



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**2014-2019 YILLARI ARASINDA DİYARBAKIR İLİ
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARINDA PRİMER
ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENCİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr.Bernan Yokuş Em

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2021



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**2014-2019 YILLARI ARASINDA DİYARBAKIR İLİ
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARINDA PRİMER
ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENCİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr.Bernan Yokuş Em

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. Mahmut Mete

DİYARBAKIR-2021

**DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

**DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR
NONINTERVENTIONAL STUDIES**

248

KARAR

Prof. Dr. Mahmut METE, Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT, Arş. Gör. Bernan YOKUŞ EM isimli araştırmacılar tarafından planlanan "2014-2019 yılları arası Diyarbakır ili mikobakterium tuberkulozis suşlarında primer antitüberküloz ilaç direncinin araştırılması" başlıklı araştırmaya *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u* tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.

DECISION

The project titled as "Investigation of primer antituberculosis drug resistance of mycobacterium tuberculosis in Diyarbakır city between 2014-2019 years" planned by Mahmut METE, Nezahat AKPOLAT, Bernan YOKUŞ EM has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number) :	Tarih (Date): 14.11.2019	Saat (Hour): 14:00-15:00
KURUL BAŞKANI (CHIEF)	Prof. Dr. Meral ERDİNÇ	

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Meral ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
2	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
3	Prof. Dr.	Zeynep BAYSAL YILDIRIM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
4	Prof. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
5	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
6	Doç. Dr.	Zülfikar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
7	Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
8	Doç. Dr.	Mehmet Güli ÇETİNÇAKMAK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
9	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
10	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Gülşay AYDOĞDU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTACT	iii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
RESİMLER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR	ix
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Dünyada tüberküloz	3
2.2 Ülkemizde tüberküloz	4
2.3 Mikobakterilerin genel özellikleri	6
2.3.1 Mikobakterilerin hücre yapısı	7
2.3.2. Mikobakterilerde enzimatik reaksiyonlar	10
2.3.3. Antijenik Yapı	11
2.3.4. Mikobakterilerin Kültür Özellikleri	12
3. PATOGENEZ	15
4. TÜBERKÜLOZUN MİKROBİYOLOJİK TANISI	18
4.1. Klinik örneklerin alınması ve laboratuvara gönderilmesi	18
4.2. Örneklerin işlenmesi	19
4.3. Mikroskopik inceleme	20
4.3.1. Aside dirençli boyama yöntemleri	21
4.4. Kültür	22
4.5. M. tuberculosis kompleks'in Genotipik İdentifikasyonu	25
4.6. İlaç Duyarlılık Testleri	25
5. TEDAVİ	31
5.1. İlaça dirençli Tüberküloz	34
6. GEREÇ ve YÖNTEM	37
6.1. Örneklerin işlenmesi	37
6.1.1. Kullanılan Malzemeler	37
6.2. Kullanılan yöntem ve uygulama	38
6.2.1. Homojenizasyon- Dekontaminasyon	38
6.2.2. Yayma hazırlanması ve direkt mikroskopik inceleme	39
6.2.2.1. Kullanılan Malzemeler	39

6.2.2.2. Yayma hazırlanması ve EZN boyama	39
6.2.2.3. Yaymanın değerlendirilmesi	40
6.2.3. Besiyerine ekim	40
6.2.3.1. Kullanılan Malzemeler	40
6.2.3.2. LJ besiyerine ekim ve inkübasyon	41
6.2.3.3. MGIT besiyerine ekim ve inkübasyon	41
6.2.3.4. LJ besiyerinden Middlebrook 7H9'a pasajlayarak BACTEC MGIT 960 cihazında üretme	43
6.2.4. MTBC kart testi	43
6.2.4.1. Kullanılan Malzemeler	43
6.2.4.2. MTBC kart testlerinin uygulanması ve yorumlanması	43
6.2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	44
6.2.5.1. Kullanılan Malzemeler	44
6.2.5.2. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması	45
6.2.5.3. Antibiyogram işlemi	45
6.2.5.4. Sonuçların Değerlendirilmesi	47
6.3. Kalite kontrol	48
6.4. İstatiksel Analiz	48
7. BULGULAR	49
8. TARTIŞMA	64
9. SONUÇLAR	77
10. KAYNAKLAR	78

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi süresince birlikte çalışmaktan onur duyduğum, bilgi, destek ve hoşgörüsü ile yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Kadri Gül'e, tez çalışması sırasında bilgi ve desteği ile yanımda olan tez danışman hocam Prof. Dr. Mahmut Mete'ye, Prof. Dr. Nezahat Akpolat'a ve Doç. Dr. Erdal Özbek'e içtenlikle teşekkür ederim.

Prof. Dr. Selahattin Atmaca'ya, Doç. Dr. Hakan Temiz'e, Dr. Öğr. Üyesi Nida Özcan'a verilerin istatistiksel değerlendirmesinde katkı sunan Doç. Dr. Hasan Akkoç'a, mikobakteriyoloji laboratuvarında çalışan tüm teknisyen arkadaşlarıma, sevgi ve desteklerini yanımda hissettiğim değerli aileme, eşime ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Dr. Bernan Yokuş EM

ÖZET

2014-2019 YILLARI ARASINDA DİYARBAKIR İLİ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSİS SUŞLARINDA PRİMER ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENCİN ARAŞTIRILMASI

Tüberkülozun Dünya Sağlık Örgütü tarafından yıllık raporlandırılan, geçmişten bugüne önemini koruyan önemli bir bulaşıcı hastalık olması yanında son yıllarda kullanılan primer antitüberküloz ilaçlara karşı direnç gelişimi hastalığın kontrol altına alınmasına engel oluşturmaktadır. Tüberküloz etkeni *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) tir. DSÖ'nün son raporlarına göre tüberküloz, enfeksiyon hastalıklarının en zahmetli olanı kabul edilmektedir, dünya çapında ilk on ölüm nedeninden biridir ve tek bir enfeksiyöz ajandan kaynaklanan ölümlerin başlıca nedenidir (HIV/AIDS'in üzerinde sıralanmıştır). Dünya nüfusunun yaklaşık dörtte biri *M. tuberculosis* ile enfektir, bu nedenle TB hastalığına ilerleme riskleri vardır.

Antitüberküloz ilaç direnci değerlendirmeleri; toplumdaki ilaca karşı dirençli suşların belirlenmesi, uygun tedavi protokollerinin seçilmesi ve tüberküloz kontrol programlarına katkı sağlaması açısından önemlidir.

Bu retrospektif çalışmada Diyarbakır ilinde, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarında 2014-2019 yılları arasında izole edilmiş MTBC suşlarında direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. İlaç duyarlılık testleri BACTEC MGIT 960 (BD Diagnostic, ABD) sistemi ile değerlendirilmiştir.

İlaç duyarlılık testleri, 640'ı (%89) solunum sistemi ve 77'si (%11) solunum sistemi dışı örneklerden MTBC izole edilen toplam 717 örnekte çalışılmıştır. Toplam 717 örneğin 525'i (%73,2) her dört antitüberküloz ilaca duyarlı bulunmuşken, 192'si (26,8) ise bir veya birden çok ilaca dirençli bulunmuştur. Streptomisin, izoniazid, rifampisin ve etambutol için direnç oranları sırasıyla %5,6, %6,3, %1, %2 olarak ve çoklu ilaç direnci oranı %4 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada saptanan tekli ve çoklu ilaç direnci oranlarının daha önce bölgemizde yapılan çalışmalarda elde edilen oranlara göre daha düşük, Sağlık Bakanlığı verilerinde belirtilen ülkemiz ortalamaları ile benzer olduğu görülmüştür. Bölgesel düzeyde ilaç duyarlılık testi takiplerinin ülkemizde başarılı bir şekilde tüberküloz sürveyans programının uygulanmasına katkı sağlayacağı görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler: tüberküloz, *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), ilaç direnci, ilaç duyarlılık testi, BACTEC MGIT 960

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PRIMER ANTITUBERCULOSIS DRUG RESISTANCE at DIYARBAKIR BETWEEN 2014-2019 YEARS

Besides tuberculosis is an important infectious disease reported by World Health Organization yearly and preserving its importance from past to present, development of primary antituberculosis drugs resistance in recent years prevents the disease from being taken under control. Tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC). TB is considered the most onerous of infectious disease according to recent reports from the World Health Organization. Tuberculosis is one of the top 10 causes of death worldwide and the leading cause of death from a single infectious agent (ranking above HIV/AIDS). About a quarter of the world's population is infected with *M. tuberculosis* and thus at risk of developing TB disease.

Screening of antituberculosis drug resistance is important that; identification of resistant strains in the population, selection of appropriate treatment protocols and contribute to tuberculosis control programs.

The aim of this retrospective study is to determine primer antituberculosis resistance of isolated MTBC strains in Diyarbakır city, Dicle University Medical Microbiology Department, Mycobacteriology Laboratory between 2014-2019 years. Drug sensitivity tests were evaluated by BACTEC MGIT 960 (BD Diagnostic, USA) system.

Drug sensitivity tests was performed for a total of 717 samples. which 640 (89%) isolated from respiratory system specimens and 77 (11%) isolated from non-respiratory system specimens. Of the 717 samples, 525 (73,2%) were susceptible to all of four antimycobacterial agents while 192 (26,8%) were found resistant to one or more drugs. The rates of resistance for streptomycin, isoniazid, rifampicin and ethambutol were found 5,6%, 6,3%, 1%, 2% and the rate of multidrug resistance was found 4%.

Findings in this study indicated that the rates of mono and multidrug resistant were significantly lower than the rates previously reported from our region and similar to the average country base resistance reported by the Ministry of Health. Monitoring of drug sensitivity test at regional level would aid to the success of the tuberculosis surveillance program in Turkey.

Keywords: tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), drug resistance, drug sensitivity test, BACTEC MGIT 960

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo. 1 DSÖ bölgelerine göre tahmini TB hastalık yükü, 2017	4
Tablo. 2 Mikobakterilerin Taksonomisi	6
Tablo .3 Mikobakterilerin geleneksel Runyon sınıflandırılması	9
Tablo.4 Mikobakteriler için seçici olmayan besiyerleri	13
Tablo.5 Mikobakteriler için seçici besiyerleri	13
Tablo.6 Yayma preparatlarda görülen aside dirençli basil sayısını raporlama	22
Tablo.7. Antitüberküloz ilaç duyarlılık test yöntemleri	26
Tablo. 8 <i>M. tuberculosis</i> ' te ilaç direnç genleri	30
Tablo.9 TB tedavisinde kullanılan primer ilaçlar	32
Tablo.10 TB tedavisinde kullanılan sekonder ilaçlar	33
Tablo.11 Yıllara göre çalışılan örneklerde kültür ve İDT oranları	49
Tablo. 12 Yıllara göre İDT çalışılma süreleri	50
Tablo. 13 İDT çalışılan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı	50
Tablo. 14 İDT çalışılan örneklerde direnç oranları	51
Tablo. 15 İlaç direnci saptanan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı	51
Tablo. 16 Çalışılan örneklerde yaş ortalaması	52
Tablo. 17 İDT çalışılan örneklerin yaş aralıklarına, cinsiyetlerine ve direnç durumuna göre dağılımı	53

Tablo. 18 Yıllara göre çalışılan solunum yolu rnekleri	55
Tablo. 19 Yıllara göre çalışılan solunum dışı rnekler	56
Tablo. 20 İDT çalışılan örneklerin yayma bulguları	57
Tablo. 21 Yıllara göre ARB pozitiflikleri	59
Tablo. 22 İDT de direnç saptanan ilaçlar	60
Tablo. 23 Yıllara göre ilaç direnç oranları	61
Tablo. 24 Akciğer TB kültür pozitiflerde İDT yapılma oranları	66
Tablo. 25 Akciğer TB olgularında mikroskopik tetkikler	69
Tablo. 26 lkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda belirlenen direnç oranları	70-71

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil. 1 Ülkemizde yıllara göre kayıtlı TB insidansı	5
Şekil. 2 Mikobakteri hücre duvar yapısı, MAPc, MA-AG-PG kompleksi.	7
Şekil. 3 EZN boyama ile 3a- mikobakteri görünümü 3b- kord faktör görünümü 3c- Auramine boyama ile mikobakterilerin floresan mikroskopi görüntüsü	22
Şekil. 4 <i>M. tuberculosis</i> üremesi 4a- LJ besiyerinde 4b-Sıvı kültürde	23
Şekil. 5 MTBC kart testlerinin yorumlanması	44
Şekil. 6 İlk 48 saat içinde çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması	46
Şekil. 7 48 saat sonrası için çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması	47
Şekil. 8 8a İDT çalışılan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı 8b İlaç direnci saptanan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı	52
Şekil. 9 İDT çalışılan tüm örneklerin ve dirençli örneklerin yaş aralıklarına göre dağılımı	54
Şekil. 10 Yıllara göre çalışılan örnek türleri dağılımı	57
Şekil. 11 11a toplam örneklerde solunum-solunum dışı örnek görülme oranları 11b İlaç dirençli örneklerde solunum-solunum dışı örnek direnç görülme oranları	57
Şekil. 12 Yıllar içinde İlaç duyarlılık-direnç durumuna göre ARB pozitiflik oranları	58
Şekil. 13 Yıllara göre yaymada saptanan basil yoğunluğu yönünden ARB pozitiflikleri	59
Şekil.14 Yıllara göre saptanan ilaç direnç oranları	61
Şekil. 15 Tüm örneklerde saptanan ilaç direnç oranları	62
Şekil. 16 Dirençli örneklerde saptanan ilaç direnç oranları	63
Şekil. 17 HSGM Türkiye’de Verem Savaşı 2019 Raporu, DSÖ Küresel TB 2018 Raporu’nda Türkiye	65



KISALTMALAR

AMK	Amikasin
ARB	Asido Resistant Basil
BAL	Bronkoalveolar Lavaj Sıvısı
BCG	Bacille Calmette Guerin
CDC	Centers for Diseases Control and Prevention -Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
ÇİD	Çoklu İlaç Direnci (Multi-drug resistant tuberculosis /MDR-TB)
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization/ WHO)
EMB	Etambutol
EZN	Erlich- Ziehl- Neelsen
HSGM	Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü
İDT	İlaç Duyarlılık Testi
İGST	İnterferon Gama Salınım Testleri (Interferon Gamma Releasing Assay-IGRA)
İNH	İzoniasid
KAN	Kanamisin
KAP	Kapreomisin
LJ	Löwenstein Jensen
LTB	Latent tüberküloz

MAC	Mycobacterium avium kompleks
MOTT	<i>Mycobacterium</i> other than <i>Tuberculosis</i> Kompleks (<i>M.tuberculosis</i> kompleks dışı mikobakteriler)
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex
NAAT	Nükleik asit amplifikasyon testi
NALC	N-asetil-L-sistein
NTM	Non-Tuberculous Mycobacteria- Tüberküloz Dışı Mikobakteri
PAS	Paraaminosalisilik asit
PPD	Purified protein derivate(saflaştırılmış protein derivesi)
PZA	Pirazinamid
RD	Rifampisin direnci
RIF	Rifampisin
SM	Streptomisin
TB	Tüberküloz
TBDB	Tüberküloz Daire Başkanlığı
TDT	Tüberkülin deri testi
YİD	Yaygın ilaç direnci

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bilinen en eski hastalıklardan biri olan tüberküloz (TB), tedavisi mümkün ve korunulabilir bir hastalık olmasına rağmen, gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere dünya çapında önemli bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Ölüme neden olan enfeksiyon etkenleri arasında ilk on hastalık arasında yer almakta ve tek bir enfeksiyöz ajanın ölüme sebebiyet vermesinde ise ilk sırada yer almaktadır (1).

Tüberküloz, akciğer başta olmak üzere her organı tutabilen, genellikle kronik seyirli sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalık granülomlarla karakterizedir. Akciğer dışında çeşitli doku ve organlarda yerleşen tüberküloz ise ekstrapulmoner tüberküloz olarak adlandırılır. Hastalık etkeni alındıktan sonra hızla ilerleyerek akut bir tabloya yol açabileceği gibi primer enfeksiyondan yıllar sonra da ortaya çıkabilir (1,2). TB'nin etkeni *Mycobacterium tuberculosis kompleks*'tir (MTBC). MTBC içerisinde yer alan türler: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microtti*, *M. pinnipedii* ve *M. tuberculosis*'tir. Hastalığın en sık etkeni ise *M. tuberculosis* türüdür (2).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2019 yılı raporuna göre, dünya nüfusunun yaklaşık dörtte biri tüberküloz basili ile enfektidir. Bu kişilerin %10'unda, hayatlarının bir döneminde, TB hastalığının ortaya çıkması beklenmektedir. Küresel olarak yaklaşık 1,7 milyar insana *M. tuberculosis* bulaşmıştır ve bu nedenle TB geliştirme riski altındadır (1).

Tüberkülozun hızlı ve doğru tanısı tüberküloz kontrolünde kritik öneme sahiptir. Tüberküloz kontrol programlarında temel hedefler hızlı tanının yanı sıra kullanılacak ilaçlara duyarlılık veya direncin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenmesidir (1,3).

TB tanısı; klinik örneklerden doğrudan hazırlanan preparatların aside dirençli boyama yöntemi ile boyanması sonrasında mikroskopik incelenmesi ile mikobakteri varlığı araştırılması, sıvı ve katı besiyerine yapılan ekim sonrası üreme saptanması ile mikobakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması esasına dayanmaktadır (3).

Zamanında tanı ve etkin tedavi ile, TB gelişen çoğu insan tedavi edilebilir ve ileri bulaş riski azaltılabilir. Tedavide kullanılan ilaçlara karşı direnç varlığı, DSÖ'nün küresel olarak hastalık insidansını azaltma hedefine engel oluşturmaktadır (1). Ülkemizde ise TB hasta sayısı her yıl yaklaşık %4-5 oranında azalmaktadır (3).

Amerikan Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Diseases Control and Prevention, CDC), mikobakteriyoloji laboratuvarlarının örneğin kabulünden itibaren en geç 30 gün içerisinde *M. tuberculosis* için ilk seçenek ilaçlara karşı ilaç duyarlılık sonuçlarının bildirilmesini önermektedir (4). İlaç direnci, TB tedavisinin yanlış uygulanması ya da yetersiz tedavi sonucu gelişir (3).

1980 yılından itibaren küresel olarak TB'da yeniden bir artış görülmeye başlanmıştır. Tedaviye dirençli suşların yaygınlaşması hastalığın kontrol altına alınmasını zorlaştırmaktadır (1,3).

Tedavi başarısındaki artışın hastalığının yayılmasını azaltmak suretiyle toplum sağlığının korunmasına da katkı sağlayacağı unutulmamalıdır. Bu çalışmanın amacı, ülkemizde yürütülen TB kontrol programına bölgesel verilerle katkı sunmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dünyada Tüberküloz

Mısır ve Güney Amerika’da bulunan, beş ile yedi bin yıl öncesine ait mumyaların vertebral lezyonlarında *M.tuberculosis* DNA’sının izlerine rastlanılmış olması bu mikroorganizmanın çok uzun zamandır insanda hastalığa neden olduğuna işaret etmektedir (5,6). Robert Koch, 24 Mart 1882 tarihinde TB nedeniyle yaşamını yitiren bir hastanın akciğer lezyonlarında tüberküloz basilini göstermiştir (7). 1996 yılından itibaren 24 Mart “Dünya Tüberküloz Günü” olarak belirlenmiş olup, toplumu TB hastalığı konusunda bilgilendirmek için çeşitli etkinlikler başlatılmıştır (1).

Albert Calmette ve Camille Guérin, Fransa’da 1921 yılında ilk tüberküloz aşısını, *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) bulmuş ve aşı tüm dünyada TB’den korunma amaçlı yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (8). Florence B.Seibert, 1930’lu yıllarda “old tüberkülin”i saflaştırmış ve saflaştırılmış protein türevi [Purified protein derivate (PPD)] kullanılarak, kişinin TB ile karşılaşp karşılaşmadığı saptanmaya başlamıştır (9). TB hastalığına; phthisis, beyaz ölüm (white death), beyaz veba (white plague), tüketim hastalığı (consumption), ince hastalık, teverrüm, zaafiyet, duman, verem gibi çeşitli isimler verilmiştir (9).

BCG aşısının bulunması sonrasında, 1944 yılında hastalığa karşı kullanılacak ilk ilaç olan Streptomisin (SM) bulunmuş, bu yıl tıp tarihine mucize yılı “annus mirabilis” olarak geçmiştir. 1946’da paraaminosalisilikasit (PAS), 1952’de INH, 1966’da RİF ilaçları bulunmuş, kullanılan ilaç kombinasyonları ile hastalık tedavi edilebilir hale gelmiştir (9).

DSÖ, TB kontrol programlarına yönelik küresel mücadelede 1993 yılında “Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi” (DGTS) başlatmış ve 1997 yılından itibaren her yıl küresel bir TB raporu yayınlamaktadır. DGTS’nin kapsamını ve kalitesini arttırmaya yönelik olarak 2006 yılında “STOP TB” stratejisi geliştirilmiştir.

DSÖ’nün “Tüberkülozu Sonlandırma Stratejisi” (end-TB strategy), 2014 yılında Dünya Sağlık Asamble’sinde oybirliği ile kabul edilmiş, 2015 yılında ‘Sürdürülebilir

Kalkınma Hedefleri' (SDG) benimsenmiştir. Yıllık %1,5 oranında azalma ile, 2030 yılına gelindiğinde hastalık insidansının %80 oranında, hastalıktan ölüm oranının ise %90 oranında azaltılması hedeflenmektedir (1). 2019 yılında ise dünya tüberküloz günü teması "Zamanı Geldi" (It's time) olarak belirlenmiştir.

Dünya genelinde; ulusal veri tabanlarında kayıtlı olmayan hasta sayısının artması (yabancı uyruklular/göçmenler), yaşanan sosyal ve ekonomik zorluklar, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) yaygınlığı, hastalarda ilaç direnci varlığı gibi nedenler TB'dan korunmada, TB tanı ve tedavisinde zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır. Ayrıca özellikle gelişmiş toplumlarda; kronik böbrek hastalığı, alkol ve/veya madde bağımlılığı, lösemi, diyabet, doğumsal veya kazanılmış immün yetmezliği olan kişilerin sayısının artışına bağlı olarak TB görülmesi artmaktadır (1).

DSÖ Küresel Tüberküloz 2019 Raporu'na göre, dünya nüfusunun dörtte biri tüberküloz ile enfektidir ve dünya genelinde her yıl yaklaşık 10 milyon kişi tüberküloz hastalığına yakalanmaktadır. Herhangi bir yaşta hastalık gelişebilmekle beraber hastaların %90'ı erişkin dönemdedir. Erkek:kadın oranı 2:1 kadardır (1). DSÖ bölgelerine göre tahmini TB hastalık yükü ise Tablo.1'de gösterilmiştir. Ülkemiz DSÖ verilerinde Avrupa bölgesinde yer almaktadır (1).

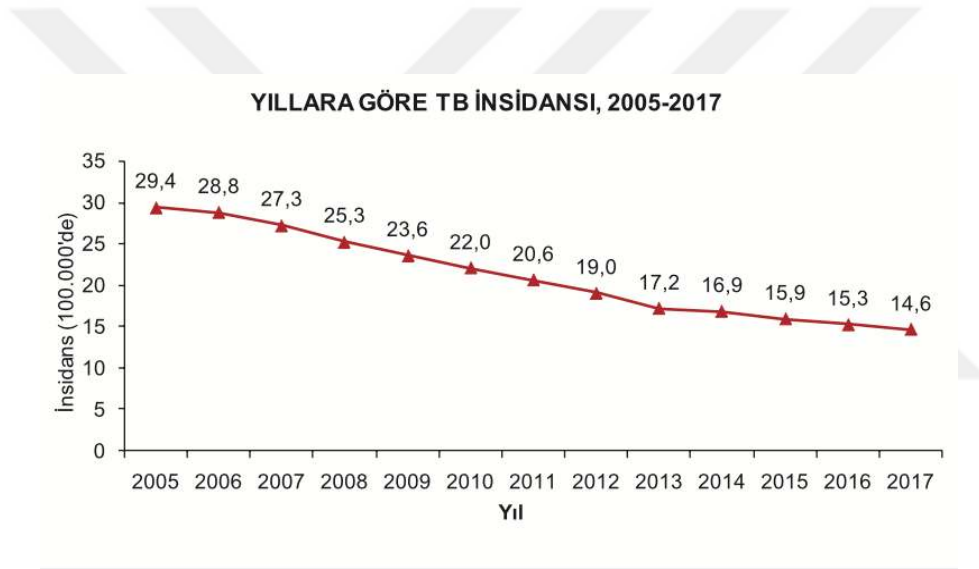
Tablo. 1 DSÖ bölgelerine göre tahmini TB hastalık yükü, 2017(1)

Bölge	İnsidans (100.000'de)	Mortalite (100.000'de)
Afrika	237	63
GüneyDoğu Asya	226	33.4
Doğu Akdeniz	113	13.43
Batı Pasifik	94	5.16
Avrupa	30	3.14
Amerika	28	2.4
TÜRKİYE	17	0.53
DÜNYA GENELİ	133	21

2.2. Ülkemizde Tüberküloz

Ülkemizde TB kontrolü amaçlı kurulan ilk kurum, 1918'de İzmir'de kurulan Verem Savaşı Derneği'dir. 1930 yılında "Umumi Hıfzıssıhha Kanunu" ile tüberküloz

hastalarının izolasyonu ve bildiriminin yapılması mevzuatı yürürlüğe girmiştir (3). İlki 1953'te olmak üzere 1980 yılına kadar dokuz kez kitlesel aşılama kampanyası yapılmıştır (10). Tüberküloz hastalarının kayıt altına alınmasına 1960'lara gelindiğinde başlanmıştır. 2005 yılından itibaren bireysel bazlı olarak hasta verileri toplanarak hatalı/sorunlu noktaların düzeltilmesi, mükerrer hasta girişlerinin ayıklanması ve analizi ile yıllık raporlar olarak yayımlanmaktadır (3). TB hastalarının kayıtları verem savaşı dispanserleri'nde (VSD) tutulmaktadır. Bir yıl öncenin hasta kayıtları, iki yıl öncenin tedavi sonuçları DSÖ'ye raporlanmak üzere yılda iki kez "Tüberküloz Daire Başkanlığı"na (TBDB) iletilir ve burada toplanır. Ülkemizdeki 2005-2017 yılları arası TB insidansı Şekil. 1'de görülmektedir (3).



Şekil.1 Ülkemizde yıllara göre kayıtlı TB insidansı (100 000 nüfusta)

2017 yılında TB tanısı alan toplam hasta sayısı 12.046, bunlardan yeni tanı alan toplam hasta oranı %92,2, önceden tedavi görmüş olanlar %7,8'dir. Erkek hasta oranı %57,7, kadın hasta oranı ise %42,3'tür. Akciğer tutulumu olanlar %66,1, akciğer dışı organ tutulumu olanlar %33,9'dur. 2017 yılında TB hastalarının %71,2'sine HIV testi yapılmış, 68 hastada pozitiflik saptanmıştır (3). Tedavi başarısı 2016 yılında %85,4 olarak saptanmış, bu oran önceden tedavi görmüş olgularda %67,2, yabancı ülke doğumlularda %76,4 olarak saptanmıştır. ÇİD-TB hasta sayısı 2017 yılında 191 olarak

görülmüştür. 2015 yılı ÇİD-TB hastalarının 24. ayda tedavi başarısı %67,8 olarak rapor edilmiştir (3).

Tüberküloz Ulusal Laboratuvar Sistem Ağı (TULSA) sisteminin çalışma usul ve esaslarına dair tebliğde, CDC ile benzer şekilde ülkemizde de ağı katılan akredite mikobakteriyoloji laboratuvarlarının en geç 30 gün içerisinde ilaç duyarlılık test (İDT) sonuçlarının tetkiği isteyen hekim, kurum veya kuruluşa bildirilmesi istenmektedir (3).

2.3. Mikobakterilerin genel özellikleri

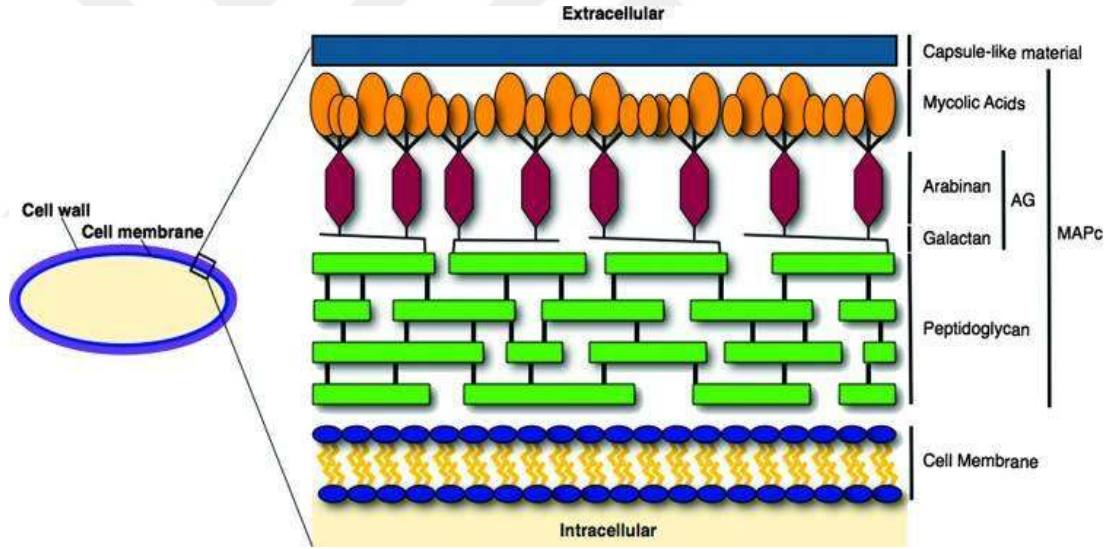
Mikobakteriler ortalama 0.3-0.6 µm en ve 1-4 µm boyunda, ince, bazen hafif kıvrık, düzensiz, hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüz basillerdir. Klinik materyalden doğrudan yapılan preparatlarda birbirlerine paralel veya açı oluşturacak şekilde birarada duruş gösterirlerken, kültürlerden yapılan preparatlarda düzensiz kümeler oluşturdukları görülür (11-13). Aeropturlar. Optimal 37°C'de (30-42°C) ürerler ve ortamda %3-11 oranında CO₂ 'nin bulunması üremelerini hızlandırır (2). Basit karbon kaynaklarının oksidasyonu ile enerji sağlayabilirler. Üreme ortamında karbon kaynağı olarak gliserin, glikoz, sitratlar ve azot kaynağı olarak aminoasitler, asparajin ve amonyum tuzları yeterlidir (12-14). Uygun ısı ortamında kültürleri yapıldığında, koloni morfolojisi türler arasında değişmekle birlikte S (smooth) ya da R (rough) pigmentli ya da pigmentsiz olabilir. Eski kültürler karotenoid pigmentlere bağlı olarak sarı, turuncu nadiren pembe renkli olabilir (9). Mikobakterilerin türlerine göre kültürde üreme süresi 2-60 gün arasında değişiklik gösterir (15). Tablo.2'de mikobakterilerin taksonomisi gösterilmiştir (16).

Tablo.2 Mikobakterilerin Taksonomisi (16)

Alem:	Prokaryot(Bakteri)
Bölüm:	Firmicutes
Sınıf:	Actinobacteria
Takım:	Actinomycetales
Aile:	Mycobacteriaceae
Genus:	Mycobacterium

2.3.1 Mikobakterilerin hücre yapısı

Mikobakterilerin; sitoplazma, sitoplazmik zar ve bunları çevreleyen, karakteristik özelliklerinin çoğundan sorumlu olan lipid açısından zengin bir hücre duvarları vardır. Hücre duvarı temel yapısının peptidoglikan olması nedeniyle, gram boyama ile boyanmamalarına rağmen gram pozitif olarak kabul edilirler (15). Mikobakterilerin hücre duvar yapısı Şekil. 2’de gösterilmiştir (17). Peptidoglikan tabaka, arabinogalaktan tabakası ve mikolik asit birbirlerine sıkı kovalent bağlanmışlardır ve ‘‘MA-AG-PG (MAPc) kompleksi’’ olarak adlandırılır, çözünmezdir ve mikobakteriyel hücre duvarının temelini oluşturur, antimikobakteriyel ajanların çoğu da bu kompleksi hedef alırlar (17).



Şekil. 2 Mikobakteri hücre duvar yapısı, MAPc, MA-AG-PG kompleksi. (17)

Peptidoglikan tabaka; diğer bakterilerde olduğu gibi, kısa peptid zincirleri ile çapraz bağlı, polisakkarit zincirleri içerir (15,17). Polisakkarit zincirler, N-asetil glikozamin ve N-glikolil muramik asitten oluşmuştur. Glikolil yapısı nedeniyle bakteri lizozime dirençlidir (18,19).

Mikobakterilerin başlıca lipidleri; mikolik asit, balmumu (Wax D), fosfolipidler, trehalozlar (kord faktörü, sülfolipidler, mikolipenik asit), glikolipidler, lipoglikan ve lipoproteinlerdir. Hücre duvarının yüksek lipid içermesi, asidorezistan boyanma yanısıra mikobakterilerin dezenfektanlara, konak hücreler tarafından salınan litik enzimlere ve tedavide kullanılan bakterisidal ilaçlara karşı direnç göstermelerine de neden olur (15,16,17). Mikolik asit, uzun zincirli (C78-C90) yağ asitlerinden oluşmuştur (13). Wax D, Freud adjuvanındaki aktif kısımdır, interferon yapımını da indükler (13, 19). Mikolipenik asit, sadece virulan suşlar tarafından oluşturulur ve lökosit göçünü önemli oranda azaltır (18). Kord faktörü (6,6'-dimikolat- α -D-trehaloz), komplemanın alternatif yolunu aktive eder, PNL göçünü önler, granulom oluşumunda rol oynar, adjuvan etkinliği vardır, aynı zamanda antitümör özelliği vardır (13,18,19).

Mikobakteri hücre duvarında yer alan proteinler, antijenik özellik sağlamanın yanısıra atıkların hücre duvarından geçmesinde ve por oluşturmada etkilidirler (18).

M. tuberculosis'in 80'den fazla türü tanımlanmıştır. Bakteriyolojik özellikler ve DNA benzerlikleri nedeniyle birbirleriyle yakın ilişkili türler [*M.tuberculosis kompleksi* (MTBC)] başlığı altında toplanmıştır. MTBC içerisinde yer alan türler: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. canetti*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii* ve *M. tuberculosis*'tir. Hastalığın en sık etkeni ise *M. tuberculosis* türüdür (2).

MTBC dışında kalan tüm mikobakteriler *Mycobacteria other than tuberculosis* (MOTT) [non-tüberküloz mikobakteriler (NTM)] olarak adlandırılmaktadır. MOTT doğada yaygın olarak bulunur ve insanda hastalık oluşturmaz, ancak bazı MOTT türleri özellikle immun sistemi baskılanmış insanlarda tüberküloz dışı hastalıklar meydana getirir. Ernest Runyon tarafından, pigment oluşturma, üreme süresi ve koloni özelliklerine göre, fotokromojen: (Runyon grup I), skotokromojen (Runyon grup II), non-kromojen (Runyon grup III) ve hızlı üreyenler (Runyon grup IV) olarak geleneksel Runyon sınıflandırılması (Tablo.3) tanımlanmıştır (11). *M. kansasii*'nin bazı suşlarını pigment oluşturmayaabileceği, *M. avium kompleks* (MAC)'ın bazı suşlarının hafif pigment oluşturmaya, *M. szulgai*'nin 37°C'de skotokromojenik, 25°C'de fotokromojenik olması Runyon sınıflandırmasına uymaz (2).

Tablo.3 Mikobakterilerin geleneksel Runyon sınıflandırılması (11)

Tüberküloz kompleks	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>
	<i>M. africanum</i>	<i>M. bovis Bacillus- Calmette-Guerin (BCG)</i>
	<i>M. caprae</i>	<i>M. canetti</i>
	<i>M. microtti</i>	<i>M. pinnipedii</i>
Fotokromojenler (sadece ışıktaki sarı pigment oluştururlar ve yavaş ürerler)	<i>M. simiae</i>	<i>M. marinum</i>
	<i>M. kansasii</i>	<i>M. asiaticum</i>
	<i>M. szulgai</i> (25°C’de inkübe edildiğinde)	
Skotokromojenler (karanlıkta ve ışıktaki pigment oluştururlar ve yavaş ürerler)	<i>M. gordonae</i>	<i>M. celatum</i>
	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. xenopi</i>
	<i>M. szulgai</i> (37°C’de inkübe edildiğinde)	
Fotokromojen olmayanlar (Pigment oluşturmazlar ve yavaş ürerler)	<i>M. avium complex</i>	<i>M. genevansae</i>
	<i>M. ulcerans</i>	<i>M. shimodei</i>
	<i>M. malmoense</i>	<i>M. haemophilum</i>
	<i>M. celatum</i>	<i>M. gastri</i>
	<i>M. terrae complex</i>	<i>M. xenopi</i>
Hızlı üreyenler	<i>M. fortuitum grup</i>	<i>M. smegmatis</i>
	<i>M. abscessus grup</i>	<i>M. mucogenicum</i>
	<i>M. chelonae grup</i>	<i>M. immunogenum</i>
	<i>M. cosmeticum</i>	<i>M. vaccae</i>
	<i>M. phlei</i>	

İnsanda hastalık yapan ve dünyada en yaygın görülen mikobakteri enfeksiyonları *M. tuberculosis*, *M. leprae* ve *M. ulcerans*’a bağlı olarak görülür. *M. tuberculosis* insan tüberkülozundan en çok soyutlanandır ve enfeksiyonu kliniğe en çok akciğer tüberkülozu şeklinde yansır. *M. leprae*, ‘Hansen basili’ olarak da bilinir ve kronik granülamatöz bir hastalık olan lepra’ya neden olur. *M. ulcerans*, tedavi edilmezse ülser formasyonuna ilerleyen nekrotizan cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olur. Bu ülserler Afrika’da ‘Buruli ülseri’ olarak tanımlanırken, Avustralya’da ‘Bairnsdale ülseri’ olarak adlandırılmaktadır (11).

M. avium complex (MAC) üyeleri, insan hastalıklarıyla en sık ilişkilendirilen NTM’lerdir. 41°C de ürer, kültürde yumuşak, pigmentsiz S kolonileri vardır (2,11).

Herhangi bir kronik akciğer hastalığı olmayan orta yaştaki kadın hastalarda görülen, akciğer orta loblar ve lingulada kavitasyona ilerleyen nodüllerle karakterize “Lady Windermere” sendromu olarak tanımlanmış bir MAC enfeksiyonu vardır. (2,11).

2.3.2. Mikobakterilerde enzimatik reaksiyonlar

Pigment üretimi; kesin tür tayini için yeterli olmamakla beraber olasılıkları azaltmada faydalıdır. Niasin neredeyse tüm mikobakteriler tarafından üretilir. Niasin birikimi; niasin reaktif şeridi kullanılarak, inkübe edilen besiyerinde sarı rengin oluşması ile gösterilir (2). Pirazinamidaz, prazinamidi deamine ederek pirazinoik asit oluşturan bir enzimdir. Oluşan pirazinoik asit kültür ortamında kırmızı bir bant şeklinde kendini gösterir. Zayıf niasin pozitif *M. bovis*’in *M.tuberculosis*’ten ayrımı için faydalı bir testtir (2).

M.tuberculosis, *M. kansasii* ve *M. szulgai* nitratların nitritlere indirgenmesini katalizleyen nitroredüktaz enzimini üretmektedir. İzolat üzerine sülfanilik asit ve N-naftil etilendiamin eklenmesi sonucu kırmızı rengin oluşması nitrit varlığına işaret eder. Bu test *M.tuberculosis* tanımlanmasına yardımcı olduğu gibi, *M. kansasii* ve *M. szulgai* türlerinin tanımlanmasında da anahtar test olma özelliğindedir (2).

Mikobakterileri 3-6 saat gibi kısa bir sürede saptamak için Tween 80 hidrolizi testi kullanılır. Özellikle *M. kansasii*’nin tanımlanmasında faydalıdır. INH dirençli *M.tuberculosis* ve *M.bovis* dışında bütün mikobakteriler katalaz pozitifdir. Hızlı üreyen mikobakterilerin, nonfotokromojenik mikobakterilerden ayrılmasında arilsülfataz aktivitesi yardımcı bir enzim testidir. Test ortamında kırmızı rengin oluşması, serbest fenolfitalein’in salınımını gösterir ve mikobakterilerdeki arilsülfataz enzim aktivitesini belirtir Bu enzim az miktarda *M. marinum*, *M. kansasii*, *M.szulgai* ve *M. xenopi* tarafından da üretilir. (2).

M.sucrofuloceanum’un üreaz pozitif reaksiyon vermesi ile *M. gordonae*’den ayrılmasında yardımcı bir testtir. Benzer şekilde *M. gastri*’nin de diğer nonfotokromojenik mikobakterilerden ayrımında yardımcı bir testtir (2).

Kültür ortamından çözünür demir tuzlarını alma ve %20'lik ferrik amonyum sitrat solüsyonunun eklenmesiyle paslı kahverengi görüntü vermesi *M. fortuitum*'u diğer hızlı üreyen mikobakterilerden ayırmada faydalıdır (2). Tiyofen-2-karboksilik asit hidrazid (T2H) varlığında seçici olarak *M. bovis* üremesi baskılanır, *M. bovis* suşlarının ayırımında kullanılır (2).

Yüksek tuz konsantrasyonlarında üreme her mikobakteride görülmez, ayrıca bu test agar bazlı besiyerlerinde yapılamaz. *M. trivale*, bazı *M. flavescens* suşları, *M. fortuitum* ve *M. abscessus* ise %5 sodyum klorür içeren besiyerinde 28°C'de üreyebilir (2). MacConkey agarda kristal viyole olmayışı, hızlı üreyen mikobakterilerin üremesini destekler (2).

2.3.3. Antijenik Yapı

Mikobakterilerin yapısında yer alan protein, lipid ve polisakkaritlerin tümü immunojeniktir. Proteinler anahtar immunojen olarak kabul edilirler, hücresel immün yanıt oluşumunda önemlidir. Kültürde üretilen *M. tuberculosis* ve *M. bovis*'in akım halindeki buharla öldürülmesi, ısıyla yoğunlaştırılması ve filtrasyonla sterilize edilmesi sonucu elde edilen, saf olmayan bir ürünü Old tüberkülin (OT) olarak adlandırılır (13). OT'de tüberküloprotein 32 kD'dır, PPD ise 2 ve 9 kD'luk iki protein içerir. Tam olarak saflaştırılamamıştır ve diğer mikobakterilerle infeksiyonlarda çapraz reaksiyon verebilir. OT'nin membranlardan süzülmesi ve amonyum sülfatla çöktürülmesi ile saflaştırılmış hali, saflaştırılmış protein derivativesidir [Purified protein derivate (PPD)] ve *M. tuberculosis* ile karşılaşmayı değerlendirmek spesifik tanısal cilt testi reaktifleri olarak kullanılır. DSÖ 0.1 ml solüsyonda 5 tüberkülin ünitesi (TU) (0.0001 mg PPD-S proteini) dozunda PPD bulunmasını önermektedir (1,13,16).

Saflaştırılmış antijenler de bulunmaktadır. 65 kDa protein; konak hücre içinde çoğalan basillerden salgılanan, immünojenitesi yüksek olan bir ısı şok proteinidir (13). Antijen 85 kompleks (alfa antijen 30/32 kDa antijen); kord faktörün sentezi için gerekli olan *M. tuberculosis*'in salgıladığı major antijendir. Potansiyel koruyucu bir antijen olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalar, tüberkülozlu hastalarda bronkoalveolar

hücrelerin Ag 85'e sağlıklı insanlardan daha fazla yanıt verdiğini ancak bu yanıtın PPD'ye olan yanıtından daha az olduğunu ortaya koymaktadır (20).

Antijen 5, antijen 6, antijen 60; saflaştırılmış sitoplazmik proteinlerdir. Bakteriye karşı oluşan humoral yanıtı göstermek amacıyla kullanılmaktadır, PPD'den daha özgündürler. Antijen 60'ın tüm mikobakterilerde olması ve *Nocardia* türleri ile çapraz reaksiyon vermesi nedeniyle tanıda çok yer edinememiştir (20). 19 kDa lipoprotein; *M.tuberculosis*'in hücre duvarında bulunur, immüniteyle ilgilidir. IFN- γ sentezini kodlayan genleri ve makrofajların IFN- γ reseptörünü inhibe eder. Monosit ve makrofajların apoptozunda görevlidir. TNF- α ve İnterlökin-12 (IL-12) sentezini azaltarak T lenfosit aktivasyonunu inhibe eder. Nitrojen ara ürünlerinin üretimini, Major Histocompatibility Kompleks-I (MHC-I)'in antijen bağlamasını inhibe eder (21). ESAT-6 (Early secretory antigenic target), CFP-10 (Culture filtrat protein) ve TB7.7 antijenleri; MTC'nin RD1 gen lokusundan kodlanmaktadır. Bu antijenlere karşı gelişen interferon yanıtını ölçen testler ile, aktif ve latent tüberküloz tanısı konabilmekte, tedaviye yanıt takip edilebilmekte ve *M. tuberculosis* enfeksiyonunun BCG aşılmasıyla ayrımı yapılabilmektedir (22).

2.3.4. Mikobakterilerin Kültür Özellikleri

Tüberküloz basilleri; yumurta bazlı ve agar bazlı seçici olmayan besiyerleri (Tablo.4) ve bu besiyerlerine bakteriler, mantarlar gibi diğer patojenlerin kontaminasyonlarını engellemek için antibiyotiklerin eklenmesiyle elde edilen seçici besiyerlerinde (Tablo. 5) yavaş üreme gösterirler (2).

Yumurta bazlı besiyerleri; tam yumurta, belirli tuzlar, gliserol, patates unu içeren özel besiyerlerinin *M. tuberculosis* üremesinde başarılı olduğu görülmüş, kontaminasyonu engellemek için malaşit yeşili ve kristal viyole gibi anilin boyaları eklenmiştir (2). İyi bir üreme için ortalama 4-6 haftalık süre gereklidir (12).

Agar bazlı besiyerleri; belirli tuz ve organik kimyasallardan hazırlanan, bazıları agar içeren, ancak hepsi mikobakterilerin optimal üremesi için albümin içeren

besiyerleridir. Besiyerinde mikobakteri varlığını diğer besiyerlerine göre daha erken saptanması, içerdiği biyotin ve katalaza bağlanmıştır (2).

Tablo.4 Mikobakteriler için seçici olmayan besiyerleri (2)

Besiyeri	İçerik	İnhibitör
Löwenstein-Jensen (LJ)	Koagüle tam yumurta, belirli tuzlar, gliserol, patates unu	0.025g/100ml malaşit yeşili
Petragnani	Koagüle tam yumurta, yumurta sarısı, tam süt, gliserol, patates, patates unu	0.052g/100ml malaşit yeşili
American-Toraks Derneği Besiyeri	Koagüle yumurta sarısı, patates unu, gliserol	0.02g/100ml malaşit yeşili
Middlebrook 7H10	Belirli tuzlar, kofaktörler, oleik asit, albümin, katalaz, gliserol, dekstroze	0.0025g/100ml malaşit yeşili
Middlebrook 7H11	Belirli tuzlar, vitaminler, kofaktörler, oleik asit, albümin, katalaz, gliserol, %0,1kazein hidrolizat	0.0025g/100ml malaşit yeşili

Tablo.5 Mikobakteriler için seçici besiyerleri (2)

Besiyeri	İçerik	İnhibitör
Selektif Löwenstein-Jensen	Koagüle tam yumurta, belirli tuzlar, gliserol, patates unu	0.025 g/100 ml malaşit yeşili Sikloheksimid 400 µg/ml Linkomisin 2 µg/ml Nalidiksik asit 35 µg/ml
Löwenstein-Jensen'in Gruft modifikasyonu	Koagüle tam yumurta, belirli tuzlar, gliserol, patates unu, RNA 5mg/100ml	0.025 g/100 ml malaşit yeşili Nalidiksik asit 35 µg/ml Penisilin 50 U/ml
Selektif Middlebrook 7H10	Belirli tuzlar, vitaminler, kofaktörler, oleik asit, albümin, katalaz, gliserol, glukoz	0.025 g/100 ml malaşit yeşili Sikloheksimid 360 µg/ml Linkomisin 2 µg/ml Nalidiksik asit 20µg/ml
Selektif Middlebrook 7H11	Belirli tuzlar, vitaminler, kofaktörler, oleik asit, albümin, katalaz, gliserol, glukoz, kazein hidrolizat	Karbenisilin 50µg/ml Amphotericin-B 10µg/ml Polimiksin-B 200 U/ml Trimethoprime lactat 20µg/ml

Günümüzde kullanılan Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri, Middlebrook 7H10 ve 7H11 ise agarlı besiyerleridir. 7H10 besiyerine, yalnızca INH dirençli mikobakterilerin üreme oranı ve miktarını arttırmak için 0,1 kazein hidrolizat

eklenmesiyle 7H11 besiyeri elde edilmiştir. Middlebrook 7H11 besiyeri kullanıldığında CO₂'li ortam zorunludur (2).

Mikobakteriler türler arasında değişiklik göstermekle birlikte ortalama 21 günde (3-60 gün) yumurta bazlı besiyerinde üreme gösterirler (2). Farklı mikobakteri türlerinin optimal izolasyonu için farklı ısı dereceleri gerekmektedir. Örneğin; *M. tuberculosis* ise 37°C'de optimal üreme gösterirken, cildi enfekte eden türler (*M. marinum*, *M. haemophilum*, *M. ulcerans* gibi hızlı üreyen mikobakteriler) cilt sıcaklığında (30-32°C) optimal ürerler. *M. xenopi* 42°C'de optimal üreme gösterir (2). Mikobakteriler en iyi %3-11 CO₂'li ortamda ürerler, ancak mumlu kavanozlarda iyi üreme göstermemelerinin nedeni tam olarak açıklanamamıştır (2).

M. tuberculosis, gliserinli sıvı besiyerinde üç haftada, yüzeyde kalınca bir zar oluşturarak ürer. Yumurtalı ve katı besiyerinde iyi ve daha hızlı (2-3 haftada) ürer (ögonik üreme). Düzensiz, yüzeyleri pürüklü, kuru ve siğil görünümünde, kirli beyaz, bazen sarımtırak koloniler oluştururlar. Koagüle serumlu besiyerinde sarı pigment daha belirgin oluşur (12). *M. bovis*, yumurtalı katı besiyerlerinde 4-8 haftalık bir sürede daha yavaş ürer (disgonik üreme). Gliserin üremelerini güçleştirir. *M. Bovis* ilk izolasyonunda gliserinli ortamda zayıf üreme gösterir, zamanla uyum sağlar, dipte çökelti yaparak çok yavaş ürer. Yumurtalı besiyerinde kolonileri ortalama bir ayda belirginleşir. Küçük, yuvarlak, düzgün, hafif kabarık, nemli, beyazımtırak kolonilerdir. Pigment yapmazlar (2,12)

3.PATOGENEZ

M. tuberculosis, ömür boyu enfeksiyon oluşturabilen hücre içi bir patojendir. Kişinin immünolojik durumu ile bakteriyel virulans arasındaki hassas dengeye bağlı olarak, enfeksiyonun aktif hastalığa ilerlemeksizin kalıcı olarak sürdürülmesi söz konusu olabilir (12,16). TB hastalarının %80'ini pulmoner TB hastaları oluşturur. TB, primer, sekonder, miliyer ve ekstrapulmoner TB olarak karşımıza çıkabilir. Ekstrapulmoner TB; lenfatik sistem, iskelet sistemi, genitoüriner sistem, gastrointestinal sistem, santral sinir sistemi, plevra, perikard tutulumu ve miliyer TB şeklinde kliniğe yansıyabilir (12,23).

M. tuberculosis 'in hemotojen yayılımı ile vücuda dağılması ve birçok organda çok sayıda granulomlar oluşturmaya miliyer TB denir, bağışıklığın baskılandığı hastalar ve çocuklarda daha sık görülür, bu hastalarda genellikle PPD negatiftir. Hematojen yayılım ile ayrıca kemik ve eklemlerin tutulumu ile vertebra tüberküloz, tüberküloz spondilit, Pott hastalığı, renal korteksin tutulumuyla renal TB, santral sinir sistemi tutulumu ile TB menenjit görülür. Plevranın tutulumu ile plevral TB, enfekte mediastinal veya hiler lenf bezinin perikard aralığına rüptürü neticesinde perikardiyal TB görülür. Lenf bezi TB, sıklıkla çene altı, boyun ve akciğer hiler bölge lenf bezlerinde görülür. Yaygın kaviter akciğer lezyonu olan ve larinks tüberkülozlu hastalarda enfekte balgamin yutulması veya hematojen yayılım sonucunda, daha çok ileum ve ileoçekal bölgenin tutulduğu barsak TB görülür (12,13).

TB hastalığında en önemli bulaş yolu solunum yoludur. Aktif tüberkülozlu kişiler solunum yoluyla içinde değişik sayılarda basil içeren damlacıklar saçarlar. Saçılan damlacıkların büyük olanlarının çoğu mukozal yüzeylere hapsolür ve silialar tarafından tutulur, böylelikle akciğer alveollerine ulaşımı engellenmiş olur, ancak içinde 1-3 mikobakteri içeren 1-5 µm çapındaki küçük partiküller, alveollere ulaşabilir ve alveolar makrofajlar tarafından fagosite edilir (13). Makrofajlar *M. tuberculosis* enfeksiyonuna yanıt olarak, IL-12 ve TNF-α salgılar. Bu sitokinler, T hücrelerinin T helper 1 hücrelerine farklılaşmasını ve ardından IFN salgılanmasını sağlar (16). Konak yanıtının göstergesi olarak aktive T lenfositler makrofajlarla birlikte basilleri çevreler ve granülamatöz bir inflamasyona neden olurlar. Ayrıca CD4 T lenfositler IFN-γ

salgılayarak lenfokin, monosit ve makrofajları aktive ederler. Monositlerden köken almış olan doku makrofajları epiteloid hücrelere dönüşür, bu hücrelerin birleşmesi sonucu çok nukleuslu dev hücreler meydana gelir (24).

Makrofajlar fagozom içindeki basilleri süperoksit anyon, hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller ile öldürür. Makrofajın mikrobiyosidal aktivitesi yeterli ise basiller ortadan kaldırılabilir ve enfeksiyon oluşmaz (13). Proton-ATPaz veziküllerin dışlanması nedeniyle mikobakteri taşıyan fagozomun pH'sı, daha fazla asidifiye olmaksızın 6,5 seviyesinde kalır. Bu pH seviyesi mikobakterinin yaşaması için uygun seviyedir (27).

Mikobakterilere karşı vücutta hücresel tipte immun yanıt oluşur. Gecikmiş tip hipersensitivite yanıtında, lenfokinler mikobakterileri öldürmenin yanısıra granülomun merkezinde bulunan nekrotik dokularda pıhtılaşma mekanizması ile iskemi ve nekroza neden olur. Lezyon bölgesinde aktive makrofajlara ait proteinaz, endonükleaz, lipaz gibi enzimler granülomun ortasında bulunan kazeomu eriterek likefaksiyon oluşturur ve bu kazeomun bronşlara açılmasıyla kavitasyonlar meydana gelir (13).

Tüberküloz primer ve sekonder olmak üzere iki formda görülür. Primer TB; mikobakteriler tarafından kişinin ilk defa enfekte olması halidir. Mikobakteriler akciğerlerin alt loblarına ve plevra altına yerleşirler, ilk yerleşim yerine toplanan makrofajlar, epiteloid hücrelere dönüşür, bu hücrelerin birleşmesiyle Langhans tipi dev hücreler oluşur, lenfositlerin bu hücrelerin etrafını sarması suretiyle meydana gelen granülomlara 'Ghon odağı' denir. Primer odağa eşlik eden bölgesel lenf bezi büyümesi 'Ghon kompleksi' olarak ifade edilir (25,26).

Sekonder TB; önceden primer enfeksiyon geçirmiş kişilerde görülür. Primer tüberkülozdan farklı olarak, genellikle erişkin hasta grubunda görülür, akciğer üst loblarını tutar, ayrıca hiler lenfadenopati ve spontan iyileşmeye nadir rastlanır (11,13,25,26).

Tüberküloz hastalığında eksüdatif ve prodüktif tipte olmak üzere iki tipte lezyon oluşur: Eksüdatif tip lezyon; ödem sıvısı, PNL ve mikobakterilerin çevresinde monositler ile birlikte akut iltihabi reaksiyonu içerir. Eksüdatif faz boyunca tüberkülin

deri testi pozitifdir (11). Prodüktif tip lezyon; mikobakterileri içeren multinükleer dev hücreler veya Langhans hücrelerinden oluşan granüloma oluşur. Lezyonun bulunduğu yerde periferik fibröz doku gelişerek merkez bölgede kazeöz nekroz oluşur. Bu lezyonlara ‘tüberkül’ denir. Kazeöz tüberkül bir bronş içine doğru gelişirse, içeriğini buraya boşaltır ve kavite oluşur, buna ‘kavern’ adı verilir. Daha sonra kalsifikasyon ve fibrinleşme ile iyileşebilir (11).

Akciğerlerin apikal veya subapikal bölgeleri, böbrekler ve uzun kemiklerin büyüyen uçları (çocuklarda) yüksek miktarda oksijen içerirler, aerob olan *M. tuberculosis* bu bölgelere yerleşme olanağı bulduklarında yavaş olarak ürer ve belirti vermeksizin dormant [latent TB (LTB)] hale geçer. Normal bireylerde tüberküloz basili ile karşılaşma sonrası yaşam boyu aktif TB geçirme olasılığı %10 iken, HIV pozitif bireylerde bir yıl içinde %10’dur. AIDS’li kişilerde tüberküloz diğer fırsatçı enfeksiyonlardan daha erken ortaya çıkar, akciğer dışı bölgelere yayılma olasılığı çok daha fazladır (12,14). Kanseri, otoimmün ve allerjik hastalıkların tedavisi, transplant reddi için kullanılan immunosupresif ilaçların kullanımı sırasında LTB aktive olabileceği için, bu ilaçların kullanılmasından önce hastaların latent enfeksiyon yönünden incelenmesi gerekliliği akılda tutulmalıdır (4).

Hastanın TB basili ile karşılaşmasını değerlendirilmek amacıyla yapılan geleneksel test, hücresel yanıtın araştırıldığı tüberkülin deri testi (TDT)’dir, ‘Mantoux yöntemi’ olarak adlandırılır. 1939 yılında Seibert ve Glenn tarafından üretilen bir parti PPD (lot 49608), PPD-S olarak adlandırılır ve bu uluslararası standart olarak kullanılmaktadır (28). 0,1 mg/0,1ml dozdaki bir PPD-S’in gecikmiş deri testi aktivitesi PPD-S’in standart 5-tüberkülin ünitesi (TU) dozu olarak tanımlanır (29,30).

İmmün yanıtın baskılandığı durumlarda, bir ile dört hafta sonra yapılacak ikinci bir cilt testi güçlendirici (booster) etki yapacağı için ‘ikili TDT’ uygulaması yapılmakta ve bu sonuç kayıt altına alınmaktadır (3). *M. tuberculosis* antijenleri tarafından uyarılan duyarlı T hücrelerin ürettiği IFN- γ ’yı ölçmek PPD cilt testine alternatif olarak kullanılmakta ve interferon gama salınım testleri (IGST) olarak isimlendirilmektedir. Bu testlerde, öncesinde duyarlanmış bellek T hücreleri antijenle tekrar uyarıldığında, antijeni anımsayan hücrelerden salınan IFN- γ yanıtı ölçülür (16).

4. TÜBERKÜLOZUN MİKROBİYOLOJİK TANISI

Tüberküloz tanısında kullanılan geleneksel yaklaşımlar; aside dirençli boyama sonrası mikroskopik değerlendirme, katı ve sıvı besiyerine ekim, basilin tanımlanması ve İDT yapılmasını içermektedir.

4.1. Klinik örneklerin alınması ve laboratuvara gönderilmesi

Mikobakteriler; solunum yolu örnekleri, idrar, dışkı, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), doku biyopsi örnekleri ve hemen hemen bütün doku ve organlardan alınan derin iğne aspirasyon örnekleri dahil steril veya floralı çeşitli klinik örneklerden izole edilebilirler. Örneklerin alındığı kaplar, steril, tek kullanımlık, kapakları sızdırma yapmayacak şekilde vidalı olmalıdır. Örnek mümkün olan en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalı, hemen çalışılmayacak ise buzdolabında saklanmalıdır. (2,33).

Mikobakterilerin, mukozal ülserler veya kavitelerden bronş lümenine düzensiz ve aralıklı atılması nedeniyle izolasyon şansını arttırmak için ve gece boyunca bronşlarda biriken balgamda basil daha iyi gösterildiğinden, 24 saat aralıklarla ardışık üç gün sabah balgamı örneği alınmaktadır. Örnek toplama işlemi sırasında bakteri ve mantarların üreme ihtimali arttığından dolayı yirmi dört saatlik örnek toplanması uygun değildir. Balgam çıkaramayan hastalarda, indüklenmiş balgam, mide açlık sıvısı (MAS), bronkoalveolar lavaj (BAL) örneği kullanılabilir (2,12,34). MAS, balgamın yutulması nedeniyle, özellikle çocukluk yaş grubunda alınmaktadır.

İdrar örneği, orta akım idrar alma tekniği ile üç gün üst üste alınır. BOS, plevra, periton, sinoviyal, soğuk abse sıvıları yöntemine uygun ponksiyon yöntemi ile alınır (12). Biyopsi örnekleri en az 1 gr ağırlığında olacak şekilde steril kaplarda gönderilmeli, gazlı beze sarılı veya formol içinde gönderilmemelidir. Kan örneği en az 10 ml, dışkı örneği ise en az 1 gr olacak şekilde laboratuvara gönderilmelidir (34).

Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi'ne göre; değerlendirmeye alınacak balgam miktarı 3-5 ml olmalıdır, ideal olarak üç gün üst üste mikroskopik incelemesi gereklidir. Mikroskopi yapılan her örneğin kültürünün yapılması zorunludur. Hasta

örneklerinin hem katı hem de sıvı besiyerine ekilmesi önerilmektedir. Her hastaya tedavi başlangıcından önce üreyen ilk kültürde ilaç duyarlılık testi (İDT) yapılması önerilir (3,4). *M. tuberculosis* ve *M. bovis* kültür işlemlerinin yapıldığı laboratuvarlar için, Düzey III biyogüvenlik (Biosafety Level: BSL) uygulamaları gerekmektedir (2).

Balgam yaymasıyla TB hastalığına, erişkinlerde sadece %44'üne çocuklarda ise sadece %15-20'sine tanı konulabilir. LTB tanısı için TDT ve IGST testleri kullanılır (3,35,36). TB hastalığına ilerleme riskini tahmin edecek bir test henüz bulunmamakla beraber, idrarda veya serumda lipoarabinomannan (LAM) ölçümünün aktif ve latent hastalığın tanısasal bir işareti olabileceği düşünülmektedir (37).

4.2. Örneklerin işlenmesi

Laboratuvara gönderilen örneklerin; kan hücrelerinden, vücut sıvıları ve doku parçaları gibi organik kalıntılardan, kontaminan bakteri ve mantarlardan arındırılmaları için homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi uygulanır. Örnekteki bakteri konsantrasyonunu arttırmak için ise konsantrasyon işlemi uygulanır (34). Steril vücut sıvılarında dekontaminasyonun yapılmasına gerek yoktur. Santrifüj sonrası besiyerine ekim yapılabilir.

Homojenizasyon- dekontaminasyon için; NaOH yöntemi, N-asetil- L-sistein (NALC)- sodyum hidroksit (NaOH) yöntemi, Zefiran-Trisodyum fosfat yöntemi (Z-TSP), Okzalik asit yöntemi, Cetilpiridinyum klorid-sodyum klorid yöntemi, Sülfürik asit yöntemleri kullanılır (30,33). Mikobakteriyoloji laboratuvarlarında en sık NALC-NaOH yöntemi kullanılır. NALC mukolitik etkinliği için tercih edilir. %4 lük NaOH dekontaminan etkinliği yanısıra emulsifiye edici etkisi dolayısıyla mukolitik etki de sağlar. Mikobakterilerin NaOH'in toksik etkisinden zarar görme riski NALC-NaOH birlikte kullanılması ile azalmaktadır. %2,9 luk sodyum sitrat ise örnekte bulunabilecek ağır metal iyonlarını şelatlayarak NaOH'i stabilize eder ayrıca bu iyonların NALC'yi inaktive etmesini engeller. İdrar örneklerinin kontaminasyonu diğer yöntemlerle önlenemiyorsa sülfürik asit yöntemi kullanılabilir (38,39).

Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi dört basamaktan oluşur.

1.Konsantrasyon: Solunum yolu örneklerine göre idrar ve steril vücut sıvılarında daha az sayıda basil bulunur. İzolasyon şansını arttırmak için, bu örnekler 3000-4000 devirde,15-20 dakika santrifüjlenir. Sonraki işlemler için elde edilen bu çökelti kullanılır (3,33,34).

2.Homojenizasyon: Balgam, MAS ve biyopsi örnekleri gibi mukus, epitel ve şekilli elemanları içeren örneklerde, bu yapılar arasında gizlenmiş olan basilleri ortaya çıkarmak için NaOH veya NALC gibi kimyasal maddeler kullanılır, örnek içinde basillerin dengeli bir dağılım göstermesi sağlanır (33,34).

3.Dekontaminasyon: Steril olmayan örnekler, alındıkları anatomik bölgeye ait bakteri, maya hücreleri gibi flora üyelerini de içerirler. Kontaminan mikroorganizmalar, besiyeri yapısını bozar ve besiyerindeki besin öğelerini tüketirler, mikobakteriler üremeye fırsat bulamazlar. NaOH, oksalik asit gibi kimyasal maddelerin kullanılması ile kontaminan mikroorganizmalar uzaklaştırılmaya veya oranları azaltılmaya çalışılır (33,34).

4. Nötralizasyon: Mikobakteriler pH 6.5-6.8 de iyi ürerler. Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemleri sırasında kullanılan kimyasal maddelerden dolayı pH özellikleri değişebilir. Bu nedenle fosfat tampon çözeltisi ya da brom-timol, fenol kırmızısı gibi indikatörler ile asit (hidroklorik asit, sülfürik asit vb.) ve alkali çözeltiler (NaOH vb.) kullanılır (33,34).

4.3. Mikroskobik inceleme

Klinik örneklerde asidorezistan basillerin (ARB) mikroskobik tespiti mikobakteriyel hastalığı doğrulamanın en hızlı yoludur, kültür sonuçlarının elde edilmesi birkaç haftayı bulabileceğinden, pozitif bir mikroskobik inceleme sonucu çok değerlidir (40). Standart konsantrasyon yöntemleri kullanılarak, mikroskopi ile ARB saptanabilmesi için balgamda mililitrede 5×10^3 - 10^4 basil olması gerektiği tahmin edilmektedir (2,40,41). Yaygın hastalığı olanlarda, atılan mikobakteri sayısının fazlalığına bağlı olarak boyama ve kültür sonuçları arasında pozitif bir korelasyon

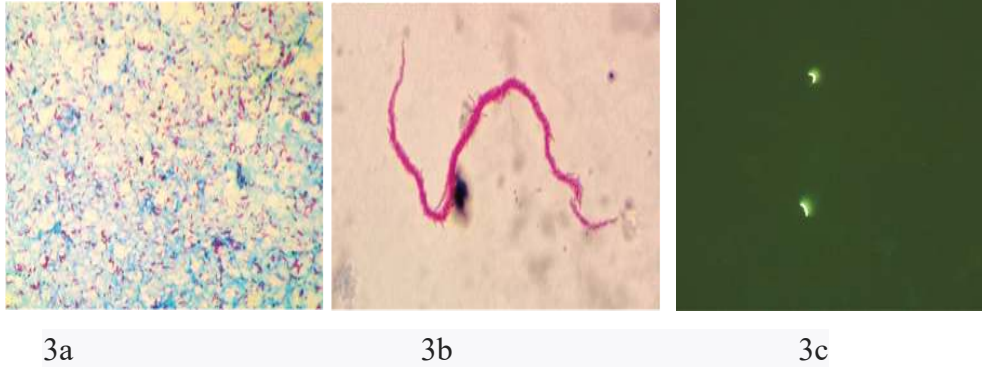
vardır. Ancak çoğu hastada bu korelasyon, hastalığın ağırlığına ve dönemine bağlı olarak %20-80 arasında değişmektedir (2,40,42,43).

ARB yaymalarında görülen basil sayısı, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de yardımcı olur. Tedavi sırasında ölen basiller nedeniyle dışarıya daha az basil atılımı olur. Tedaviye rağmen basil sayısında düşme olmaması, tedaviye direnci düşündürmeli ve ilaç duyarlılık testleri (İDT) yapılmalıdır Tedavi sırasında kültür yaymadan önce negatif hale gelebilir, bu durumda basil canlı değildir ancak boyayı alabilmektedir (2).

4.3.1. Aside Dirençli Boyama Yöntemleri

Klinik örnek, karbolfuksin (Ziehl-Neelsen veya Kinyoun) veya floresan auramin-rodamine yöntemleri ile boyanır, asit-alkol çözeltisi ile renksizleştirilir ve daha sonra zıt boyama yapılır (2,16).

Sıvı karbol fuksin in balmumu tabakasını geçip penetre olması için bu kapsülün yumuşatılması gerekir, bu da ısı ile sağlanır. EZN yönteminde; alevde tesbit edilen yayma preparatı sırasıyla karbol fuksin ile boyanır ve alttan ısıtılır, asit alkol ile renksizleştirilir ve zıt boya olarak metilen mavisi ile boyanır. Mikobakteriler mavi zemin üzerinde kırmızı renkte görülürler. Eski kültürlerden ve kronik tüberkülozlu balgam örneğinden yapılan boyamalarda homojen boyanmazlar, boyalı-boyasız bölgelerle ince boncuk dizisi şeklinde boyanma gösterirler (12). Kinyoun yönteminde, EZN boyamadaki sıralama takip edilir, farklı olarak preparat ısıtılmaz ve boya daha yüksek konsantrasyonda kullanılır. Auramin boyama yönteminde; alevde tesbit edilen yayma preparatı sırasıyla Auramin veya Auramin- Rodamin boyası ile boyanır, asit alkol ile renksizleştirilir, zıt boya olarak potasyum permanganat ile boyanır. Mikobakteriler karanlık zeminde sarı-turuncu renkte görülürler. Yayma değerlendirilmesinde birim zamanda daha fazla alan taranacağı için EZN boyamaya göre daha avantajlı olmasını sağlar (2,11). EZN boyama ile mikobakteri görünümü Şekil.3a'da, EZN boyama ile kord faktörü görünümü Şekil.3b'de, Auramine boyama ile mikobakteri görünümü ise Şekil.3c'de görülmektedir.



Şekil 3a EZN boyama ile mikobakteri görünümü 3b EZN boyama ile kord faktör görünümü (3) (Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019) 3c Auramine boyama ile mikobakterilerin floresan mikroskopi görüntüsü (11) (Jawetz, Melnick, & Adelberg's ,Medical Microbiology , 28th baskı, 2019'dan alınmıştır)

Örnekler bir ışık mikroskobu veya floresan boyalar kullanılıyorsa bir floresan mikroskop ile en az 100-300 alan taranarak incelenir. Görülen ARB sayısı incelenen mikroskop sahasına oranlanarak raporlanır. Mikroskopik değerlendirme ile ARB raporlaması Tablo.6' de gösterilmiştir.

Tablo.6 Yayma preparatlarda görülen aside dirençli basil sayısını raporlama (2)

Görülen basil sayısı	Raporlama
Yaymada hiç ARB görülmezse	negatif
Tüm yaymada 1-2 ARB görülürse	+? şüpheli pozitif
Her 100 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse	1 +
Her 10 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse	2 +
Her 1 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse	3 +
Her 1 mikroskop sahasında >9 ARB görülürse	4 +

4.4. Kültür

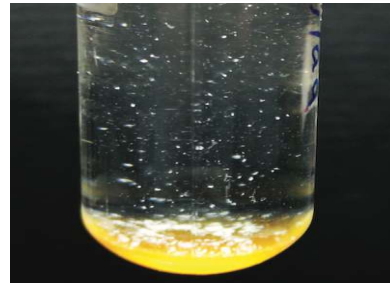
Mikroskopik incelemede ARB pozitifliğinin saptanması basilin tipi ve canlılığı konusunda bilgi vermediği için kesin TB tanısı kültürde *M.tuberculosis* izolasyonu ile sağlanır (44). Kültür; bakterilerin canlılıklarının doğrudan gösterilebilmeleri, İDT yapılarak hastaların doğru ve etkin tedavi edilebilmelerini ve tür düzeyinde identifikasyon işlemleri için gerekli izolatların elde edilip saklanabilmesini

sağlamaları, ayrıca epidemiyolojik verilerin elde edilebilmesine olanak sağlamaları açısından tüberküloz tanısında halen altın standart olarak kabul görmektedir (45).

Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi sonrası L- J besiyerine 0.1 ml ekim yapılır. Besiyeri her dört yöne hareket ettirilerek örneğin besiyeri yüzeyine yayılması sağlanır. Besiyeri tüpleri kapakları gevşetilerek ekim yüzeyi yukarıya bakacak şekilde yatık olarak, 37°C'lik etüvde bir hafta süreyle inkübe edilir, sonrasında tüplerin kapakları sıkılaştırılıp dik olarak inkübasyona devam edilir. Genellikle 3-4 haftalık inkübasyon süresi içinde açık sarı renkli, kenarları düzensiz, kuru koloniler görülmesi pozitif kültür olarak değerlendirilir. Hızlı üreyen mikobakteriler birinci haftada, yavaş üreyenler 3-4. haftada gözle görülür büyüklükte koloni oluştururlar. Besiyerleri 6-8 hafta boyunca haftada bir incelenir. Bu süre sonunda üreme yoksa kültür negatiftir. (43). Klasik kültür yöntemlerine oranla tanı süresinin kısaltılması ve izolasyon şansının artırılması için çeşitli hızlı tanı sistemleri geliştirilmiştir. LJ besiyerinde *M. tuberculosis* üremesi Şekil.5a'da, sıvı kültürde *M. tuberculosis* üremesi Şekil.5b'de görülmektedir.



4a



4b

Şekil.4 *M. tuberculosis* üremesi 4a LJ besiyerinde 4b-Sıvı kültürde (Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019)

Hızlı kültür yöntemleri

Mikobakterilerin izolasyonu için kullanılan ilk sıvı bazlı sistem BACTEC TB460'tır. Radyoaktif atık üreten yarı otomatize bir sistemdir (2,46). NTM'ler

MTBC'yi baskıladıkları için, p-nitro-alfa-asetilamino- β -hidroksi-profiyofenonu kullanarak MTBC'yi NTM'lerden ayırdedebilir. İçeriğinde zenginleştirilmiş ^{14}C işaretli palmitik asit içeren Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri bulunan, Middlebrook 7H12 (BACTEC 12B) ve Middlebrook 7H13 (BACTEC 13A) olmak üzere iki ayrı tüp sistemi vardır. Ekim yapılan tüplerde, palmitik asit kullanılması ve metabolize edilmesi ile $^{14}\text{CO}_2$ ortaya çıkar, oluşan $^{14}\text{CO}_2$ miktarı cihaz tarafından otomatik okunur, üreme indeksi (growth index-GI) sayısal değer olarak ölçülür (2,47).

MGIT [Mycobacteria Growth indicator tube (BD Diagnostic, ABD)] sisteminde modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren yuvarlak tabanlı, tabanında floresan bir bileşen (oksijen ile bileşik halde bulunan fenatrolin rutenyum klorid pentahidrat) gömülü cam bir tüp kullanılır. Üreyen mikobakteriler, ortamda çözünmüş oksijeni tüketir ve floresan görünür hale gelir, bu uzun dalga boylu UV ışık altında çıplak gözle de görülebilir. Floresan dışında tüp içerisinde bulanıklık, küçük taneciklerin görülmesi de mikobakteri üremesine işaret eder (32). MGIT sistemi, kan ve idrar dışında bütün diğer örnek tiplerinin kültürü amacıyla kullanılabilir. MGIT besiyerini zenginleştirmek amaçlı OADC ve kontaminasyonu önlemek için PANTA kullanılır. PANTA; Polimiksin B, Amfoterisin B, Nalidiksik asit, Trimetoprim, Azlosilin antibiyotiklerinin başharflerinin kısaltılmış halidir. OADC içinde; mikobakteriler için önemli bir indükleyici olan oleik asit, toksik serbest yağ asitlerine bağlanan albümin, enerji kaynağı olarak dekstroz ve besiyerinde bulunabilecek toksik peroksitleri parçalamak için katalaz bulunmaktadır. Tüpler 37°C etüve bırakılır ve ikinci günden itibaren güneşir okunur. Negatif kontrol olarak inoküle edilmemiş boş bir MGIT tüpü, pozitif kontrol olarak sodyum sülfür solüsyonu kullanılır. Manüel okuma haricinde MGIT 960 veya 320 gibi sensörleri olan otomatize sistemler de kullanılabilir (2).

MB/BacT Alert mikobakteri saptama sistemleri; kan kültürü sistemlerine benzer otomatize sistemlerdir. Vakumlu, CO_2 , azot ve oksijen içeren gelişmiş Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren tüpler kullanılır. Tüplerin tabanına gaz geçiren sensör tutturulmuştur. Mikobakteri metabolizması sonucu CO_2 üretilmesi sonucu bu sensör koyu yeşilden parlak sarıya döner (2,46). VersaTREK (Önceki ESP kültür sistemi II) sisteminde kullanılan tüpler, akciğer ortamına benzer şekilde mikobakteriler için

üreme ortamı sağlayan sellüloz süngerler içerir. Tüp içerisindeki mikroorganizmaların metabolik aktivitesine bağlı olarak gaz basıncındaki değişiklikler belirli aralıklarla izlenir, tüpün üst boşluğundaki oksijen tüketim oranına bağlı gelişen basınç değişikliği olduğunda sinyal verir (2).

BACTEC MYCO/F LİTİK sisteminde tüpler lökositler tarafından fagosite edilmiş olan mikobakterilerin salınması için litik bir ajan içerir. Kan kültürü BACTEC şişeleri gibi otomatik sistemle izlenir (2).

4.5. *M. tuberculosis* kompleks'in Genotipik İdentifikasyonu

M.tuberculosis genomunu yaklaşık 4.4 mega baz çiftinden oluşmaktadır ve oldukça yüksek oranda guanin-sitozin (%62-70) içermektedir (15, 48). Mikobakteriyel nükleik asit sekanslarını saptamak için kullanılan nükleik asit amplifikasyon testlerinin (NAAT) duyarlılıkları kültürden daha azdır, bu nedenle negatif sonuç TB tanısını ekarte ettirmez. Genom üzerinde bulunan tekrarlayan bölgeleri hedefleyen, Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) gibi yöntemler bulunmaktadır (48). Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) başta olmak üzere, ve DNA polimeraz ve restriksiyon enzimlerinin birlikte kullanıldığı izotermal bir yöntem olan “strand displacement amplification” (SDA), prob molekülünün çoğaltıldığı ligaz zincir reaksiyonu (LZR) gibi çeşitli amplifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır (49). İlaç direncini saptamada ters hibridizasyon testleri kullanılmaktadır (50).

4.6. İlaç Duyarlılık Testleri

İlaç duyarlılık testleri (İDT) tedavi rejiminin belirlenmesi ve direnç sürveyansının yapılmasında önemlidir. İDT için fenotipik, kolorimetrik ve moleküler yöntemler bulunmaktadır. İlaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekim yapılması İDT'nin temel prosedürüdür (46,51,52). Mikobakteriyoloji laboratuvarlarında farklı yöntemler

kullanılmaktadır. Tablo.7’de antitüberküloz ilaç duyarlılık test yöntemleri görülmektedir.

Tablo.7. Antitüberküloz ilaç duyarlılık test yöntemleri (46,54)

Antitüberküloz İlaç Duyarlılık Test Yöntemleri	
Konvansiyonel yöntemler	Proporsiyon (orantı) yöntemi
	Direnç oranı yöntemi
	Mutlak konsantrasyon yöntemi
Kültüre dayalı hızlı yöntemler	BACTEC 460 TB
	MGIT 960
	Versa TREK (ESP II)
	BacT/Alert 3D (MB/BACT)
Kültüre dayalı diğer yöntemler	Nitrat redüktaz testi (NRA)
	Disk elüsyon
	E-test
	MODS (Microscopic-Observation Drug-Suspectibility assay)
Kolorimetrik yöntemler [Kolorimetrik redoks indikatör metotları (KRİM)]	Mycolor-TK
	Alamar mavisi ile duyarlılık
	Rezasurin ile duyarlılık testi
	Tetrazolium tuzları ile duyarlılık (MTT; XTT)
	Malaşit yeşili ile renksizleştirme testi (MYRT)
	Kristal viyole ile renksizleştirme testi (KYRT)
Genotipik(moleküler) yöntemler	DNA dizi analizi
	Reverse hibridizasyon testi (Line probe Assay)
	RNA/RNA mismatch analiz
	Heterodubleks analiz
	SSCP (Single strand conformation polymorphism)
	Real-time PCR
	DNA microarray
	PCR-ELİSA
	FRET (fluorescence resonance energy transfer-floresans rezonanslı enerji aktarımı)
Canlı bakteri varlığına dayalı yöntemler	Flow sitometri
	Lüsiferaz taşıyıcı faj yöntemi
	Faj çoğaltma yöntemi

Canlı mikobakteri varlığına dayalı testler 2-10 günde, sıvı besiyerinde kültüre dayalı testler 1-2 haftada, katı besiyerinde kültüre dayalı testler 3-4 haftada, genotipik testler ise 2-8 haftada sonuçlanır (46). İDT yapılırken, sıvı besiyerleri yanısıra koyun kanlı besiyerlerinin kullanıldığı İDT çalışmaları vardır (53). Çoban AY, AYC.2.1 ve AYC.2.2 besiyerlerini İDT’de kullanılabilecek besiyerleri olarak bildirmiştir (54).

Agar proporsiyon yönteminde amaç; kritik konsantrasyonda dirençli bulunan basillerin kritik proporsiyonun üzerinde olup olmadığını saptamaktır. Besiyeri içerisinde belli bir oranda basil üremesine izin verilen ilaç konsantrasyonu, kritik konsantrasyon olarak tanımlanır. Kritik konsantrasyonda üremesine izin verilen basil oranı ise kritik proporsiyon’dur (46). Test edilecek bakteri suşu değişik dilüsyonlarda (10^{-2} - 10^{-4}) standardize edilerek sayılabilir koloniler elde edilip ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekim yapılır, ilaçlı besiyerinde üreyen koloni sayısının ilaçsız besiyerinde üreyen koloni sayısına oranının ≥ 1 olması ile direnç varlığından bahsedilir (46). Dirençli bakterinin oranı INH, RIF ve PZA için %1’den, diğer ilaçlar için %10’dan daha yüksekse suş dirençli olarak değerlendirilir (55,56). Sonuçları en çok kabul gören yöntemdir, PZA dışındaki tüm antitüberküloz ilaçlar için güvenilir bir yöntemdir (46,57).

Direnç oranı yönteminde; ilaca duyarlı olduğu bilinen M. tuberculosis H37Rv suşu standart suş olarak kullanılır, Her iki suş dört hafta inkübe edilir, koloni sayısı 20’den fazla ise pozitif kabul edilir, daha azsa MİK değerine bakılır. Mikobakterinin Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri, standart suşun MİK değerine bölünerek, elde edilen sayı ≤ 2 ise duyarlı, ≥ 8 ise dirençli kabul edilir (46,55,56).

Mutlak konsantrasyon yöntemi; ilacın MİK değerini saptama temeline dayanır. Bu yöntemde, 2×10^3 veya 1×10^4 cfu/ml bakteri içeren mikobakteri solüsyonu, ilaç içeren ve ilaçsız besiyerlerine ekilir, dört hafta süreyle inkübe edilir. İlaç içeren besiyerinde 20 cfu’dan daha fazla koloni gözlenmesi bakterinin o ilaca karşı dirençli olduğunu gösterir. Üreme olmayan besiyerindeki ilaç konsantrasyonu o suşun MİK değeri olarak kabul edilir (46).

BACTEC 460 TB sisteminde sonuçlar 5-7 gün arası alınabilmektedir. Birinci seçenek antitüberküloz ilaçların yanı sıra bazı ikinci seçenek antitüberküloz ilaçların duyarlılık testleri de yapılabilir (2,58). Versa TREK (ESP II) sistemi, birinci seçenek ilaçların hepsi için kullanılabilen bir sistemdir.

MGIT 960 sisteminde, ilaçsız tüpteki floresans (1/100) ile ilaç içeren tüplerdeki floresansın karşılaştırılması amaçlanmıştır, MGIT 960 cihazı bu floresansı düzenli takip ederek, sonuçları otomatik olarak yorumlar, dirençli veya duyarlı olarak sonuç verir (46).

Mikobakteriler nitrat redüktaz enzimine sahiptir (sahip olmayan bakteri oranı <%1). Nitrat redüktaz testinde (NRA); besiyerine 1000 µg/ml KNO₃ eklenir, dirençli basiller bu ortamda çoğalırlar ve nitrati nitrite indirgerler, oluşan nitrit Griess ayracı ile görünür hale gelir (47,54,59,60).

Disk elüsyon yönteminde; sınır değerde antibiyotik içeren diskler besiyeri katılaşmadan önce yerleştirilmesi ile uygulanır. Disk difüzyon yönteminde olduğu gibi bir zon çapı oluşumu beklenmez, sadece üreme olup olmasına göre değerlendirilir.

E test (Epsilometer test) yönteminde; saflaştırılmış suş, Mc Farland 3 bulanıklığında M 7H10 besiyerine ekilir, antibiyotik şeritleri yerleştirilir. 5-7 günlük inkübasyon sonrası MİK değerlerine göre okunur. İndirekt test olarak, 7H10 ve 11 agarda uygulanır uygulanır. Kanlı ve çukulatamsı agarda da test edilmiştir. (46,61).

Mikroskopik izleme dayalı ilaç duyarlılık test yönteminde; 24 kuyucuklu hücre kültür plaklarında kord formasyonu ile oluşan mikrokolonilerin invert mikroskop ile belirli aralıklarla gözlenmesi ile direkt ilaç duyarlılığı araştırılır. İlaçsız besiyerinde üreme, pozitif kültüre işaret eder. İlaçlı besiyerinde de üreme varsa direnç varlığını gösterir (46,54).

TK besiyeri, renk indikatörü içerir, mikobakteri varlığında ortam pH'sının değişmesi sonucu kırmızı olan besiyeri rengi sarıya döner. Mantar veya gram negatif bakteri varlığında besiyeri rengi yeşile dönmesi kontaminan bakteri varlığına da işaret eder. Oluşan kolonilerin görülebildiği katı bir besiyeridir. MTBC'yi diğer mikobakterilerden ayırt edebilmektedir. Tüplerin otomatik olarak inkübe edilip izlendiği "MyColor TK" sistemi bulunmaktadır (62).

Alamar mavisi duyarlılık testi için kullanılan ilk redoks indikatörlerdendir, okside durumda mavi renklidir, mikobakteriyel metabolizma sonucu redükte olunca pembe renge döner, bu renk değişimi çıplak gözle gözlenebilir (54). Rezasurin; hücre canlılığı ve bakteriyel kontaminasyonu analiz etmek için kullanılır, İndirekt duyarlılık testi olarak üremiş kültürlerde çalışılmaktadır. Mikrodilüsyon ve tüpte kritik konsantrasyon yöntemi ile çalışılabilir. Nükleik manyetik rezonans ve kütle spektrometre analizleri ile 2000'li yılların başında alamar mavisi ve rezasurinin aynı madde olduğu anlaşılmıştır. Okside durumda floresans vermeyen mavi renktedir, redükte olduğunda güçlü floresans veren kırmızı renkte rezorufine döner, bu renk değişimi çıplak gözle gözlenebilir (54).

MTT tetrazolium bromide; okside durumda sarı renklidir. Metabolik aktif hücrelerin dehidrogenazı ile redüklendiğinde çözülmeyen mor renkte MTT formazon kristelleri oluşur, bu renk değişimi çıplak gözle gözlenebilir. XTT tetrazoliumhydroxide, redükte olduğunda suda çözünen formazon oluşur. Suda çözünmesi ve ilave işlem gerektirmeden değerlendirmenin sağlanması MTT'ye göre avantajdır (54). Malaşit yeşili ve Kristal viyole, memeli hücrelerine toksik triatilmetan boyalarıdır, antimikrobiyal ve antifungal etkileri vardır, ancak mikobakteriler dirençlidir (54,63,64). Bu boyalar ile renksizleştirme testi IDT olarak kullanılır.

Faj çoğaltma sistemlerinde, *M. tuberculosis* içinde çoğalabilen bir mikobakteriyofaj bırakılır, ilaçlı ve ilaçsız tüplere ekilir, ilaçlı tüplerde dirençli mikobakteri varlığında bakteriyofaj korunmuş olur. Daha sonra bu tüplere *M. smegmatis* eklenir, İlaçlı tüplerde faj plağı oluşması ilaç direncine işaret eder (65). Flow sitometrik olarak ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerinde üç gün inkübe edilen

mikobakteriler, akım hücre ölçerinden geçirilip, sayımda ≥ 50 oranında düşüş görülmesi durumunda ilaç duyarlı kabul edilir (66). Lüsiferaz taşıyıcı faj yönteminde, mikobakterilerde çoğalabilen lusiferaz geni içeren mikobakteriyofajlar kullanılarak, ATP kullanımı sonucu oluşan ışık üretimi araştırılmaktadır (67).

DNA dizi analizi ile ilaç direncine neden olan mutasyon, delesyon ve insersiyonların moleküler yöntemler ile genotipik olarak saptanması İDT için altın standart olarak kabul edilmektedir, ancak yüksek maliyetlidir (51). İDT yapılırken DNA dizi analizi için farklı yöntemler [DNA dizi analizi, reverse hibridizasyon testi (Line probe Assay), RNA/RNA mismatch analiz, heterodubleks analiz, SSCP (Single strand conformation polymorphism/ tek zincir biçim çeşitliliği), Real-time PCR, DNA microarray, PCR-ELİSA, FRET (fluorescence resonance energy transfer-floresans rezonanslı enerji aktarımı)] kullanılmıştır (46,65).

Dirençten sorumlu mutasyonların moleküler yöntemlerle gösterilmesi direnci kanıtlar, ancak mutasyonların gösterilemediği durumlarda ilaç direnci görülmesi başka gen bölge mutasyonları veya başka mekanizmalar olabileceğini düşündürmektedir. Birinci seçenek ilaçlardan en çok RIF için çalışılmıştır, RIF dirençli izolatların %90'dan fazlasında INH direnci de birlikte bulunduğundan ÇİD-TB için bir gösterge olduğu düşünülmektedir. RIF direncinde *rpoB*'nin 81 gen bölgesinde nokta mutasyon delesyon ve insersiyonların olduğu gözlenmiş ve bu bölge RRDR (rifampin resistance determining region-rifampisin direncini belirleyen bölge) olarak isimlendirilmiştir. *M. tuberculosis* için ilaç direnç genleri Tablo.8'de gösterilmiştir (46,51,68).

Tablo 8 *M. tuberculosis* 'te direnç genleri

İlaç	Direnç geni	Mutasyonun sıklığı
RIF	<i>rpoB</i> (RNA polimeraz, B altbirimi)	96-100
INH	<i>katG</i> (katalaz peroksidaz)	42-58
	<i>inhA</i> (enoil-acp redüktaz)	21-34
	<i>kasA</i>	-
	<i>ahpC</i> (alkil hidroperoksid redüktaz)	10-15
PZA	<i>pncA</i>	72-97
EMB	<i>embCAB</i> (arabinozil transferaz)	47-65
SM	<i>rpsL</i> (ribozomal protein antitüberkülozirim 12)	52-59
	<i>rrs</i>	8-21
kinolonlar	<i>gyrA</i> , <i>gyrB</i>	75-94

5. TEDAVİ

1944 yılında SM'in keşfi TB tedavisinde dönüm noktası olmuş ve araştırmacılarına nobel ödülü kazandırmış fakat iki yıl içinde bu ilaca karşı dirençli ilk mutantlar rapor edilmiştir (69). 1950'nin başlarında INH ve izleyen yıllarda PAS, tiasetazon, etionamid (ETH), protionamid (PTH) ve etambutol (EMB) bulunmuş, 1966 yılında RIF kullanıma girmiştir (70). 1950'li yıllardan itibaren bulunan diğer TB ilaçları ile TB 18-24 ayda tedavi edilebilir hale gelmiştir. 1970'li yılların ortalarından itibaren TB tedavisi 6-9 aya indirilebilmiş ve günümüzde ise 6 aylık tedavi rejimlerine geçilebilmiştir (71).

Birinci seçenek ilaçlar: SM, INH, RIF, EMB ve PZA'dır. EMB dışındakilerin hepsi bakterisidaldir, aktivitesi yüksek basilleri öldürür. Toksisiteleri azdır ve kombine olarak kullanılabilirler (72). RIF aynı zamanda sterilizandır, metabolik aktivitesi orta olan persistan basilleri öldürerek relapsı önler, PZA da sterilizandır (67). Tablo.9'da TB tedavisinde kullanılan primer ilaçların etki mekanizmaları, dozları ve direnç gelişim mekanizmaları özetlenmiştir.

Streptomisin; aminoglikozid grubu diğer antibiyotikler gibi protein yapımını inhibe ederek etki gösterir. Diğer bakterilerde görülen ilaç direnci asetilasyon ile ilacın inaktif edilmesi şeklinde iken, TB'da görülen streptomisine direncin %80'inde ribozomal S12 proteinini kodlayan rpsL geninde ve 16sRNA'yı kodlayan rrs geninde mutasyon olmak üzere iki tür mutasyon saptanmıştır. Diğer aminoglikozidlerle çapraz direnç gözlenmemiştir (71).

Rifampisin; *Streptomyces mediterranei*'nin kültür filtratlarından elde edilen rifamisinin sentetik bir derivativesidir. Bakterinin DNA'ya bağımlı RNA polimerazın potent inhibitörüdür. RIF, RNA polimerazı rpoB geni tarafından kodlanan b alt ünitesine bağlanarak inhibe eder. Yeni sentetik deriveler olan rifabutin(RBT) ve rifapentin ile aralarında çapraz direnç görülmemektedir (71).

İzoniazid [INH (isonikotinik asid hidrazid)] ve etionamid (ETH) benzer yapıdadırlar. Her iki ilaç da mikolik asit yapımını bozarlar. INH mikobakteriyel katalaz-peroksidaz ile reaksiyon sonucu aktive edilmesi gereken bir ön ilaçtır (71).

Tablo. 9 TB tedavisinde kullanılan primer ilaçlar (kaynak 3, 71 ve 73’den uyarlanmıştır.)

STREPTOMİSİN(SM)	Mekanizma: 30S ribozoma bağlanarak protein sentez inhibisyonu
	Dozaj:15 (12-18) mg/kg (max:1gr)
	Direnç gelişimi: rpsL ve rrs geninde mutasyon
İZONİAZİD (INH)	Mekanizma: Hücre duvar sentez inhibisyonu
	Dozaj:5 (4-6) mg/kg (max:300 mg)
	Direnç gelişimi: Katalaz-peroksidazdaki mutasyonlar, inhA geninde mutasyonlar
RİFAMPİSİN (RIF)	Mekanizma: DNA’ya bağımlı RNA polimeraz inhibisyonu
	Dozaj:10 (8-15) mg/kg (max:600 mg)
	Direnç gelişimi: RNA polimerazı rpoB geni
ETAMBUTOL(EMB)	Mekanizma: Hücre duvar sentez inhibisyonu
	Dozaj:20 (15-20) mg/kg (max:1,5gr)
	Direnç gelişimi: embB de mutasyonlar
PİRAZİNAMİD (PA)	Mekanizma: Membran enerji sistemini bozar,asit ortamda etkili
	Dozaj:25 (20-30) mg/kg (max:2gr)
	Direnç gelişimi: PncA gen bölgesinde mutasyonlar

Etambutol; hedefi bakteri dış duvarıdır. EMB’nin etkisi aktif mikolil grublarının arabinogalaktona taşınmasını engellemek veya arabinogalakton sentez aşamalarında inhibisyon yapmaktır. Etambutole direnç emb proteinlerinin fazla yapımı ve embB de mutasyonlar sonucu gelişmektedir (71).

Pirazinamid; INH gibi bir ön ilaçtır. Spesifik amidaz varlığında ilacın aktif formu olan pirazonoik aside çevrilir. Dirençli suşların %72-94’ünde pirazinamidazı kodlayan PncA gen bölgesinde mutasyonlar saptanmıştır (71).

İkinci seçenek ilaçlar: Sikloserin (CYC), ETH, tiasetozon, KAN, KAP ve PAS, β laktamaz inhibitörleri, kinolonlar, AMK ve rifabutin (RBT) ikinci seçenek ilaçlar içinde yer alır. Bu ilaçlar birinci seçenek ilaçlara göre daha toksik, daha az tolere edilebilen ve daha az etkili ilaçlardır (72). Tablo.10’da TB tedavisinde kullanılan sekonder ilaçların etki mekanizmaları ve dozları görülmektedir (3,73).

Tablo.10 TB tedavisinde kullanılan sekonder ilaçlar (kaynak 3 ve 73'ten uyarlanmıştır.)

AMİNOGLİKOZİDLER (streptomisin dışı)		Mekanizma: 30s ribozoma bağlanarak protein sentezi inhibisyonu
	AMİKASİN(AMK)	Dozaj: 7,5-15 mg/kg/gün (max:1 gr) (IV)
	KANAMİSİN(KAN)	Dozaj:0,5-1 gr/gün (IM)
	KAPREOMİSİN(KAP)	Dozaj:
PARAAMİNOSALİSİLİKASİT (PAS)		Mekanizma: Folik asit yolağını bloke ederek etki gösterir. Dozaj: 150mg/kg (2-4 dozda) (max:12 gr) granül formu tablet formundan daha etkili
KİNOLONLAR		Mekanizma: DNA giraz inhibisyonu Dozaj: Ofloksasin (OFL) 15-20mg/kg/gün (max:800mg) Levofloksasin (LEV) 500-1000mg/1 dozda (5yaş altı 15-20 mg/kg/2 dozda; 5 yaş üstü 10 mg/kg/1 dozda) Moksifloksasin (MOKS) 400 mg/ 1 dozda
RİFAMYCİNLER (Rifampisin dışı)		Mekanizma: RNA sentez inhibitörü
	RİFABUTİN (RBT)	Dozaj:5 mg/kg/günde veya haftada iki kez (max:300mg)
	RİFAPENTİNE	Dozaj: 600 mg/ haftada iki kez
AMOKSİSİLİN+KLAVULONİK ASİT (KO-AMOKSİLAV)		Mekanizma: β laktamaz. blokeridir. Dozaj: 2 gr/gün
THİOAMİDLER		Mekanizma: INH gibi mikolik asit sentaz seviyesinde etkilidir.
	ETİONAMİD (ETH)	Dozaj: 15-20mg/kg/gün 2 dozda (max: 1 gr)
	PROTHİONAMİD (PTH)	Dozaj: 15-20mg/kg/gün 2 dozda (max: 1 gr)
KLARİTROMİSİN		Dozaj: 500 mg/gün günde iki kez MAC'de. günlük doz 1000 mg
ASETAMİDLER		Mekanizma: Mikobakteride yağ asidi sentezindeki β ketoasil sentaz reaksiyonunu inhibe eder.
NİTROİMİDOZOPYRONLAR		Kanser kemoterapisi için geliştirilmiştir. Protein, yağ asidi ve mikolik asid sentezinde, MDR TB'de etkilidir.
SİKLOSERİN (CYC) (orijinal adı ORİENTOMİSİN)		Mekanizma: Hücre duvarı sentezi inhibisyonu (D-alanin-D-alanin sentezi blokajı—peptidoglikan blokajı) Dozaj:15-20 mg/kg/2 dozda (max:1 gr)
OXAZOLİDİNONLAR		Mekanizma: 50S alt ünitesine bağlanarak protein sentez inhibisyonu
LİNEZOLİD (LNZ)		Dozaj: 600 mg/tek doz
KLOFAZİMİN (KLF)		Mekanizma: Mikobakteriyal DNA'ya bağlanarak replikasyon ve büyümeyi inhibe eder Dozaj: 100-300mg/tek doz
PAROMOMİSİN		Neomicin ailesine aittir. TB'de Streptomisin veya AMK/KAN'den birine daha az çapraz direnç geliştirmesi avantajıdır.
FENOTİAZİNLER		Mekanizma: İn vitro olarak TB basiliinin hücre içi büyümesini yavaşlatır, metilen mavisi derivativesidir.
TUBERACTİNOMİSİN		Batı Asya'da, MDR veya aminoglikozid dirençli TB'da Kapreomisin'in alternatifi olarak kullanılmıştır

Florokinolonların hedefleri 2A ve 2B alt ünitelerinden oluşmuş, gyrA ve gyrB genleri tarafından kodlanan DNA giraz enzimidir. Dirençli suşlarda gyrA ve gyrB genlerinde mutasyonlar görülmüştür. Kinolon bağlanma bölgesindeki spesifik mutasyonların akümüasyonu MİK değerlerinde de kümülatif etki yapmaktadır, dolayısıyla tedavi altındaki hastalarda direnç gelişme tehlikesi bulunmaktadır (71).

Etionamid; INH'ınan potent yapısal analogudur, INH gibi ön ilaçtır. Enoil redüktazdaki mutasyonlar ETH'da direnç oluştururken, katalaz-peroksidaz geninde mutasyon içeren INH'e dirençli suşlar ETH'a duyarlı kalır. Bir diğer mekanizma enoil redüktazın fazla ekspresyonuna bağlı olarak gelişen dirençtir (71).

Ülkemizde TB tedavisi doğrudan gözetimli tedavi (DGT) ile yapılmakta ve başlangıç ve idame dönemi olmak üzere iki dönemi içermektedir. Başlangıç döneminde, hızlı çoğalan basillerin temizlendiği, bakterisidal aktivite ve direnç gelişimini önleyici aktivitenin istendiği, toplam dört ilacın kullanıldığı, ilaca duyarlı kişilerde iki ay süren, dirençli kişilerde sürenin uzatıldığı bir tedavi dönemidir. İdame döneminde ise aralıklı çoğalan, zaman zaman aktivasyon gösteren basillerin temizlenmesinin hedef alındığı sterilizasyon dönemidir. İlk tedavi döneminde dört ay süren bu dönem, özel şartlarda on aya kadar uzatılabilir (3).

5.1. İlaça Dirençli Tüberküloz

Ülkemizde 1990'lı yıllardan itibaren ilaca dirençli TB hastaları tedavi edilmektedir (3). Tedavi başlangıcında her hastaya birinci seçenek ilaçlar için İDT yapılması idealdir. Başlangıçta İDT yapılmış olsun ya da olmasın, 3 ay sonra hastada kültür pozitifliği saptanırsa bu kültürden de İDT yapılmalıdır. Yayma pozitifliğinin tedavinin üçüncü ayında ve sonrasında devam etmesi durumunda ya gerçekten ilaç direnci vardır ya ilaçlar düzenli kullanılmamıştır veya hasta yayma pozitif, kültür negatiftir. İlaç direnci ile ilgili çeşitli tanımlar kullanılmaktadır (3,74).

- **İlaça dirençli olgu:** En az bir TB ilacına dirençli basille hastalanmış olgu.
- **Yeni olgularda ilaç direnci:** Daha önce TB ilacı kullanmamış ya da bir aydan daha az süre kullanmış hastada görülen ilaç direnci

- **Tedavi almış olgularda ilaç direnci:** Hastanın daha önce bir aydan uzun süre kullanmış olduğu ilaca karşı saptanan dirençtir (Tedaviden önce duyarlılık testi yapılmamışsa, bu ilaç direncinin en baştan mı var olduğu, yoksa tedavi sırasında mı geliştiği bilinemez)

- **Rifampisin direnci (RD):** RİF, tüberküloz tedavisinin en önemli ilacıdır, RD saptayan moleküler testlerin olması avantaj sağlamaktadır.

- **Çok ilaca direnç [ÇİD=MDR (multidrug resistance)]:** Hem İNH'ya hem de RİF'e direnç olmasıdır. Birlikte başka ilaç direnci de olabilir.

- **Ön-yaygın ilaç direnci [Ön-YİD= Pre-XDR (pre-extensive drug resistance)]:** ÇİD'e ek olarak, bir kinolona ya da bir parenteral (PE) ilaca (AMK, KAN, KAP) direnç olmasıdır.

- **Yaygın ilaç direnci [YİD= XDR (extensive drug resistance)]:** ÇİD'e ek olarak, bir kinolona ve bir PE ilaca (AMK, KAN, KAP) direnç olmasıdır. Birlikte başka ilaç direnci de olabilir.

Hastanın düzensiz tedavi almış olması, dirençli TB hastası ile temas öyküsü olması, önceden tedavi görmüş olması veya böyle bir hastayla temas öyküsü olması (ki en yüksek direnç oranı tedavi başarısızlığı ile gelen olgularda görülür), ilaç direnci fazla yerde bulunmuş olma (özellikle eski Sovyetler Birliği ülkeleri), tedavi sırasında hastanın iyileşmediğine karar verilmiş olması, tedavinin üçüncü ayının sonunda hala yayma pozitifliği saptanması durumunda RD/ÇİD/YİD-TB'den şüphelenilmelidir.

RD/ÇİD/YİD-TB hastalarında uzun süreli balgam pozitifliğinin devam etmesi, bulaştırmanın da uzun sürmesine ve bulaştırılan basiller de dirençli olduğundan, bu basiller ile enfekte olmuş kişilerde de ilaç dirençli enfeksiyona neden olmaktadır

Ülkemizde ikinci seçenek TB ilaçları, ulusal TB kontrol programı (UTP) içinde değerlendirilir, Sağlık Bakanlığı tarafından ücretsiz sağlanır. Tanı konulan her bir hasta için, talep eden VSD'ye TBDB tarafından bireysel dozlarda ilaçlar gönderilir, ilaçlar gün içinde iki seferde kullanılacağı için, VSD tarafından günde iki kez DGT uygulanır (3).

Antimikrobiyallere direnç primer veya sekonder olabilir. Nokta mutasyon sonucu kromozomal DNA'nın değişikliğe uğraması ile, antitüberküloz ilaçla karşılaşmadığı

halde doğal olarak 10^5 - 10^8 basilde bir oranında ilaca dirençli mutantlar bulunur. Örneğin bu oran INH ve SM için 10^6 basilde bir basildir. RIF için aynı oran 10^8 basilde bir basildir. Bir basilin hem INH hem de RIF'e mutasyonel olarak dirençli olma olasılığı ise 10^{14} ($10^6 \times 10^8$)'dür. Eksik ya da uygunsuz ilaç kullanımı ile duyarlı basiller ortadan kalkarken, dirençli mutantların görülmesine bağlı olarak sekonder ya da kazanılmış direnç gelişir. İlaç direnci olan kişinin basilleri ile enfekte olmuş ve hiç ilaç kullanmamış kişilerde görülen direnç ise primer direncidir. ÇİD-TB olguları primer ya da sekonder direnç sonucu gelişebilir (46,75,76,77,78).

Mikobakterilerde görülen çoklu ilaç direnci; diğer birçok bakterideki gibi birden çok ilaca direncin aynı anda kazanımıyla değil, birbirinden bağımsız çeşitli genlerde adım adım ortaya çıkan mutasyonların birikimi sonucu gelişmektedir. Direnç mikobakterilere başka bakterilerden veya plazmid gibi hareketli ekzojen elementler aracılığı ile aktarılmamaktadır. Tedavide kullanılan ilaçların uygun doz, kombinasyon ve sürede kullanılmaması, gastrointestinal emilim sorunları, kullanım süresi geçmiş ya da uygun koşullarda saklanmamış ilaçların kullanımı gibi nedenler ile ikincil direnç veya kazanılmış direnç gelişecektir. DSÖ, ÇİD-TB tedavisi için sırayla başlanacak ilaçları dört grupta değerlendirerek önerilerde bulunmuştur (70,77,78,79).

Tüberküloz ilaçları arasında çapraz direnç görülebilir. AMK direnci KAN direncine yol açar, tersi de doğrudur. AMK ve KAN direnci olanlar KAP'e dirençli olabilir ya da olmayabilir. SM direnci, AMK, KAN, KAP direncine yol açmaz. Bir kinolona direnç geliştiğinde diğer bütün kinolonlara direnç vardır, fakat bu çapraz direnç tam olmayabilir. Ofloksasine dirençli bazı suşlar MOKS'a duyarlı olabilir. Düşük düzey INH direnci varken ETH ile çapraz direnç olabilir. RIF dirençli suşların yaklaşık %80'i RBT'ye de dirençlidir, %20'si duyarlı olabilir. RBT dirençlilerin tümü RIF dirençlidir (3

6. GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak 2014-Eylül 2019 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na tüberküloz etkeni varlığının araştırılması için gönderilen balgam, BAL, plevra, MAS, periton, idrar, abse, BOS ve doku örnekleri eş zamanlı olarak EZN boyama yöntemi ile mikroskopik bakı için boyanmış, mikobakteri kültürü için LJ besiyeri ve BACTEC MGIT 960 besiyeri kullanılarak incelenmiştir. Kültürde üremiş örneklerde MTBC kart testi ile MTBC doğrulanmış, bu örneklerle BACTEC MGIT 960 sistemi ile birinci seçenek ilaçlar için ilaç duyarlılık testleri çalışılmıştır.

Laboratuvarımıza kabul edilen örneklerin tek kullanımlık, steril, sızdırmaz burgulu kapaklı kaplar içinde gelmiş olmasına ve ayrıca örneklerin üzerinde örneğin alındığı hastanın bilgilerinin olmasına, örnek içeriğinin ve alınma zamanının belirtilmiş olmasına dikkat edilmiş ve tüm örnekler biyogüvenlik kabinde (BGK) çalışılmıştır.

6.1. Örneklerin işlenmesi

Balgam, MAS, BAL, abse gibi steril olmayan örnekler basil yoğunluğunu arttırmak ve saflaştırmak amaçlı homojenizasyon-dekontaminasyon işlemine tabi tutulmuştur. BOS, periton sıvısı, plevra sıvısı, biyopsi materyali gibi steril vücut sıvısı örnekleri ise homojenize edilmiş, dekontamine edilmeden çalışılmıştır.

6.1.1. Kullanılan malzemeler

-Falkon tüpü	-NaOH-N-asetil-L-sistein(Tüberküloz Dekontaminasyon ve Konsantrasyon kiti, RTA [®])
-Santrifüj cihazı	-0,067 M fosfat tamponu (pH:6.8)
-Vorteks karıştırıcı	-LJ besiyeri
-Dezenfektan kabı	-PANTA solüsyonu
-Distile su	

- Tek kullanımlık plastik öze
- MGIT besiyeri
- Lam
- OADC solüsyonu

6.2. Kullanılan Yöntem ve Uygulama

6.2.1. Homojenizasyon-Dekontaminasyon

Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi için örnekler, NaOH-N-asetil-L-sistein (Tüberküloz Dekontaminasyon ve Konsantrasyon kiti, RTA®) ile muamele edilmiştir. Aşağıda belirtilen sırayla işleme tabi tutulmuştur.

1-) Her bir örnek en fazla 10 ml olacak şekilde, N-asetil-L-sistein ve cam boncuklar içeren 50 ml'lik polipropilen, alt kısmı konik, burgulu kapaklı steril tüplere (Falkon tüpü) aktarılmış, 1:1 oranında olacak şekilde 10 ml sodyum hidroksit-tri-sodyum sitrat eklenmiştir.

2-) Örneğin homojenizasyonu vorteks ile karıştırılarak sağlanmış ve oda sıcaklığında 10-15 dakika bekletilmiştir.

3-) Örneğin üzerine 50 ml'e tamamlayacak şekilde fosfat tamponu eklenmiş ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$) (pH:6.8) ve tüpün ağzı sıkıca kapatıldıktan sonra 5-10 saniye vortekslenmiştir.

4-) Tüpler 3000 devir/dakika'da 15 dakika süreyle santrifüje edilmiştir.

5-) Üstte kalan sıvı dezenfektan (%0,1-1 sodyum hipoklorit) içeren kaba boşaltılmıştır.

6-) Falkon tüpüne toplam hacim 5 ml olacak şekilde tekrar fosfat tamponu eklenip vorteks ile karıştırılarak yeni bir süspansiyon elde edilmiştir.

7-) Üstte kalan sıvı dezenfektan içeren kaba aktarılmıştır.

8-) Falkon tüpünün dibinde kalan çökelti öze ile lam üzerine alınmış, yayma hazırlanarak EZN boyama için, kabin içinde oda ısısında kurutmaya alınmıştır. Bu çökelti ayrıca MGIT ve LJ besiyerine kültür ekimi için kullanılmıştır.

9-) Tüm işlemlerin tamamlanması sonrasında, tüpler kit içerisindeki dezenfektan çözeltisi kullanılarak dezenfekte edilip tıbbi atık yönetmeliğine uygun olarak atılmıştır.

6.2.2. Yayma hazırlanması ve direkt mikroskopik inceleme

6.2.2.1. Kullanılan malzemeler

- | | |
|------------------|-------------------|
| - Karbol fuksin | - Benmari |
| - %3 asit alkol | - Kurutma kağıdı |
| - Metilen mavisi | - Işık mikroskobu |
| - Distile su | - İmmersiyon yağı |
| - Lam | |

6.2.2.2. Yayma hazırlanması ve EZN boyama:

1- Dekontaminasyon-homojenizasyon işlemi sonrasında falkon tüpünde elde edilen çökelti, tek kullanımlık plastik öze kullanılarak, temiz bir lam üzerine iki damla (100 µl) alınmış, biyogüvenlik kabininde oda ısısında kurutulmuştur.

2- Kuruyan lamalar alevden geçirilerek tespit edilmiştir.

3- Boya düzeneğine yerleştirilen lamaların üzerini tam kaplayacak şekilde karbol fuksin boyası dökülmüş, lamalar altlarından uygulanan alev yardımıyla üzerinden buhar çıkacak ancak kaynamayacak şekilde 5 dakika süreyle ısıtılmıştır.

4- Isıtılmış lamaların üzerindeki boya, lam eğilerek dökülmüş yayma su ile yıkanmıştır.

5- Yaymaların üzerine asit alkol dökülerek, yayma rengini kaybedene kadar beklenmiş (en fazla 2 dakika) ve su ile yıkanmıştır.

6- Yaymaların üzerine tüm yüzeylerini kaplayacak şekilde metilen mavisi dökülerek 2 dakika kadar beklenmiş ve lamalar su ile yıkanmıştır.

7- Lamalar dik bir şekilde kurutma kağıdına alınarak kurumaları sağlanmıştır.

6.2.2.3. Yaymanın değerlendirilmesi

Hazırlanmış yaymalar immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Aside dirençli basillerin mavi zeminde pembe renkte 1-10 µm uzunluğunda, ince çomaklar halinde görülmesi ARB pozitifliği yönünde değerlendirilmiştir. ARB'ler Tablo 7'ye uygun şekilde raporlanmıştır.

6.2.3. Besiyerine ekim

6.2.3.1. Kullanılan malzemeler

- Tek kullanımlık plastik öze
- LJ besiyeri
- MGIT besiyeri
- BACTEC MGIT GROWTH Supplement (OADC)
- PANTA solüsyonu
- Etüv
- Spor

6.2.3.2. LJ besiyerine ekim ve inkübasyon

1- Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi sonrasında falkon tüpünde elde edilen çökelti, tek kullanımlık plastik öze ile yatık LJ besiyerine 0,1 ml kadar alınarak ekim yapılmıştır.

2- Besiyerinin kapakları tam kapatılmadan, ekim yüzeyi yukarıya bakacak şekilde yatık durumda etüvde 37⁰C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir.

3- Bu sürenin ardından tüp kapakları biraz daha sıkı kapatılarak dik olacak şekilde spora alınmış ve inkübasyona devam edilmiştir.

4- Bir hafta inkübe edilmiş tüpler; gönaşırı koloni varlığı, pigment oluşumu ve üreme süresi yönünden değerlendirilmiştir.

5- Açık sarı renkte, kenarları düzensiz, kuru görümlü koloni gözlenmesi kültür pozitifliği olarak değerlendirilmiştir. 6-8 hafta süresince üreme görülmeyen besiyerleri kültür negatif olarak değerlendirilmiştir.

6- Üreme saptanan besiyerlerindeki kolonilerden yayma hazırlanıp ARB varlığı için tekrar mikroskopik değerlendirme yapılmıştır.

6.2.3.3. MGIT besiyerine ekim ve inkübasyon

1- MGIT besiyerine ekilmeden önce besiyerlerine zenginleştirmek için OADC ve kontaminan mikroorganizmalara karşı PANTA ilave edilmiştir.

2- Homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi sonrasında falkon tüpünde elde edilen çökelti, tek kullanımlık plastik öze ile 0,1 ml olacak şekilde MGIT tüplerine alınmış ve BACTEC MGIT 960 sistemine yerleştirilmiştir.

3- Üreme kontrolü BACTEC micro MGIT okuyucu (Becton Dickinson®, ABD) ile yapılmıştır.

4- 6-8 hafta süresince üreme görülmeyen besiyerleri kültür negatif olarak değerlendirilmiştir,

5- MGIT besiyerinde üreme olanlardan, yayma preparatı hazırlanıp, ARB varlığı için tekrar mikroskopik değerlendirme yapılmıştır.

6.2.3.4. LJ besiyerinden Middlebrook 7H9'a pasajlayarak BACTEC MGIT 960 cihazında üretme

1- LJ besiyerinde üremiş koloniler, tek kullanımlık plastik öze ile 8-10 adet cam boncuk içeren 7 ml Middlebrook 7H9 besiyerine alınmış, katı besiyeri alınmamasına ve bulanıklığın 1 Mc Farland standardını (10^7 cfu/ml) geçmemesine dikkat edilmiştir.

2- Hazırlanan süspansiyon homojenizasyon amacıyla vortekslenmiş ve 20 dakika beklemeye alınmıştır.

3- Üstte kalan kısım başka bir steril tüpe aktarılarak tekrar 15 dakika bekletilmiştir.

4- Hazırlanan ve 0.5 McFarland standardına ayarlanan hasta örneği süspansiyonundan, 1 ml alınarak 4 ml steril serum fizyolojiğe (SF) eklenmek suretiye 1:5 oranında dilüsyon yapılmıştır.

5- Dilüe edilen süspansiyondan 500µl steril pastör pipeti ile alınarak, 800µl OADC eklenmiş MGIT tüpüne aktarılmış ve bu tüp BACTEC MGIT 960 cihazına yerleştirilerek inkübe edilmiştir.

6- Cihaz pozitif sinyal verdikten sonra steril bir pastör pipeti ile aside dirençli boyama için örnek alınmış ve ARB pozitifliği saptanan örnekler İDT çalışılmak üzere ayrılmıştır.

7- Başka bakterilerin kontaminasyonunu kontrol etmek amacıyla ayrıca kanlı agar besiyerine ekim yapılmış, 48 saat sonrasında kanlı agar besiyerinde üreme görülmemesi durumunda İDT işlemine geçilmiştir. Üreme varlığında ise dekontaminasyon işlemi tekrarlanmıştır.

6.2.4. MTBC kart testi:

6.2.4.1. Kullanılan malzemeler

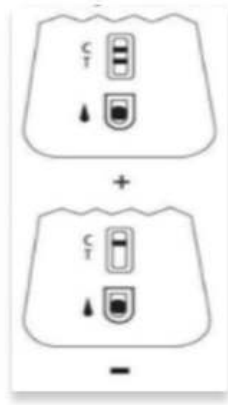
- Vorteks cihazı
- Pastör pipeti
- 100 µl pipet ucu

6.2.4.2. MTBC kart testlerinin uygulanması ve yorumlanması

Bu test, yaymada ARB pozitif MGIT tüplerinde, MTBC'yi tanımlamak için tasarlanmış, 15 dakika gibi kısa bir sürede, renk gelişiminin görsel olarak tespit edildiği, MTBC antijeninin kalitatif tespitine yönelik hızlı bir immunokromotografik testtir. MGIT tüpünde pozitif sonuç alındıktan sonra 10 gün içinde kullanılabilir.

Bu test ile MTBC hücrelerinden salgılanan mikobakteriyel protein fraksiyonu MPT64 tespit edilir. MPT64 antijeni, test stribinde görülen partiküllerle konjuge olmuş MPT64 antikorlarına bağlanır. Antijen-antikor kompleksi, test stribi üzerinden reaksiyon alanına ilerler ve membrana uygulanan ikinci bir özel MPT64 antikoru tarafından yakalanır.

, MGIT tüpleri vortekslendikten sonra MGIT tüpünün kapağı, steriliteye uyularak açılmış, 100 µl test kuyucuğuna pipetlenmiştir. Kontrol olarak, negatif sonuç vereceği bilinen inoküle edilmemiş bir MGIT tüpü kullanılmıştır. Sonuçlar 15 dakika sonrasına yorumlanmıştır. Şekil.5’de MTBC kart testlerinin yorumlanması, pozitif ve negatif kart testleri gösterilmiştir.



Pozitif MTBC testi (MPT64 antijeni varlığında): Arka plan alanı beyaz ile açık pembe olmalıdır. Okuma penceresinde, ‘T’ konumundaki test ve ‘C’ konumundaki şeritlerde, MPT64 antijeni saptandığına işaret edecek şekilde pembe ile kırmızı bir çizgi görülür.

Negatif MTBC testi (MPT64 antijeni saptanmadığında): Arka plan alanı beyaz ile açık pembe olmalıdır. Okuma penceresinde, ‘T’ konumunda, MPT64 antijeni saptanmadığı için pembe ile kırmızı bir çizgi görülmez. ‘C’ konumundaki şeritte görülen çizgi, test performansının uygun olduğunu gösterir.

Şekil. 5. MTBC kart testlerinin yorumlanması (82)

MPT64 antijeni varlığında, pembe ile kırmızı renklerde bir çizgi olarak görülmüş, pozitif test MTBC olarak, negatif test ise MTBC olmayan ARB basil olarak raporlanmıştır (81,82).

6.2.5. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

6.2.5.1. Kullanılan malzemeler

- Tek kullanımlık plastik öze
- Steril 7 ml tüpler
- Pastör pipeti
- 7 ml Middlebrook 7H9 besiyeri tüpü
- BACTEC MGIT GROWTH Supplement (OADC)
- Vorteks karıştırıcı
- Mc Farland cihazı
- Steril serum fizyolojik
- MGIT besiyeri
- Kanlı agar besiyeri

6.2.5.2. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması

Kullanılan antibiyotikler; üretici firmadan SM, INH, RIF, EMB, BACTEC MGIT SIRE kiti (Becton Dickinson®, ABD) içinde liyofilize halde sağlanmıştır. BACTEC MGIT 960 otomatize sistem prosedürüne uygun olarak (32), her liyofilize antibiyotik şişesine 4 ml steril distile su eklenerek sulandırılmış ve tamamen çözülmeleri için çalkalanmıştır.

6.2.5.3. Antibiyogram İşlemi

1- Beş adet 7 ml MGIT tüpü hazırlanmış, ilk tüp kontrol tüpü (GC- Growth Control) olacak şekilde sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB şeklinde işaretlenmiştir.

2- Tüm tüplere 800µl BACTEC MGIT 960 SIRE Supplement (OADC: Oleic acid, bovine albumin, dextrose, catalase, polyoxethylene stearate) eklenmiştir.

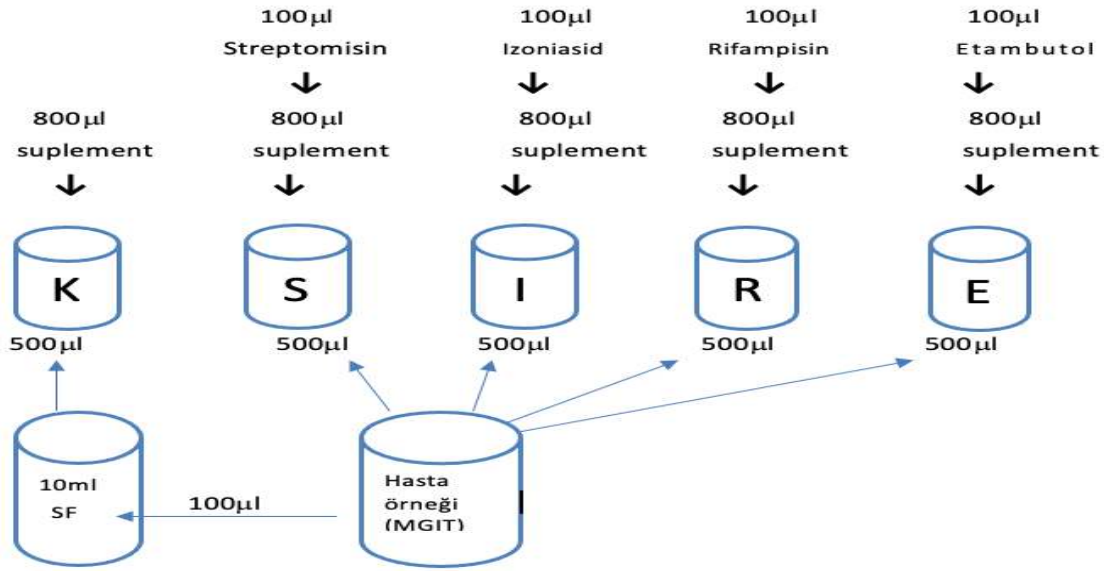
3- Üretici firma tarafından liyofilize halde sağlanan ve steril şekilde sulandırılan antibiyotikler SM, INH, RIF, EMB [BACTEC MGIT SIRE kiti (Becton Dickinson®, ABD)], kontrol tüpü dışında tüplere sırasıyla 100'er µl olarak eklenmiştir.

4- İDT çalışması planlanan ARB pozitif hasta örneklerinde 48 saatlik sürenin aşıldığı durumlarda, MGIT besiyerinde mikobakteri üretiminin fazla olması, hatalı test sonucuna sebep olacağı için; örnekler çalışılmaya alınma sürelerine göre iki farklı uygulamaya tabi tutulmuştur.

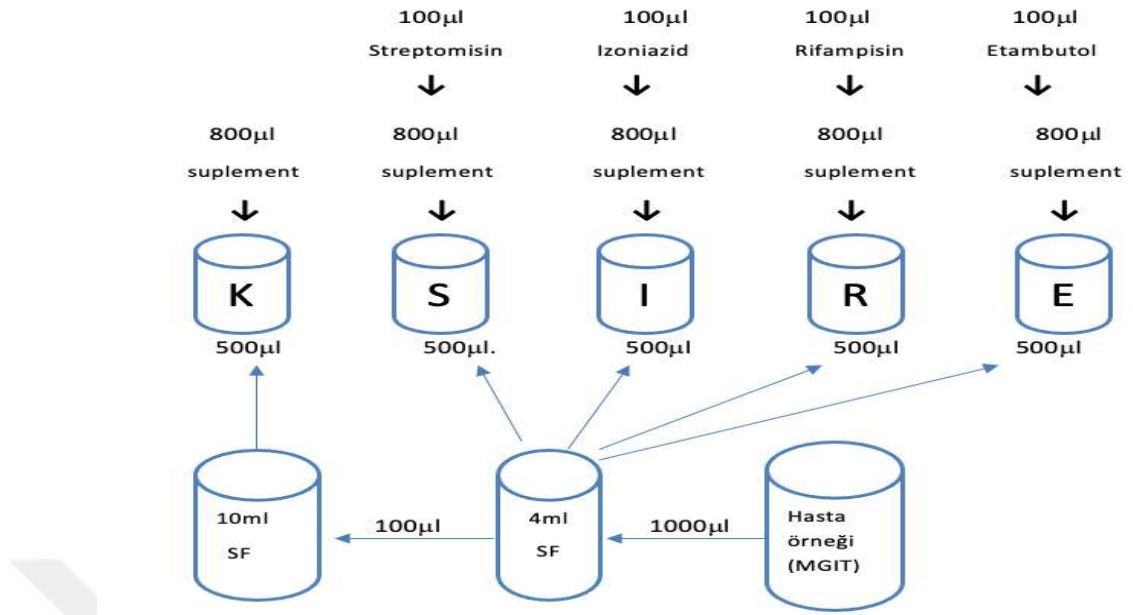
5- İlk 48 saat içinde İDT çalışılacak örneklerde; ilaçlı tüplere hasta örneği içeren MGIT tüpünden 500µl eklenmiş, kontrol tüpü hazırlamak için hasta örneği içeren MGIT tüpünden 100 µl alınarak 10ml steril serum fizyolojik içinde 1/100 oranında dilüe edilerek, 500µl'si kontrol tüpüne ekim yapılmıştır. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak İDT seti ile cihaza yüklenmiştir. Şekil.6'da İlk 48 saat içinde

çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması şematize edilerek gösterilmiştir.

6- 48 saatlik sürenin aşıldığı durumlarda İDT çalışılırken ise; antibiyotik içeren ilaçlı tüplerin hazırlığı aynı şekilde yapılmıştır. İlaç içeren tüplere bu tüplere hasta örneğinden ekim yapılırken, 1000µl hasta örneği 4 ml SF içinde sulandırıldıktan sonra ilaçlı tüplere 500µl olarak alınmış, kontrol tüpüne ise 4ml SF içinde sulandırılmış olan hasta örneği, 10 ml SF içinde ikinci bir sulandırmaya tabi tutulduktan sonra 500µl olarak eklenmiştir. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak İDT seti ile cihaza yüklenmiştir. Şekil.7’de 48 saat sonrası için çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması şematize edilerek gösterilmiştir.



Şekil.6 İlk 48 saat içinde çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması (K tüpü: kontrol tüpü, S tüpü: Streptomisin eklenen tüp, I tüpü: İzoniazid eklenen tüp, R tüpü: Rifampisin eklenen tüp, E tüpü: Etambutol eklenen tüp)



Şekil.7 48 saat sonrası için çalışılan hasta örneğinde, birinci seçenek ilaçlar için İDT uygulaması (K tüpü: kontrol tüpü, S tüpü: Streptomisin eklenen tüp, I tüpü: İsoniazid eklenen tüp, R tüpü: Rifampisin eklenen tüp, E tüpü: Etambutol eklenen tüp)

6.2.5.4. Sonuçların Değerlendirilmesi

Kontrol tüpünde üreme GU 400'e ulaştığında, antibiyotik içeren tüplerin değerlendirmesi yapılmıştır. Antibiyotik içeren tüplerde üreme gözlenmesi durumunda bakteri o antibiyotiğe dirençli kabul edilmiştir. Kontrol tüpünde dört günden önce 400 GU üreme gözlenmesi, hasta örneğinde mikobakteri miktarının fazlalığı veya kontaminasyon varlığı şeklinde değerlendirilmiş, iki hafta geçmesine rağmen üreme gözlenmeyen kontrol tüpleri ise mikobakteri üremesi yetersiz olarak değerlendirilerek, antibiyogram tekrarı yapılmıştır.

6.3. Kalite Kontrol

İDT çalışmasında kalite kontrol suşu olarak çalışılan antibiyotiklere duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu, kullanılmıştır.

6.4. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar veri seti SPSS 22.0 (Chicago, ABD) paket programı ile analiz edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen kategorik verilerin yüzde ve frekans değerleri, numerik verilerin aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Numerik verilerin analizinde student-T testi kullanılmıştır. Pozitiflik oranlarının, örneklerin türlerine göre dağılımlarının istatistiksel değerlendirilmesi Pearson ki-kare testleri ile incelenmiştir. Sonuçlar sayı (n) ve yüzde (%), duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer olarak ifade edilmiş, $p<0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

7. BULGULAR

Ocak 2014 ile Eylül 2019 arasındaki sürede, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarına TB ön tanısı ile gönderilmiş çeşitli klinik örneklerden, MTBC saptanmış toplam 717 hasta örneğinin birinci seçenek antitüberküloz ilaçlarına duyarlılık testleri retrospektif olarak incelenmiş, direnç oranları değerlendirilmiştir.

TB tedavisinde birinci seçenek ilaç olarak kullanılan her dört ilacın sonuçlarının olduğu, her hastaya ait tek örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubuna ülkemize son yıllarda göç ile gelen hastalar dahil edilmemiştir.

Bu çalışmada toplam 18623 klinik örneğin 737'sinde (%4) kültürde üreme saptanmıştır, 2014 yılında 105 örnekte (%3), 2015 yılında 123 örnekte (%3,8), 2016 yılında 126 örnekte (%3,6), 2017 yılında 157 örnekte (%5,6), 2018 yılında 116 örnekte (%3,5) ve 2019 yılında 110 örnekte (%4,6) kültürde üreme görülüp kültür pozitifliği olarak değerlendirilmiştir.

Kültür pozitif örneklerin 717'sinde (%3,9) İDT çalışılmıştır. Kültür pozitif örneklerde; 2014 yılında %95,2, 2015 yılında %93,5, 2016 yılında %99,2, 2017 yılında %97,5, 2018 yılında %98,3 ve 2019 yılında %100 oranında birinci seçenek ilaçlar için İDT çalışılmıştır. Tablo 11'de yıllara göre çalışılan örneklerde kültür ve İDT oranları görülmektedir.

Tablo.11 Yıllara göre çalışılan örneklerde kültür ve İDT oranları

Örnek sayısı (n)	2014	2015	2016	2017	2018	2019	toplam
Toplam çalışılan	3469	3247	3467	2777	3271	2392	18623
Kültür pozitif saptanan	105	123	126	157	116	110	737
Kültür pozitiflik (%)	%3	%3,8	%3,6	%5,6	%3,5	%4,6	%4
İDT çalışılan	100	115	125	153	114	110	717
Kültüre göre İDT çalışılan (%)	%95,2	%93,5	%99,2	%97,5	%98,3	%100	%97,3
Çalışılan tüm örneklerde İDT (%)	%2,9	%3,5	%3,6	%5,5	%3,5	%4,6	%3,9

İDT çalışma süreleri incelenmiş, çalışma sürelerinin 30 günün altında olduğu saptanmıştır. Yıllara göre örneklerde İDT çalışılma süreleri Tablo 12’de görülmektedir.

Tablo 12 Yıllara göre İDT çalışılma süreleri

Sonuç süresi (gün)	2014	2015	2016	2017	2018	2019
	29,93	26,03	19,64	19,81	23,6	29,93

İDT çalışılan 434 örneğin (%60,5) erkek ve 283 örneğin (%39,5) kadın hastalara ait olduğu görülmüştür. Her yıl kendi içinde değerlendirildiğinde de erkek hasta sayısının kadınlardan fazla olduğu görülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). İDT çalışılan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı, Tablo 13’te görülmektedir.

Tablo 13. İDT çalışılan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı

	kadın sayısı		erkek sayısı		Toplam örnek sayısı
2014	47	%47,0	53	%53,0	100
2015	40	%34,8	75	%65,2	115
2016	50	%40,0	75	%60,0	125
2017	56	%36,6	97	%63,4	153
2018	42	%36,8	72	%63,2	114
2019	48	%43,6	62	%56,4	110
toplam	n=283	%39,5	n=434	%60,5	n=717

İDT çalışılan 717 örneğin 192'sinde (%26,8) bir veya daha fazla ilaca karşı direnç saptanmıştır. 2014 yılında 37 örnekte (%37), 2015 yılında 33 örnekte (%28,7), 2016 yılında 26 örnekte (%20,8), 2017 yılında 44 örnekte (%28,8), 2018 yılında 33 örnekte (%28,9) ve 2019 yılında 19 örnekte (%17,3) ilaç direnci saptanmıştır. Tablo 14'te İDT çalışılan örneklerdeki direnç oranları görülmektedir.

Tablo 14 İDT çalışılan örneklerde direnç varlığı

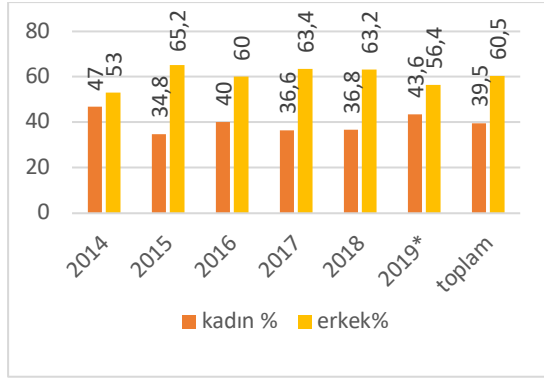
Örnek sayısı	2014	2015	2016	2017	2018	2019	toplam
İDT çalışılan	100	115	125	153	114	110	717
İlaç direnci saptanan	37	33	26	44	33	19	192
%İlaç direnci saptanan	%37	%28,7	%20,8	%28,8	%28,9	%17,3	%26,8

Çalışılan İDT sonrasında direnç saptanan örnekler, yıllara göre cinsiyet yönünden değerlendirildiklerinde, ilaç direncinin de erkek hastalarda daha fazla oranda saptandığı görülmekle beraber, 2016 yılı haricinde ve toplamda istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (2016 yılında $p<0,05$, diğer yıllarda $p>0,05$). İlaç direnci saptanan örneklerin yıllara göre cinsiyet dağılımları Tablo 15'te görülmektedir.

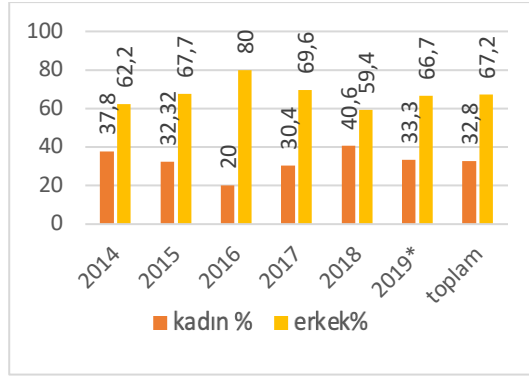
Tablo 15 İlaç direnci saptanan örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı

	İlaç dirençli kadın sayısı		İlaç dirençli erkek sayısı		Toplam ilaç dirençli kişi sayısı
2014	14	%37,8	23	%62,2	37
2015	10	%32,3	21	%67,7	31
2016	5	%20,0	20	%80,0	25
2017	14	%30,4	32	%69,6	46
2018	13	%40,6	19	%59,4	32
2019	7	%33,3	14	%66,7	21
toplam	n =63	%32,8	n= 129	%67,2	n=192

İDT çalışılan tüm örneklerde ve ilaç direnci saptanan örneklerde, yıllara göre cinsiyet dağılım oranları Şekil 8a ve 8b'de görülmektedir



8a



8b

Şekil 8 8aİDT çalışılan tüm örneklerde yıllara göre cinsiyet dağılımı (%) **8b** ilaç direnci saptanan örneklerde cinsiyet dağılımı (%)

Çalışılan tüm örneklerde yaş ortalaması; $40,39 \pm 20,09$ yaş (2-94 yaş aralığında) olarak saptanmıştır. Kadınlar için yaş ortalaması $37,73 \pm 20,65$ yaş (3-94 yaş aralığında), erkekler için ise $42,12 \pm 19,55$ yaş (2-89 yaş aralığında) olarak saptanmış ve cinsiyete göre yaş ortalamasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

İlaç direnci saptanan örnekler için yaş ortalaması, $39,1 \pm 18,98$ yaş (6-90 yaş aralığında) olarak saptandı. İlaç direnci varlığında kadınlar için yaş ortalaması $37,76 \pm 20,45$ yaş (11-90 yaş aralığında), erkekler için ise $39,88 \pm 18,26$ yaş (6-89 yaş aralığında) olarak bulunmuş, istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Tablo.16’da MTBC saptanan hastaların yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı görülmektedir.

Tablo 16 Çalışılan örneklerde yaş ortalaması

	Toplam Ort±SD (min-max)	Kadın Ort±SD (min-max)	Erkek Ort±SD (min-max)	p
Yaş (tüm örnekler)	$40,39 \pm 20,09$ (2-94)	$37,73 \pm 20,65$ (3-94)	$42,12 \pm 19,55$ (2-89)	$p < 0,05$
Yaş (ilaç dirençli örnekler)	$39,18 \pm 18,98$ (6-90)	$37,76 \pm 20,45$ (11-90)	$39,88 \pm 18,26$ (6-89)	$p > 0,05$

student t testi

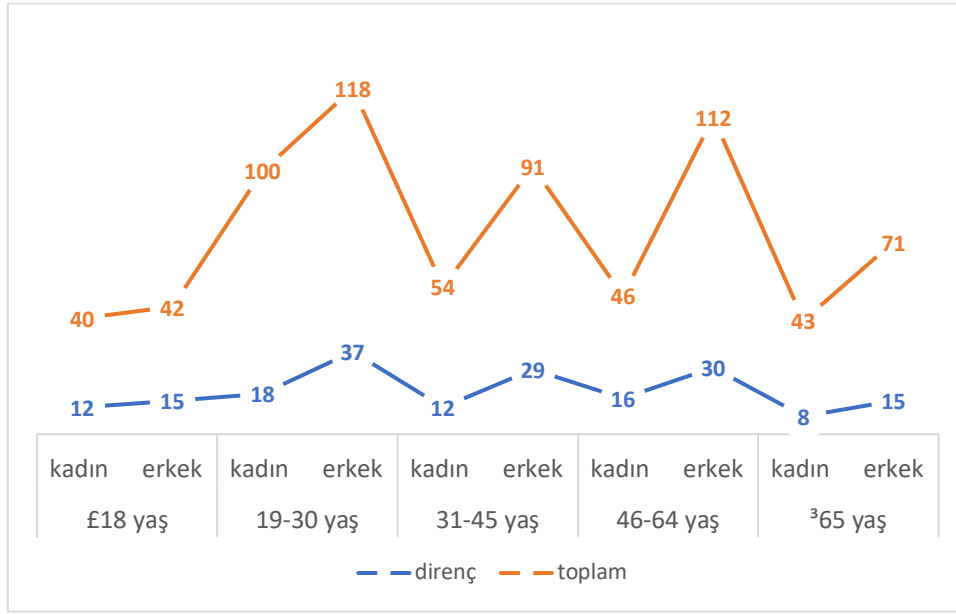
Kültür pozitif örnekler yaş aralıklarına göre ayrı olarak incelendiğinde, 18 yaş ve altında 82 (%11,4), 19- 30 yaş arasında 218 (%30,4), 31-45 yaş arasında 145 (%20,2), 46-64 yaş arasında 158 (%22), 65 yaş ve üstünde 114 (%16) hasta örneği çalışıldığı görülmüştür. Her iki cinsiyet için de en çok 19-30 yaş aralığında MTBC saptandığı görülmüştür. İDT çalışılan örneklerin yaş aralıklarına, cinsiyetlerine ve direnç durumuna göre dağılımları Tablo 17’de görülmektedir.

Tablo 17 İDT çalışılan örneklerin yaş aralıklarına, cinsiyetlerine ve direnç durumuna göre dağılımı

Yaş aralığı	cinsiyet	2014		2015		2016		2017		2018		2019		TOPLAM		
		T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	%R
<18 yaş	K	9	5	7	1	11	1	3		7	3	3	2	40	12	6,2%
	E	4	1	9	3	7	2	9	5	4	2	9	2	42	15	7,8%
	K+E	13	6	16	4	18	3	12	5	11	5	12	4	82	27	14%
19-30 yaş	K	15	2	14	6	20	1	19	4	15	5	17		100	18	9,4%
	E	16	7	22	8	18	5	24	7	20	5	18	5	118	37	19,3%
	K+E	31	9	36	14	38	6	43	11	35	10	35	5	218	55	28,7%
31-45 yaş	K	9	3	11	3	9	2	11	1	8	2	6	1	54	12	6,2%
	E	8	5	15	4	13	5	27	8	19	6	9	1	91	29	15,1%
	K+E	17	8	26	7	22	7	38	9	27	8	15	2	145	41	21,3%
46-64 yaş	K	6	3	5	1	4		12	7	4	3	15	2	46	16	8,3%
	E	16	7	19	6	21	7	21	4	16	3	19	3	112	30	15,7%
	K+E	22	10	24	7	25	7	33	11	20	6	34	5	158	46	24%
>65 yaş	K	8		3	1	6	1	11	2	8	3	7	1	43	8	4,2%
	E	9	4	10		16	2	16	6	13	1	7	2	71	15	7,8%
	K+E	17	4	13	1	22	3	27	8	21	4	14	3	114	23	12%
Toplam	K	47	13	40	12	50	5	56	14	42	16	48	6	283	66	34,4%
	E	53	24	75	21	75	21	97	30	72	17	62	13	434	126	65,66%
	K+E	100	37	115	33	125	26	153	44	114	33	110	19	717	192	100%

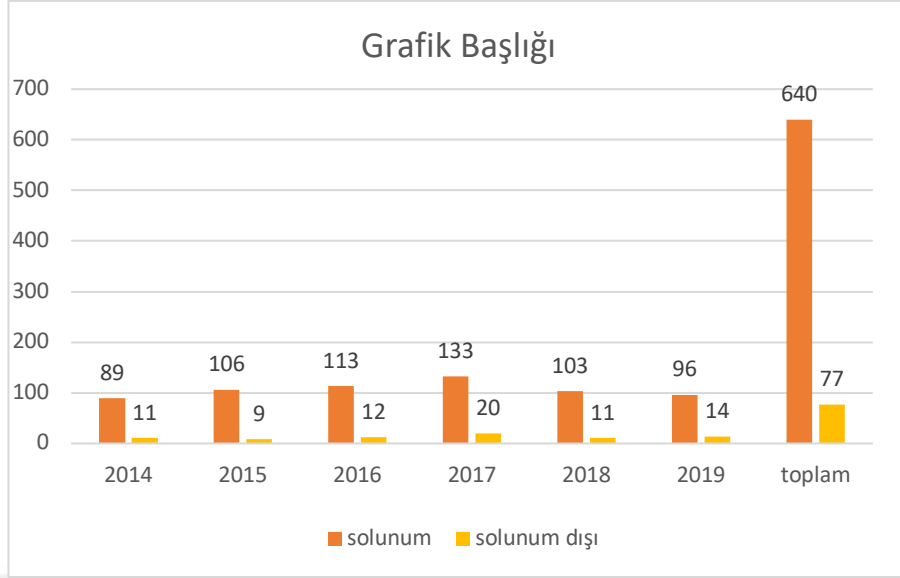
T:toplam R: direnç %R: direnç yüzdesi, K:kadın sayısı, E: erkek sayısı, K+E= kadın+erkek sayısı

İlaç direnci saptananlar yaş aralığına göre ayrı olarak incelendiğinde; 18 yaş ve altında 27 hastada (%14), 19- 30 yaş arasında 55 hastada (%28,7), 31-45 yaş arasında 41 hastada (%21,3), 46-64 yaş arasında 46 hastada (%24), 65 yaş ve üstünde 23 hastada (%12) ilaç direnci saptanmıştır. İDT çalışılan tüm örneklerin ve dirençli örneklerin yaş aralıklarına göre dağılımı Şekil 9’da görülmektedir.



Şekil 9 İDT çalışılan tüm örneklerin ve dirençli örneklerin yaş aralıklarına göre dağılımı

Toplamda ve her yıl için ayrı olarak değerlendirildiğinde örneklerin büyük çoğunluğu solunum yolu örnekleridir. Çalışılan örneklerin %89’unu (640 örnek) solunum örnekleri, %11’ini (77 örnek) solunum dışı örneklerin oluşturduğu saptanmıştır. Şekil 10’da yıllara göre çalışılan örnek türlerinin dağılımı görülmektedir.



Şekil 10 Yıllara göre çalışılan örnek türleri dağılımı

Solunum yolu örnekleri incelendiğinde; 517 balgam (%80,8), 106 BAL (%16,6), 11 MAS (%1,7) ve 6 plevra (%0,9) örneği çalışıldığı görülmüştür. Tablo 18’de yıllara göre çalışılan solunum örneklerin dağılımları görülmektedir.

Tablo 18 Yıllara göre çalışılan solunum yolu örnekleri

	SOLUNUM ÖRNEKLERİ (n=640)									
	BALGAM		BAL		MAS		PLEVRA		TOPLAM	
	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R
2014	74	28	13	4	1	1	1		89	33
2015	93	27	12	3			1		106	30
2016	97	22	10	2	5	1	1	1	113	26
2017	107	32	24	9	1		1		133	41
2018	75	19	25	8	3	2			103	29
2019	71	11	22	4	1	1	2		96	16
TOPLAM	517	139	106	30	11	5	6	1	640	175

T:toplam R: direnç

Solunum dışı örnekler incelendiğinde; 3 periton (%3,9), 38 abse (%49,4), 19 idrar (%24,7), 5 BOS (%6,4), 10 doku (%13) ve 2 eklem sıvısı (%2,6) örneği çalışıldığı

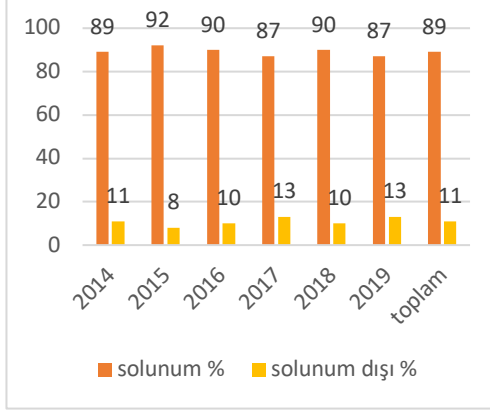
görülmüştür. Tablo 19’da yıllara göre çalışılan solunum dışı örneklerin dağılımları görülmektedir.

Tablo 19 Yıllara göre çalışılan solunum dışı örnekler

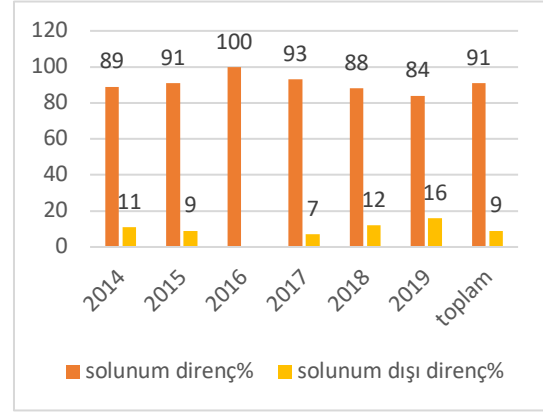
	SOLUNUM DIŞI ÖRNEKLER (n=77)													
	PERİTON		ABSE		İDRAR		BOS		DOKU		EKLEM SIVISI		TOPLAM	
	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R
2014	2		5	2	2	1			2	1			11	4
2015			3	1	4	1	1	1	1				9	3
2016			5		5				2				12	
2017			11		2		3	2	2		2	1	20	3
2018	1	1	5	2	3	1			2				11	4
2019			9	2	3		1		1	1			14	3
TOPLAM	3	1	38	7	19	3	5	3	10	2	2	1	77	17

T:toplam R: direnç

Çalışma süresinde ilaç direnci; solunum örneklerinde %27, solunum dışı örneklerde %22 oranında saptanmıştır. İlaç dirençli örnekler için her yıl kendi içinde değerlendirildiğinde; 2014 yılında 37 örneğin 33’ü (%89), 2015 yılında 33 örneğin 30’u (%91), 2016 yılında 26 örneğin 26’sı (5100), 2017 yılında 44 örneğin 41’i (%93), 2018 yılında 33 örneğin 29’u (%88), 2019 yılında 19 örneğin 16’sı (%84) solunum örnekleri olduğu saptanmıştır. İlaç direnci için örneğin solunum örneği olması ile solunum dışı örnek olması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Şekil 11a’da toplam örneklerde solunum-solunum dışı örnek görülme oranları 11b’de ilaçdirençli örneklerde solunum-solunum dışı örnek direnç görülme oranları görülmektedir.



11a



11b

Şekil 11a Toplam örneklerde, solunum-solunum dışı örnek görülme oranları

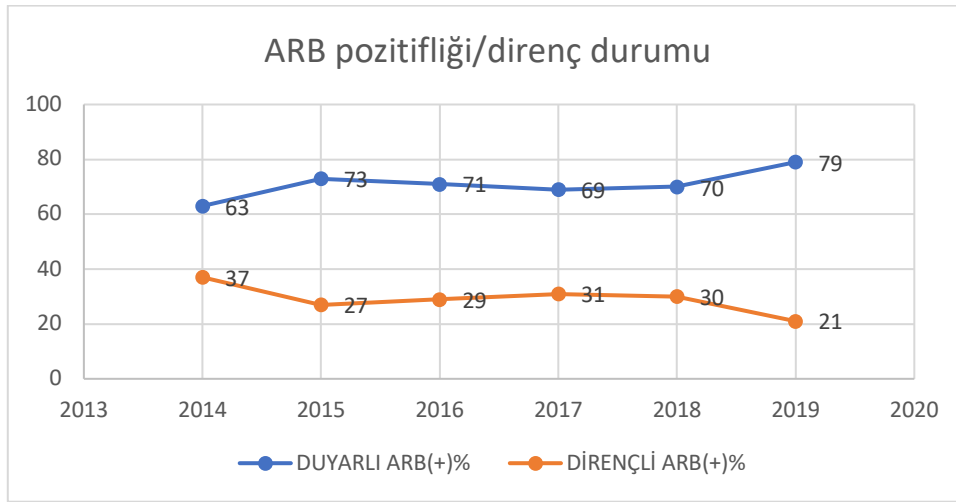
11b ilaç dirençli örneklerde, solunum-solunum dışı örnek direnç görülme oranları

Çalışılan tüm örneklerde ARB pozitifliğine %50 oranında rastlanılmıştır. Her yıl kendi içinde değerlendirildiğinde, 2014 yılında 57 örnekte (%57), 2015 yılında 62 örnekte (%53), 2016 yılında 66 örnekte (%52), 2017 yılında 87 örnekte (%59), 2018 yılında 53 örnekte (%46) ve 2019 yılında 33 örnekte (%30) ARB pozitifliğine rastlanılmıştır. İDT çalışılan örneklerde yayma bulguları Tablo 20’de görülmektedir.

Tablo 20 İDT çalışılan örneklerin yayma bulguları

	Çalışılan toplam örnekler				İlaç dirençli örnekler			
	Örnek sayısı	ARB(-)	ARB(+)	ARB(+)%	Dirençli örnek sayısı	ARB(-)	ARB(+)	ARB(+)%
2014	100	43	57	57%	37	16	21	37%
2015	118	56	62	53%	33	16	17	27%
2016	126	60	66	52%	26	7	19	29%
2017	148	61	87	59%	44	17	27	31%
2018	116	63	53	46%	33	17	16	30%
2019	109	76	33	30%	19	13	7	21%
TOPLAM	717	359	358	50%	192	86	107	30%

İlaç duyarlılığı ve direnç varlığı durumlarında ARB pozitiflik oranları değerlendirildiğinde, toplamda ilaç duyarlı örneklerde %70, ilaç dirençli örneklerde ise %30 oranında ARB pozitifliğine rastlanılmış. İlaça duyarlı örneklerde her yıl için ARB pozitifliğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İlaç dirençli örnekler için ARB pozitifliğinde 2016 yılı hariç ($p<0,05$) diğer yıllarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Şekil 12’de yıllar içinde ilaç duyarlılık ve direnç durumuna göre ARB pozitiflik oranları görülmektedir.



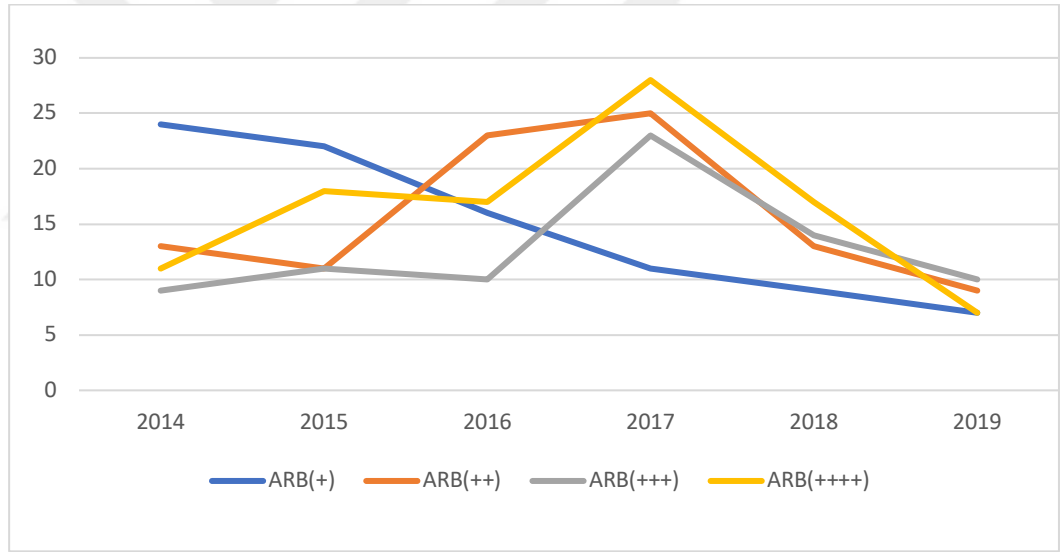
Şekil 12 Yıllar içinde ilaç duyarlılık-direnç durumuna göre ARB pozitiflik oranları (%)

Yaymada basil yoğunluğu yönünden ARB pozitiflikleri ayrı olarak incelenmiş, ARB (+)’liği %25, ARB (++)’liği %26, ARB (+++)'liği %22, ARB (++++)'liği %27 oranında görülmüştür. Tablo 21’de yıllara göre ARB pozitiflikleri görülmektedir. İlaç duyarlılığı ve direnci basil yoğunluğu yönünden değerlendirildiğinde her yıl için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Yıllara göre yaymada saptanan basil yoğunluğu yönünden ARB pozitiflikleri Şekil 13’te görülmektedir.

Tablo 21 Yıllara göre ARB pozitiflikleri

	ARB(+)			ARB(++)			ARB(+++)			ARB(++++)			TOPLAM		
	S	R	T	S	R	T	S	R	T	S	R	T	S	R	T
2014	15	9	24	9	4	13	4	5	9	8	3	11	36	21	57
2015	14	8	22	10	1	11	9	2	11	12	6	18	45	17	62
2016	12	5	17	15	7	22	8	3	11	12	4	16	47	19	66
2017	8	3	11	18	7	25	14	9	23	20	8	28	60	27	87
2018	5	4	9	8	5	13	12	2	14	12	5	17	37	16	53
2019	5	2	7	8	1	9	8	2	10	6	1	7	27	6	33
Toplam	59	31	90	68	25	93	55	23	78	70	27	97	252	106	358

S: İlaç duyarlı R: İlaç dirençli T:İlaç dirençli+ilaç duyarlı

**Şekil 13** Yıllara göre yaymada saptanan basil yoğunluğu yönünden ARB pozitiflikleri

Tüm yılların toplamında en yüksek ilaç direncinin INH'a karşı görüldüğü saptanmıştır. Ancak yıllar ayrı olarak incelendiğinde, 2014, 2015, 2019 yıllarında en çok INH direncine rastlanırken, 2016 yılında her dört ilaca birden olan dirence (ÇİD), 2017 ve 2018 yıllarında en çok SM direncine rastlanılmıştır. Tablo 22'de direnç saptanan ilaçlar görülmektedir.

Tablo 22 İDT de direnç saptanan ilaçlar

		2014		2015		2016		2017		2018		2019		toplam	
	Direnç saptanan ilaçlar	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%
Tek ilaca direnç	SM	7	19%	5	15%	3	12%	14	32%	7	21%	4	21%	40	21%
	INH	10	27%	10	30%	3	12%	10	23%	4	12%	8	42%	45	23%
	RIF	3	8%			3	12%	1	2%	2	6%	1	5%	10	5%
	EMB	3	8%	3	9%	3	12%	2	5%	5	15%	---		16	8%
İki ilaca direnç	INH+RIF	1	3%	1	3%	1	4%	----		----		----		3	2%
	INH+SM	3	8%	8	24%	4	15%	11	25%	6	18%	3	16%	35	18%
	INH+EMB	1	3%					1	2%	2	6%	1	5%	5	3%
	RIF+SM					1	4%	----		----		----		1	1%
	RIF+EMB							1	2%	----		----		1	1%
	EMB+SM							1	2%	1	3%	----		2	1%
Üç ilaca direnç	INH+RIF+SM	1	3%	1	3%			----		2	6%	----		4	2%
	INH+SM+EMB	2	5%	2	6%	2	8%	----		----		----		6	3%
	INH+RIF+EMB							----		1	3%	1	5%	2	1%
Dört ilaca direnç	INH+RIF+SM+EMB	6	16%	3	9%	6	23%	3	7%	3	9%	1	5%	22	11%
toplam	direnç	37	100%	33	100%	26	100%	44	100%	33	100%	19	100%	192	100%

SM: Streptomisin INH: Isoniazid RIF: Rifampisin EMB: Etambutol

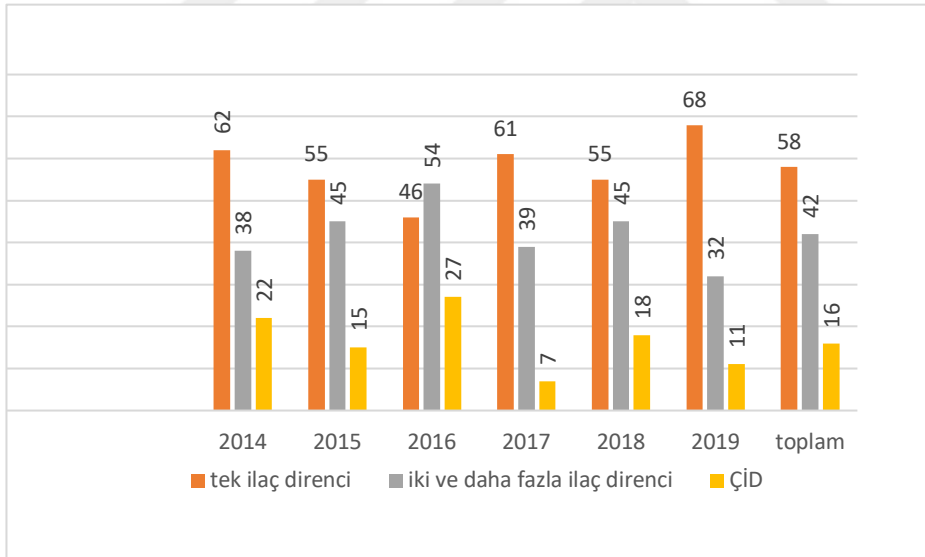
İDT çalışılan 717 örneğin 192 tanesinde (%26,8) bir veya daha fazla ilaca karşı direnç saptanmıştır. Tek bir ilaca karşı direnç 111 hastada (%15), iki ve daha fazla ilaç direncine 81 hastada (%11) oranında rastlanılmıştır. INH+RIF direnci ve bu iki ilaca karşı direnç eklenmiş diğer ilaç dirençlerinin birarada varlığı olarak tanımlanan ÇİD'e 31 hastada (%4) rastlanılmıştır. İlaç direncinde ÇİD varlığı toplamda ve yıllar içinde ayrı olarak değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışma süresince tek bir ilaca karşı direnç, iki ve daha fazla ilaca karşı direnç ve ÇİD her yıl kendi içinde ayrı olarak değerlendirilmiştir. Tablo 23 ve Şekil 14'te yıllara göre saptanan ilaç direnci oranları görülmektedir. 2016 yılında iki ve daha fazla ilaca

karşı çoklu ilaç direnci tek ilaç direncinden daha fazla görülmektedir. Ayrıca 2016 yılı ÇİD'in en yüksek oranda saptandığı yıl olarak görülmektedir. Diğer tüm yıllarda tek ilaç direnci çoklu ilaç direncinden daha yüksek oranda görülmüş istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 23 Yıllara göre ilaç direnç oranları

	2014 Yılı için		2015 Yılı için		2016 Yılı için		2017 Yılı için		2018 Yılı için		2019 Yılı için		toplam	
	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%	sayı	%
tek ilaç direnci	23	62%	18	55%	12	46%	27	61%	18	55%	13	68%	111	58%
iki ve daha fazla ilaç direnci	14	38%	15	45%	14	54%	17	39%	15	45%	6	32%	81	42%
ÇİD	8	22%	5	15%	7	27%	3	7%	6	18%	2	11%	31	16%
toplam	37		33		26		44		33		19		192	



Şekil 14 Yıllara göre saptanan ilaç direnç oranları

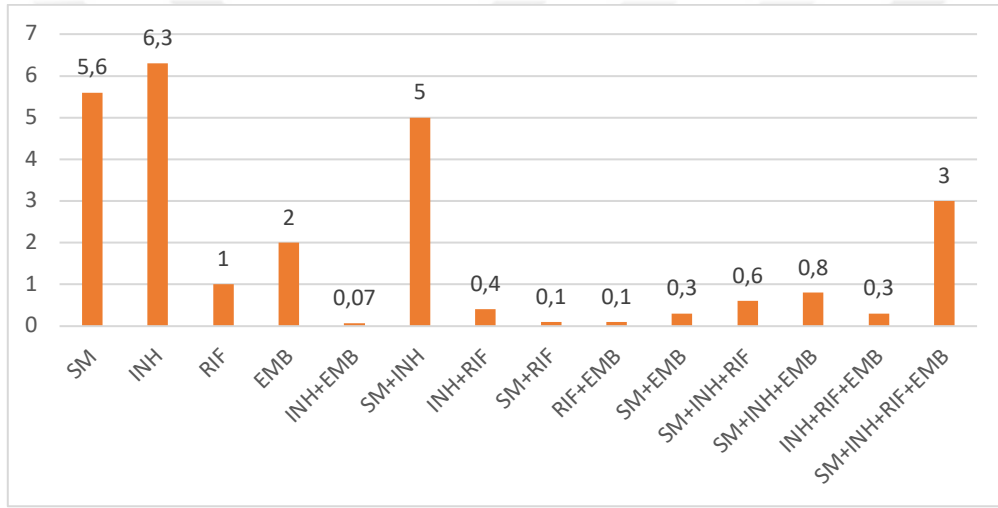
Bu çalışmada tüm örneklerde saptanan ilaç direnç oranları değerlendirilmiş;

-tek ilaca karşı direnç; SM için %5,6, INH için %6,3, RIF için %1 ve EMB için %2 oranında saptanmıştır.

-iki ilaca karşı direnç; EMB+INH için %0,07, SM+INH için %5, INH+RIF için %0,4, RIF+EMB için %0,1, RIF+SM için %0,1, SM+EMB için %0,3 oranında saptanmıştır.

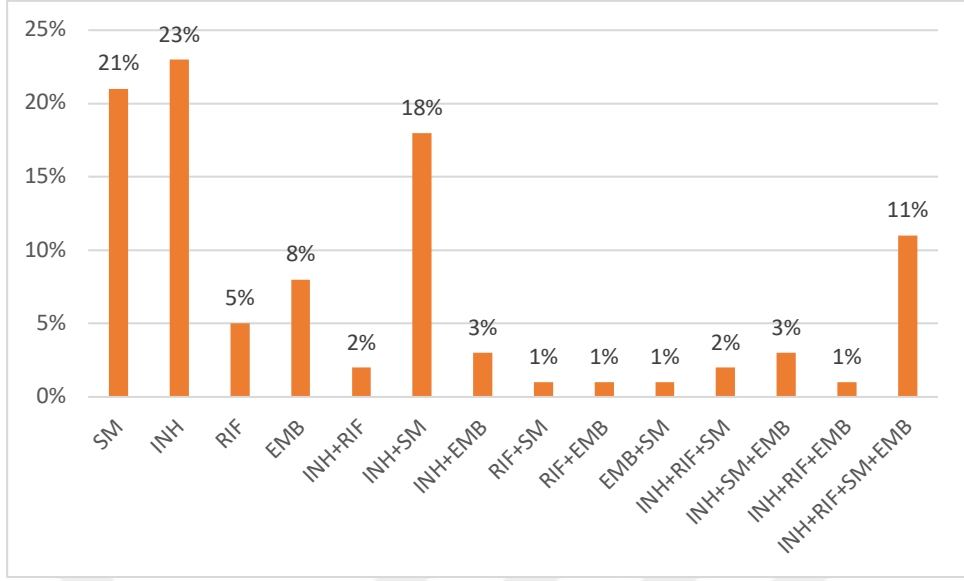
-üç ilaca karşı direnç; RIF+INH+EMB için %0,3, INH+RIF+SM için %0,6, INH+EMB+SM için %0,8 oranında saptanmıştır.

-dört ilaca karşı direnç; SM+INH+RIF+EMB için %3 oranında saptanmıştır. Şekil.15’de tüm örneklerde saptanan ilaç direnç oranları görülmektedir.



Şekil 15 Tüm örneklerde saptanan ilaç direnç oranları (%)

İlaç dirençli örnekler kendi içinde değerlendirildiğinde; INH %23 oranında en fazla direnç saptanan ilaç olup, %21 oranında SM ikinci sırada yer almakta, INH+SM’ye direnç %18 oranında görülmektedir. Şekil 16’da dirençli örneklerde saptanan ilaç direnç oranları görülmektedir.



Şekil 16 Dirençli örneklerde saptanan ilaç direnç oranları

8. TARTIŞMA

Tüberküloz yaygınlığı tüm dünyada özellikle Sahra altı Afrika, Asya ve Latin Amerika’da olmak üzere yeniden artış göstermektedir. Tüberküloz insidansındaki bu artış; gelişmekte olan ülkelerdeki düşük gelir seviyesi, evsizlik, intravenöz ilaç kullanımı, ülkeler arası insan göçü gibi sosyal problemlerin yanı sıra HIV prevalansı ile paralellik göstermektedir (1).

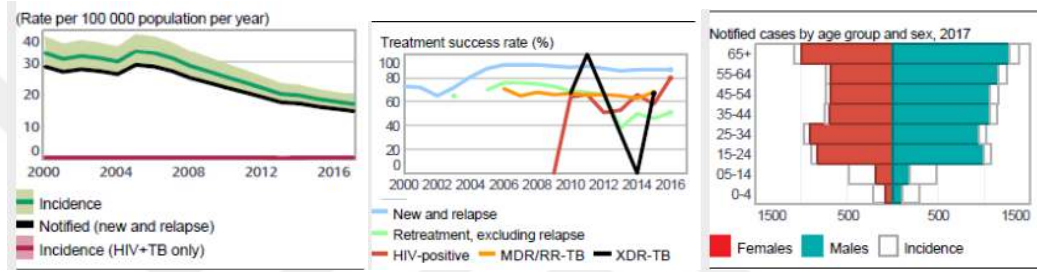
TB hastalığının erken dönemde, doğru ve etkin şekilde tanısı, tedavisi ve izlemi TB kontrol programları için önemlidir. Hastalığın kontrol altına alınmasında artan ilaç direnci de önemli bir sorun olarak görülmektedir.

Hastaların tedaviye uyumsuzluğu ve tedavinin eksik bırakılması gibi nedenler bulaşıcılığın devam etmesine, hastalığın nüks etmesine, ilaçlara direnç gelişmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle DGTS önemli olup ülkemizde titizlikle uygulanmaktadır.

İlaç duyarlılık testleri (İDT) tedavi rejiminin belirlenmesi ve direnç sürveyansının yapılmasında önemlidir. Hastalığının kısa sürede tanı alması ve etkili tedavisi için ilaç duyarlılık testlerinin yapılması için mikrobakteriyoloji laboratuvarlarının önemi büyüktür. Çalışılan örnek kalitesi kadar kullanılan çalışma yöntemleri de sonuçları etkilemektedir. İDT çalışırken, antibiyotik içeren klasik besiyerlerinin hazırlanması esnasında ve saklama koşullarında antibiyotiklerin inaktive olabilmeleri nedeniyle yanlış sonuçlar alınabilmektedir (83). Bu yöntemlerle sonuçlar üç hafta gibi uzun bir zamanı almakta ve bu süre etkin TB tedavisinde gecikmeye neden olmaktadır. Dünya genelinde daha hızlı sonuç alınacak, uygulanması kolay, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek sistemler kullanılması tercih edilmektedir (51).

Üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde bulunan mikobakteriyoloji laboratuvarımızda, klasik yöntemlerin yanısıra İDT sonuçlanma süresini klasik yöntemlere oranla kısaltan otomatize bir sistem kullanılmaktadır. Bu çalışmada ilaç duyarlılık testleri, modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri ve tam otomatize florometrik BACTEC MGIT 960 cihazı (Becton Dickinson®, ABD) kullanılarak yapılmıştır. İDT çalışılma süreleri tüm örneklerde Sağlık Bakanlığı ve CDC kriterlerine uygun olarak 30 günün altında saptanmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar; HSGM-TDB TB istatistikleri (80) ve HSGM Türkiye’de Verem Savaşı 2019 Raporu (84) verileri ile birlikte değerlendirilmiştir. Bu rapor içinde yer alan DSÖ Küresel TB 2018 Raporu’nda Türkiye bölümü verileri Şekil 17’de görülmektedir. Ülkemizde TB insidansının yıllar içinde azalma eğiliminde olduğu, tedavi başarısının yeni tanı ve relapslarda %90’lar seviyesinde, ÇİD-RD-TB’de ise son yıllarda hafif bir artış gözlemlendiği görülmektedir. Her yaş aralığı dikkate alındığında erkek cinsiyette kadın cinsiyete oranla daha fazla TB gözlemlendiği görülmektedir.



Şekil 17 HSGM Türkiye’de Verem Savaşı 2019 Raporu, DSÖ Küresel TB 2018 Raporu’nda Türkiye (84)

Ülkemiz TB verilerinde çalışmanın yapıldığı yıllar içinde, yabancı ülke doğumlu TB hastalarının oranı 2014 yılında %6 iken 2018 yılında %10,8’e yükseldiği görülmüştür (84). Kötü hijyen koşullarında ve kalabalık ortamlarda yaşıyor olmalarının bu artışı açıklayabileceği düşünülmüştür. Son yıllarda yaklaşık her on vakadan birinin yabancı ülke doğumlu olması, ülkemiz içinde hareketliliklerinin devam etmesi ve ülkemizin farklı coğrafi bölgelerinde bulunmaları nedeniyle ülke verilerimizde önemli yer tutmaya başladıkları görülmektedir. Yabancı ülke doğumlu TB hastalarının büyük çoğunluğu Suriye doğumluların oluşturduğu, Afganistan, Azerbaycan, Bulgaristan, Türkmenistan, Irak’ın diğer ülkeler arasında yer aldığı raporlanmıştır. Ülkemize son yıllarda göç ile gelmiş, ülke verilerinin oldukça altında oranda olan, her yıl için yaklaşık 1 ile 3 hasta örneği (%1,6) çalışma grubuna dahil edilmemiştir.

Çalışmanın yapıldığı sürede, TB ön tanısıyla laboratuvarımızda çalışılan örneklerde, 18623 örnekte %4 oranında kültür pozitifliği saptanmış, %3,9 oranında

İDT çalışılmıştır. Kültür pozitifliği olup, MTBC saptanan örneklerin %97,3'ünde (%93,5-%100) İDT çalışılmıştır. Tablo.24'te çalışmamızın yapıldığı tarih aralığında HSGM Türkiye'de Verem Savaşı 2019 Raporu verileri (84) görülmekte, İDT çalışma oranlarımızın 2015 yılında bu orana yakın, diğer yıllarda ise üzerinde olduğu görülmektedir.

Tablo 24 Ac TB'de kültür pozitif olgularda İDT yapılma oranları (84)

	Kültür (+)	İDT yapılan	
	sayı	sayı	%
2014	5792	5202	%89,8
2015	5582	5267	%94,4
2016	5855	5620	%96
2017	5630	5438	%96,6

Kültür pozitifliği, farklı serilerde farklı oranlarda bildirilmiştir. Ülkemizin altı farklı bölgesinden, altı ayrı üniversite hastanesinin verilerinde bu oran %6,1 olarak bildirilmiştir (86). Baylan ve ark. 2003 yılındaki çalışmasında bu oran %5,9 (87), Aydın ve ark. 2011 yılındaki çalışmasında %5,8 (88) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada kültür pozitiflik oranı %4 saptanmış olması yıllar içinde TB görülme oranında azalmaya işaret edebilir.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde erkek nüfusta TB insidans oranları kadın nüfusa oranla 1,6 kat fazladır (1,80). HSGM TDB 2019 verilerinde, %57,5 oranında erkek hasta görülmekte, olguların %94,9'u 15 yaş ve üstünde, %5,1'i 14 yaş altında raporlanmıştır (84).

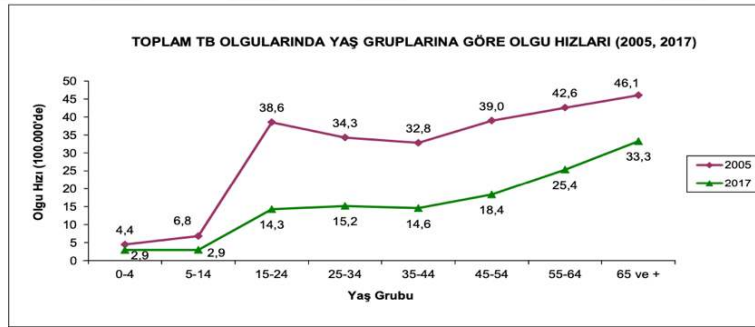
Bu çalışmada ülkemiz verileriyle uyumlu şekilde, TB oranlarını her yılda erkek cinsiyette kadın cinsiyetten fazla oranda olmak üzere toplamda erkek cinsiyette %60,5 oranında TB varlığı saptanmıştır.

DSÖ raporlarında çocukluk yaşı her ne kadar 14 yaş ve altı olarak kategorize edilmiş ise de dünya genelinde ve ülkemizde 18 yaş altı dönem çocukluk dönemi olarak kabul edildiği ve bu yaş grubu TB hastalarının pediatri uzman hekimleri, üstü yaş grubunun ise göğüs hastalıkları uzman hekimleri tarafından takip edilmeleri dolayısıyla örneklerin yaş gruplarını oluştururken bu yaş kriter alınmıştır. MTBC saptanarak İDT çalışılan toplam örneklemin %11,4'ünü 18 yaş ve altı dönem oluşturmaktadır. Ayrıca bu yaş aralığında saptanan 82 hastanın 27'sinde (%33)

oranında ilaç direncine rastlanmıştır. Çocukluk yaş döneminde balgam örneği almak zordur, bu nedenle MAS örneği alınmaktadır, toplam 11 MAS örneğinde MTBC saptanmış, 5'inde ilaç direnci görülmüştür.

Ülkemizin aşı programında BCG aşılama ilk ayda yapılmakta, ilerleyen yaşlarda aşısız olduğu tespit edilen her bireye TB ekarte edildikten sonra BCG aşısı yapılmaktadır. Erken çocukluk yaşlarında, MTBC saptanmış ve hatta ilaç direnci saptanmış olması, aşılama eksikliğini ve genelde ev bakımında olunulan bu yaş aralığında daha çok ev içi bulaşı aklı getirmektedir. Erken çocukluk yaşlarındaki TB'nin hematojen yolla miliyer TB'ye ilerlemesi daha sık rastlandığından bu yaşlarda sıkı takip ve etkin tedavi önemlidir. Ayrıca TB temaslıların yakın takip edilmesi gerekliliğine bir kez daha dikkat çekmesi açısından önemli bulunmuştur.

Ülkemiz verilerinde TB hasta yükü 15-24 yaş aralığındaki genç erkek grubunda artmakta, orta yaşlarda kısmen azalma göstermekte, 45 yaş sonrasında sonrasında tekrar yükselmektedir. Şekil 18'de Toplam TB olgularında yaş gruplarına göre olgu hızları görülmektedir.



Şekil 20 Toplam TB olgularında yaş gruplarına göre olgu hızları (2005,2017) (84)

Bu çalışmada, ülkemiz verileriyle uyumlu şekilde özellikle erkek cinsiyette olmak üzere her iki cinsiyet içinde 19-30 yaş döneminde artışın ardından ılımlı bir azalma, 45 yaş sonrasında tekrar artış görülmüştür.

MTBC saptanan örneklerin tüm yılların genel toplamında en çok 19-30 yaş aralığı içinde (%30) yer aldığı ve her bir yıl içindeki toplam vakaların yaklaşık üçte birinin (%31-43) bu yaş aralığında olduğu görülmüştür.

Askeri birlikler toplu yaşam alanlarındandır. Askerlik hizmeti, 20 yaşından sonra sağlıklı her erkek için ülkemizde zorunludur. Askeri birliklere kabul öncesinde PPD ve akciğer grafisi ile TB taraması yapılmakta ve TB varlığında askerlik görevinden muaf tutulmaktadır, bu nedenle askerlik görevi sırasında tanı alınmış olması yeni tanı anlamına gelmektedir. Taş ve ark.'nın 2009 yılında ülkemizdeki 14 asker hastanesinin verilerini inceleyerek yaptıkları çalışmalarında, %67,5 oranında akciğer TB olarak 259 yeni TB olgusu tespit edilmiş, ortalama olgu yaşı 22.51 ± 4.63 olarak bulunmuş, 104 olguya İDT yapılmış, 17 olguda (%16,3) en az bir ilaca karşı ilaç direncine rastlanmıştır (89).

Taş ve ark çalışmasında çalışmanın yapıldığı yıldaki ülke verilerine oranla daha yüksek oranda TB saptanmış olması toplu yaşamın bu hastalığın bulaşındaki rolüne işaret edebilir (89). Askeri birliklerde Çiftçi ve ark. (90), 2001 yılında yapmış oldukları çalışma sonucunda TB insidansı 100.000'de 76 iken, Taş ve ark. 2009 yılındaki çalışmasında 100.000'de 48,2 oranında bulunmuştur. Ülke genel verilerine paralel görülen bu azalmada askerlik süresinde 2004 yılında yapılan üç aylık bir kısalma olmasının da etkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak daha çok solunum sistemi örneklerinde MTBC üremesi görülmüştür. Ayrıca BAL, MAS, plevra, idrar, BOS, abse, doku, periton, eklem sıvısı örneklerinden de MTBC izole edilmiştir.

Erişkin akciğer tüberkülozlarının yaklaşık %65'i yayma pozitifdir. Yayma sonuçlarına göre tanımlama, bulaştırıcılık olasılığı en fazla olan olguları saptamaya ve tedaviyi pratik bir biçimde takip etmeye olanak sağlar. Olgu saptanabilirlik oranını artırmak için DSÖ tarafından tek balgam pozitifliğinin de yayma pozitif akciğer TB olarak kabul edilmesi önerilmektedir (79,85). Tüm dirençli örnekler arasında ilaç direncinin en fazla görüldüğü 2017 senesi (%22,9) yaymada basil yoğunluğunun en görüldüğü yıl olup, yaymada saptanan basil yoğunluğunun tedaviye dirence işaret edebileceği düşünülmüştür.

Yayma incelemesinde ARB pozitiflik oranlarımız, 2014 için %57, 2015 için %53, 2016 için %52, 2017 için %59, 2018 için %46, 2019 için %30 olarak saptanmıştır. Çalışmanın yapıldığı sürede, HSGM Türkiye’de Verem Savaşı 2019 Raporu verileri Tablo.25’de görülmektedir (84). ARB pozitifliği saptama oranlarımız 2017 yılı dışında diğer yıllarda ülke verilerinin altında bulunmuş, mikroskopik değerlendirmenin titizlikle yapılması ve çok sayıda mikroskop alanı değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Tablo 25 AC TB olgularında mikroskopik tetkikler (84)

		2014	2015	2016	2017
Yayma pozitif	sayı	5044	4695	4610	4568
	%	64,9	64	59,8	57,3
Yayma negatif	sayı	2725	2641	3103	2860
	%	35,1	36	40,2	35,9

Ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalar ile verilerimizi karşılaştırarak ilaç dirençliliğinde durumumuzu belirleyecek şekilde yıllara göre ve değişik bölgelerden yapılmış çalışmalar Tablo 26’da sıralanmıştır.

Ülkemizde ilaç direncini yansıtacak şekilde Yolsal ve ark. tarafından yapılmış, 21 makale ve 27.959 suş sonucunun derlendiği en geniş kapsamlı metaanaliz çalışmasında SM, INH, RIF ve EMB için direnç oranları sırasıyla 1984-1989 yılları için %22,5, %27,8, %22,3, %7,8 olarak, 1990-1995 yılları için %17,9, %23,8, %22,1 ve %7,7 olarak bildirilmiştir (91). Sonraki yıllarda yapılmış çalışmalarda tekli ilaç dirençlerinde yıllar içinde azalma dikkat çekmektedir (99-136).

Tablo 26 Ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları

Çalışma, çalışmanın yapıldığı yıl	Kaynak no	Tek ilaç için direnç yüzdesi (%)				İki ilaç için direnç yüzdesi (%)						Üçlü-dörtlü ilaç için direnç yüzdesi (%)			
		SM	INH	RIF	EMB	EMB+INH	SM+INH	INH+RIF	SM+EMB	RIF+EMB	RIF+SM	RIF+INH+EMB	INH+RIF+SM	INH+EMB+SM	SM+INH+RIF+EMB
Yolsal ve ark. (1984-1989)	91	22,5	27,8	22,3	7,8										
Yolsal ve ark. (1990-1995)	91	17,9	23,8	22,1	7,7										
Kart ve ark. (1982-1991)	93	14,4	14,2	10,5	2,7										
Kart ve ark. (1992-1999)	93	21,1	14,4	10,6	2,4										
Arseven ve ark. (1994)	94	23,3	29,6	17,1	8,8										
Yüce ve ark. (1997)	95	10,3	6,0	10,3	5,2										
Otkun ve ark. (1997)	96	39,0	30,0	11,0	13										
Balcı ve ark. (1999)	97	4,5	10,6	0,5	2,0										
Öztürkeri ve ark. (1999)	98	6,8	35,3	21,0	30,5										
Saniç ve ark. (2000)	99	10,1	7,3	22,1	16,0										
Özekinci T. (2000)	100	12,5	28,1	21,8	18,7										
Orhan G. (1998-2001)	101	2	13,9	3	3,5	2	1			1		3	5	1,5	1
Tansel Ö. (1999-2001)	102	2,2	9	4,5	1,5										
Sürücüoğlu ve ark. (2002)	103	14,9	16,9	9	9,8										
Kısa ve ark. (2002)	104	4,1	8,7	2,1	5,1										
Kocazeybek ve ark. (2002)	105	6,5	19,6	14,7	3,2										
Baylan O. (2002)	87	1,6	7,9				1,6								1,6
Korkmaz G. (2002-3)	106	18,3	25	10,6	2,9	2,9					1	2,9	1		
Özekinci ve ark. (2003)	107	13	24	11	13										
İşitez M. (2003)	108	7,7	7,7		15,9		15,4		7,7	7,7	7,7				
Karadağ ve ark. (2004)	109	4,0	8,0	4,0	2,0		2	2					2		
Durmaz ve ark. (2004)	110	13,5	13,5	5,3	5,3										
Doğan ve ark. (2004)	111	5,8	26,1	10,1	4,3										
Yanık ve ark. (2005)	112	3,1	18,8	3,1	12,5										

Tablo 26 (devam) Ülkemizde yapılmış çeşitli çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları

Çalışma, çalışmanın yapıldığı yıl	Kaynak no	Tek ilaç için direnç yüzdesi (%)				İki ilaç için direnç yüzdesi (%)						Üçlü-dörtlü ilaç için direnç yüzdesi (%)			
		SM	INH	RIF	EMB	EMB+INH	SM+INH	INH+RIF	SM+EMB	RIF+EMB	RIF+SM	RIF+INH+EMB	INH+RIF+SM	INH+EMB+SM	SM+INH+RIF+EMB
Öztürk CE. (2005)	113	11,3	8	4,8	0										
Abaslı ve ark. (2006)	114	3,7	17,0	3,6	4,3										
Gönlügür ve ark. (2007)	115	11,4	17,7	4,4	5,1										
Saral ve ark. (2007)	116	9,9	24,6	15,8	18,8										
Dündar D. (2007)	117	6	11		5	3	7	3	1				1	1	
Saygan MB. (2007)	118	9,1	13,3	13,3	3,4										
Dündar D. (2008)	117	3	13		1		1	1		1			3		
Ekşi ve ark. (2009)	120	6,9	8,6	1,7	1,7										
Uçar E. (2010)	121	15,8	12,3	10,1	6			7,05							2,9
Aydın ve ark. (2011)	88	5,2	6,1	0,5	2,4	0,9	4,7	1,9			0,5	0,5	1,4	0,9	0,9
Zeki M. (2011)	122	10,0	21,7	13,3	5,0										
Tuncer ve ark. (2012)	123	5,2	11,7	5,7	4,9										
Sezer O. (2012)	124	2,7	15,2	5,8	6,6	0,8	0,4					1,6			1,9
Alışkan HE (2013)	125	2,1	2,9	0,5	3,2	1,9	0,8	0,5	0,3	0,3		1,3			0,3
Çelik ve ark. (2011)	126	3,7	3,7	1,1	0,5		5,3	1,1					0,5		
Etiz ve ark. (2018)	127	8,1	13,5	1,8	2,7	1,8	3,6	1,8	0,9					0,9	
Öncel ve ark (2019)	129	2,5	10,7	2,5	1,4	0,8	1,9	0,5					0,2	0,2	2,2
Bıçmen ve ark. (2019)	130	9,8	9,8	2,3	1,5										
Kurnaz ve ark. (2019)	131	33,8	47,6	16,9	1,5										
Zorluer ve ark. (2019)	132	7,1	16,3	5,4	9,6										
Orak ve ark. (2019)	133	18,1	13,6	4,5	0										
Kurt ve ark. (2012-16)	134	19,8	23,4	7,9	8,06										
Kurt ve ark. (2016-20)	134	10	14,2	8,5	12,8										
Çalışmamız		5,6	6,3	1,4	2	0,07	5	0,4	0,3	0,1	0,1	0,3	0,6	0,8	3

TB ilaç direnci görülmesinde genellikle; INH veya SM'ye tekli direnç, INH+SM direnci şeklinde iki ilaca birlikte direnç, INH+SM+RIF şeklinde üç ilaca birlikte direnç, INH+SM+RIF+EMB şeklinde dört ilaca birlikte direnç şeklinde bir yol izlenmekte, tüm dirençli olguların %85'inde bu yolun izlendiği gözlenmektedir. ÇİD-TB, uygun olmayan ilaç tedavisi kullanan hastalarda ilaç direncinin birikici etkisiyle görülmektedir (69,74,77,79).

Çalışmalarda genel olarak INH direnci dikkat çekmektedir. Bu çalışmanın yapıldığı benzer tarihlerde yapılan diğer çalışmalarla (130-2) ve literatürle uyumlu olarak çalışmamızda en çok INH direnci %6,3, ikinci sıklıkta SM direnci %5,6, INH+SM direnci %5 oranında saptanmıştır (93-128).

TB eradike edilmesinde toplum düzeyinde RIF direncindeki artış sorun oluşturmaktadır (1,92). Dünya genelinde RIF direncinde artış görülmekte, DSÖ buna dikkat çekmektedir. RIF ve INH, TB tedavisi yanında profilaktik amaçlı kullanımı olan ilaçlardır, bu ilaçlara karşı gelişen direncin diğer ilaçlara oranla daha yüksek görülmesinde, bu ilaçların yaygın kullanımı etkili olabileceği düşünülmüştür. Brucelloz gibi farklı enfeksiyonların tedavisi, meningokok enfeksiyonu profilaksisi amaçlı gibi TB tedavisi dışı endikasyonlarda da RIF kullanılıyor olmasının bu ilaca karşı dirence katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda RIF direnci %1,4 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada saptanan RIF direnci, diğer çalışmalardan düşük, ancak 2019 yılında Zorluer ve ark. (132) çalışmasından yüksek bulunmuştur.

Dicle Üniversitesi'nden 2000 yılında yapılmış çalışmada SM, INH, RIF ve EMB için direnç oranları sırasıyla %12,5, %28,1, %21,8 ve %18,7 (100) olarak bildirilmişken, 2003 yılında yapılmış ikinci bir çalışmada (107), oranlar %13, %24, %11 ve %13 olarak bildirilmiş, SM direncinin hafifçe arttığı ancak diğer ilaçlarda belirgin azalma olduğu görülmüştür. Taylan ve ark. 2006-10 yılları arasında ilimiz verilerini inceledikleri çalışmalarında INH direnci (%19,16±6,29) ülke ortalamasından daha yüksek bulmuşlardır (119). Çalışmada saptanan INH direnci (%6,3) bu oranların oldukça altında bulunmuş, ilimiz için yıllar içinde artan tedavi başarısına bağlı

olabileceğini düşünölmüştür.

Çalışmaların yapıldıkları tarihlere bakıldığında, tek ilaca karşı direnç oranlarının yıllar içinde azaldığı görölmektedir. Çalışmaya dahil edilen suş sayısı, çalışmanın yapıldığı bölge de ayrıca önemlidir. Ülkemizin farklı coğrafi bölgelerinin sonuçları arasında farklılıklar görölməsi, iklim farklılıkları, sosyoekonomik-sosyoköltürel farklılıklar, sağlık hizmet sunucusuna erişim farklılıklarının neden olabileceği düşünölmüştür.

Kurt ve ark., sekiz yıllık sürede hastanelerinin sivillere kapalı olduğı dönemi birinci dönem, açıldığı dönemi ise ikinci dönem olarak değeriendirip, MTBC antibiyotik direnç oranları açısından karşılaştırdıkları çalışmalarında, birinci ve ikinci dönem sırasıyla olmak üzere SM için %19,8 ve %10, INH için %23,4 ve %14,2; RIF için %7,9 ve %8,5, EMB için %8,06 ve 12,8 olarak ilaç direnç oranları saptamışlardır. Oranlardaki değışimin hizmet verilen hasta popölasyonun değışmesine bağlamışlardır (136).

Aydın ve arkadaşlarının, 2011 yılında Karadeniz bölgesinden yayınladıkları 5 yıllık verilerinde, ilaç direnci %26 olarak görölmüştür. En çok INH ve RIF direncine rastlanmıştır. Tekli veya çoklu ilaç gözetmeksizin SM, INH, RIF ve EMB dirençleri sırasıyla %13,7, %17,5, %5,7 ve %5,7 olarak saptanmıştır (88). Bu çalışmada tekli veya çoklu ilaç gözetmeksizin, ilaç dirençliler arasında ilaç direnç oranları sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB için %17, %16, %6 ve %8 olarak bulunmuştur. SM için artış dikkat çekmiştir.

Arseven ve ark. çalışmasında SM, INH, RIF, EMB direnç oranları sırasıyla %23,3, %29,6, %17,1 ve %8,8 (94), Saral ve ark. çalışmasında %9,9, %24,6, %15,8 ve %18,8 (116), Taş ve ark. çalışmasında %0,9, %12,5, %7,7 ve %5,8 (89) olarak bildirilmiştir.

Biçmen ve ark., 2015-2019 yılları arası İzmir ilinden beş yıllık verileri derledikleri çalışmalarında sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB için direnç oranlarını %9,8, %9,8, %2,3 ve %1,5 olarak saptamışlardır (130). Kurnaz ve ark., 2015-2019 yılları arası Mersin ilinden beş yıllık verileri derledikleri çalışmalarında sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB için direnç oranlarını %33,8, %47,6, %16,9 ve %1,5 olarak saptamışlardır (131). Zorluer ve ark., 2015-2019 yılları arası Adana ilinden beş yıllık verileri derledikleri çalışmalarında sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB için direnç oranlarını %7,1, %16,3, %5,4 ve %9,6 olarak saptamışlardır (132). Çalışmamızla benzer tarih aralığında yapılan bu üç çalışmada, bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde en fazla oranda INH ve SM direnci saptanmış olmasının bu iki ilaçta yıllar içinde artış gösteren direnç sorununa dikkat çekebileceğini düşünmekteyiz. Bu çalışmada EMB direnç oranı Biçmen ve ark., Kurnaz ve ark. çalışmasıyla uyum göstermektedir (130,131).

INH ve RIF direnci, ayrıca bu iki ilaca ek bir başka ilaca direnç ÇİD olarak tanımlanmış, çalışmamızda 2014 yılında 8 örnek (yıl içinde %22), 2015 yılında 5 örnek (yıl içinde %15), 2016 yılında 7 örnek (yıl içinde %27), 2017 yılında 3 örnek (yıl içinde %0,7), 2018 yılında 6 örnek (yıl içinde %18), 2019 yılında 2 örnek (yıl içinde %10) olmak üzere toplamda 31 örnekte (%4) ÇİD olarak saptanmıştır. Bu çalışmada saptanan ÇİD oranı, 2006-10 yılları arasında ilimiz verilerinin değerlendirildiği Taylan ve ark. (119) çalışmasında saptanan %6,83±6,92 oranının altında saptanmış, DSÖ 2019 raporunda, ülkemiz için verilen her 100.000 nüfus için ÇİD/RD TB %3,5 (3-4) oranı ile uyumlu bulunmuştur.

ÇİD-TB tedavisine mikobakterilerin duyarlı olduğu düşünülen en az beş ilaçla başlanılmakta, olguların yönetimi yüksek klinik uzmanlık gerektirmekte ve toplum sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir. THSK-TDB verilerinde ÇİD-TB oranları 2014 yılında %4,6 iken 2018 yılına gelindiğinde %3,2'ye gerilediği görülmüştür.

Uçar ve ark. ülkemizin yedi farklı bölgesinin örneklerinde 2003-6 yılları arasında ilaç direnç oranları için yaptıkları çalışmada, ÇİD-TB görülmesinin yaş, cinsiyet ve

yıllar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamış, ancak bölgeler arasında anlamlı fark bulunmuştur. ÇİD-TB en çok Akdeniz bölgesinde, en az Ege bölgesinde görülmüştür. En az bir ilaca direnç oranı %24,2, ÇİD-TB oranı %10 olarak bildirilmiştir (121).

Kurnaz ve ark. (133) çalışmalarında ÇİD oranını %3,7, Zorluer ve ark. (132) %5,9, Orak ve ark. (133) %4,5 olarak bildirmişlerdir. Biçmen ve ark. çalışmalarında ÇİD oranlarını 2015 yılından itibaren sırasıyla, %2,6, %1,5, %2,1, %2,1 ve %1,6 olarak raporlamışlardır (130). Bu çalışmada yıllara göre ÇİD oranlarımız sırasıyla %1,1, %0,7, %0,9, %0,4, %0,8 ve %0,3 oranında saptanarak İzmir bölgesinden yapılmış bu çalışma verilerinden ve genel ülke verilerinden düşük oranlarda olduğu görülmektedir.

Saral ve ark. (116) Trabzon ilinde yaptıkları çalışmalarında %14,7 oranı ile yüksek ÇİD-TB oranı bildirilmiştir. Tansel ve ark. (102) Edirne ilinde yaptıkları çalışmalarında ÇİD-TB oranları %3, Gönlügür ve ark. (115) Sivas ilinde yaptıkları çalışmalarında %3,8, Öztürk ve ark. (110) Düzce ilinde ve Durmaz ve ark. (113) Malatya ilinde yaptıkları çalışmalarında %4,8, Sürücüoğlu ve ark. (103) Manisa ilinde yaptıkları çalışmalarında %7,3, Doğan ve ark. (111) çalışmasında %3,4, Etiz ve ark. (127) çalışmasında %1,8 oranında ÇİD-TB varlığı bildirilmiştir, ÇİD oranlarında yıllar içinde azalma görülmüştür. Etkin DGTS'nin bu oranları azalttığı düşünülmüştür.

Her dört ilaca birden direnç görülmesi (INH+RIF+EMB+SM), TB kontrolünde sorun oluşturmaktadır. Çalışmamızda her dört ilaca birden görülen direnç, toplamda 22 hastada, %3 oranında görülmüştür. Bu oran 2014 yılında %6, 2015 yılında %3, 2016 yılında %5, 2017 yılında %2, 2018 yılında %3, 2019 yılında %1 olarak saptanmıştır. 2016 yılındaki yükselişin ardından dört ilaç direncinde gerileme olması yüz güldürücüdür. Ancak çalışmalarda verilen oranların üstündedir. Gönlügür ve ark. bu oranı %0,6 (115), Aydın ve ark. %0,9 (88), Ekşi ve ark. %0,8 (120), Uçar ve ark. %2,9 (121) oranında bildirmişlerdir. Sonuçlarımız; Uçar ve ark. %2,9 (121) oranında bildirdikleri çalışmalarıyla benzerdir.

DSÖ 2006 yılında PE ilaçlardan (SM, AK, KAN, KAP) ve kinolon grubu ilaçlardan en az birine dirençli bulunan ÇİD-TB'leri YİD-TB olarak tanımlamıştır. Her ÇİD-TB, YİD-TB'ye ilerleyebilmektedir. Bu çalışmada, laboratuvarımızda ikinci seçenek antitüberküloz ilaçlar için İDT yapılamadığı için YİD-TB için yorum yapılamamıştır. Bektöre ve ark. 2012 yılında İstanbul, İzmir ve Manisa illerinden izole edilmiş 81 ÇİD-TB izolatını ikinci seçenek antiTB ilaçlar için incelemiş, YİD-TB'ye rastlamamışlardır (128).



9. SONUÇLAR

İlaç direnci gelişimi, TB kontrol programları için önemli bir sorundur. Tüberkülozun erken tedavisi ile bulaştırıcılığın azalacağı ve uygun ilaç tedavisi ile ilaç direnci gelişiminin önüne geçilebileceği düşünülmektedir. İlaç duyarlılık testleri sonuçlanıncaya kadar başlanacak olan ampirik tedavinin etkinliği için direnç oranlarının biliniyor olması önemlidir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda, herhangi bir antitüberküloz ilaç direncine %26,7 oranında rastlanılmıştır. SM, INH, RIF ve EMB için ilaç direnci sırasıyla %5,6, %6,3, %1 ve %2 olarak saptanmış, INH ve SM direncinin diğer ilaçlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. ÇİD-TB oranı %4 saptanarak, ülkemiz ÇİD-TB verileri ile uyumlu bulunmuştur.

Her ilde TB için İDT çalışılacak laboratuvarlar olmadığı gibi laboratuvarlar arası çalışma yöntemi farklılıkları bulunmaktadır. Üniversite laboratuvarımız, bölgemiz için referans laboratuvarı olması dolayısıyla ilimiz haricinde çevre illere de hizmet vermektedir. Bu nedenle çalışma verilerinin, ülkemizin Güneydoğu Anadolu bölgesinin TB kontrolü programındaki durumuna işaret edebileceği düşünülmüştür.

Ülkemizde yapılmış çalışmalarda farklı İDT yöntemlerinin kullanılmasının elde edilen sonuçlarda farklılığa sebep olabilme ihtimali nedeniyle, yapılacak çok merkezli validasyon çalışmalarının mikobakteriyoloji laboratuvarları için en uygun çalışma yönteminin belirlenmesinde fayda sağlayacağı düşünülmüştür.

İDT verilerinin, ulusal ve bölgesel bazda izlenmesinin ilaç direnci gelişiminin önlenmesine ve DGT'ye katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

10- KAYNAKLAR

- 1- Global Tuberculosis Report, 2019, World Health Organization.
- 2- Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 7thed. Wolters Kluwer/ Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 2017; Mikobakteriler:1220-1259.
- 3- Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi, 2. Baskı Ankara, Mayıs 2019 ISBN: 978-975-590-717-8 Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1129
- 4- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) April 15,2005/54(RR06);1-12 National Plan for Reliable Tuberculosis Laboratory Services Using a Systems Approach.
- 5- Salo WL, Aufderheide AC, Buikstra J, Holcomb TA. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in a pre-Columbian Peruvian mummy. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91:2091-94.
- 6- Zink AR, Sola C, Reischl U, et al. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis complex* DNA's from Egyptian mummies by spoligotyping. J Clin Microbiol 2003; 41:359-67.
- 7- Taylor GM, Stewart GR, Cooke M. et al. Koch's Bacillus- A look at the first isolate of *Mycobacterium tuberculosis* from a modern perspective. Microbiology, 2003; 149:3213-3220.
- 8- Calmette A. La vaccination preventive contra la tuberculose. Paris: Masson et cie.1927.

- 9- Barış İY. Dünyada tüberkülozun tarihçesi. Toraks Dergisi, 2002; 3(3):338-340.
- 10- Öger O. Tüberküloz Epidemiyolojisi ve Türkiye’de Tüberküloz Durumu. Klimik Derg 1989; 2/1: 42-44.
- 11- Jawetz, Melnick and Adelberg’s Medical Microbiology: Chapter 23, Mycobacteria. 28th ed; McGraw Hill Lange; 2019. p:328-42.
- 12- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. *Mycobacteriumlar*. (5. Baskı). İzmir, Fakülteler Kitabevi, 2009;19:375-84.
- 13- Kıyan M. Mycobacteriaceae. Ustaçelebi Ş, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 419-437.
- 14- Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M: *Mycobacterium*, Mikrobiyoloji 2000, Ed. Tünger A, İzmir, Asya Tıp Yayıncılık, 1998; 174-183.
- 15- *Mycobacterium* and related acid-fast bacteria İn: ‘Medical Mikrobiology’Eds.Patric R Murray, Ken S Rosenthal, Micheal A Pfaller,8th Ed. Elsevier Mosby, Pennsylvania, 2016. p:222-33.
- 16- Köksal F., Yaman A. Farklı Bir Bakteri Topluluğu Mikobakterilerde Hücre DuvarıYapısı 21 Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun. 2003.s: 34-47.
- 17- Hett EC, Rubin EJ. Bacterial growth and cell division: a mycobacterial perspective. Microbiol and Mol Biol Rev 2008; 72: 126-156.
- 18- Gedikoğlu S. *Mycobacterium tuberculosis*’in hücre yapısı. İnfeksiyon Derg 1997;11(4:Ek yayın):13-17.

- 19-** Kocabaş A. Mikobakterilerin yapısal ve antijenik özellikleri. Kocabaş A ed. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Ankara: Emel Matbaası, 1991;47.
- 20-** Schwander SK, Torres M, Seda E, et al. Enhanced responses to *M. tuberculosis* antigens by human alveolar lymphocytes during active pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 1998; 178: 1434-1445.
- 21-** Noss EH, Pai RK, Sellati TJ, et al. Toll-like receptor 2-dependent inhibition of macrophage class II MHC expression and antigen processing by 19 kDa lipoprotein of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*, 2001; 167: 910-918.
- 22-** Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, et al. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of invitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 339-345.
- 23-** Özbal Y. Tüberküloz immünolojisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2006; 28(1): 25-34.
- 24-** Samuelson J, Cotran RS, Kumar V, Colins T, eds. Robbins pathologic Basis of Disease. 6th ed.in: Infectious Diseases. Philadelphia, 1999: 349-351.
- 25-** Bayındır Ü. Solunum sistemi hastalıkları. Öbek A, ed. İç Hastalıkları, 3. Baskı. Atlas Ofset, 1988:427.
- 26-** Balcı K. Göğüs Hastalıkları: Tüberküloz. 3. Baskı. Konya: Atlas Kitabevi, 1993: 191-254.
- 27-** Kılıçturgay K. Tüberkülozda immunopatogenez. *İnfeksiyon Derg* 1997;117-10.
- 28-** Sbarbaro JA. Skin test antigens: an evaluation whose time has come. *Am Rev Respir Dis*. 1978; 118:1-5.

- 29-** Zack MB, Fulkerson LL. Clinical reliability of stabilized and nonstabilized tuberculin PPD. Am Rev Respir Dis 1970; 102: 91-93.
- 30-** Holden M, Dubin MR, Diamond PH. Frequency of negative intermediate-strength tuberculin sensitivity in patients with active tuberculosis. N Engl J Med 1971; 285:1506-1509.
- 31-** A Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161(4 Pt 2): p:221-247.
- 32-** Saragias M. BACTEC MGIT 960 Automated System. Section7: Mycobacteriology and Antimycobacteriel Suspectibility Testing. İn: İsenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook.2nd ed, (update 2007).Vol 2.pp.1040-1043, Washington:ASM Pres,2007.
- 33-** Aslan G. Hasta örneklerinin işlenmesi ve kültürü III. Tüberküloz sempozyumu ve III. Tüberküloz tanı yöntemleri uygulama kursu, s:10-18. Adana, 2004.
- 34-** Ersöz G. Örneklerin İşlenmesi ve Kültür Yöntemleri, V. Tüberküloz Labaratuvar tanı Yöntemleri Uygulamalı Kurs Kitabı, s: 22-26, Diyarbakır, 2006.
- 35-** Cheon SA, Cho HH, Kim J, Lee J, Kim HJ, Park TJ. Recent tuberculosis diagnosis toward the end TB strategy. J Microbiol Methods. 2016; 123:51-61.
- 36-** Sester, M., Sotgiu, G., Lange, C., Giehl, C., Girardi, E., Migliori, G.B. ve ark. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur. Respir. J.2011; 37, 100–111.

- 37- Correia-Neves M, Fröberg G, Korshun L, et al. Biomarkers for tuberculosis: the case for lipoarabinomannan. ERJ Open Res 2019; 00115-2018 [https://doi.org/10.1183/23120541.00115-2018]
- 38- Ceyhan İ, Saygan BM, Saniç A, Tahran G: Tüberkülozda Bakteriyolojik Tanı, Ed. Ceyhan İ, 56-63, Laboratuvar Teknikleri serisi, Mikobakteriyolojik Teknik Seri RSHM. LAB. TB. 01, 2005.
- 39- Özden M. *Mycobacterium tuberculosis* izolasyonu öncesinde uygulanan iki farklı dekontaminasyon, homojenizasyon işleminin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara,2019.
- 40- Alp A. Tüberkülozun laboratuvar tanısında güncel durum. Hacet Tıp Derg.2011; (42), 28-33.
- 41- Perkins MD. New diagnostic tools for tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2000; 4(Suppl 2): 182-188.
- 42- Van Deun A, Maug AK, Cooreman E, et al. Bleach sedimentation method for increased sensitivity of sputum smear microscopy: does it work? Int J Tuberc Lung Dis. 2000; 4:371-376.
- 43- Trebucq A. Revisiting sputum smear microscopy. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8:805.
- 44- Köksal İ. Tüberkülozda tanı, Sürekli Tıp Eğitim Dergisi; 2000,2: 5-9.
- 45- Uzun M. Örneklerin İşlenmesi ve Kültür Yöntemleri, 21.yüzyılda Tüberküloz sempozyum Kitabı; Samsun, 2003, 285-290.
- 46- Albay A. Anti-tüberküloz ilaç duyarlılık testleri ve Türkiye Verileri- Gülhane Mikrobiyoloji Günleri, s:105-116, İstanbul, 2010.

- 47- Çoban AY, Uzun M, Akgüneş A, Durupınar B. Comparative evaluation of microplate nitrate reductase assay and rezasurin microtitre assay for the rapid detection of multidrug resistance *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, August, 2012, Vol. 107(5):578-581.
- 48- Durmaz R. Tüberkülozun Epidemiyolojik Araştırmalarında Laboratuvarın Yeri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu. s: 443-456, Samsun, 2003.
- 49- Piersimoni C, Scarparo C, Piccol P, et al. Performance assessment of two commercial amplification assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis complex* in clinical samples. J Clin Microbiol 2003; 41: 5355- 5365.
- 50- Alp A. Moleküler tanı yöntemlerinde yenilikler. 6. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu kitabı. s:165-69, Kızılcahamam, 2006.
- 51- Çavuşoğlu C. *Mycobacterium tuberculosis*'de Moleküler Antibiyotik Duyarlılık Test yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun,2003.
- 52- Korkmaz G, Balcı İ, Bayram A, ve ark. *Mycobacterium tuberculosis Kompleks* Kökenlerinin Birinci Seçenek Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılığının Saptanmasında BACTEC ve Agar Proporsiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Enfeksiyon Dergisi 2006;20(1):7-14.
- 53- Wallace RJ, Nash DR., Steele C., Steingrube V. Susceptibility testing of slowly growing mycobacteria by a microdilution MIC method with 7H9 broth. Journal of Clinical Microbiology, 1986, Vol.24, No.6, p: 976-81.
- 54- Çoban AY. Fenotipik yöntemlerde yeni yaklaşımlar. Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu, Mersin, Kasım 2019. tmc.online.org (erişim tarihi 15.11.2020)
- 55- NCCLS. Antimycobacterial Susceptibility Testing for *Mycobacterium tuberculosis*; Tentative standart. 1995.
- 56- Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis*. EUCAST Discussion document E.DIS 8.1 December 2001.

- 57- Kocagöz T. M. tuberculosis için uygulanan fenotipik ve genotipik direnç testleri. 4. Ulusal mikobakteri sempozyumu kitabı s:115-17, Abant, 2002.
- 58- Tansel Ö. Klasik antibiyotik duyarlılık test yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun,2003.
- 59- Martin A, Imperiale B, Ravolonandriana P, et al. Prospective multicentre evaluation of the direct nitrate reductase assay for the rapid detection of extensively drug-resistant tuberculosis. J Antimicrob Chemother 2014; 69:441-44.
- 60- Çoban AY, Deveci A, Sunter AT, Martin A. Nitrate reductase assay for detection of isoniazid, rifampin, ethambutol, and streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review and meta-analysis. Journal of Clinical Microbiology, 2014, 52(1):15.
- 61- Wanger A, Mills K. Testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility to ethambutol, isoniazid, rifampin, streptomycin by using Etest. J Clin Microbiol 1996; 34: 1672-1676.
- 62- Kocagöz T. Etkin Tüberküloz Tanısı İçin Nerede, Ne zaman, Hangi İnceleme. ANKEM,200 7;21:261-265.
- 63- Farnia P, Masjedi MR, Mohammadi F, et al. Colorimetric detection of multidrug-resistant or extensively drug resistant tuberculosis by use of malachite green indicator dye. Journal of Clinical Microbiology, 2008, Vol.46, No.2, p.769-799.
- 64- Çoban AY. A new rapid colourimetric method for testing *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility to isoniazid and rifampicin: a crystal violet decolourisation assay. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, April 2014, Vol. 109(2):246-249.
- 65- Eltringham, I. J., Wilson S.M., Drobniewski F. A., Evaluation of a bacteriophage-based assay (phage amplified biologically assay) as a rapid screen for resistance to isoniazid, ethambutol, streptomycin, pyrazinamide, and ciprofloxacin among

clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin. Microbiol. 1999, 37 (11): 3528-3532.

- 66- Moore A.V., Kirk S.M., Callister S.M., Mazurek G.H., Schell R.F, Safe determination of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to antimycobacterial agents by flow cytometry. J Clin. Microbiol. 1999; 37(3): 479-483.
- 67- Hazbon M. H, Guarin N, Ferro B., et al. Photographic and luminometric detection of luciferase reporter phages for drug susceptibility testing of clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates J Clin. Microbiol. 2003;41 (10): 4865-4869.
- 68- Esen N. Tanı ve İlaç Duyarlılık Testlerinde Moleküler Yöntemlerin Değeri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun,2003.
- 69- Otkun M. Tüberküloz Tedavisinde Temel İlkeler ve Direnç Sorunu. Klimik Dergisi, Cilt 14.Sayı 2. 2001;71-82.
- 70- Tekin K. Çok İlaça Dirençli Tüberküloz olgularında sekonder antitüberküloz ilaçlara karşı oluşan direncin saptanmasında BACTEC MGIT 960 SL DST ve genotype MTBDRs/ testlerinin değerlendirilmesi. Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, Ankara,2015.
- 71- Kiraz N. Antitüberküloz ilaçlara direnç mekanizmaları ve yeni ilaçlar. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu. s:173-177, Samsun,2003.
- 72- Çilli A. Antitüberküloz İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu kitabı. s:163-172, 2003.
- 73- Rieder Hans L. Interventions for Tuberculosis Control and Elimination, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2002.
- 74- WHO/IUATLD. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance

- Surveillance. Fourth Global Report. Geneva: World Health Organization, 2008. WHO/HTM/TB/2008.394.
- 75-** Musser JM. Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clinical Microbiology Reviews*, 1995(8):496-514.
- 76-** Göçmen JS, Aksoy A. Solunum hastalıkları tanısında klinik mikrobiyoloji laboratuvarının yeri. Solunum sistemi ve hastalıkları. Ed. Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A. s:325-347. İstanbul Tıp Kitabevi.2010.
- 77-** Durmaz R. Mycobacterium tuberculosis'de Direnç Sorunu. *ANKEM Derg.* 2005;19(2):107-110.
- 78-** Gönlüğü T, Gönlüğü U. INH Direnç Mekanizmaları. *Dicle Medical Journal.* 2017, 44(3): 287-292.
- 79-** WHO. Treatment Guidelines for drug-resistant tuberculosis (2016 update). Geneva, 2016. WHO/HTM/TB/2016.04
- 80-** T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Tüberküloz Dairesi Başkanlığı Tüberküloz İstatistikleri görüntüleme tarihi 25.11.2020
- 81-** Hirano K, Aono A, Takahashi M. and Abe C. Mutations including IS6110 insertin in the gene encoding the MPT64 protein of capilla TB-negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J. Clin. Microbiol.*2004, 42:390-392.
- 82-** BD MGIT TBc Identification Test (TBc ID) BD Diagnostics www.bd.com/ds adresinde görüntülenmiştir.
- 83-** Özakın C, Gediklioğlu S. Tüberküloz tanı ve ilaç duyarlılık testlerinde Tüberküloz laboratuvarının rolü: 21 Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun, 2003,397-401.
- 84-** T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye’de Verem Savaşı 2019 Raporu, Ankara-2020.

- 85- Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, et al. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, Verem Savaşı Daire Başkanlığı, 2003.
- 86- Hascelik G, Ercis S, Özakin C, et al. Is *Mycobacterium tuberculosis* still a problem in Turkey? American Society for Microbiology 100th General Meeting, 20-24 May 2001. Florida, USA. Abstract Book, p: 235.
- 87- Baylan O, Kısa Ö, Albay A, Doğancı L. Mikobakteriyoloji Laboratuvarımızda 2002 Yılında Tüberküloz Olgularından İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks (MTC) Suşları ve Antitüberküloz İlaç Duyarlılık Sonuçları. Gulhane tıp Derg 2003; 45(3):256-262.
- 88- Aydın F, Kaklıkaya N, Bayramoğlu G. ve ark. Klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium Tuberculosis Kompleks* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları, Mikrobiyol Bul. 2011, 45(1): 36-42
- 89- Taş D, Taşçı C, Demirer E. ve ark. Genç Askerlerde Tüberküloz İnsidansı ve Primer İlaç Direnci Oranları: Ülkemizdeki 14 Asker Hastanesinin Verileri Mikrobiyol Bul 2012; 46(1): 26-32.
- 90- Ciftci F, Tozkoparan E, Deniz O, Bozkanat E, Kibaroglu E, Demirci N. The incidence of tuberculosis in the armed forces: a good reflection of the whole population. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8(8): 965-968.
- 91- Yolsal N, Malat G, Difiçi R, Örkün M, Kılıçaslan Z. Türkiye’de Tüberküloz ilaçlarına Direnç Sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 Yılları için Karşılaştırılması. Meta-Analiz: Klimik Dergisi 1998; 11(1): 6-9.
- 92- Douglas, JG, McLeod, MJ. Tüberkülozun Modern İlaç Tedavisinde Farmakokinetik Faktörler. Clin Pharmacokinet 1999; 37: 127-146.
- 93- Kart L, Altın R, Tor M, Gulmez I, Oymak SF, Atmaca HM, Erdem F. Antituberculosis drug resistance patterns in two regions of Turkey: a retrospective analysis. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2002; 1(6):1-5.

- 94- Arseven O, Eraksoy H, Uzun Y. ve ark. Doğu Karadeniz bölgesinde tüberküloz ilaçlarına direnç durumu, Klimik Dergisi 1995;8(2) 63-67.
- 95- Yüce A, Yücesoy M, Ercan H ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının antitüberküloz ilaçlara direnç paternleri ve izoniazid direnci ile katalaz aktivitesi arasındaki ilişki, Klimik Derg 1997; 10(1): 33-5.
- 96- Otkun M., Akata F., Karabay O. ve ark. Trakya Üniversitesi Hastanesine 1996 yılı içinde başvuran tüberkülozlu olgularda antitüberküloz ilaçlara direnç sorunu, Enfeksiyon Derg 1997; 11(3): 191-196.
- 97- Balcı, Bayram A, Filiz A. *Mycobacterium tuberculosis*'te birinci seçeneği ilaçlara direnç, Enfeksiyon Derg 1999; 13(4): 521-525.
- 98- Öztürkeri H, Emektaş G, Kocabey Ö. ve ark. İzoniazid, rifampin, streptomisin ve etambutolün tüberküloz basillerine in-vitro etkinlikleri. BACTEC test yöntemi ile alınan sonuçlar, Türk Mikrobiyol Cem Derg 1999; 29 (1-2): 58-60.
- 99- Saniç A, Günaydın M, Çoban AY. ve ark. A comparison of the E-test and proportion methods for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*, J Chemother 2000; 12(7): 491-494.
- 100- Özekinci T. Tüberküloz tanısında Erlich-Ziehl-Neelsen, Fluorokrom boyama yöntemleri ile Bactec ve Löwenstein-Jensen kültür yöntemlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi. Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık tezi. Dicle Üniversitesi, 2000.
- 101- Orhan G, Zer Y, Balcı İ ve ark. Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 32:225-229.
- 102- Tansel Ö, Yüksel P, Kuloğlu F, Akata F. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının antiitüberküloz ilaçlara direnci: Trakya Üniversitesi Hastanesinin iki yıllık sonuçları. Enfeksiyon Dergisi 2003; 17:23-26.
- 103- Sürücüoğlu S, Özkütük N, Celik P, et al. Drug-resistant pulmonary tuberculosis

in western Turkey: prevalence, clinical characteristics and treatment outcome. Ann Saudi Med 2005; 25: 313-318.

- 104-** Kısa Ö, Albay A, Baylan O ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarında antitüberküloz ilaç direnç oranlarının BACTEC 460 TB kültür sistemi ile değerlendirilmesi, Flora 2002; 7(3): 171-176.
- 105-** Kocazeybek B. Tüberküloz tanısında BBL- “Mycobacteria-Growth Indicator Tube (MGIT)” Yönteminin “Löwenstein-Jensen” besiyeri ile karşılaştırılması ve izole edilen suşların dört majör ilaca karşı dirençlerinin değerlendirilmesi, Flora 2002; 7 (2): 112-119.
- 106-** Korkmaz G, Balcı İ, Bayram A, Karslıgil T. *Mycobacterium kompleks* kökenlerinin birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının saptanmasında BACTEC ve Agar proporsiyon yöntemlerinin karşılaştırılması. Enfeksiyon Dergisi 2006; 20:7-14.
- 107-** Özekinci T, Özbek E, Gedik M, et al. 2001-2003 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarında ilaç direnci. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2006; 36 (1): 31-34.
- 108-** İşitez M. Afyon Bölgesindeki Tüberküloz Olgularının Löwenstein-Jensen, Bactec ve Tk Medium Yöntemleri İle Saptanıp Dört Major İlaça Karşı Dirençlerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Afyon, 2003.
- 109-** Karadağ A., Tokaç M., Güvenli A., Sünbül M., Günaydın M., Saniç A. Klinik Örneklerden İzole Edilen Tüberküloz Basili Kompleksinin Major Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları, ANKEM Derg 2004; 18(4):189-192.
- 110-** Durmaz R, Zozio T, Gunal S, et al. Population-based molecular epidemiological study of tuberculosis in Malatya, Turkey. J Clin Microbiol 2007; 45: 4027-4035.
- 111-** Doğan ÖT, Özşahin SL, Kaya S, et al. Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi’nde

1999 Yılından İtibaren Takip Edilen Ardışık 385 Olguda Anti Tüberküloz İlaç Direnci. C. Ü.Tıp Fakültesi Dergisi 2004, 26 (2): 81-84.

- 112-** Yanık K, Cirit OS, Çoban AY ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının major ilaçlara duyarlılığının araştırılması, 6. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu kitabı, Kızılcahamam, 2006; 246.
- 113-** Öztürk CE, Balbay OA, Kaya D et al. The resistance to major antituberculosis drugs of *Mycobacterium tuberculosis* strains Isolated from the respiratory system specimen of tuberculosis patients in Düzce, Turkey. Jpn J Infect Dis 2005; 58:47-49.
- 114-** Abaslı HE, Kısa Ö, Senses Z ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarının antitüberküloz ilaçlara duyarlılık oranları, 6. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu kitabı, Kızılcahamam, 2006; 250.
- 115-** Gönlügür U, Bakıcı MZ, Gönlügür Tanseli E, Hasbek M, Sivas ilinde antitüberküloz ilaçlara Direnç Oranları. Mikrobiyoloji Bülteni 2007, 41: 459-63.
- 116-** Saral Bayraktar Ö, Sucu N, Aktoz Boz G, Erdem M, Köksal İ. 442 *Mycobacterium tuberculosis* suşunda BACTEC yöntemi ile ilaç direncinin araştırılması. Toraks Derg 2007; 8(3): 174-178.
- 117-** Dündar D, Tamer GS. *Mycobacterium tuberculosis* Kompleksi İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları. KLİMİK Dergisi 2009; 22:52-54.
- 118-** Saygan MB, Ocak F, Cesur S, et al. Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* strains collected from regional tuberculosis laboratories to major antituberculosis drugs. Mikrobiyol Bul 2007; 41:403-409.
- 119-** Taylan M, Yılmaz S, Kaya H. ve ark. Diyarbakır ilinin 2005-2010 yılları arasındaki tüberküloz kontrol durumu. Dicle Med J. 2015;42(2):227-234.
- 120-** Ekşi F, Zer F, Karslıgil T, Bayram A, Balcı İ, Çeşitli Klinik Örneklerden Elde

Edilen *Mycobacterium Tuberculosis Kompleksi* Suşlarının Majör Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları Türk Mikrobiyol. Cem. Der. 2009, 939(3-4):89-93.

- 121- Uçar E, Kılıç A, Ceyhan I, et al. Ülkemizin yedi farklı bölgesinden 2003-2006 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının majör antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Mikrobiyol Bul 2010; 44:11-19.
- 122- Zeki M. *Mycobacterium Tuberculosis* suşlarının MGIT 960 sistemiyle primer antitüberküloz ilaçlara direncinin araştırılması, Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi, 2011, Şanlıurfa.
- 123- Tuncer İ, Türk Dağı H., Solgun G., et al. Konya Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'nda 2001-2008 Yılları Arasında Soyutlanan Mikobakteri Suşlarının Birinci Seçenek Anti-tüberküloz İlaçlara Direnci, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2012; 42(1):27-31.
- 124- Sezer O, Çiftçi F, Kutlu A ve ark. Yeni olgu, genç erişkin, tüberkülozlu erkek hastalarda ilaç direnç oranları. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012; 32:139-45.
- 125- Alışkan HE, Bostanoğlu E, Turunç T, Çolakoğlu Ş, et al. Retrospektif olarak tüberküloz laboratuvarlarının altı yıllık sonuçları ve antimikobakteriyel ilaçlara direnç oranları, Türk Toraks Der 2013;14:53-58.
- 126- Çelik C, Dayı F, Kaygusuz R, Bakıcı MZ. Sivas İlinde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis Kompleks* Suşlarının Primer Anti-tüberküloz İlaçlara DirençOranları Türk Mikrobiyol Cem Derg 2011; 41(1):37-41.
- 127- Etiz P, Altınsu AT. Akciğer Tüberkülozu Olan 232 Yeni Olgunun Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2018; 48(2):117-124.
- 128- Bektöre B, Haznedaroğlu T, Baylan O ve ark. Çok ilaca dirençli tüberküloz izolatlarında yaygın ilaç direncinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2013; 47(1):59-

70.

- 129-** Öncel B, Sayın E, Karahasan A. *Mycobacterium tuberculosis Kompleks* Suşlarında duyarlılık oranları. Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:22, Mersin,2019.
- 130-** Biçmen C, Gündüz AT, Demirel M, et al. İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi Tüberküloz Laboratuvarı Sürveyans Verilerinin Değerlendirilmesi (Beş yıllık izlem). Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:25, Mersin,2019.
- 131-** Kurnaz N, Ersoy L, Gültekin EO, et al. Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Mikobakteri Laboratuvarında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis Kompleks* Suşları ve Direnç Oranlarının Değerlendirilmesi (Beş yıllık analiz). Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:30, Mersin,2019.
- 132-** Zorluer E, Yaman A, Kibar F. Adana ve Bölgesinde izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarında primer Anti tüberküloz ilaç direnç oranları. Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:33, Mersin,2019.
- 133-** Orak F, Aral M. Kahramanmaraş ilinde tüberküloz ve çok ilaca direnç: bir durum değerlendirilmesi. Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:35, Mersin,2019.
- 134-** Kurt K, Hoşbul T, Çoker B, Albay A. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarının İki ayrı dönem verilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi. Uluslararası Mikobakteri Sempozyumu Bildiri kitapçığı. s:42, Mersin,2019.

