliyorum?	83	56.8	63	43.2
9. Tüberkülozun tedavisi 6 ay sürmektedir?	96	65.8	50	34.2
10. Tüberküloz tedavisinde ilaçlara direnç gelişebileceğini biliyorum?	115	78.8	31	21.2
11. BCG aşısı tüberkülozu önler?	109	74.7	37	25.3
12. BCG aşısının uygulanma zamanını biliyorum?	56	38.4	90	61.6
13. Tüberküloz hakkında yeterli bilgiye sahip olduğumu düşünüyorum.	52	35.6	94	64.4
14. Laboratuvar çalışanı olacağımdan tüberküloza yakalanma endişesi taşıyorum?	85	58.2	61	41.8

Sonuç: TB ile ilgili daha önceden eğitim almış öğrencilerin bilgi düzeylerinin anlamlı olarak fazla tespit edilmiş olması Tüberküloz Laboratuvarları'nda Tekniker adayı olacak öğrencilerin, TB tanısı için gerekli laboratuvar sürecinde hem tanı konulması hem de sağlık personelinin bireysel korunma farkındalığının sağlanması açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, Tüberküloz Laboratuvarı, Tıbbi Laboratuvar Teknikeri, Bilgi Düzeyi.

P8. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatları ve bunların antimikobakteriyel direnç durumlarının araştırılması: on yıllık retrospektif çalışma

Ali ALBAY¹, Furkan KÜRKÇÜ², Zehra Leyla YAPALAK¹, Kübra ATILAN¹, Aylin VAR¹

¹SBÜ Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Ankara Etlik Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) bilinen en eski hastalıklardan birisidir ve Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyadaki ölüm sıralamasında 9. ve enfeksiyöz etkenlere bağlı ölümlerde HIV'in üzerinde en üst sırada yer almaktadır. Yanlış tedavi protokolü, hatalı ilaç kullanımı, yeterli süre ilaç kullanılmaması gibi etkenlere bağlı olarak anti-TB ilaçlara karşı dirençli izolatlar gelişmektedir. TB'de tedavi başarısı ortalama %82 iken bu oran çok ilaca dirençli (ÇİD) -TB'de %55'e, yaygın ilaca dirençli (YİD) TB'de ise %34'e düşmektedir. Çalışmamızda, 2013-2023 yılları arasında, 11 yıllık süre boyunca mikobakteriyoloji laboratuvarımızda izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) izolatlarının oranlarını ve bunların

birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı duyarlılıklarını araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2013-2023 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikobakteriyoloji laboratuvarına TB şüphesi ile gönderilen 16,294 hasta örneğinden izole edilen tüm mikobakteri izolatları dahil edilmiş ve MTBK izolatlarının birinci seçenek anti-TB ilaç duyarlılık testi sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Laboratuvara gönderilen ve kontamine olduğu düşünülen örnekler N-asetil-L-sistein ve sodyum hidroksit yöntemi kullanılarak homojenize ve dekontamine edilmiştir. Aseptik koşullarda alındığı düşünülen BOS, perikard sıvısı gibi örnekler ise dekontamine edilmeden homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Hasta örneklerinden Löwenstein-Jensen katı besiyerine ve BACTEC MGIT 960 tam otomatize sistem sıvı besiyerlerine kültür için ekim yapılmıştır. Ayrıca işlenen örneklerden preperat hazırlanarak Ehrlich-Ziehl-Neelsen yöntemi ile boyanmış ve ışık mikroskopunda aside dirençli bakteri açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda 11 yıllık süre boyunca Mikobakteriyoloji laboratuvarımıza TB şüphesi ile gönderilen 16,294 hasta örneğinden tekrarlayan hasta örnekleri çıkarıldığında, toplam 359 (%2,2) hastanın örneğinde mikobakteri üremesi saptanırken, bunların %76,3'ünün (n=274) MTBK olduğu görülmüştür. 16,294 hasta örneğinde

saptanan MTBK oranı %2,0 olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda MTBK olarak tanımlanan izolatlara yapılan anti-TB ilaç duyarlılık testinde %75,5 (n=207)'inin primer anti-TB ilaçların hepsine duyarlı, %24,4 (n=67)'ünün ise primer anti-TB ilaçlardan en az bir tanesine dirençli olduğu gözlenmiştir. 2013 ile 2023 yılları arasında MTBK suşlarında toplam ÇİD-TB oranı %5,4 olarak saptanmış olup önceki çalışmalar ve ülkemiz ortalamaları ile yakın oranlardayken, yıllara göre dağılıma baktığımızda ÇİD-TB oranı 2013 yılında %6,5 iken 2023 yılında saptanmamıştır. Yine çalışmamızda sadece INH ve RIF direnç oranına baktığımızda %2,9 olduğu görülmektedir.

YIL	ÖRNEK SAYISI	ARRB(-) SAYISI n (%)	KOLYCH(-) SAYISI n (%)	MYK SAYISI n (%)	TOPLAM SAYISI n (%)
2013	1425	34 (1,0)	49 (3,3)	46 (3,2)	30 (2,1)
2014	1036	30 (1,0)	81 (7,8)	69 (6,6)	70 (6,6)
2018	1361	19 (1,3)	44 (3,2)	38 (2,7)	60 (4,4)
2016	1333	12 (0,9)	35 (2,6)	21 (1,5)	14 (1,0)
2017	1087	9 (0,7)	27 (2,5)	17 (1,5)	19 (1,7)
2018	1481	10 (0,6)	31 (1,7)	20 (1,3)	6 (0,4)
2019	1872	26 (1,3)	39 (2,0)	34 (1,7)	25 (1,3)
2020	801	17 (1,7)	24 (2,4)	17 (1,7)	7 (0,7)
2021	1183	30 (2,5)	33 (2,7)	30 (2,5)	0 (0,0)
2022	1795	8 (0,4)	27 (1,5)	22 (1,2)	0 (0,0)
2023	1846	6 (0,3)	48 (2,6)	35 (1,9)	0 (0,0)
Toplam	16254	191 (1,1)	425 (2,6)	328 (2,0)	36 (0,2)

Tablo 1: Yıllara göre örnek sayıları ve pozitif örneklerin tür düzeyinde dağılımı

Sonuç: Çalışmamızda 2013-2023 yılları arasında MTBK görülme oranında başlangıç yıllarından günümüze doğru bir azalma olduğunu gözlemledik. Ancak elde ettiğimiz veriler, ülkemiz ve dünya verileriyle karşılaştırıldığında en az bir majör anti-TB ilaca direnç oranlarında hafif bir artış olduğu görülmekteyken, son yıllarda ÇİD-TB'nin görülmemesi ülkemiz açısından yüz güldürücüdür.

Anahtar Kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, Tüberküloz, Mikobakteri kültürleri, Antitüberküloz ilaç duyarlılığı, Çok ilaca dirençli tüberküloz, Yaygın ilaca dirençli tüberküloz.

	Sayı	Yüzde
Abse	17	5,98
Asit Sıvısı	3	1,05
BAL	31	10,91
Balgam	172	60,56
BOS	2	0,70
Doku	21	7,39
Eklemler Sıvısı	2	0,70
İdrar	2	0,70
AMS	19	6,69
Perikard Sıvısı	1	0,35
Plevra Sıvısı	10	3,52
Torasentez	3	1,05
Yara	1	0,35
Toplam	284	100,0

BAL: Bronkoalveolar Lavaj BOS: Beyin Omurilik Sıvısı AMS: Açlık Mide Sıvısı

Tablo 2: MTK saptanan hastaların ait örneklerin dağılımı

Örnek Türü	2013	2014	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Toplam
Örnek Türü	2013	2014	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Toplam
Abse	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Asit Sıvısı	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
BAL	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Balgam	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
BOS	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Doku	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Eklemler Sıvısı	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
İdrar	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
AMS	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Perikard Sıvısı	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Plevra Sıvısı	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Torasentez	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Yara	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Toplam	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	170

Tablo 3: Yıllara göre örneklerin anti-tüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları
*Prinzinolis (PZA) örneği, 2022 yılından itibaren bakılmaya başlanmıştır.

P9. *Mycobacterium tuberculosis*'te uzun okuma teknolojisi tam genom analizi için üç farklı DNA izolasyon yönteminin karşılaştırılması

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB), her yıl milyonlarca kişinin etkilendiği ve ölümlerin gerçekleştiği önemli bir küresel sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Yeni nesil dizileme, TB kontrolünde önemli bir etkiye sahip olan ilaca dirençli TB'nin hızlı tespiti ve karakterizasyonu için umut vaat etmektedir; uzun okuma tam genom dizilimi (uzun okuma-TGA), karmaşık ve tekrarlayan genomların analizi için özellikle dikkat çekmektedir. Ancak başarılı uzun okuma-TGA yüksek miktarlarda saf DNA elde edilmesine bağlıdır; bu da karmaşık hücre duvarı nedeniyle *M. tuberculosis* için özellikle zorludur. Bu çalışmada, *M. tuberculosis*'ten yüksek miktarlarda saf DNA ekstraksiyonunda dört DNA izolasyon yönteminin tam genom-TGA için etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: *M. tuberculosis* H37RV kolonileri BACTEC MGIT sıvı besiyerinde üretilmiştir. Her DNA ekstraksiyon protokolü için başlangıç materyali olarak iki tür pellet hazırlanmıştır; birincisi 1 ml McFarland 2 süspansiyonundan oluşan pellet, ikincisi iki MGIT sıvı kültür tüpünde üreyen kolonilerin tamamını içeren pellet. Üç DNA ekstraksiyon yöntemi değerlendirilmiştir: CTAB yöntemi ve bazı modifikasyonlarla GeneJET-GenomicDNA-Purification Kit, Quick-DNA-Fecal/Soil-

MicrobeKit ve Genematrix-Tissue/Bacterial-DNA-PurificationKit içeren üç spin kolon yöntemi. DNA kalitesi; konsantrasyon, saflık ve bütünlük esas alınarak değerlendirildi. DNA konsantrasyonu Qubit florometri, DNA saflığı Nanodrop ve DNA bütünlüğü "DNA integrity number" değeri olarak Agilent TapeStation cihazı ile ölçüldü. Her izolasyon yöntemi için üçer pellet hazırlandı. Pelletler, grupları ve yöntemleri bilmeyen kişi tarafından izolasyon yöntemlerine dağıtıldı.

Bulgular: İki MGIT-kültür tüpün kolonilerinden oluşan başlangıç materyalinden tüm izolasyon yöntemlerinde daha yüksek miktarda DNA elde edildi. Bu pellet türü kullanılarak test edilen yöntemler arasında DNA Quick-DNA-Fecal/Soil-MK, ortalama 85 ng/µl ile en yüksek DNA miktarı, 260/280 nm'de 1.9 değer ile en yüksek saflıkta ve en kısa sürede DNA izolasyonu başarısı göstermiştir. Ancak kit ile ortalama 7 değerinde DIN değeri ile daha düşük bütünlükte DNA elde edilmiştir. CTAB yöntemi, DNA'nın saflığı yeterli olmasa da en yüksek DNA bütünlüğünde DNA eldesi sağlamıştır.

Sonuç: Quick-DNA-Fecal/Soil-MK ile DNA bütünlüğü biraz bozulmuş olmasına rağmen, 2 MGIT sıvı kültüründen koloni pelletlerinden yüksek saflıkta ve miktarlarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Quick-DNA-Fecal/Soil-MK dışındaki diğer yöntemler, uzun süreli okunan tam genom dizilimi için uygun DNA ekstraksiyonu için daha yüksek bir başlangıç materyali

gerektirir. Genel olarak bulgular, TB tam genom araştırması için güvenilir ve yüksek kaliteli DNA elde etmek amacıyla uygun DNA ekstraksiyon yöntemlerinin seçilmesinin ve protokollerin optimize edilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: *M. tuberculosis*, uzun okuma tam genom, DNA izolasyonu, DNA konsantrasyonu, DNA saflık, DNA bütünlük

P10. Hemşirelik Yüksek Okulu'nda okuyan öğrencilerin tüberküloz hakkındaki farkındalıklarının ve bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi

Ayşe Sevim ÜNAL¹, Zeynep Aytül ÇAKMAK³
Özgül KISA²

¹Lefke Avrupa Üniversitesi, Hemşirelik Yüksekokulu, Lefke, KKTC

²Yüksek İhtisas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Ufuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Tüberküloz (TB) hastalığı, *Mycobacterium tuberculosis* bakterisinin neden olduğu, en çok akciğerleri etkileyen akut ve kronik bir hastalık olup aktif TB'li bir kişinin öksürmesi, hapsirması veya konuşması ile havaya karışan basillerin solunum yoluyla sağlıklı bir insanın akciğerlerine ulaşması ile gelişmektedir. TB enfeksiyöz hastalıklar içinde HIV/AIDS'ten sonra dünyada ölüme neden olan ve ekonomiye ağır yük getiren ikinci hastalıktır.

Günümüzde tedavi edilebilen hastalıklar arasında olmasına rağmen, tedavi edilmediğinde ölümcül olabilmektedir. Ayrıca, tedavinin yanlış uygulanması ya da yetersiz tedavi sonucu ilaç direnci gelişmektedir. Hastalığın kontrolüne ve önlenmesine yönelik tüm küresel çabalara rağmen, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde halen halk sağlığını tehdit eden önemli bir hastalık olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada, Ankara'da bulunan bir üniversitenin Hemşirelik Yüksek Okulu'nda okuyan öğrencilerinin TB hastalığı hakkındaki bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Tanımlayıcı ve kesitsel tipte planlanan bu çalışmada, araştırmacılar tarafından katılımcılara sınıf ortamında anket uygulaması hakkında bilgi verilmiştir. Araştırmacılar tarafından hazırlanan anket formu, bir gözetmen eşliğinde sınıflarda öğrencilere dağıtılmış, doldurulan anketler toplanmıştır. Anketlerin doldurulmasından sonra elde edilen veriler SPSS istatistik programında frekanslar, istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Gönüllülük esasıyla yürütülen anket çalışmasına 165 öğrenci katılmıştır. Katılımcıların %76,4'ü kadındır ve %56,4'ü 20-22 yaş aralığındadır. Öğrencilerin %73,9'u teorik dersleri dışında TB hastalığı ile ilgili mesleki bir eğitim almadıklarını, %78,8'i ise klinik uygulamalarda hiç TB hastası ile karşılaşmadıklarını ifade

etmişlerdir. Katılımcıların % 82,4'ü hastalığın solunum yolu ile bulaştığını, % 98,2'si bildirilmesi zorunlu bir hastalık olduğunu, %53,3'ü tedavide en az 6 ay etkin ilaç kullanımının gerektiğini, % 48,5'i akciğer TB'unda tanının balgam incelemesi ile konulduğunu, %63'ü TB hastalığından korunmak için aşılamanın ikinci ayda yapılması gerektiğini, % 60'ı hastane ortamında TB'lu hastaya bakım verirken ortamın havalandırılarak hastaya ve kendisine maske takarak korunmaya çalışacağını belirtmişlerdir.

Sonuç: Hemşireler hasta ile yakın teması olan sağlık çalışanları olduğu için hemşirelik öğrencilerinin TB hastalığı, tanısı ve tedaviye yönelik bilgi düzeylerinin artırılması için mezuniyet öncesi TB hastalığı hakkında tekrar bilgilendirme yapılmasının uygun olacağı değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, Hemşirelik, Öğrenci

P11. Mersin Üniversitesi Hastanesi'nde 2017-2023 Yıllarında İzole Edilen Mikobakterilerin MTBC/TDM Dağılım Oranları Pandemi ve Deprem Dönemlerindeki Değişimler

Leyla Ersoy¹, Kevser Elçi¹, Taylan Bozok¹, Eylem Sercan Özgür², Mukadder Çalikoğlu², Gönül Aslan¹

¹Mersin Ü. Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Ü. Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

Giriş ve Amaç: Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM)'lerin prevalansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. Bildirim zorunluluğu bulunmaması hastalığının epidemiyolojisine yönelik veri akışında eksikliklere neden olmaktadır. Ülkemizde ve bölgemizdeki TDM epidemiyolojisine ilişkin anlayışımıza rehberlik etmek için yerel verilere ihtiyaç vardır. Bu amaçla pandemi öncesi, pandemi dönemi ve sonrası, ülkemizde birçok ili etkileyen depremin olduğu 2023 yılını da kapsayacak şekilde hastanemizde izole edilen mikobakteriler, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC)/TDM'lerin oransal değişimi, TDM örneklerinde akciğer (AC) ve AC dışı örneklerin dağılımı analiz edilmiştir.

Gereç ve yöntem: Kesitsel bir çalışma olarak planlanan bu çalışmada, Ocak 2017- Aralık 2023 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Mikobakteriyoloji birimine klinik şüphe ile gönderilen, kültüründe mikobakteri üremesi tespit edilen örnekler değerlendirildi. Pandemi öncesi ve sonrasında; hastaların yaş, cinsiyet grupları, örnek tipi ve izole edilen MTBC/TDM oranları analiz edildi. İstatistik analizler SPSS 20.0 (IBM, Armonk, NY, ABD) programı kullanılarak yapıldı. P değeri 0,05'ten küçük olan sonuçlar anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmanın yapıldığı Ocak 2017- Aralık 2023 tarihleri arasında laboratuvarımıza gelen 23.002 örneğin 1.642 (%7,1)'sinin kültüründe mikobakteri üremesi tespit edilmiş; üreme tespit edilen 222 (%13,5) kültürde TDM üremesi saptanmıştır. TDM izolatları 58 (%70)'i erkek 25 (%30)'i kadın olmak üzere toplamda 83 hastaya aittir. Hastaların yaş ortalaması 56,5±14,8'dir. Pandemi öncesi (61±13) ve pandemi döneminde (54±15) hastaların yaş ortalamasında anlamlı şekilde azalma olduğu görüldü (p=0.032). Laboratuvarında çalışılan tüm örneklerdeki

8. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu

TDM tespit oranları, pandemi öncesi dönemde %0.7 iken, pandemi döneminde %1.2 olarak saptandı ($p=0.002$). Deprem öncesi ve sonrasında ise TDM oranlarının %0,9'dan %1.7'ye yükselmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.0005$). Dönemsel olarak MTBC ve TDM oranlarındaki değişimler Tablo 1'de verilmiştir. TDM izole edilen örneklerin %96'sı akciğer (balgam, BAL, AMS) örneği idi. Pandemi öncesinde örneklerin %97'si AC örnekleri iken, bu oran pandemi döneminde %90, depremin olduğu yıl içinde de %87'ye gerilemiştir (Tablo 2). Hastaların 27'sinin tek balgam örneğinde, 42'sinin en az iki balgam örneğinde TDM üremesi tespit edildi.

Sonuç: Laboratuvarımızın bölge tüberküloz (TB) laboratuvarı olması ve bölgedeki tüm TB şüpheli örneklerin laboratuvarımıza gelmesinden dolayı verilerimiz Mersin bölgesini yansıtmaktadır. Çalışmamızda pandemi öncesi, pandemi dönemi ve depremi yaşadığımız 2023 yılı ile birlikte yedi yıllık bir zaman dilimi analiz edilmiş, bu yıllardaki TDM oranlarına dair sınırlı epidemiyolojik veri sağlanmıştır. Bulgularımız doğal afetler ve salgınlar gibi toplumu etkileyen olağan üstü durumların mikobakteriyel enfeksiyonlarda artışa neden olabileceğini düşündürmektedir. Hastalık etkeni TDM türlerinin tanımlanarak ilaç duyarlılıklarının da tesbit edileceği daha kapsamlı ve çok merkezli çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı inancındayız.

	Yıl	Çalışılan örnekler (n)	MTBC tespit edilen örnekler (n/%)	TDM tespit edilen örnekler (n/%)	Mikobakteri üreyen örneklerdeki TDM oranı (%)
Pandemi öncesi	2017	5168	226 (4.4)	58 (1.1)	%20.4
	2018	4837	283 (5.9)	30 (0.6)	%9.6
	2019	4099	216 (5.3)	17 (0.4)	%7.3
	Toplam	14104	725 (5.1)	104 (0.7)	%12.5
Pandemi dönemi ve sonrası	2020	2238	128 (5.7)	16 (0.7)	%11.1
	2021	2094	154 (7.4)	23 (1.1)	13%
	2022	2338	205 (8.8)	40 (1.7)	%16.3
	Toplam	6670	487 (7.3)	79 (1.2)	%13.4
Deprem yılı	2023	2228	208 (9.3)	38 (1.7)	%15.4

	AC örnekleri (n=212)			AC dışı örnekler (n=9)			
	Balgam	BAL	AMS	Abse	Doku	İdrar	Gaita
Pan. Öncesi	101	-	-	1	1	1	-
Pan. dönemi ve sonrası	71	2	1	-	2	-	3
Deprem	33	4	-	-	1	-	-

Anahtar kelimeler: Mikobakteriler, tüberküloz dışı mikobakteriler, pandemi, deprem

P12. Hastanemizde 2019-2024 Yılları Arasında Klinik Örneklerden İzole Edilen Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Değerlendirilmesi

Çisem Karaoğlu¹, Ebru Us¹, Ebru Evren¹, Zeynep Ceren Karahan¹, Nilay Uçarman², Ahmet Arslantürk²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Giriş ve Amaç: Tüberküloz dışı mikobakteriler(TDM) doğada serbest yaşayan, su sistemlerinde, toprakta ve

bitkilerde bulunduğu bilinen çevresel saprofit organizmalardır. TDM'lerin neden olduğu enfeksiyonlar dünya çapında giderek artmaktadır ve bu bakterilerin birçok yaygın antibiyotiğe karşı intrensek direnci nedeniyle tedavileri oldukça zordur. TDM'ler çok çeşitli klinik tablolara yol açabilir. Akciğer enfeksiyonu en sık görülen klinik bulgudur. TDM'ler insanlar için fırsatçı patojenler olarak kabul edilir. Bu organizmalara günlük yaşamda sıkça maruz kalınmaktadır ancak enfeksiyon bazı bireylerde daha sık ortaya çıkar. Bunlar arasında kistik fibrozis, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, bronşektazi, geçirilmiş akciğer tüberkülozu ve akciğer kanseri gibi hem genetik hem de edinilmiş yapısal akciğer hastalıkları olan hastalar yer alır. Bu çalışmada hastanemizde 2019-2024 tarihleri arasında tespit edilen TDM'lere ilişkin demografik verileri, örnek türlerini, ek hastalık varlığını, identifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarını paylaşmak ve literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Ocak 2019-Nisan 2024 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısı ile Ankara Üniversitesi İbni Sina Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Mikobakteri Laboratuvarı'na gönderilen örnekler dahil edilmiştir. Flora içermeyen örnekler direkt, diğer örnekler homojenizasyon, dekontaminasyon, konsantrasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Örneklerin tanımlanmasında Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boyama, kültür için Löwenstein Jensen besiyeri ve BACTEC MGIT 960 (BD, ABD) otomatize sistemi kullanılmıştır. TDM ayırımında immünokromatografik kart test(BD, ABD) kullanılmıştır. TDM saptanan ve hastada etken olduğu düşünülen izolatlar, klinik istem üzerine TDM identifikasyonu ve ilaç duyarlılık testleri için, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

Bulgular: Belirtilen tarihler arasında 14683 örnek laboratuvara kabul edilmiş ve kültür işlemi uygulanmış, 155 örnekte(%1,05) TDM

tespit edilmiştir, yıllara göre yüzdelerinde bir artış görülmemiştir (Tablo-1).147 hastaya ait 155 örnekten 46'sı tür düzeyinde tanımlanmış, 25'ine antimikrobiyal duyarlılık testi çalışılmıştır. TDM saptanan hastaların %52'si erkek, %48'i kadın, yaş ortalaması 53'tür.Örnek türleri arasında en çok solunum yolu örnekleri(%79) yer almaktadır. Komorbiditelere bakıldığında en sık metabolik hastalık(%30,5), yapısal/fonksiyonel solunum sistemi hastalıkları(%30), malignite (%21), kronik inflamatuvar/otoimmün hastalık(%14,5) eşlik etmektedir. TDM'lerin ortalama üreme süresi 16 gündür. Tiplendirilen 46 izolattan 12'si *M. avium* spp., 8'i *M. fortuitum* group, 7'si *M. intracellulare*, 6'sı *M. chelonae*, 5'i *M. abscessus complex* olarak belirlenmiştir (Tablo-2). Amikasin, linezolid, moksifloksasin hızlı üreyen TDM türlerinin hepsinde duyarlı bulunmuştur. Tüm TDM türleri trimethoprim-sulfametoksazole dirençli bulunmuştur (Tablo-3).

Tablo-1: Yıllara Göre Mikobakteri Türlerinin Dağılımı

	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2019-2024
MTK	35 (%0,95)	27 (%1,80)	37 (%1,69)	27 (%0,93)	25 (%0,77)	8 (%0,63)	159 (%1,00)
TDM	58 (%1,60)	16 (%1,06)	28 (%1,20)	28 (%0,97)	23 (%0,70)	3 (%0,15)	155 (%1,05)
ÖRN SAYISI	3617	1497	2179	2880	3345	1365	14683

Tablo-2: Tiplendirmeye yollanan TDM'lerin tür dağılımları

	TDM TÜRLERİ n (%)
<i>M. abscessus complex</i>	5 (%11)
<i>M. avium spp.</i>	12 (%26)
<i>M. chelonae</i>	6 (%14)
<i>M. fortuitum group</i>	8 (%17)
<i>M. intracellulare</i>	7 (%15)
<i>M. lentiflavum</i>	2 (%4)
<i>M. species</i>	4 (%9)
<i>M.szulgai</i>	1 (%2)
Mix (<i>M. intracellulare</i> + <i>M. avium</i>)	1 (%2)
TOPLAM	46

Tablo-3: Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Çalışılan İzolatların Duyarlılık Sonuçları

TMM	AK	KLR	EMB	LİN	DOX	MOX	FOX	CİP	RİF	RFB	SXT	KAN	TOB	AZT	GN	İMP
n=25	AK	KLR	EMB	LİN	DOX	MOX	FOX	CİP	RİF	RFB	SXT	KAN	TOB	AZT	GN	İMP
M. tuberculosis complex (n=1)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
M. avium group (n=2)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
M. goodii (n=1)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
M. fortuitum group (n=2)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
M. cosmeticum (n=1)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
M. neoaurum (n=2)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

S:Duyarlı, I: Yüksek dozda duyarlı, R: Dirençli, AK: Amikasin, KLR: Klaritromisin, EMB: Etambutol, LİN: Linezolid, DOX: Doksisisiklin, MOX: Moksifloksasin, FOX: Sefoksitin, CİP: Siprofloksasin, RİF: Rifampisin, RFB: Rifabutin, SXT: Trimethoprim-Sulfametaksazol, KAN: Kanamisin, TOB: Tobramisin, AZT: Azitromisin, GN: Gentamisin, İMP: İmipenem

Sonuç: Son yıllarda ülkemizde ve dünyada immunsupresyonu, komorbiditesi olan hastalarda TDM enfeksiyonlarındaki artış dikkat çekmektedir. Tekrarlayan TDM üremeleri, hastanın kliniği ve radyolojik bulgularla beraber değerlendirilmeli, etken/çevresel kontaminasyon ayrımı yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Mikobakteri, TDM, immunsuprese

Yazar İndeksi

Abdurrahman ERSOY

Ahmet ALİM

Ahmet ASLANTÜRK

Ali ALBAY

Alper Sarıbaş

Anona BAMFORD

Arzu NAZLI

Aslı ÇELİKKOL

Asuman BİRİNCİ

Aydan ÖZKÜTÜK

Aylin VAR

Aysel ARSLAN

Ayşe Sevim ÜNAL

Begüm KAYAR

Burak ŞAHİN

Burcu Gürer GİRAY

Büşra DEDECAN

Can Berk KURT

Can BİÇMEN

Ceren KARAHAN

Çisem Karaoğlu

Deniz GAZEL

Derya Altun

Derya ÖZARSLAN

Desen BÜYÜKSOY

Duygu ÇELİK

Ebru EVREN

Ebru Us

Edanur YEŞİL

Edibe NAMLI BOZKURT

Ediz TÜTÜNCÜ

Elif OĞUZMAN

Emine AVCI

Ergin ÇİFTÇİ

Erkan MOZİOĞLU

Esra TÜRKEN

Eylem Sercan ÖZGÜR

Fatih KÖKSAL

Fehmi ATEŞ

Ferdi Çetin

Figen TURSUNOĞLU

Furkan KÜRKCÜ

Gizem KILIÇ

Gizem SELE

Gönül ASLAN

Görkem YAMAN

Gülfer YAKICI

Gülnur TARHAN

Gülşah TOLLU

Hakan ŞENOĞLU

Hakan YARDIMCI

Halil PİR

Hamdi GÖKAHMETOĞLU

Hülya ŞİMŞEK

Kevser Elçi

Khaoula BALGOUTHİ

Kübra ATILAN

Leyla ERSOY

Lülüfer TAMER

Maria TERRY

Mehmet KURUŞ

Mehtap AKÇA

Meltem AYAŞ

Merve Hilal ALTINLI

Meryem DEMİR

Mukadder Çalhkoğlu

Nalan YILDIZ

Necdet KUYUCU

Necmiye CANACANKATAN

Neval Yurtttutan UYAR

Nilay UÇARMAN

Nuran DELİALİOĞLU

Nuran ESEN

Nuri ÖZKÜTÜK

Oktay BAYRAKTAR

Orhan BAYLAN

Özgül KISA

Özgür APPAK

Rukiye ASLAN

Sedat VEZİR

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU

Şeref ÖZKARA

Tanıl KOCAGÖZ

Taylan BOZOK

Uğur BOZLAR

Ülker Çuhacı

Yağmur Seda YEŞİLTAŞ

Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI

Yusuf UYSAL

Zehra Leyla YAPALAK

Zeynep Aytül ÇAKMAK

Zeynep Ceren Karahan

Zeynep SARIBAŞ