

Tüberküloz Plörezi Tanısında Mikrobiyolojik Kültür Yöntemlerinin Değeri: 283 Olgunun Analizi

Özgül KISA(*), Ergun TOZKOPARAN(**), Ramazan GÜMRAL(*), Ömer DENİZ(**),
Ali ALBAY(*), Orhan BAYLAN(*)

(*)GATA ve Askeri Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
(**)GATA ve Askeri Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET

Bu retrospektif çalışmayı, tüberküloz plörezi (TP) olgularının klinik, bakteriyolojik ve diğer laboratuvar bulgularını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirdik. TP tanısı almış, yaş ortalaması 25.1 ± 9.2 olan, 259'u erkek, 24'ü kadın olmak üzere toplam 283 olgu incelendi. Olguların 143 (%50.5)'ü histopatolojik olarak, geriye kalan 140 olgu (%49.5) ise plevra sıvısında adenosin deaminaz (ADA) yüksekliği ve/veya diğer klinik ve radyolojik bulgularla TP tanısı almıştı. Plevral sıvı örneklerinden 41 (%14.5)'i bakteriyolojik yönden pozitif. Bunların 12'si mikroskopik inceleme, 29'u Löwenstein-Jensen (LJ) kültürü ve 33'ü BACTEC 460 TB sistemi ile pozitif bulundu. Her iki kültür yöntemi ile toplam 39 örnek *M.tuberculosis* yönünden pozitif bulundu. İki plevral sıvı örneği mikroskopik olarak pozitif bulunmasına rağmen, kültürlerde üreme saptanmadı. Bakteriyolojik olarak pozitif saptanan bu 41 örneğin 18'i histopatolojik yönden negatifti. Böylelikle tanısı patolojik olarak doğrulanmayan olguların %12.8 (18/140)'inde tanı, bakteriyolojik olarak kesinleştirildi. Plevra sıvısının mikroskopik ve kültür incelemesinin, kesin tanı oranını arttırdığı ve bu yüzden histopatolojik ve diğer bakteriyolojik incelemelerle birlikte mutlaka yapılması gerektiği kanısına vardık.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz plörezi, plevral sıvı, tanı, kültür

SUMMARY

The Value of Microbiologic Culture Methods in Diagnosis of Tuberculosis Pleurisy: The Analysis of 283 Cases

We performed this retrospective study for the evaluation of clinical, bacteriological and other laboratory findings of tuberculosis pleurisy cases. Total of 283 cases, 259 male and 24 female diagnosed as tuberculosis pleurisy were investigated. The mean age of the patients was 25.1 ± 9.2 years. The diagnosis of tuberculosis pleurisy for 143 (50.5%) cases was done by histopathological evaluation and for 140 (49.5%) cases was done by adenosine deaminase (ADA) level of pleural effusion and/or the other clinical and radiological findings. Forty-one (14.5%) of pleural fluid specimens were detected as positive bacteriologically. Of these specimens, 12 were determined as positive by microscopic examination while 29 specimens by Löwenstein Jensen (LJ) culture and 33 specimens by BACTEC 460 TB culture system were positive. Total of 39 specimens were found as positive for *Mycobacterium tuberculosis* by two culture methods. The microscopic examination of two pleural fluid specimens was positive whereas culture results of them were negative. Eighteen of these 41 specimens bacteriologically positive were negative by histopathological examination. Definitive diagnosis were made by bacteriologically in 12.8% (18/140) of pleural fluid specimens which were not diagnosed by the histopathological evaluation. Since microscopic examination and culture increase the ratio of definitive diagnosis of tuberculous pleurisy we think that both histopathological and bacteriological examination should be absolutely performed.

Key words: Tuberculous pleurisy, pleural effusion, diagnosis, culture

GİRİŞ

Tüberküloz, halen günümüzün önemli bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Tüberküloz plörezi (TP), ekstrapulmoner tüberküloz olgularının içinde tüberküloz lenfadenitten sonra en sık görülen formu olup *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucunda oluşan plevral effüzyon olarak tanımlanabilir (1-3). TP, genellikle primer infeksiyonun erken bir komplikasyonu olarak gelişebileceği gibi, post-primer tüberkülozun reaktivasyonu ile de oluşabilmektedir (1,4).

TP'nin tanısı, plevral sıvının analizi ve plevral biyopsi örneğinin incelenmesi ile konulur. Alınan örneklerin biyokimyasal analizi, histopatolojik ve mikrobiyolojik incelemeleri yapılır (2,3). TP'nin tanısı için kullanılan mikrobiyolojik yöntemler Ehrlich Ziehl-Neelsen (EZN) boyama ile aside dirençli basil (ARB)'in mikroskopik olarak gösterilmesi ve *Mycobacterium tuberculosis*'in kültürde üretilmesidir (1-5). EZN boyama, hızlı ve ucuz, ancak duyarlılığı düşük bir yöntemdir. BACTEC 460 TB kültür sistemi gibi otomatize sistemlerinin kullanımı ile kültür yönteminin duyarlılığı artmış ve üreme süresi kısalmıştır (2-5). Son yıllarda adenoazin deaminaz (ADA) ölçümü ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi hızlı sonuçlanan yeni yöntemler kullanılmaya başlanmıştır (1,2).

Bu çalışmada, mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen plevral sıvı örneklerinin mikroskopik inceleme ve kültür sonuçları retrospektif olarak incelenmiş ve TP tanısındaki değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği'nde Ocak 1998- Aralık 2003 tarihleri arasında TP tanısı alan ve Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na plevral sıvı örneği gönderilen 283 hastanın kayıtları ve laboratuvar sonuçları retrospektif olarak incelendi.

Laboratuvara gönderilen plevral sıvı örnekleri, "Centers for Disease Control and Prevention" tarafından önerilen N-asetil-L-sistein-NaOH (NALC-NaOH) yöntemiyle dekontamine ve homojenize edildi (6). Her örneğe fosfat tamponu (pH:6.8) ilave

edilerek 15-20 dakika 3000xg'de santrifüj edildi. Elde edilen sediment, 5 ml. fosfat tamponu ile tekrar sulandırılarak BACTEC 7H12B sıvı besiyerine ekimi yapıldı ve %5-10 CO₂'li ortamda 37°C'de inkübasyona bırakıldı. BACTEC şişeleri ilk üç hafta haftada üç kez, daha sonraki üç haftada ise bir kez BACTEC 460 TB cihazında okutularak büyüme indeksleri değerlendirildi. Büyüme indeksi ≥ 10 olan örnekler pozitif, altı hafta sonunda büyüme indeksi < 10 olan örnekler ise negatif olarak kabul edildi. Ekim için hazırlanan örneklerden ve pozitif bulunan BACTEC şişelerinden, sonucu doğrulamak amacıyla mikroskopik inceleme için preparat hazırlanarak EZN yöntemi ile boyandı. *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) ve non-tüberküloz mikobakterilerin ayırımı p-nitro- β -acetyl-amino- β -hydroxy-propiophenone (NAP) testi ile yapıldı (7). Aynı sediment örneğinden LJ besiyerine yapılan ekimler, 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve sekiz hafta süresince haftada bir kez üremeleri kontrol edildi.

BULGULAR

TP tanısı almış 283 hastanın 259 (%91.5)'u erkek, 24 (% 8.5)'ü kadın olup, yaş ortalamaları 25.1 ± 9.2 yılıydı. Olguların 143 (%50.5)'ü histopatolojik olarak, geriye kalan 140 olgu (%49.5) ise plevra sıvısında ADA yüksekliği ve/veya diğer klinik ve radyolojik bulgularla TP tanısı aldı. Plevral sıvı örneklerinden 41 (%14.5)'i bakteriyolojik yönden pozitifti. Bu 41 örneğin %4.2 (12/283)'si mikroskopik inceleme, %10.2 (29/283)'si LJ, %11.7 (33/283)'si BACTEC 460 TB kültür sistemi ile pozitif bulundu. Her iki kültür yönteminin kombinasyonu ile %13.8 örnekte üreme gösterildi. Mikroskopik inceleme ile iki olguda pozitiflik olmasına rağmen kültürlerde üreme saptanmadı. Histopatolojik yönden negatif bulunan 18 örneğin kültüründe *M.tuberculosis* üretildi. Böylelikle tanısı patolojik olarak doğrulanmayan olguların %12.8 (18/140)'inde tanı bakteriyolojik olarak kesinleştirilmiş oldu.

TARTIŞMA

TP, ekstrapulmoner tüberküloz olguları içinde lenfatik tutulumdan sonra % 23-40 oranı ile ikinci sıklıkta görülmektedir (8,9). TP'nin genellikle primer infeksiyonun ardından plevral aralığa geçen mikobakteriyel antijenlere karşı gecikmiş tip aşırı duyarlılık

reaksiyonu nedeniyle ortaya çıktığı kabul edilir (4). Bu nedenle, tüberküloz infeksiyonunun yaygın olduğu ülkelerde çocuklarda ve genç erişkinlerde daha sıklıkla rastlanır. İnfeksiyon sorununu büyük ölçüde çözümlenmiş ve tüberküloz insidansının düşük olduğu gelişmiş ülkelerde ise daha ileri yaşlarda görülmektedir. Bu ülkelerde daha çok geç alınmış primer infeksiyon veya post-primer tüberküloza eşlik ettiği için ileri yaş grubunda karşılaşılmaktadır. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, TP'nin 30 yaş altındaki gruplarda görüldüğü bildirilmektedir (10-12). Ancak Ak ve ark. (13)'ları yaş ortalamasını 42, Kıraklı ve ark. (14)'ları 37.7, Yurdakul ve ark. (15)'ları ise 34.2 bulmuşlardır. Çalışmamızda hastaların yaş ortalaması 25.1 ± 9.2 olarak bulunmuştur. Yaş ortalamasının düşüklüğü, hasta popülasyonumuzun büyük çoğunluğunun askerlik görevini yapan genç kişiler olması ile açıklanabilir. Ülkemizde TP'li olguların genç erişkin yaş grubunda kümelenmesi ise infeksiyonun toplumumuzda halen aktif nüfus arasında yaygın olduğunu göstermesi bakımından oldukça önemlidir. Tüberküloz infeksiyonu, insidansı düşük olan gelişmiş ülkelerde ise TP daha çok tüberküloz reaktivasyonun komplikasyonu olarak ortaya çıkmakta ve 47-56 yaş gibi ileri yaş ortalamaları bildirilmektedir (14).

TP tedavi edilmeden iyileşebilir. Ancak tedavi edilmeyen olgularda ilk beş yıl içinde %65 oranında aktif akciğer tüberkülozu veya akciğer dışı tüberküloz formları oluşabilmektedir. Bu formların gelişimi antitüberküloz tedavi ile önlendiği için TP tanısının konulması ve tedavisi çok önemlidir (16,17).

TP'nin kesin tanı yöntemlerinden birisi, plevral sıvıda mikroskopik inceleme ile ARB saptanması ve

kültürde Mycobacterium tuberculosis'in üretilmesidir. TP olgularında plevral sıvıda ARB saptama oranı, ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda mikroskopik inceleme ile %1.3-4.8, kültür ile %0.4-13 arasında bulunmuştur (9-11,14,15,18) (Tablo 1). Çalışmamızda bu oranlar, mikroskopik inceleme ile %4.2, kültür ile %13.8 olarak saptanmıştır. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda, mikroskopik inceleme ile %5 oranında, kültür ile %23-37 oranında M.tuberculosis pozitifliği bildirilmektedir (19-21). Yapılan bazı çalışmalarda plevral sıvıda ARB saptama oranlarının düşüklüğü nedeni ile bakteriyolojik çalışmaların TP tanısına önemli bir katkı sağlamadığı vurgulanmıştır (9,14,15). Ancak çalışmamızda histopatolojik yönden negatif bulunan 18 örneğin kültüründe M.tuberculosis üretilmiş, TP tanısı patolojik olarak doğrulanmayan olguların %12.8 (18/140)'inde tanı bakteriyolojik olarak kesinleştirilmiştir. Bizim çalışmamızı diğerlerinden farklı kılan özellik, altı yıllık retrospektif tarama sonucunda toplam 283 olgunun incelenmiş olmasıdır. Bizim tarayabildiğimiz kadarıyla bu çalışma literatürde bu alanda yapılan en fazla olgu sayısına sahip çalışmadır.

TP'nin kesin tanı yöntemlerinden birisi de plevral biyopsi dokusunda kazeifikasyon nekrozu gösteren granülomların gösterilmesidir. Yapılan çalışmalarda, plevral biyopsi örneklerinde granülomların saptanma oranı %52.4-86.3 oranında bildirilmektedir (9-15,18) (Tablo 1). Bu çalışmada, plevra biyopsisi ile histopatolojik tanı koyma oranı %50.5 olarak bulunmuştur. Biyopsi örneğinin yeterliliği, alınan örneğin büyüklüğü, kullanılan iğnenin tipi ve en önemlisi plevranın hastalıklı bölgeden alınması tanıda önemli rol oynar (11). Alınan biyopsi örneğinin sayısı fazla olduğunda, tanı koyma oranının arttığı bildirilmekte-

Tablo 1. Ülkemizde yapılan çalışmaların mikrobiyolojik ve histopatolojik inceleme sonuçları

Çalışmalar (Kaynak no)	Olgu sayısı	Mikroskopik inceleme pozitifliği (%)	Kültür pozitifliği (%)	Patolojik inceleme (%)	Patolojik inceleme (%)
Ulubaş ve ark. (10)	164	4.8	0.4	52.4	52.4
Kıraklı ve ark. (14)	185	1.6	2.7	84.9	84.9
Mihmanlı ve ark. (9)	105	-	5	72.8	72.8
Yurdakul ve ark. (15)	80	1.3	6.3	86.3	86.3
Gök ve ark. (18)	46	-	13	68	68
Asan ve ark. (11)	108	-	12.5	76.8	76.8
Ak ve ark. (13)	58	-	-	62	62
Ece ve ark. (22)	-	-	-	68	68
Sunulan çalışma	283	4.2	13.8	50.5	50.5

dir (10-12). Plevral biyopsi örneklerinin mikrobiyolojik incelemesinin yapılması da tanı oranını arttırmaktadır. Plevral biyopsi örneklerinin kültüründe %39-45.8 oranında ARB üretilmiştir (11,18,22) (Tablo 1). Örneklerinin histopatolojik ve bakteriyolojik olarak birlikte incelenmesinin tanısal verimliliği ise %87.8-95 oranında bildirilmektedir (4,9,11,19,23). Bu çalışmada TP düşünülen hastalardan alınan plevral biyopsi örnekleri, mikobakteriyolojik incelemeye gönderilmemiş, sadece plevral sıvıların bakteriyolojik incelemesi yapılmıştır.

TP'li hastalarda plevra sıvısında çok az sayıda basil bulunduğu için bakteriyolojik çalışmalar negatif olarak sonuçlanabilir. Mikroskopik inceleme ile mikobakteri saptanabilmesi için hasta örneğinde en az 10^4 /ml. basil, kültür yönteminde ise 10-100 canlı basil bulunmalıdır (1,5). BACTEC 460 TB kültür sistemi gibi otomatize sistemlerinin kullanılması kültür yöntemlerinin duyarlılığını arttırmış, ortalama saptama zamanını ise kısaltmıştır (2,3). Ayrıca birkaç kez ve mümkün olduğu kadar fazla miktarda plevral sıvı gönderilirse ARB saptama olasılığı arttırılabilir.

Erken tanı için plevra sıvısında PCR ve ADA düzeylerinin ölçülmesi gibi çeşitli laboratuvar testleri gündeme gelmiştir. PCR, mikobakteriyel DNA'nın amplifikasyonuna dayanan ve çabuk sonuç veren bir yöntemdir. TP'de PCR'nin tanısal duyarlılığı %20-80, özgüllüğü ise %78-100 arasında değişmektedir (4). PCR, kültür pozitif plevral sıvı örneklerinde %100 pozitif olmasına rağmen, kültür negatif plevral sıvı örneklerinin sadece %30-60'ında pozitif bulunduğu için rutin kullanımı önerilmemekte, ancak araştırma amaçlı düşünülebileceği belirtilmektedir (4). Plevral sıvıda ADA ölçümü tanıda yarar sağlamasına rağmen, ampiyem, lenfoma, lenfoma dışı bazı malign sıvılarda ve intrasellüler infeksiyonlarda da yükselebilir (1,8,13). Yapılan bir çalışmada PCR veya ADA ölçümünün TP tanısında mevcut tanı yöntemleri yerine kullanılmaması gerektiği, ancak bu yöntemlere ilave bir tanı aracı olarak veya her ikisinin kombine kullanımının faydalı bir yaklaşım olabileceği vurgulanmıştır (2). Başka bir çalışmada ise, PCR yönteminin BACTEC 460 TB kültür sistemi veya histopatolojik inceleme gibi bir yöntem ile birlikte kullanıldığında plevral biyopsi örneklerinden

TP tanısı için faydalı olabileceği bildirilmiştir (3).

TP olgularında bakteriyolojik ve histolojik incelemeler, %10-20 oranında tanı koydurucu özellikte olmayabilir (1). Bu olgularda başka bir etiyolojinin saptanamaması, pozitif tüberkülin deri testi, plevral sıvıda lenfosit hakimiyeti ve ADA düzeyi yüksekliği gibi kriterlerin varlığı ve antitüberküloz tedaviye cevap alınması, TP tanısı konulmasında destekleyici bulgular olmaktadır (1,4,14).

Sonuç olarak; TP, ülkemizde genç yaş grubunda görülmektedir. İlk tanısal girişimler negatif gelirse, mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler tekrarlanmalıdır. Mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler birlikte kullanıldığında tanı değeri artmaktadır. Mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler ile tanı sağlanamadığında plevral sıvıda lenfosit hakimiyeti ve ADA düzeyi yüksekliği, plevral sıvı veya biyopsi örneğinde PCR yönteminin kullanılması tanıda yararlı bulgular sağlayabilir. Tanıya önemli katkısının yanısıra özellikle direnç oranlarının yüksek olduğu ülkemizde basil elde edebilmek için plevral sıvı ve biyopsi örneğininin kültürü mutlaka yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Valdes L, Pose A, San Jose E, Vazquez JMM: Tuberculous pleural effusions. *Eur J Intern Med* 14:77 (2003).
2. Lima DM, Colares JKB, da Fonseca BAL: Combined use of the polymerase chain reaction and detection of adenosine deaminase activity on pleural fluid improves the rate of diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest* 124:909 (2003).
3. Hasaneen NA, Zaki ME, Shalaby HM, El-Morsi AS: Polymerase chain reaction of pleural biopsy is a rapid and sensitive method for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 124:2105 (2003).
4. Ferrer J: Pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 10:942 (1997).
5. Nagesh BS, Sehgal S, Jindal SK, Arora SK: Evaluation of Polymerase Chain Reaction for detection of Mycobacterium tuberculosis in pleural fluid. *Chest* 119:1737 (2001).

- 6.Kent BD, Kubica GP: Public Health Mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. p 1, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, Atlanta (1985).
- 7.Siddiqi SH: Procedure for primary isolation of mycobacteria from clinical specimens. "BACTEC TB System Product and Procedure Manual", p II.1, Becton Dickinson, Maryland (1989).
- 8.Aktoğu S: Tüberküloz Plörezi. Solunum 4:127 (2002).
- 9.Mihmanlı A, Özşeker F, Baran A, Küçük F, Atik S, Akkaya E: Tüberküloz plörezili 105 olgunun değerlendirilmesi. Tüberküloz ve Toraks 52:137 (2004).
- 10.Ulubaş BB, Mutlu AG, Ökten F, Başer Y: 164 tüberküloz plörezili olgunun retrospektif incelenmesi. Solunum Hastalıkları 11:401 (2000).
- 11.Asan E, Şenyiğit A, Topçu F, Kırbaş G, Coşkunsel M, Özekinci T: Tüberküloz plörezili 108 olgunun analizi. Solunum Hastalıkları 11:282 (2000).
- 12.Metintaş M, Özdemir N, Ekici M, Erginel S, Erdinç P, Ülgey N, Harmancı E, Alataş F: Tüberküloz plörezili kırk olgunun genel değerlendirmesi.Tüberküloz ve Toraks 42:91 (1994).
- 13.Ak G, Alataş F, Metintaş M, Metintaş S, Uçgun İ, Erginel S, Harmancı E: Tüberküloz plörezili olguların genel özellikleri. Toraks Dergisi 3:45 (2002).
- 14.Kıraklı C, Polat G, Meral AR, Utkaner G: Tüberküloz Plörezili 185 Olgunun Analizi. Akciğer Arşivi 4:21 (2003).
- 15.Yurdakul AS, Çalışır HC, Tacı N, Öğretensoy M: Tüberküloz plörezi olgularının özellikleri. Solunum Hastalıkları 13:30 (2002).
- 16.Light RW: Tuberculous pleural effusions. "RW Light (ed): Pleural Diseases", p182, Williams Wilkins, Philadelphia (2001).
- 17.Cohen M, Sahn SA: Resolution of pleural effusion. Chest 119:1547 (2001).
- 18.Gök M, Özer F, İmecik O: Tüberküloz plörezilerde biyopsi kültürünün tanısal değeri. Tüberküloz ve Toraks 42:47 (1994).
- 19.Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM, Garcia-Pazos JM, Suarez J, Pose A: Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. Arch Intern Med 158:2017 (1998).
- 20.Scharer L, Mclement JH: Isolation of tubercle bacilli from needle biopsy specimens parietal pleura. Am Rev Respir Dis 97:466 (1968).
- 21.Chan CH, Arnold M, Chan CY, Mak TW, Hoheisel GB: Clinical and pathological features of tuberculous pleural effusion and its long-term consequences. Respiration 58:171 (1991).
- 22.Ece T, Arseven O, Kılıçaslan Z: Plevra tüberküloz-unda doku kültürünün tanıya katkısı. Solunum 20:551 (1996).
- 23.Morehead RS: Tuberculosis of the pleura. South Med J 91:630 (1998)