

Tüberküloz Tedavisi Sırasında Yayma Pozitifliği ile Birlikte Kültür Negatifliği Gösteren Bir Olgu: Ölü Basil Kavramının İrdelenmesi

Aygün Öztop¹, İpek Ünsal¹, Serir Aktoğu², Sevinç Güneri¹, Vildan Avkan Oğuz³, Rıza Çakmak¹

Özet: Aktif akciğer tüberkülozu tanısı alan 42 yaşında bir erkek hastada tedavinin ikinci ayında, balgam aside-dirençli basil (ARB) yaymasında negatiflik elde edildikten sonra, 4. ayın başında tekrar balgam yayma pozitifliği izlendi. Bunun üzerine tedavi sırasında ARB yayma pozitifliğine yol açan nedenler araştırıldı. Tedavi başarısızlığı ve/veya tüberküloz dışı mikobakterilerin yol açtığı hastalıklar ayırıcı tanıda göz önüne alındı. Yapılan tetkikler sonucu balgam ARB pozitifliğinin ölü basil atımına bağlı olabileceği düşünüldü. Nadir rastlanan bir fenomen olması nedeni ile literatür bilgileri gözden geçirilerek olgu sunuldu.

Anahtar Sözcükler: Ölü basil, antitüberküloz tedavi, akciğer tüberkülozu.

Summary: A case with persistent smear positivity with culture negativity during tuberculosis therapy. The role of unviable bacilli. A forty-two year old man with active tuberculosis was found to have a positive smear at the beginning of the fourth month, although he was smear-negative at the end of the second month. The reasons for the smear positivity during therapy were investigated. Treatment failure and/or mycobacterial infection other than tuberculosis was considered in the differential diagnosis, it was concluded that the smear positivity was due to the unviable bacilli in the sputum. This rare phenomenon was discussed under the light of literature.

Key Words: Unviable bacilli, antituberculous treatment, pulmonary tuberculosis.

Giriş

1997 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün "Tüberküloz Tedavisi Ulusal Programlar İçin Kılavuz" kitabında akciğer tüberkülozlu olgunun balgam yayması pozitif hasta olarak tanımlanması, bakteriyolojik incelemenin tanısız önemini göstermektedir. Tüberküloz tanısında kültür hâlâ altın standarddır (1,2). Akciğer tüberkülozlu bir hastanın izleminde, kür denilebilmesi için klinik ve radyolojik düzelme ile birlikte balgamın aside dirençli basil (ARB) açısından yayma/kültür negatifliğinin gösterilmesi gerekmektedir. Tüberküloz tedavisi izleminde üçüncü ayın sonunda balgam ARB yayma negatiflik oranı %80-90 iken, altıncı ayda bu oranın %100'e yaklaştığı bildirilmektedir. Ancak balgam yaymasının ARB pozitiften ARB negatife dönüşme süresi yani balgam konversiyon hızı, akciğer parankimindeki lezyonun yaygınlığı ile de doğru orantılıdır (3). Tedavi sırasında balgam ARB yayma ve kültüründe negatiflik elde edildikten sonra, tekrar balgam ARB yayma pozitifliğinin saptanması büyük olasılıkla tedavi başarısızlığını, daha az oranda tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonlarını, teknik problemleri ve nadir olarak da ölü basil atımını akla getirir (4,5).

Olgu

Öncesinde sağlıklı olan 42 yaşında erkek hasta 2 aydır devam eden gece terlemesi, öksürük, balgam çıkarma, halsizlik yakınmaları ile dispanserimize başvurdu. Öyküsünden daha önce tüberküloz tedavisi almadığı ve ailesinde aktif tüberkülozlu kişi bulunmadığı öğrenildi. Fizik muayenesinde, genel durumu iyi, ateş 38.2°C, nabız 88/dakika ve ritmik, TA 120/80 mmHg idi. Solunum ve diğer sistem bakıları olağandı. PA akciğer grafisinde solda tüm zonlarda, sağda üst ve orta zonda yaygın erimeli heterojen dansite artımı, sol üst zonda 6x4 cm çapında kavite ve sol sinüs küntlüğü izlendi (Resim 1). Laboratuvar incelemelerinde, eritrosit sedimentasyon hızı 85 mm/saat, PPD 15 mm idi. Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) ile ARB'nin araştırıldığı balgam yayma preparatlarda (+++) pozitiflik saptandı. Olgu başlangıç yoğun tedavisini alması amacıyla hastaneye sevk edildi.

İzoniazid (INH), rifampisin (RF), pirazinamid (Z), ve streptomisin (S)'den oluşan dörtlü tedavisinin birinci ayını hastanede tamamlayan olgu, takip ve tedavisini sürdürmek üzere tekrar dispanserimize başvurdu. Tedavinin birinci ayının sonunda şiddetli kulak çınlaması ve baş dönmesi gelişmesi üzerine S kesilip etambutol (E)'e geçildi. Tedavinin ikinci ayının sonunda balgam yayması negatif bulundu. Olgudan ilk izole edilen suşun kültür antibiyogram sonucunda izoniazid ve streptomisine karşı dirençli olduğu saptandı. Bunun üzerine hastanın idame tedavisine INH+RF+E ile devam edildi. Dördüncü ayın

- (1) Kahramanlar Verem Savaş Dispanseri, İzmir
 (2) Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Araştırma Hastanesi, İzmir
 (3) Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Tablo 1. Tedavinin Başlangıcı ve İzlemindeki Balgam ARB Yayma/Kültür Sonuçları

Laboratuvar	Balgam Sayısı	Yayma	Kültür	Hassasiyet Testleri			
				INH	RF	S	E
1. ay hastane	1	+	+	Di	Du	Di	Du
	2	+	yok			(-)	
2. ay VSD	1	(-)	yok			(-)	
3. ay VSD	1	(-)	(-)			(-)	
4. ay VSD	2	(-)	(-)			(-)	
5. ay VSD	1	+	(-)			(-)	
	3	+	(-)			(-)	
6. ay VSD	3	+	(-)			(-)	
7. ay hastane	3	(-)	(-)			(-)	
	2	+	(-)			(-)	
8. ay VSD	1	+	(-)			(-)	
	2	(-)	(-)			(-)	
9. ay VSD	1	(-)	(-)			(-)	
	1	+	(-)			(-)	

INH: İzoniazid, RF: Rifampisin, Z: Pirazinamid, S: Streptomisin, E: Etambutol, Du: Duyarlı Di: Dirençli

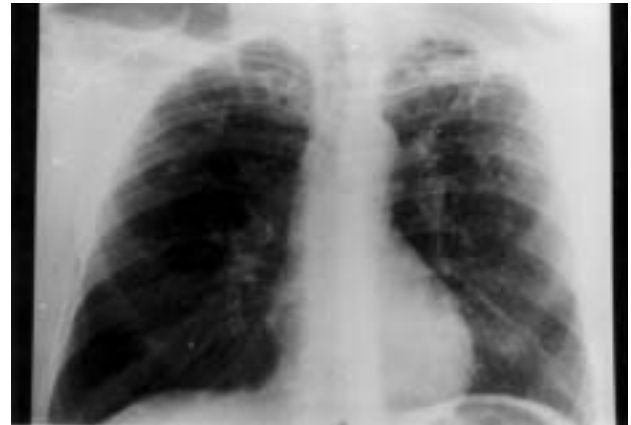
ve radyolojik iyileşmenin sürmesi nedeniyle aynı tedaviye kültür sonucu elde edilinceye kadar devam edilmesine karar verildi. Dördüncü ayın başında ve bunu takip eden aylarda balgam yayması pozitif ancak, kültür negatif bulunması nedeniyle değişiklik yapmaksızın tedaviye devam edildi ve dokuzuncu ayda tedavi sonlandırıldı.

Tablo 1 ve 2'de de görüldüğü şekilde beşinci aydan on üçüncü aya kadar yapılan aylık izlemler sırasında hastanın balgam ARB yaymasında ve polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction - PCR) analizinde pozitiflik gözlenmesine karşın, kültür sonuçları negatif olarak saptandı. On dördüncü aydan itibaren yayma ve kültür negatif olduğu belirlendi. Olgu, tedavisi tamamlandıktan sonra 27 ay süre ile ilaçsız kontrolde izlendi (Resim 2). Halen olgunun balgam ARB yayma ve kültür incelemeleri negatif olarak takibi sürmektedir.

Tablo 2. Tedavi Bitiminden Sonraki Balgam ARB Yayma/Kültür Sonuçları

Laboratuvar	Balgam Sayısı	Yayma	Kültür
10. ay VSD	Balgam tetkiki yok		
11. ay VSD	1	+	(-)
	2	(-)	(-)
12. ay VSD	3	+	(-)
13. ay VSD	1	+	(-)
	1	(-)	(-)
PCR (+) Üniversite	1	+	(-)
14. ay VSD	2	(-)	(-)
15. ay VSD	3	(-)	(-)
16. ay VSD	Hasta gelmedi		
17. ay VSD	2	(-)	(-)
18. ay VSD	3	(-)	(-)
20. ay VSD	2	(-)	(-)
22. ay VSD	2	(-)	(-)
24. ay VSD	2	(-)	(-)
36. ay VSD	3	(-)	(-)

başında balgam yayma pozitifliğinin saptanması üzerine hasta ile görüşüldü. Dördüncü aya kadar aylık kontrollerine düzenli gelen, aylık ilaç paketlerini düzenli alan olgunun ilaçlarını içip içmediği sorgulandı. Her gün ilaçlarını verilen dozda hiç aksatmadan içtiği, eşi ve kendisinden öğrenildi. Tedaviye uyumun önemi konusunda tekrar eğitim verildi. Hastanın kendisi ilaçlarını düzenli kullandığını ifade etmesine karşın eşinden hastanın ilaçlarını düzenli içip içmediğini kontrol etmesi istendi. Klinik

**Resim 1.** Olgunun başlangıç PA akciğer grafisi.**Resim 2.** Olgunun tedavi sonrası PA akciğer grafisi.

İrdeleme

Tüberküloz tanısında olduğu gibi, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de en iyi yöntem bakteriyolojik verilerdir. İlk kez balgam yayma pozitifliği saptanan ve ilaçlarını çok düzenli kullanan akciğer tüberkülozlu bir hastada tedavisi başlangıcında, şu üç olasılık vardır:

1. Başlangıç fazının sonunda balgam konversiyonu saptanan ve tedavi boyunca yayma-negatif olarak seyreden hastada her şey yolundadır
2. Başlangıç fazının sonunda balgam konversiyonu sağlanamayan hastalardan elde edilen suşta, birden fazla ilaca (erken bakterisid ilaçlara) karşı primer direnç vardır. Bu suş ile infekte hastada tedavi başarısızlığı gelişme olasılığı bulunmaktadır.
3. Başlangıç fazının sonunda balgam konversiyonu sağlanan hastanın tekrar pozitif hale dönmesi (fal and rise: düşüş ve yükseliş fenomeni): Bu hastalardan elde edilen suş, kullanılan ilaçlardan bir kısmına duyarlıdır, ancak direnç gelişimini önleyici etkiye sahip ilaçlara karşı direnç vardır. Böylece etkili olan ilaçlar ile erken bakterisid etki kısmen sağlanabilmiş, basil sayısı başlangıçta azaltılmış, ancak dirençli mutantlar yok edilemediğinden bu basiller çoğalarak lezyonlara hakim hale gelmiştir. Son iki durumda da hastada tedavi başarısızlığı geliştiğinden, daha önce tedavide kullanılan ilaçlardan oluşan yeni bir rejim oluşturulması önerilmiştir (6).

Tedavinin beşinci ve altıncı aylarında basil pozitifliğinin devamı ilk olarak tedavi başarısızlığını akla getirmektedir. Bunun en sık sebebi ilacın alımındaki düzensizliktir. Eğer bu faktör saptanmaz ise suşun ilaçlara karşı dirençli olma olasılığı yüksektir. Diğer nadir sebepler ise tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonu ve ölü basil atımıdır. Kaviteleri veya büyük bir kavitesi olan olgularda, negatif kültürden 1-2 ay sonra ölü basillerden oluşan yayma pozitifliği görülebilmektedir (4).

Aside-dirençli boyama yöntemleri (EZN, Kinyoun boyama, fluorokrom boyama) ile tüberküloz basili hızlı ve doğru şekilde saptanır. Bu boyama yöntemleri ile ölü ve canlı bakteriler aynı oranda boya tutarlar. Ancak özetine ulaşabildiğimiz Japonca birkaç çalışmada ise balgam örneklerinin fluoresein diasetat ve etidyum bromür (FDA/EB) ile boyanmasıyla, canlı ve ölü basil ayırımının yapılabileceği bildirilmektedir (7,8). Bu makalelerin tam metnine ulaşamadığımızdan ve çalışma koşullarımız içinde fluoresein mikroskopumuz olmadığı için balgam yaymalarını bu boyama yöntemi ile inceleme olanağımız olmadı. Akciğer tüberkülozu tanısında balgam yaymalarında en sık kullanılan boyama yöntemi EZN ile, ARB pozitifliğinin duyarlılığı %50-80 arasında iken, özgülüğü %99'un üzerindedir (9). Bu oranlar hem boyama yöntemi hem de hastadan alınan örnek sayısı arttıkça değişmektedir. Ulukanlıgil ve arkadaşları (10), 295 hastadan elde edilen 465 balgam örneğini inceledikleri çalışmalarında; her hastadan bir örneğin incelenmesi durumunda EZN ve fluorokrom boyamaların duyarlıklarını sırasıyla %61 ve %83; özgülüklerini ise %100 ve %99 saptadıklarını bildirmişlerdir. Aynı hastaya ait incelenen örnek sayısı arttıkça, her iki boyama yöntemi ile duyarlılığının arttığı da belirtilmiştir. Ayrıca bu farklılıkların, preparatın hazırlanma tekniği, balgam miktar ve kalitesi, hazırlanan preparatın ince-

leme süresi, inceleyen kişinin deneyimi, parankimdeki lezyonun kaviteli olup olmaması gibi pek çok faktörden etkilendiği gösterilmiştir (2,11).

Olgumuzun izleminde balgam yaymasında EZN boyama ile ARB pozitifliği saptanmasına karşın, kültüründe üreme saptanmadı. Bunun üzerine kültür negatifliğine neden olabilecek hastaya ve laboratuvara ait faktörler gözden geçirildi. Yalancı pozitifliğe yol açabilecek teknik nedenler ya da hastanın tedavi uyumsuzluğu saptanmadı. Hastanın bazı balgamları dispanserimiz dışında devlet ve üniversite hastanesinde de değerlendirildi ve bu merkezlerde de yayma-pozitif kültür-negatif durum olduğu doğrulandı. Tedavi başarısızlığı olasılığı üzerine yapılan çalışmada olgunun ilaçların düzenli olarak kullandığı öğrenildi. Tüberküloz dışı mikobakteri açısından kültürler birinci haftada 2 günde bir, ilk haftadan sonra haftada iki kez kontrol edildi ve altmışıncı güne kadar bekletilen kültürlerde üreme olmadı. Vidal ve arkadaşları (5)'nın makalesinde bildirildiği gibi, ilk olarak 1955 yılında mikroskopik incelemede ARB'nin saptanması, ancak kültürde üretilmemesi üzerine ölü basil atımı kavramı, Weir ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır. Bu ölü veya üreme yeteneğinde olmayan basillerin nekrotik tüberküloz lezyonlarından kaynaklandığı düşünülmüştür. Kavite içinde çok sayıda ölü basil olması ve kaviteden basillerin temizlenmesindeki gecikme yayma-pozitif/kültür-negatif durumun sebebi olarak belirtilmiştir (12).

Kim ve arkadaşları (3)'nin yaptıkları çalışmada, tedavi altındaki 727 tüberküloz hastasında balgam yayma-pozitif/kültür-negatif fenomeni en erken 4. haftada, en geç 20. haftada görülmüştür. Tedavi sırasında 2 haftalık aralarla yaptıkları incelemelerde ölü basil atımının %20'ye kadar ulaştığını bildirmişlerdir. Moamary ve arkadaşları (12) ise 205 hastanın takibinde bu oranı 20. haftada % 7.1, 36. haftada %2.8 bulmuşlardır.

Vidal ve arkadaşları (5)'nin 453 hastayı içeren çalışmasında ise, tedavinin sonunda 10 (%2.2) hastada yayma-pozitif/kültür-negatif durum saptanmıştır. Bu hastaların 8'inde ölü basil atımı, 2'sinde mikobakteri dışı tüberküloz basiline bağlı infeksiyon saptanmıştır.

Bu çalışmalarda yayma-pozitif/kültür-negatif durumun çoğunlukla kaviteli yaygın lezyonu olan olgularda sıklıkla görüldüğü belirtilmektedir. Vidal ve arkadaşları (5)'nin çalışmasında, 10 olgunun 9'u asemptomatik olmasına rağmen, 5'inde radyolojik düzelme, 4'ünde radyolojik rezidüel lezyonlar izlenmiş, kültür takibinde tüberküloz basili üretilmemiştir. Bizim olgumuzda da yaygın kaviter lezyonlar mevcut idi. Tedavinin 4. ayının başında klinik olarak asemptomatik olmasına rağmen, radyolojik lezyonlar devam etmekteydi. Kültürde basil üretilmemesi nedeniyle bu lezyonlar rezidü olarak kabul edildi.

1970 yılında yayımlanan Warring ve Sutromongkle (13)'nin çalışmasında yayma-pozitif/kültür-negatif fenomende tedavi değişikliği önerilirken, Kim ve arkadaşları (3), Vidal ve arkadaşları (5), Moamary ve arkadaşları (12)'nin yaptıkları çalışmalarda tedavi değişikliğinin gereksiz olduğu, klinik ve radyolojik iyileşme var ise kültür sonuçları elde edilmeye kadar aynı tedaviye devam edilmesi önerilmiştir. Moamary ve arkadaşları (12) ortalama 13 aylık tedavi sonrası, 6-48 aylık izlemede nüks olmaması nedeniyle, tedavi süresinin uzatılmaması gerektiğini belirtmişlerdir. Sunmuş olduğumuz olguda da yayma

pozitifliğine yol açabilecek diğer nedenler ekarte edildikten sonra, yayma pozitifliğinin ölü basil atımına bağlı olduğu düşünüülerek, değişiklik yapılmaksızın tedavi 9 aya tamamlanmıştır. Hastanın takibi sırasında balgam yayma ve kültür tetkikleri yanında bir balgam örneği de PCR analizi için Üniversite hastanesine gönderilmiş ve pozitif sonuç alınmıştır. PCR analizi *M. tuberculosis*'e özgü belli bir DNA bölgesinin çoğaltılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Ancak bu yöntemle bakteri gösterilebilmesine karşın, ölü-canlı basil ayrımı yapılamamaktadır. Bu ayrımı sağlayabilen, RNA'nın çoğaltılabildiği PCR yöntemlerine (14) olanaklar dahilinde ulaşılamamıştır. Tedavi sonlandırılmasından sonra dört ay daha yayma pozitifliğinin devam ettiği gözlenmiştir. Tedavi bitiminden sonraki yirmi yedi aylık izleminde nüks saptanmamış olup, halen olgunun bakteriyolojik ve klinik izlemi sürmektedir.

Özet olarak, tedavinin beşinci ayında balgam yayma pozitifliğini tedavi başarısızlığı olarak değerlendirmeden ve tedavi değişikliğine gidilmeden önce kültür sonuçlarının beklenmesi önerilebilir. Böyle bir durum tedavi başarısızlığını ve atipik mikobakteri infeksiyonlarını düşündürebileceği gibi ölü basil atımı kavramını da akla getirmeli ve olanaklar dahilinde araştırma yapılmalıdır.

Kaynaklar

1. World Health Organisation. *Treatment of tuberculosis. Guidelines for National Programmes*. Second ed. Geneva: World Health Organisation. 1997 (WHO/TB/97.220)
2. Savaş I, Saygun N. 1984-1993 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı'nda izlenen tüberkülozlu hastaların bakteriyolojik olarak değerlendirilmesi. *Tüberk Toraks* 1994; 42: 244-7
3. Kim TC, Blackman RS, Heatwole KM, et al. Acid-fast bacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 264-8
4. Crafton SJ, Choulet P, Mahler D, et al. (çeviren, Kimyacı K). İlaça rezistan tüberkülozun takibinde rehber. *Tüberk Göğüs Hast Derg* 1997; 18: 98-131
5. Vidal R, Casabona NM, Juan A, et al. Incidence and significance of acid-fast bacilli in sputum smears at the end of antituberculous treatment. *Chest* 1996; 109: 562-65
6. Tahaoğlu K. Tüberkülozda tedaviye yanıtın takibi ve ilaç yan etkileri, tüberkülin, koruyucu tedavi, temaslı muayenesi. *In: Toraks Derneği İkinci Yıllık Kongresi (6-10 Mayıs 1998, Antalya) Tüberküloz Kursu Notları*, Ankara: Toraks Derneği, 1998: 58-68
7. Kinomoto M. Development of slide-method to distinguish alive and dead mycobacteria by fluorescent staining-a trial for solving the biohazard problem in TB laboratories. *Kekkaku* 1999; 74: 599-609
8. Harada S, Numata N. Application of FDA/EB staining for the detection of viable or non-viable mycobacteria in clinical specimens. *Kekkaku* 1992; 62(2):11-7
9. Kocabaş A. Akciğer tüberkülozu. *In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. İnfeksiyon Hastalıkları*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996: 396-443
10. Ulukanlıgil M, Aslan G, Taşçı S. A comparative study on the different staining methods and number of specimens for the detection of acid-fast bacilli. *Mem Inst Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)* 2000; 95(6): 855-8
11. Nolte FS, Metchock B. Mycobacterium *In: Murray PR, Baron ED, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. Manual of Clinical Microbiology* 6th ed. Washington, DC: ASM Pres, 1995: 400-38
12. AI-Moamary MS, Biack W, Bessuille E, et al. The significance of the persistent presence of acid-fast bacilli in sputum smears in pulmonary tuberculosis. *Chest* 1999; 116: 726-31
13. Warring FC JR, Sutromongkole U. Nonculturable acid-fast forms in the sputum of patients with tuberculosis and chronic pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1970; 102: 714-24
14. Eltringham LD, Drobniowski FA, Mangan JA, Butcher PD, Wilson M. Evaluation of reverse transcription-PCR and a bacteriophage-based assay for rapid phenotypic detection of rifampin resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3524-7.