

---

# Fenol amonyum sülfat sedimentasyon yönteminin pulmoner tüberküloz tanısı için değerlendirilmesi

Alper AKGÜNEŞ<sup>1</sup>, Ahmet Yılmaz ÇOBAN<sup>1</sup>, Nuriye TAŞDELEN FIŞGIN<sup>2</sup>,  
İbrahim Çağatay ACUNER<sup>1</sup>, Belma DÜRÜPINAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun.

## ÖZET

*Bu çalışmada, kültür sonuçları altın standart kabul edilerek fenol amonyum sülfat sedimentasyon yönteminin sensitivite ve spesifisitesi değerlendirildi. Kültür sonuçlarına göre değerlendirildiğinde, fenol amonyum sülfat sedimentasyon yönteminin spesifisitesi ve sensitivitesi %90, N-asetil-L-sistein NaOH metod ile yapılan işlemin spesifisitesi %90 ve sensitivitesi %85 olarak saptandı. Sonuç olarak fenol amonyum sülfat yöntemi yalnızca mikroskopik inceleme yapılan laboratuvarlarda kullanılabilir güvenli bir yöntem olarak görünmektedir.*

**Anahtar Kelimeler:** Fenol amonyum sülfat, tüberküloz.

## SUMMARY

**Evaluation of phenol ammonium sulfate sedimentation method for diagnosis of pulmonary tuberculosis**

Akgunes A, Coban AY, Tasdelen Fisgin N, Acuner IC, Durupinar B

Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Faculty of Medicine Ondokuz Mayıs University Samsun, Turkey.

*In the study, the results of culture have been accepted as a gold standard and the specificity and sensitivity of phenol ammonium sulfate sedimentation method has been evaluated. When it is evaluated according to the results of culture, it has been found that the specificity and sensitivity of phenol ammonium sulfate sedimentation method is 90%, the specificity of the process which is made through the N-acetyl-L-cysteine NaOH method is 90% and the sensitivity of it is 85%. In conclusion, the phenol ammonium sulfate method seems to be as a secure method that can only be used in the laboratories in which microscopic studies are made.*

**Key Words:** Phenol ammonium sulfate, tuberculosis.

---

## Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Alper AKGÜNEŞ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı, SAMSUN - TÜRKİYE  
e-mail: alper\_akgunes@yahoo.com

Tarihin en eski sorunlarından biri olan tüberküloz (Tbc) bugün hala özellikle de gelişmekte olan ülkelerde hayatı tehdit eden bir hastalık olarak varlığını sürdürmektedir (1). Dünya Sağlık Örgütü ve Tüberküloz ve Akciğer Hastalıkları ile Savaşım Birliği'nin verilerine göre 1994 yılında dünyada 1.9 milyar kişinin Tbc ile infekte olduğu bildirilmiş ve 2005 yılında ise 4 milyon kişinin Tbc'den öleceği tahmin edilmektedir (2). Tbc'nin tanısı, bakterinin izolasyonunu amaçlayan mikrobiyolojik incelemelere dayanmaktadır (3). Ülkemizin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde pulmoner Tbc tanısı primer olarak Ziehl-Neelsen metoduyla mikroskopik bakıya ve kültürde üretmeye dayanır (4). Kültürde basilin üretilmesi altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak basilin katı besiyerlerinde üretilmesi altı-sekiz haftayı bulmaktadır. Her ne kadar BACTEC sistemi bu inkübasyon süresini iki haftaya kadar indirdiyse de, bu sistemin maliyet ve radyoaktif atık gibi kendine özgü sorunları bulunmaktadır. Tüm bu detaylar karşısında hastalığın tanısında ve takibinde balgam yayma teknikleri ve aside dirençli boyama yöntemleri maliyet ve uygulanabilirlikleri açısından halen önemlerini korumaktadırlar (5).

Daha önceki çalışmalar, bize yayma tekniklerinin sensitivitesinin, balgam örneğinin lama yayılması ve boyanması işlemi ile yaymanın okunmasındaki hassasiyete bağlı olduğunu göstermiştir (4,6). Yeterli balgam olup olmaması, boyama tekniklerinin dikkatli uygulanması, iyi bir mikroskop ile dikkatli bir inceleme yayma sonuçlarını direkt olarak etkilemektedir (7). Bu çalışmada, fenol amonyum sülfat sedimentasyon yönteminin uygulanabilirliği araştırılmıştır.

#### MATERYAL ve METOD

Hastanemiz Tbc laboratuvarına rutin olarak gönderilen 50 balgam örneği işleme alındı. Her bir balgam örneği ortalama 3 mL olacak şekilde iki eşit parçaya bölünüp falkon tüplerine aktarıldı. Balgam örneklerinin bir tanesi NALC-NaOH ile işleme alındı. Homojenizasyon ve dekontaminasyon işleminden sonra BACTEC 12B şişesine ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerine ekimi yapıldı. Ziehl-Neelsen metoduyla direkt bakı için preparatları hazırlandı. Sekiz haftalık inkübasyon sırasında üreyen bakteriler p-nitro-alpha-acetyl-ami-

no-beta-hydroxypropriophenone (NAP) testi ile tiplendirildi.

Bölünmüş olan diğer balgam örneği, fenol amonyum sülfat sedimentasyon yöntemi için kullanıldı. Fenol amonyum sülfat reaktifi, 50 g fenol kristalize ve 40 g amonyum sülfatın 950 mL distile suda çözülmesi ile hazırlandı (7). Balgam örneği ile hazırlanan reaktif eşit olarak karıştırıldı. Karışım bir vorteks yardımı ile iyice homojenize edildi ve bir gece oda ısısında bekletildi. Ertesi sabah karışımın üst kısmındaki dilüe süpernatant atıldıktan sonra geriye kalan sedimentten boyalı bakı için preparat hazırlandı. Ayrıca fenol amonyum sülfatın sterilizan aktivitesini saptamak için bütün sedimentlerden LJ besiyerine ekim yapıp sekiz haftalık inkübasyona alındı.

#### BULGULAR

Çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 1'de özetlendi. Çalışmaya alınan 50 materyalin 21 (%42)'i fenol amonyum sülfat sedimentasyon yöntemi ile pozitif bulundu. Yirmi (%40) tanesi NALC-NaOH yöntemi ile pozitif bulundu. İncelemeye alınan 50 adet materyalin 19 (%38) tanesi BACTEC 12B veya LJ besiyerinin en az bir tanesinde ya da her ikisinde üreme gösterdi. Fenol amonyum sülfatın sterilizan aktivitesini saptamak için yapılan, LJ ekimlerinin sekiz haftalık inkübasyonunda üreme saptanmadı.

#### TARTIŞMA

Tbc kontrolünde, balgam materyalinden basilin identifikasyonu önemli rol oynar. Bu identifikasyon genellikle boyanmış balgam materyalinin mikroskopik incelemesiyle gerçekleştirilir. Boyama öncesinde balgam homojenizasyonunda NALC-NaOH metodu halen birçok laboratuvar-

**Tablo 1. Farklı yöntemlerle Ziehl-Neelsen boyama sonuçları.**

	FAS metodu	NALC- NaOH metodu
Negatif	29/50	30/50
1+	1/50	9/50
2+	7/50	5/50
3+	6/50	2/50
4+	7/50	4/50

FAS: Fenol amonyum sülfat.

da, güvenilir ve sensitif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (8). Ancak düşük bütçeli laboratuvarlarda bu yöntem, ihtiyaç duyduğu donanım ve sarf malzemeleri yüzünden tercih edilmemektedir. Bu laboratuvarlar düşük sensitiviteye sahip direkt yayma tekniğini kullanmaktadırlar (9-11).

Çalışmamızda her bir yöntem farklı teknisyenler tarafından değerlendirilmiştir. Fenol amonyum sülfat yöntemiyle (21/50), NALC-NaOH yöntemi (20/50) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Selvakumar ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, 2400 balgam örneğini işleme almışlar ve bu örneklerin 547 tanesinde kültür sonucunda Tbc basili saptamışlardır (7). Beşyüzkırkyedi kültür pozitif örneğin 465 (%85)'inde fenol amonyum sülfat sedimentasyon yöntemi ile ARB pozitifliği ve 454 (%83)'ünde direkt yayma ile ARB pozitifliği saptamışlardır. Yine bu çalışmada yayma pozitif bulunan 20 balgam örneği fenol amonyum sülfat ile işlendikten sonra LJ besiyerine ekilmiş ve sekiz haftalık inkübasyona alınmış ve sonuçta kültürde üreme saptanmamıştır. Biz de çalışmaya aldığımız 50 balgam örneğinin tümünü fenol amonyum sülfat ile işledikten sonra LJ besiyerine ektik ve 8 haftalık kültürden sonra hiçbir üreme saptamadık. Reaktifin bu sterilizan aktivitesi ülkemizde var olan 272 adet verem savaş dispanseri, 20 adet bölge Tbc laboratuvarı ve hastanelerimizde var olan atık sorununa bir çözüm olabilir (12).

Yine Selvakumar ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, fenol amonyum sülfat yöntemi ile işlenen balgam örneklerinin fizyolojik özelliklerini kaybettiklerini gözlemlemişlerdir (7). Bu durum nahoş bir görünüme sahip balgam örneklerinin, laboratuvar teknisyenlerince daha çalışılabilir hale gelmesini sağlamıştır. Yöntemin diğer bir avantajı ise reaktiflerin kolay hazırlanması ve laboratuvar koşullarında bir haftaya kadar etkinliğinin devam etmesidir. Oysa NALC-NaOH reaktifi bir gün sonra etkinliğini kaybetmektedir. Etkinliğini kaybetmiş reaktiflerin atılması da laboratuvarlara mali bir yük getirmektedir. Yöntemin saptanan tek dezavantajı ise balgam örneklerinin bir gecelik inkübasyona tabi tutulması ve bundan dolayı sonuç verme işleminin bir gün uzamasıdır.

Sonuç olarak, fenol amonyum sülfat sedimentasyon yöntemi sahip olduğu yüksek spesifisite ve sensitivitesinin yanında sterilizan aktivitesi sonucunda atık sorununa da getirmiş olduğu çözümden dolayı ülkemiz perifer Tbc laboratuvarlarında boyalı mikroskopi için güvenle tercih edilebilecek bir yöntemdir.

## KAYNAKLAR

1. Anđ Ö, Uzun M. Türkiye'de tüberkülozun son durumu. *Klinik Derg* 1998; 11: 3-5.
2. World Health Organization. TB, a global emergency. WHO report on the TB epidemic. WHO/TB/Geneva 1994; 177: 1-15.
3. Kıyan M. *Mycobacteriaceae*. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti., 1999: 419-55.
4. Peterson EM, Nakasone A, Platon-DeLeon JM, et al. Comparison of direct and concentrated acid-fast smears to identify specimens culture positive for *Mycobacterium* spp. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3564-8.
5. Tarhan G, Ordulu L, Gümüşlü F ve ark. Tüberküloz tanısında Auramine-Rhodamine ve Erlich-Ziehl-Neelsen boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül* 2003; 37: 131-6.
6. Farnia P, Mohammadi F, Zarifi Z, et al. Improving sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum: use of chitin in mucus digest. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 508-11.
7. Selvakumar N, Rahman F, Garg R, et al. Evaluation of the phenol ammonium sulfate sedimentation smear microscopy method for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3017-20.
8. Bruchfeld J, Aderaye G, Palme IB, et al. Sputum concentration improves diagnosis of tuberculosis in a setting with a high prevalence of HIV. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; 94: 677-80.
9. Gebre N, Karlsson U, Jonsson G, et al. Improved microscopic diagnosis of pulmonary tuberculosis in developing countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89: 191-3.
10. Habeenzu C, Lubasi D, Fleming AF. Improved sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum in developing countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; 92: 415-6.
11. Huebner RE, Good RC, Tokars JI. Current practices in mycobacteriology: result of a survey of state public health laboratories. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 771-5.
12. Ceyhan İ. Ulusal tüberküloz programı kapsamında mikobakteri laboratuvar ağı ve ikinci doğu Avrupa TB laboratuvar yöneticileri workshop değerlendirme eşliğinde mikobakteri laboratuvar ağındaki sorunlar. 4. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu Kitabı, 2002: 15-22.