

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA
VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2013-2018 YILLARI ARASINDA İZOLE
EDİLEN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* KOMPLEKS
İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

İLKNUR MİNDAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. FÜSUN CÖMERT

ZONGULDAK
2019

T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA
VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2013-2018 YILLARI ARASINDA İZOLE
EDİLEN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* KOMPLEKS
İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

İlknur MİNDAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Füsun CÖMERT

ZONGULDAK
2019

KABUL VE ONAY:

“ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİNDE 2013-2018 YILLARI ARASINDA İZOLE EDİLEN MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KOMPLEKS İZOLATLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

04.07.2019

Başkan: Prof. Dr. Füsün CÖMERT

Üye: Prof. Dr. Canan KULAH

Üye: Prof. Dr. Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TARİH: 04.07.2019

Prof. Dr. Veysel Haktan ÖZACMAK
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖZET

İlknur MİNDAŞ, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde 2013-2018 Yılları Arasında İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks İzolatlarının Değerlendirilmesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2019.

Amaç: Bu çalışmada Ocak 2013-Şubat 2018 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısıyla laboratuvara gönderilen hasta örneklerinden elde edilen *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Hasta bilgileri kayıt defterleri ve hastane bilgi işletim sisteminden elde edildi. Örneklerin tümünün mikroskopik değerlendirmesi Erlich-Zielh-Neelsen, kültürleri Löwenstein Jensen ve BACTEC MGIT 960 sistemiyle, dört temel ilaç için duyarlılık testi BACTEC MGIT 960 ve PZR testi TB AMPLICOR (Roche Diagnostics) sistemiyle yapıldı. Veriler SPSS 19.0 programına girilerek tanımlayıcı değerlendirilmeleri yapıldı.

Bulgular: Belirtilen tarihler arasında 7842 hasta örneği (%72.7 akciğer, %15.4 steril vücut sıvısı, %6.1 doku ve %5.7 idrar) incelenmiştir. Örneklerin %2.7'sinde EZN boyama ile pozitiflik belirlenmiştir. Kültür pozitif tespit edilen 380 örneğin 90 (%23.7)'inin kadın hastalara, 290 (%76.3)'ünün erkek hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Kültür pozitifliğinin erkek hastalarda ve 65 yaş üzeri hastalarda istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Akciğer örneklerinde %5.9, steril vücut sıvısı örneklerinde %1, doku örneklerinde %5.1 ve idrar örneklerinde %0.7 kültür pozitifliği belirlenmiştir. Her iki kültür yöntemi ile pozitiflik oranı %4.8 bulunmuş, 2013-2018 yılları arasında pozitif kültür oranlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Kontaminasyon oranları LJ ve MGIT 960 için sırasıyla %1.9 ve %2.4 olarak belirlenmiştir. PZR testi istemi olan 303 örneğin beşi pozitif bulunmuş ve tümünün kültüründe üremesi olmuştur. PZR negatif bulunan 9 örnek kültür pozitif tespit edilerek tüberküloz bildirim yapılmıştır. Streptomisin (STR), etambutol (EMB), izoniazid (INH) ve rifampin (RIF) dirençleri sırasıyla %9.5, %1.5, %15.9 ve %1.1 olarak belirlenmiştir. Sekiz izolat STR+INH, 3 izolat RIF+INH, 1 izolat RIF+STR, 1 izolat STR+EMB, 4 izolat EMB+INH ve 1 izolat INH+RIF+STR'ye dirençli bulunmuştur.

Sonuç: 2013-2018 yılları arasında pozitif kültür oranlarında istatistiksel anlamlı azalma olduğu belirlenmiş, kültür pozitifliği erkek hastalarda ve 65 yaş üzeri hastalarda istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek bulunmuştur. En yüksek direnç oranı izoniazide karşı bulunmuştur. Çok ilaca dirençli (INH+RIF) üç izolat (%0.7) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mycobacterium tuberculosis, Löwenstein Jensen, MGIT 960, ilaç duyarlılık testi



ABSTRACT

İlknur MİNDAŞ, Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates which isolated between year 2013 and 2018 at Zonguldak Bülent Ecevit University Health Application and Research Center, Department of Medical Microbiology, M.Sc. Thesis, Zonguldak, 2019.

Aim: In this study, it was aimed to evaluate the *Mycobacterium tuberculosis* isolates obtained from the patients' specimens sent to the laboratory with the pre-diagnosis of tuberculosis between January 2013 and February 2018.

Method: Patients' information was obtained from registry and hospital information operating system. Microscopic evaluation of all specimens was performed with Erlich-Zielh-Neelsen, specimens were cultured with Löwenstein Jensen and BACTEC MGIT 960 system, tested by BACTEC MGIT 960 for sensitivity to four basic drugs and PCR test was performed with TB AMPLICOR (Roche Diagnostics) system. Data were entered into SPSS 19.0 program and descriptive evaluations were made.

Results: Among the mentioned dates, 7842 patient specimens (72.7% lung, 15.4% sterile body fluid, 6.1% tissue and 5.7% urine) were examined. 2.7% of the specimens were positive with EZN staining. Of the 380 culture positive specimens, 90 (23.7%) were found to be female patients and 290 (76.3%) were male. Culture positivity was found to be statistically significantly higher in male patients and in patients 65 years and older ($p < 0.001$). Tuberculosis positivity was 5.9% in lung specimens, 1% in sterile body fluid specimens, 5.1% in tissue specimens and 0.7% in urine specimens. The rate of positivity was found to be 4.8% by both culture methods, and it was determined that there was a statistically significant decrease in positive culture rates between 2013-2018. Seven patients who were found to be negative with LJ were positive with MGIT 960 culture method. Contamination rates were found to be 1.9% and 2.4% for LJ and MGIT 960, respectively. Five of the 303 specimens with the PCR test request were positive and all of them were grown in culture. Nine specimens with negative PCR were identified positive for culture and tuberculosis was reported. STR, EMB, INH and RIF resistances were determined as 9.5%, 1.5%, 15.9% and 1.1% respectively. 8 isolates were found to be resistant to STR + INH, 3 isolates RIF + INH, 1 isolate RIF + STR, 1 isolate STR + EMB, 4 isolates EMB + INH and 1 isolate INH + RIF + STR.

Conclusion: There was a statistically significant decrease in positive culture rates between 2013-2018. Culture positivity was found to be statistically significantly higher in male patients and in patients 65 years and older. The highest resistance rate was found against isoniazide. Three isolates (0.7%) were found to be multidrug resistant (INH + RIF).

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, Löwenstein Jensen, MGIT 960, drug susceptibility testing



TEŞEKKÜR

Çalışma hayatım ve yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, sabrına ve çalışma aőkına hayran kaldığım sevgili danışman hocam Prof. Dr. Füsün Cömert'e, Anabilim Dalı Baőkanımız Prof. Dr. Canan Külah ve Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Füzulan Köktürk'e, çalışma arkadaşlarıma, maddi manevi tüm desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili annem, babam ve kardeşlerime, sabrı ve desteği için sevgili eőime ve üçüzlerime çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xii
TABLO DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tüberküloz Hastalığı ve Tarihçe.....	3
2.2. Tüberküloz Epidemiyoloji	5
2.2.1. Dünyada tüberküloz epidemiyolojisi	5
2.2.2. Türkiye’de tüberküloz epidemiyolojisi	7
2.3. Mikobakteriler.....	10
2.4. Tüberkülozun Laboratuvar Tanısı.....	12
2.4.1. Mikroskopi	12
2.4.2. Kültür	16
2.4.3. Mikobakteri Tür Ayrımı.....	24
2.4.4. İlaç Duyarlılık Testi	26
2.4.5. Moleküler Tanı ve İlaç Direnci	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Örnek ve Hasta Bilgileri.....	37
3.2. Mikroskopik inceleme.....	37
3.2.1. Yaymaların hazırlanması	37
3.2.2. Yaymaların Boyanması.....	37
3.2.3. Yaymaların değerlendirilmesi.....	38
3.3. Mikobakteri Kültürü.....	39
3.3.1. NALC/ NaOH Çalışma solüsyonu	40
3.3.2. Homojenizasyon, dekontaminasyon ve nötralizasyon	40
3.3.3. Löwenstein jensen besiyerinde kültür	41
3.3.4. BD BACTEC MGIT 960 Sistem Kültürü.....	42

3.4. Mycobacterium tuberculosis Tanımlama.....	42
3.5. Mycobacterium tuberculosis'in Klinik Örnekten Moleküler Yöntemle Tanımlanması.....	43
3.6. İlaç Duyarlılık Testi	43
3.6.1. Pozitif MGIT Tüpünden İnokulum Hazırlanması.....	43
3.6.2. Sonuçların Değerlendirilmesi	44
3.6.3. Kalite kontrol	45
3.7. İstatistiksel Analizler.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Örnek ve Hasta Bilgileri.....	46
4.2. Mikroskopik İnceleme	47
4.3. Mikobakteri kültürü	47
4.4. İlaç Duyarlılık Testi	50
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKLAR	67
8. EKLER.....	78
Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	78
Ek 2. Kurum İzni.....	79
9. ÖZGEÇMİŞ	80

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMK	Amikasin
ARB	Aside dirençli bakteri
BGK	Biyogüvenlik Kabini
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
C	Kontrol
CAP	Kapreomisin
CDC	Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi
ÇİD	Çok İlaça Direnç
DGT	Doğrudan Gözetimli Tedavi
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
EMB	Etambutol
EZN	Erlich Ziehl-Neelsen
HCl	Hidroklorik asit
HIV	Human Immunodeficiency Virus
INH	İzoniazid
İDT	İlaç duyarlılık testi
KAN	Kanamisin
KH ₂ PO ₄	Potasyum Di Hidrojen Fosfat
KOH	Potasyum Hidroksit
LAMP	Loop-mediated isothermal amplification
LJ	Löwenstein Jensen
LPA	Ters hibridizasyon testi
NaOH	Sodyum Hidroksit
Na ₂ HPO ₄	Di Sodyum Hidrojen Fosfat
MAC	Mycobacterium avium kompleks
MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube

MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
ml	Mililitre
MÖ	Milattan Önce
MS	Milattan Sonra
µl	Mikrolitre
µg	Mikrogram
MTB	Mycobacterium tuberculosis
MTBK	Mycobacterium tuberculosis kompleks
NAAT	Nükleik Asit Amplifikasyon Test
NALC	N asetil L sistein
OADC	Oleik asit-albümin-dekstroz-katalaz
PANTA	Polimiksin B, Amfoterisin B, Nalidiksik asit, Trimethoprim, Azlosilin
PAS	Paraaminosalisilik asit
PBS	Fosfat Tamponu
PZA	Pirazinamid
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFB	Rifabutin
RIF	Rifampin
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı
STR	Streptomisin
T	Test
TB	Tüberküloz
TDM	Tüberküloz Dışı Mikobakteri
TULSA	Tüberküloz Laboratuvar Sürveyans Ağı
TTK	Türkiye Taşkömürü Kurumu
UTRL	Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı
ÜK	Üreme kontrol
YİD	Yaygın ilaç direnci

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: 2016-2020 Yılları arasında yüksek TB yüklü ülkelerin TB, ÇİD-TB ve TB/HIV açısından üçlü karşılaştırması ve kesişmeleri (22)	7
Şekil 2: Mikobakterilerin hücre duvar yapısı (29)	11
Şekil 3: A) Karbol fuksin boyama görüntüsü B) Florokrom boyama görüntüsü (1 15	
Şekil 4: Agar besiyerinde <i>M. tuberculosis</i> H37Ra (48)	17
Şekil 5: LJ besiyerinde <i>M. tuberculosis</i> H37Ra (49)	17
Şekil 6: Septi-Chek bifazik kültür şişesi (50)	19
Şekil 7: BACTEC 460 TB cihazı (53)	21
Şekil 8: BACTEC™ MGIT™ 960 cihazı (Becton Dickinson) ve MGIT tüpü (1)....	23
Şekil 9: VersaTREK®system ve VersaTREK® kültür şişesi (1)	24
Şekil 10: BACTEC BD ile MTB ile tanımlanma testi (56)	25
Şekil 11: MPT64 ICA kiti ile MTB tanımlanması (57)	26
Şekil 12: MTB'nin pozitif MGIT kültür tanımlanması	43
Şekil 13: İllere göre toplam TB olgu hızı, 2017 (7)	53

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1: TB hastalarında olgu tanımına göre hastalığın tutulum yerinin dağılımı, 2015.....	8
Tablo 2: Mikobakterilerin runyon sınıflandırması.....	11
Tablo 3: Woods ve Washington Sınıflandırması	12
Tablo 4: Mikobakteri tanımlamasında kullanılan farklı boyama yöntemlerinin özellikleri	15
Tablo 5: Yayma değerlendirilmesi ölçütleri	16
Tablo 6: Tüberkülozun izolasyonunda kullanılan katı (yumurta ve agar temelli) ve sıvı besiyerleri.....	18
Tablo 7: Kültür yöntemlerinin özellikleri	18
Tablo 8: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 'te ilaç direncinin tespiti için moleküler yöntemler (63).....	29
Tablo 9: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 'te ilaç direnci ile ilişkili genler ve mutasyonlar	32
Tablo 10: Yayımların değerlendirme kriterleri	39
Tablo 11: NALC ve NAOH hazırlanması.....	40
Tablo 12: Antimikrobiyal duyarlılık testi için ilaç konsantrasyonlarının hazırlanması	44
Tablo 13: Çalışmaya alınan örneklerin dağılımı.....	46
Tablo 14: Örneklerin yaş gruplarına göre dağılımı.....	47
Tablo 15: Örneklerin ARB pozitifliği yönünden değerlendirilmesi	47
Tablo 16: Değerlendirilen örneklerin kültür sonuçlarının kıyaslanması.....	48
Tablo 17: Yıllara göre kültür pozitifliği n (%).....	48
Tablo 18: Değerlendirilen örneklerin kültür ve yayma pozitifliği.....	49
Tablo 19: Cinsiyete göre kültür pozitifliği.....	49
Tablo 20: Yıllara göre primer antitüberküloz ilaç direnci	50
Tablo 21: Cinsiyetlere göre primer antitüberküloz ilaç direnci	50
Tablo 22: İzolatların primer antitüberküloz ilaçlara direnç durumu	51
Tablo 23: İlimizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları	60
Tablo 24: Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen primer antitüberküloz ilaç direnç oranları (%)	61

1. GİRİŞ

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* (MTB)'in neden olduğu dünya çapında önemli morbidite ve mortaliteye sahip bulaşıcı bir hastalıktır. Dünya nüfusunun üçte biri TB ile enfektedir (1). TB'nin büyük yükü, düşük, orta gelirli ve gelişmekte olan ülkeler arasında bulunmaktadır. Özellikle, sağlığın üç sosyal belirleyicisi, yani düşük eğitim, düşük gelir ve alkol bağımlılığı, düşük gelirli ülkelerde oldukça yaygın sorundur. Düşük eğitim, düşük gelir ve alkol kullanımı TB hastalarında tedavi başarısızlığının ve buna bağlı olarak gelişen ilaç direncinin önemli bir nedenini oluşturmaktadır (2). Toplum sağlığı açısından TB'nin bulaşmasını engellemek için, olguların tedavi edilmesi gereklidir. Tedavi başarısı için en az 6-8 ay gibi uzun bir zamana ihtiyaç vardır. Çok ilaca direnç (ÇİD)'li suşların ortaya çıkması ile hastalık için uygulanabilir tedavi seçenekleri azalmış, böylelikle TB yeniden tedavi edilemez ve ölümcül bir hastalık haline gelmiştir. TB yükünün azaltılması, aktif TB hastalığının uygun laboratuvar yöntemlerinin kullanılmasıyla doğru ve hızlı tanısı ile sağlanabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2014 yılı verilerine göre, 5.2 milyon olgunun sadece % 58'inin mikroskopi veya kültür gibi laboratuvar yöntemleriyle pulmoner TB olarak tanımlandığı bildirilmiş, diğer olgulara klinik kriterler (semptom öyküsü veya göğüs röntgeni) yardımıyla tanı konulduğu belirtilmiş, kaynakların sınırlı olduğu bölgelerde laboratuvar olanaklarının kullanılabilirliğinin artırılması gerektiği vurgulanmıştır (1).

Bakteriyolojik doğrulama, TB tanısında altın standart olarak önem taşımaktadır (3). Bunun için geleneksel olarak mikroskopi ve kültür yöntemleri kullanılmakta ve izole edilen suşlar için ilaç duyarlılık testi yapılmaktadır (4).

Yeni olguların hızlı bir şekilde tespiti, hem TB'nin yayılımının önlenmesi hem de etkili tedavi rejimlerinin hızlı bir şekilde uygulanması için önem taşımaktadır (5). Moleküler testlerdeki gelişmelerle birlikte TB'nin hızlı tanısı ve ilaç direncinin tespitinde geçtiğimiz son yıllarda belirgin değişimler kaydedilmiştir. Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (CDC)'nin 2009 yılında yayınladığı rehberinde TB'den şüphelenilen hastalarda moleküler yöntemlerin tanıda yardımcı olması amacıyla standart olarak uygulanması önerilmektedir. Buna rağmen düşük ve orta

gelişmişlik seviyesindeki ülkeler bu testlerden yeterince yararlanamamakta, 2016 yılında bile, gelişme düzeyi orta ve düşük olan ülkelerde mikroskopi TB tanısında en yaygın kullanılan test olarak bildirilmektedir (6). Ülkemizde coğrafi bölgelere göre dağılım değerlendirildiğinde en yüksek olgu hızları Marmara ve Bartın (Karadeniz) bölgesinde görülmekte, sanayinin, hava kirliliği ve nüfusun yoğun olmasının bu sonuca etkisi olduğu düşünülmektedir (7). Bartın bölgesi ayrıca endüstriyel hammaddeler (kuvars kumu kuvarsit) ve taşkömürü maden ocaklarına sahiptir (8). Taşkömürü üretimi ve kullanımı sırasında kömür tozuna ve dumanına maruziyet solunum yolu hastalıkları için bir risk faktörüdür (9). Zonguldak ilinin taşkömürü havza sınırları 3,885 km²'si karada, 3,000km²'si denizde olmak üzere 6,885 km²'lik bir alanı kapsamaktadır (10). Sağlık Bakanlığı Tüberküloz Daire Başkanlığı verilerine göre 2017 yılında Zonguldak ilinin TB insidansının (19.3) (596,892 nüfusta) Türkiye'nin TB insidansından (14.9) yüksek olduğu belirlenmiştir (11).

Çalışmamızda Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde Ocak 2013 Şubat 2018 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tüberküloz Hastalığı ve Tarihçe

Tarih öncesi çağlardan beri bilinen ve insanlık tarihi kadar eski bir geçmişe sahip olan TB, ayırım yapmaksızın toplumun her kesimini etkileyen bir hastalıktır. Üç yüz milyon yıldan beri varlığını sürdüren TB hastalığının etkeni olan mikroorganizma, sulara, otlaklarda, toprakta, çamurda, havada; kısaca tüm yaşam alanlarında uzun sürelerce canlı bulunabilmektedir. TB hastalığının etkeni olan mikobakteri cinsinin 150 milyon yıl önce Doğu Afrika'da insanların sığırları evcilleştirmesi ve aynı yaşam alanlarını paylaşmasının sonucunda sığırlarda bulunan basilin insanlarda patojenite yapabilmek için mutasyon geçirerek *Mycobacterium humanus*'a dönüşmüş olduğu hipotezi ortaya atılmıştır (12). Bakterinin genom bilgisi açığa çıktıktan sonra, MTB'nin, *M. bovis*'ten mutasyon sonucu gelişen bir bakteri olmadığı ancak her iki bakterinin de ortak bir atadan mutasyonlarla farklılaşmış iki tür olduğu anlaşılmıştır (13). Sığır tipi mikobakteri önceleri insanlarda lenf bezi ve kemik TB'sine yol açarken sonradan akciğerde tahribat yapan ve öksürükle bulaşan bir hastalık yapar özellik kazanmıştır (14).

Doğu Afrika'da 3 milyar yıl önce ilk insansıların MTB ile enfekte olmuş olabileceği düşünülmektedir. Modern MTB'nin ortak atasının ilk defa 15 000-20 000 yıl önce görülmüş olabileceği hipotezi mevcuttur. Mısır mumyalarında (M.Ö. 2400) TB hastalığının neden olduğu tipik iskelet deformitelerine rastlanmıştır. Mumyalar üzerinde karakteristik Pott lezyonları bildirilmiş ve benzer anomaliler erken Mısır sanatında açıkça resmedilmiştir. Buna rağmen Mısır papiruslarında hastalık lezyonları ile ilgili bir kanıtlara rastlanmamıştır. M.Ö. 700 yıllarında ölen Peru'lu bir çocuğun mumyasında yapılan incelemeler sonucunda, etken bakterinin DNA'sı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile gösterilmiştir (15, 16). İlk TB hastalığını tanımlayan yazılı belgeler 3300 ve 2300 yıl önce Hindistan ve Çin'de bulunmuştur (15).

Hipokrat (M.Ö.460-375) TB'yi tanımlamak için '*Phitisie*' (elden ayaktan düşmek) kelimesini kullanmış, hastalığı özellikle genç yetişkinler için ölümcül olarak tanımlamıştır. Hipokrat tarafından hastalık semptomlarının ve karakteristik akciğer lezyonlarını kesin bir şekilde tanımlandığı anlaşılmaktadır (14, 16). M.S. II.

yüzyılda yaşamış olan Eski Roma'nın ünlü hekimi Kapadokyalı Areteus, TB'yi şu şekilde tanımlamıştır:

“Veremin en önemli belirtileri kanlı balgam ve kronik öksürüktür, sesleri kısık, boyunları hafif bükük ve sert; parmakları silindirik fakat eklemleri şiş, vücutları iyice eridiği için kemikleri belirginleşmiştir. Tırnakları eğri, yassılaştı ve kırılıdır. Burun keskin ve silindirik, yanakları belirgin bir şekilde pembeleşmiş, gözler iyice çukura çekilmiş olmasına rağmen parlaklığını kaybetmemiştir. Yüzleri kadavra gülüşü halini almış. Kol ve bacak kasları erimiştir. Kadınların sadece meme başları kalmıştır. Kaburgaların başladığı ve sonlandığı yerler ve eklemler net bir şekilde seçilebilmektedir. Skapulalar kuş kanadı halini almıştır” (17).

TB'nin kavite ve skar dokusuna sebep olduğu Padua Üniversitesinden patoloji bilgini Giovanni Battista Morgagni (1682-1771) tarafından bildirilmiştir. Morgagni, hastalığın bulaşıcı olduğuna inandığı için onlara otopsi yapmaktan kaçınmıştır (18). Bilim adamı, yazar ve çok iyi bir klinisyen olan Laennec, veremin akciğerden başka karaciğer, dalak, böbrek gibi diğer organlarda tüberkül denilen kabarcıklara sebep olduğunu göstermiştir (14, 17).

Fransız hekim Antoine Villemin, 1865 yılında “Tüberkülozun nedeni ve özellikleri ile insandan tavşana bulaştırılması” adındaki makalesi ile tavşanlara tüberkülozlu hastaların balgamını vererek hastalığın bulaşıcı olduğunu ispatlamıştır. Villemin, “Tüberküloz Üzerine İncelemeler” adıyla yayımlanan kitabında, TB'nin bulaşıcı, korunulabilir ve iyileştirilebilen bir hastalık olduğunu belirtmiştir. Hastalıktan korunmak için, barınma ve çalışma, yaşam ve beslenme koşullarının düzeltilmesinin önemi vurgulanmıştır (15).

Robert Koch 1882 yılında TB'den ölen bir hastanın akciğer lezyonlarında etken mikroorganizmayı göstermiş, daha sonra bu mikroorganizmayı kültürde üretmiş ve üretilen basil ile deney hayvanlarında hastalık oluşturmuştur. Robert Koch ürettiği bu basile MTB adını vermiştir. Bakterinin boyanması ilk defa Koch ve ekibi tarafından yapılmıştır. Fakat Koch'un ifadesiyle diğer patojenik mikroorganizmaların gösterilmesinde çok yararlı olan boyama metodları MTB için başarısız olmuştur. Koch, 1875'de Karl Weigert tarafından geliştirilen alkol metilen mavisi boyamanın TB lezyonlarını kolayca boyamadığını gözlemlemiş, bakterinin Weigert'ın mavisi ile

24 saatlik temas sonrasında KOH muamelesiyle boyanabildiğini tespit etmiştir. Koch aynı zamanda 40° C’de ısıtmanın boyama süresini 1 saate indirdiğini gözlemlemiş, bu boyamayı kullanarak diğer tüm yapıların kahverengiye boyanmasına rağmen MTB’yi maviye boyamayı başarmıştır (18).

Calmette ve Guerin, Lille’deki Pasteur Enstitüsünde TB hastalığına karşı uzun yıllar boyunca aşı bulma çalışmaları yapmışlardır. *M. bovis*’i, patates-gliserin-safırlı vasatta üretilen 230 kez pasajladıktan sonra elde edilen basiller kobay, sığır, tavşan ve atlar üzerinde denenmiş, geliştirilen bu aşıya Bacille Calmette-Guerin (BCG) aşısı ismi verilmiştir (15, 19).

Waksman’ın 20 Kasım 1944’de streptomisini (STR) bulması ile tüberkülozda antibiyoterapi dönemine girilmiştir (15,16,19). Daha sonra 1946’da paraaminosalisilik asit (PAS), 1952’de en etkili anti-TB ilaçlardan olan izoniazid (INH) bulunarak; üçlü tedavi (18-24 ay) uygulamasına geçilmiştir. Pirazinamid (PZA), etambutol (EMB), rifampin (RIF) gibi anti-TB ilaçlarının bulunmasıyla da tedavi süresi 18-24 aydan 6 aya inmiştir (16).

2.2. Tüberküloz Epidemiyoloji

2.2.1. Dünyada tüberküloz epidemiyolojisi

MTB, yayma pozitif olguların öksürme, hapşırma ve konuşma gibi solunum hareketleri ile basil yüklü damlacıkların (1-5 mikron), çevre havasına dağılması (havada asılı kalması) ve sağlam kişiler tarafından solunması ile bulaşır (20, 21).

TB, tipik olarak akciğerleri etkilemekle birlikte (pulmoner TB), böbrek, kemik ve beyin gibi diğer organlara (ekstrapulmoner TB) da yayılım gösterebilmektedir. MTB ile enfekte olan tahmini 1.7 milyar insanın nispeten küçük bir kısmında (% 5-10) yaşamları boyunca TB hastalığı gelişmektedir. Bununla birlikte, önemli bir immün süpresyon nedeni olan AIDS hastalığı olan kişiler arasında TB gelişme olasılığı çok daha yüksektir. Ayrıca yetersiz beslenme, diyabet, sigara ve alkol tüketimi gibi faktörler de immün süpresyon oluşturmaları nedeniyle TB gelişimini kolaylaştırmaktadır. Genel olarak TB olgularının yaklaşık % 90’ı yetişkinlerde gözlenmekte, erkeklerde ise kadınlara göre daha fazla (2:1) rastlanmaktadır (22).

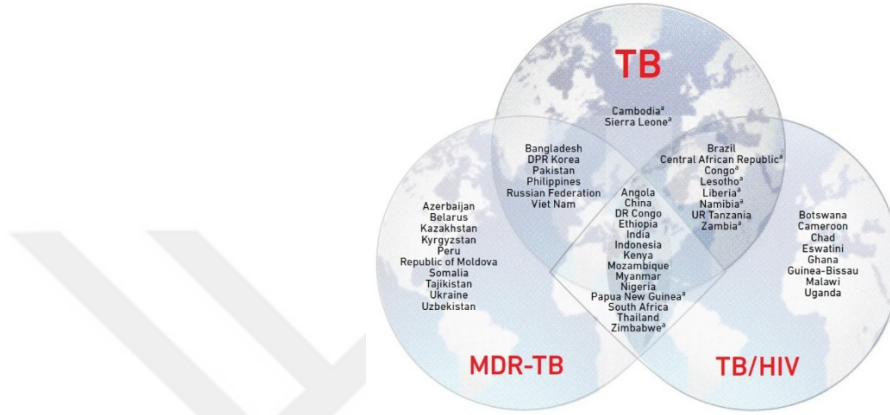
TB'ye bağılı ölümlerin büyük bir çoğunluğu akciğer TB'si, özellikle de yayma pozitif olgulardır. Hastalığın seyrini belirleyen en önemli faktör tedavinin yeterli ve düzenli yapılmasıdır. Düzenli tedavi gören olgularda kür oranları ve ölüm riski başlıca hastaların yaşı ve hastalardaki HIV/AIDS prevalansına bağılı olarak değişmektedir (22).

DSÖ her yıl yayımladığı Küresel TB Raporları ile hastalığa ait verileri dünya, bölgeler ve ülkeler bazında ortaya koymaktadır. TB'ye ait veriler birçok ülkede kayıt altına alınmaya çalışılsa da bu veriler çeşitli nedenlerle ülkeden ülkeye derecesi değişmek üzere eksik bilgiler içerebilmektedir. DSÖ'nün yayımladığı veriler bilimsel bulgulara dayanan tahmini rakamlardır. DSÖ'nün Küresel TB Kontrolü 2018 yılı raporunda global olarak, en iyi yaklaşımla 5.8 milyon erkek, 3.2 milyon kadın, 1.0 milyon çocuk olmak üzere 10 milyon insanda (9.0-11.0 milyon aralığında) 2017 yılı içinde TB hastalığı geliştiği bildirilmiştir. Olgular tüm ülkelerde ve tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte, %90'ının yetişkin (15 yaş ve üstü), %9'unun HIV ile enfekte (%72'si Afrika'da) ve üçte ikisinin 8 ülkede [Hindistan (%27), Çin (%9), Endonezya (%8), Filipinler (%6), Pakistan (%5), Nijerya (%4), Bangladeş (%4) ve Güney Afrika (%3)] kümeleşme gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 1). Bu ülkeler ve yüksek TB barındıran 30 ülke içindeki 22 diğer ülke dünya vakalarının %87'sine sahiptir. Global vakaların sadece %6'sı Avrupa (%3) ve Amerika Bölgesindedir (%3). Ülkeler arasında hastalık sıklığı geniş bir dağılım göstermektedir. 2017'de en yüksek gelire sahip ülkelerde 100 000 nüfusta 10'dan daha az, yüksek TB yükü olan 30 ülkenin çoğunda 150-400, Mozambik, Filipinler ve Güney Afrika'yı kapsayan birkaç ülkede 500'ün üzerinde yeni vaka görülmüştür (22).

İlaça dirençli TB büyük bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmiştir. Primer antitüberküloz ilaçlardan RIF ve INH'ye dirençli basillerin neden olduğu TB olguları, ÇİD-TB olarak tanımlanmaktadır. Yaygın ilaç dirençli tüberküloz (YİD-TB) ise INH ve RIF direncine ek olarak bir kinolona ve bir de ikinci grup enjeksiyonla verilen ilaca (kanamisin, kapreomisin, amikasin) direnç olmasıdır (23).

2017'de dünya çapında en iyi yaklaşımla RIF'e dirençli 558,000 TB hastası olmuş (483,000-639,000) ve bunların %82'sinin ÇİD-TB olduğu belirlenmiştir. Hindistan (%24), Çin (%13) ve Rusya Federasyonu (%10) dünyadaki ÇİD/RIFD-TB

vakalarının neredeyse yarısına sahiptir. Global olarak yeni TB vakalarının %3.5 ve önceden tedavi görmüş vakaların %18'i ÇİD/RIFD-TB sahiptir. En yüksek oranlar (önceden tedavi almış vakaların %50'den fazlası) eski Sovyetler Birliği ülkelerindedir. 2017'de ÇİD-TB vakaları içinde %8.5'nin ileri ilaç dirençli olduğu öngörülmüştür. Dünya nüfusunun %23'ünün yani 1.7 milyar civarında insanın gizli TB hastalığına sahip olduğu öngörülmektedir (Şekil 1) (22).



Şekil 1: 2016-2020 Yılları arasında yüksek TB yüklü ülkelerin TB, ÇİD-TB ve TB/HIV açısından üçlü karşılaştırması ve kesişmeleri (22).

2017'de TB hastalarında ölüm oranı %16 olarak belirlenmiştir. Bu oranın 2000 yılındaki %23'e göre azalmış olması sevindiricidir. Veriler dünya genelindeki TB insidansının yıllık yaklaşık %2 düşmekte olduğunu göstermektedir ve 2013-2017 yılları arasında hastalık insidansında bölgesel en hızlı düşüş Avrupa Bölgesinde (yılda %5) ve Afrika Bölgesinde (yılda %4) olmuştur. Dünya genelinde HIV negatif hastalar arasında TB ölümlerinin sayısı 2000 yılından bugüne, en iyi yaklaşımla %29 düşmüş ve 2000 yılında 1.8 milyondan 2017 yılında 1.3 milyona inmiştir. Bu da son TB stratejisinin başlangıç yılı olan 2015'den beri %5'e tekabül etmektedir. HIV pozitif hastalar arasında TB'den ölüm sayısı 2000'den beri %44 oranında azalarak, 2000 yılında 534 000'den 2017 yılında 300 000'e düşmüştür (22).

2.2.2. Türkiye'de tüberküloz epidemiyolojisi

Ülke genelindeki tüm sağlık çalışanlarımız ve TB'ye karşı mücadele eden gönüllü kuruluşlarımızın işbirliği ve katkıları ile ulusal TB kontrol çalışmaları yürütülmektedir. Gün geçtikçe sayısı artan Suriyeli misafirlerle beraber ülkemizde yabancı hasta yükü artmasına rağmen TB ile ilgili tanı ve tedavi çabaları

yürütülmeye devam edilmektedir. 2005 yılından itibaren Türkiye genelinde verem savaş dispanserlerine kayıt edilen tüm TB hastalarının verileri bireysel olarak toplanmaktadır. 2015 yılı hasta verileri ile 2014 yılı TB hastalarının tedavi sonuçları T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Tüberküloz Dairesi Başkanlığı tarafından toplanarak DSÖ'ye iletilmiş, DSÖ tarafından analiz edilen veriler Küresel Tüberküloz 2016 Raporu'na yansıtılmıştır. Buna göre toplam 12,772 TB hastası 2015 yılında verem savaş dispanserleri kayıtlarına girmiştir. Toplam olgu hızı yüz binde 17.2'den yüz binde 16.2'ye (-%5.8) düşüş göstermiştir. Hastaların 7,210'u (%56.5) erkek, 5,562'si (%43.5) kadın, erkek/kadın oranının 1.3 olduğu gözlenmiştir. Olgu hızı erkeklerde yüz binde 18.2 ve kadınlarda yüz binde 14.2'dir. Olgu hızının yaş gruplarına dağılımı incelendiğinde, 15-24 yaş grubundan başlayarak yükseldiği, 65 ve üzeri yaşlarda en yüksek düzeye (yüz binde 32.7) ulaştığı görülmektedir. Toplam 12,772 hastada yeni olguların oranı %92.4 (11,803) iken önceden tedavi görmüş olguların oranı %7.6 (969)'dır. Önceden tedavi görmüş olguların toplam hasta içindeki oranları; %5.8 (747) nüks, %1.2 (156) tedaviyi terkten dönen, %0.5 (64) tedavi başarısızlığından gelen ve %0.02 (2) kronik olgudur (11) (Tablo 1).

Tablo 1: TB hastalarında olgu tanımına göre hastalığın tutulum yerinin dağılımı, 2015 (11).

OLGU TANIMI	HASTALIĞIN YERİ						TOPLAM	
	Akciğer		Akciğer Dışı		Akciğer+Akciğer Dışı			
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yeni	6,842	58.0	4,376	37.1	585	5.0	11,803	92.4
Önceden Tedavi Görmüş	756	78.0	172	17.8	41	4.2	969	7.6
Nüks	565	75.6	151	20.2	31	4.1	747	5.8
Tedaviyi Terkten Dönen	132	84.6	18	11.5	6	3.8	156	1.2
Başarısızlıktan gelen	57	89.1	3	4.7	4	6.3	64	0.5
Kronik	2	100.0	-	-	-	-	2	0.02
TOPLAM	7,598	59.5	4,548	35.6	626	4.9	12,772	100.0

Hastaların %59.5'i (7,598) akciğer tutulumu, %35.6'sı (4,548) akciğer dışı organ tutulumu, %4.9'u (626) hem akciğer hem de akciğer dışı tutulum göstermiştir. Akciğer dışı TB tespit edilen toplam 5,174 hastanın (4,548+626) %40.9'u (2,116) erkek, %59.1'i (3,058) kadındır. Akciğer dışı organ TB'si olgularında en sık ekstratorasik lenf bezleri (%30.2) ve plevra (%24.8) tutulumu olduğu tespit edilmiştir (11).

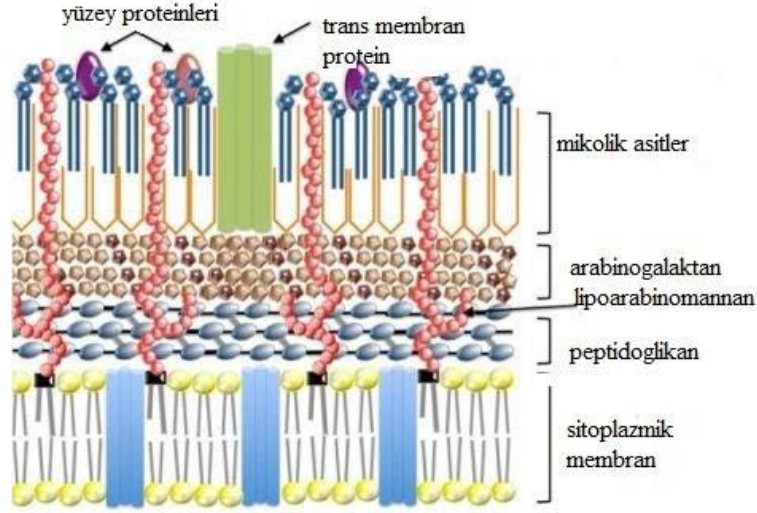
2015 yılında akciğer TB'si olan 8,224 hastada yapılan bakteriyolojik tetkikler incelendiğinde; mikroskopi yapılma oranı %89.2 (7336), mikroskopi yapılanlar içinde mikroskopi pozitiflik oranı %64.0 (4695); kültür yapılma oranı %80.6 (6631), kültür yapılanlar içinde kültür pozitiflik oranı %84.2 (5582); kültür pozitif olgularda ilaç duyarlılık testi (İDT) yapılma oranı ise %94.4 (5267) bulunmuştur. İDT yapılan toplam 5648 hastanın (5267 akciğer+381 akciğer dışı) sonuçları incelendiğinde; %21.3'ünde (1205/5648) en az bir ilaca direnç saptanmıştır. En yüksek oranda direncin %13.7 ile INH'ye karşı geliştiği (774/5648) görülmüştür. INH ve RIF için (her ikisine) İDT yapılan 5629 olgunun 230'unun (%4.1) ÇİD-TB olduğu tespit edilmiştir. İDT yapılanlarda ÇİD-TB oranı yeni olgularda %2.5 (127) iken, önceden tedavi görmüş olgularda %17.8 (103) olarak saptanmıştır. ÇİD-TB olgularından 3'ü YİD-TB (1 yeni olgu, 2 başarısızlıktan gelen olgu)'dir . Toplam 12,772 TB olgusundan 61'inin HIV (+) olduğu tespit edilmiştir (11). Verem savaşı dispanserlerinde 2015 yılında kayıt altına alınan yabancı ülke doğumlu hastaların sayısının 872 ve bunların %56.1'inin (489) Suriye doğumlu olup, yabancı ülke doğumlu hastaların %83.6'sının (729) Asya, %9.4'ünün (82) Avrupa, %6.7'sinin (58) Afrika ve %0.3'ünün (3) Amerika kıtası ülkelerinden olduğu anlaşılmaktadır (11)

Toplam TB olgularında tedavi başarısı %85.3 (11,368/13,336); yeni olgularda %87 (10,633/12,215), önceden tedavi görmüş olgularda %65.6 (735/1,121) olarak tespit edilmiştir. Ölüm oranı; tüm olgularda %5.2 (696), yeni olgularda %5.2 (629) ve önceden tedavi görmüş olgularda %6 (67) olarak saptanmıştır. Kadın hastalarda tedavi başarısı %87.7 ve tedavi terki %2.5 iken, aynı oranlar erkeklerde sırasıyla %83.5 ve %4.6'dır. Kadın hastaların tedavi sonuçlarının daha iyi olduğu görülmektedir (11).

2.3. Mikobakteriler

Mikobakteriler spor oluşturmeyan, hareketsiz, kapsülsüz, aerop, 0.2-0.6 µm eninde ve 1-10 µm uzunluğunda düz ya da hafif kıvrık görünümlü (24, 25), zengin lipid içerikli hücre duvarlarına sahip basillerdir (26, 27). Mikroskopik görünümleri taze kültürden alınıp boyanmış yaymalarda tek tek ya da ikili-üçlü gruplar şeklinde, eski kültürden hazırlanmış yaymalarda dallanmış, filamentöz ya da kokoidaldır (24, 28). Aside dirençlilik, yapısındaki mikolik asitler (70-90 karbonlu) ve DNA'larında yüksek oranda guanin+sitozin (G+C)'e sahip olmaları mikobakterilerin sınıflandırılmasında önemlidir. Mikobakteriler aside dirençli (asidorezistan) bakterilerdir (24, 25). Diğer boyama yöntemleri ile kolay boyanmazlar. Boyanmaları için fenollü ve yoğun boya eriyiklerinin uzun süre sıcaklık etkisi ile uygulanması gerekir. Aside dirençli bakteriler, hücre duvarlarındaki zengin lipid içeriğinden dolayı bir kez boyandıktan sonra asit alkol ile yapılan dekolorizasyonla boyalarını bırakmazlar (25).

Mikobakterilerin hücre duvarı peptidoglikan, arabinogalaktan (arabinoz ve galaktaz) ve mikolik asit gibi üç temel tabakadan oluşan ve lipitten zengin karmaşık bir yapıdır (Şekil 2). Peptidoglikan tabaka hücrenin şeklinden sorumludur. Arabinogalaktanlara bağlanan mikolik asitler ise bakterinin hücre duvarının kalınlığı ve aside dirençli olmasından ve trehaloz denilen şekerlere bağlanarak kord faktör oluşumundan sorumludur. En dış tabaka olan mikoizidler içerdiği lipid (%60) oldukça fazladır. Mikobakterilerin çoğu 37 °C de ve %5-10 CO₂'li ortamda üremektedir. (*M.ulcerans*, *M. marinum*, *M. haemophilum*: 30-32 °C, *M. xenopi*: 42°C) (25). Mikobakterilerin hücre duvar yapısı şekil 2'de gösterilmiştir (29).



Şekil 2: Mikobakterilerin hücre duvar yapısı (29)

Günümüzde 150'den fazla mikobakteri türü tanımlanmıştır. Bu bakterilerin büyük bir çoğunluğu yaşadığımız doğada (su, hayvan, toprak) serbest halde bulunan ve insanları hasta etmeyen türlerdir. Ancak immün sistemi zayıflayan insanlarda enfeksiyon oluşturabilecek kadar da güçlüdürler. Bu bakteriler *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) dışında kaldıkları için, tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) ya da atipik mikobakteriler olarak anılmaktadırlar. İnsanlarda en çok enfeksiyon yapan kompleks ya da türler; *M. tuberculosis*, *M. avium* kompleks, *M. leprae*, *M. kansasii*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* ve *M. abscessus*'dur (24, 25). Ernest Runyon TDM'yi katı besiyerinde üreme ve pigment oluşturma özelliklerini dikkate alarak sınıflandırmıştır (Tablo 2) (30, 31). Woods ve Washington (1987), Runyon sınıflandırmasının yetersiz olduğunu fark ederek klinikle uyumlu bir sınıflandırma önerisini ortaya koymuştur (Tablo 3) (32, 33).

Tablo 2: Mikobakterilerin runyon sınıflandırması

MİKOBAKTERİLER			
Büyüme hızına göre			
Hızlı üreyenler	Yavaş üreyenler		
<i>M.fortuitum</i> <i>M.chelonae</i> <i>M.abcessus</i>	Pigment özelliğine göre		
	Fotokromojenler (Işıқта pigmentli)	Skotokromojenler Işıқта ve karanlıkta pigment	Non-fotokromojenler Karanlıkta az pigment
	<i>M.marinum</i> <i>M.kansasii</i> <i>M.simiae</i>	<i>M.xenopi</i> <i>M.gordoniae</i> <i>M.scrofulaceum</i>	<i>M.avium</i> kompleks <i>M.haemophilum</i> <i>M.molmoense</i>

Tablo 3: Woods ve Washington Sınıflandırması (32, 33)

Klinik Önemi Olan Mikobakteriler	İnsanda Potansiyel Patojen Mikobakteriler	İnsanda Nadiren Hastalık Yapan Saprotik Türler
<i>M. tuberculosis</i> kompleks <i>M. tuberculosis</i> <i>M. bovis</i> (<i>M. bovis</i> BCG) <i>M. africanum</i> <i>M. microti</i> <i>M. canetti</i>	<i>M. avium-intracellulare</i> kompleks <i>M. kansasii</i> <i>M. fortuitum-chelonae</i> kompleks <i>M. scrofloceum</i> <i>M. xenopi</i> <i>M. szulgai</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. simiae</i> <i>M. genavense</i> <i>M. marinum</i> <i>M. ulcerans</i> <i>M. haemophilum</i> <i>M. celatum</i>	A-Yavaş Üreyenler <i>M. gordonae</i> <i>M. asiaticum</i> <i>M. terrae-triviale komp.</i> <i>M. shimoidei</i> <i>M. gastri</i> <i>M. nonchromogenicum</i> <i>M. paratuberculosis</i> B-Orta Hızda Üreyenler <i>M. flavescens</i> C-Hızlı Üreyenler <i>M. thermoresistibile</i> <i>M. smegmatis</i> <i>M. vaccae</i> <i>M. phlei</i> <i>M. parafortuitum</i> kompleks

MTB, insanlardaki mikobakteriyel hastalıkların en yaygın sebebidir ve klinik önemi olan mikobakterilerden MTBK (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M.microti*, *M.conetti*)'nın bir üyesidir. Uzunluğu 1-4 µm eni 0.3-0.6 µm, ince ve bazen hafifçe kıvrık, hareketsiz, spor oluşturmeyen, kapsül içermeyen, aside dirençli çomaklardır. Hasta örneklerinden hazırlanıp boyanmış yaymalardaki mikroskopik görüntüleri tek tek ya da ikili ve üçlü gruplar şeklindedir (25, 34). Löwenstein Jensen (LJ) veya Middlebrook besiyerinde 37 °C'de 14-28 günlük inkübasyon sonucunda kolonilerin oluşması ayırt edici bir özelliğidir. %5-10 CO₂ içeren etüvde 37°C'de ve pH 7'de iyi ürer. Middlebrook 7H10 veya 7H11 agarda 5-10 günlük inkübasyondan sonra mikrokoloniler görünmeye başlar ve sarmal hale gelerek kord oluştururlar. Koloni görüntüsü R tipidir. Zorunlu aerop olduğu için oksijen konsantrasyonunun yüksek olduğu dokulara yerleşmeyi sever(33). Olumsuz koşullarda bile dayanıklı (+4° C'de haftalarca, -70 °C'de yıllarca) olup canlı kalabilir (25, 35).

2.4. Tüberkülozun Laboratuvar Tanısı

2.4.1. Mikroskopisi

Tanı ve tedavi amacıyla yapılan mikroskopik inceleme hızlı, basit ve laboratuvar teşhisinin temel taşı oluşturulan bir yöntemdir (36). Mikobakteri cinsi, hücre duvarında yüksek miktarda lipid (mikolik asit) içermesi nedeniyle zor

boyanan, bu nedenle geleneksel bakteri boyası olan Gram boyası ile çok zayıf ya da hiç boyanamayan bir bakteridir. Klinik örneklerde aside dirençliliği tanımlamak için en yaygın kullanılanlar karbol fuksin (Ziehl-Neelsen ve Kinyoun) ve florokrom (auromine O ya da auromine-rhodamine) boyamalardır (Şekil 3 A-B) (Tablo 4). Florokrom boyamalar, karbol fuksin boyamalara göre daha küçük objektif ile değerlendirilmesine bağlı olarak hız ve duyarlılık artışı sağlamaları nedeniyle klinik örneklerin incelenmesi için önerilmektedir. Asido-resistan boyama halen mikobakteri tanımlamasında en hızlı yöntemdir. Klinik örnekte mikobakteri bulunduğunu gösterir, tedavi altındaki hastanın izlenmesini de sağlar. Ancak duyarlılığının ve özgülüğünün düşük olması nedeniyle kültürün yerini alması mümkün değildir (36, 37). Aside dirençli bakteri (ARB) pozitifliği aktif akciğer TB'si için bulaştırıcılık endeksi olarak kullanılır. Bununla birlikte, ARB negatif kültür pozitif hastalardan da bulaşma riski mevcuttur. Düşük kaliteli bir ARB performansı, izolasyon ve temas izleme önlemlerini olumsuz etkileyebilmektedir (36).

Mikroskopinin özgülüğü yüksek olmasına rağmen, duyarlılığı örneğin türü ve kalitesine, içerdiği bakteri miktarına, uygulanan homojenizasyon-dekontaminasyon tekniğine, yaymanın kalınlığına, uygulanan boyama tipine, incelemeyi yapan kişinin tecrübesine göre değişmektedir (23, 37). Yapılan farklı çalışmalarda mikroskopik inceleme duyarlılığının %20-%85 arasında değişebildiği gözlenmektedir (38, 39). Yayma yapılan örneğin 1 ml'sinde 5000-10000 basil olması ARB pozitifliği için yeterlidir. Direkt ya da işlenmiş (dekontaminasyon-hojenizasyon-santrifüjleme yapılmış) örnekten, biri yedek olmak üzere iki adet yayma hazırlanmalıdır. İşlem görmüş örnekten pastör pipeti yardımı ile 1-2 damla alınarak, lamın ortasına (1×2 cm) dairesel hareketlerle yayılmalıdır. İşlem görmemiş örneğin mukoid ve pürülan kısımlarından lamın ortasına (1×2 cm) dairesel hareketler yapılarak preparat hazırlanır. Yaymalar Biyogüvenlik Kabini (BGK) içinde havada ya da elektrikli preparat kurutucusunda 65-75°C'de en az 2 saat bekletilerek kurutulur. Preparatlar boyama öncesinde alevden geçirme (3-4 kez) yoluyla lama tespit edilir. Her çalışmada yapılan boyamanın kontrolü için bir pozitif (MTB H37Ra ATCC 25177) ve bir negatif (*Escherichia coli*) yayma örneği hazırlanmalı, ilk önce kontrol preparatlarının incelenmesi yapılmalıdır (23).

Otuz yedi ayrı çalışmanın toplam verilerini analiz eden kapsamlı bir literatür taramasında yayma pozitif olguların ilk iki balgam örneğinde pozitifliğinin %95'ten büyük olduğu tespit edilmiştir (40). Yayma pozitif olguların ortalama %85.8'inde birinci, olguların %11.9'unda ikinci yayma ile pozitiflik bulunmuştur. İlk iki balgam örneği negatifken, üçüncü bir numunenin test edilmesi sadece %3.1 oranında ek saptama sağlamıştır. Bu verilere dayanarak DSÖ, TB olgularının taranması için incelenecek örneklerin sayısının, iş yükünün çok yüksek olduğu ve insan kaynaklarının kısıtlı olduğu, iyi işleyen bir dış kalite güvence sisteminin bulunduğu yerlerde üçten, ikiye düşürülebileceğini bildirmiştir (41).

Floresans boyama, temel olarak Erlich Ziehl-Neelsen (EZN) boyama ile aynı yaklaşımı kullanır, ancak temel boya olan karbol fuksin, bir floresans boya ile değiştirilir. Floresans yönteminin avantajı, slaytların düşük büyütmede incelenebilmesidir. Böylece zaman birimi başına çok daha büyük bir alanın incelenmesine olanak sağlamaktadır. Floresans mikroskopide, ışık mikroskobu ile 10 dakika boyunca incelenmesi gereken aynı alan iki dakika içinde incelenebilmektedir (42).

Yaymanın EZN boyasıyla mikrobiyal muayenesi MTB'nin tespiti için en hızlı yöntem olmasına rağmen hassasiyeti düşüktür. Yaymada bakterinin görülebilmesi için balgamda ml başına en az 10,000 bakteri bulunması gerekmektedir. Auramin boyama metodu, EZN boyamaya göre daha yüksek hassasiyete sahip olmakla birlikte yanlış pozitiflik ihtimali mevcuttur. Mikroskopik inceleme için EZN ve auramine florokrom yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada, birinci grupta (n=150) auramin florokrom boyasında tüm örnekler pozitif bulunurken, EZN metodu ile sadece 134'ü pozitif bulunmuş ve 136 örnekte kültür pozitifliği saptanmıştır. İkinci grupta ise (n=100) tüm örnekler her iki boyama ile negatif bulunmuş 14'ünde kültürde pozitiflik gözlenmiştir (43).

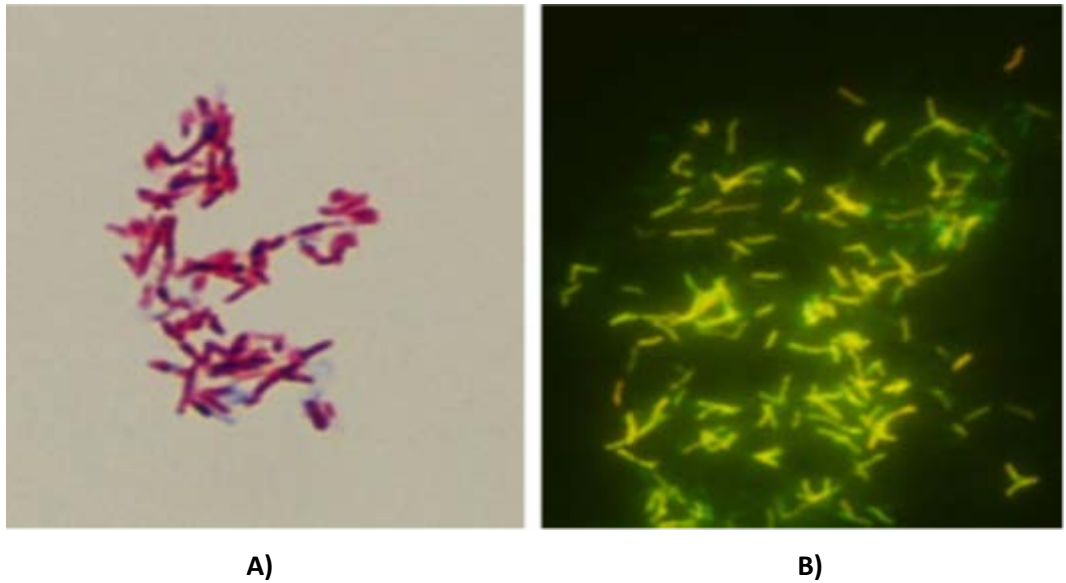
Tablo 4: Mikobakteri tanımlamasında kullanılan farklı boyama yöntemlerinin özellikleri(23)

	Karbolfuksin boyama		Florokrom boyama	
	EZN	Kinyoun	Auramin O/Auramin-Rhodamin	
Boyama	Bazik fuksin Konsantrasyonu	%3	%3.3	Yok
	Fenol Konsantrasyonu	%4.5	%6.7	%3
	Isıtma	Var	Yok	Yok
	Renksizleştirme	%3 asit alkol (Etanol+HCl)		%0.5 asit alkol (Etanol+HCl)
	Zemin Boyama	Metilen Mavisi		Potasyum Permanganat
	Büyütme	Işık Mikroskopunda x1000*		Floresan mikroskopunda x250-x400
Mikroskopi	Görünüm	Mavi zeminde kırmızı/pembe basil	Karanlık zeminde sarı/turuncu basil	
	Göreceli duyarlılık	Orta	Düşük	Yüksek
	Göreceli özgüllük	Yüksek	Orta	Düşük**

* $\times 1000$ büyüme = $100\times$ objektif (yağlı) $\times 10\times$ oküler

** Yalancı pozitiflik olasılığı nedeniyle EZN yöntemiyle doğrulanmalıdır.

Karbolfuksin ve florokrom boyama yöntemleriyle boyanmış bir preparata negatif diyebilmek için; ışık mikroskobu ile en az 300 alan, floresan mikroskop ile $\times 250$ büyütmeye en az 30, $\times 400$ büyütmeye en az 70 alan incelenmelidir (Tablo 5). Florokrom boyama ile pozitifliği tespit edilmiş yaymaların sonucu, karbolfuksin boyama yöntemi ile de doğrulanmalıdır (44).



Şekil 3: A) Karbolfuksin boyama görüntüsü B) Florokrom boyama görüntüsü (1)

Tablo 5: Yayma değerlendirilmesi ölçütleri (23)

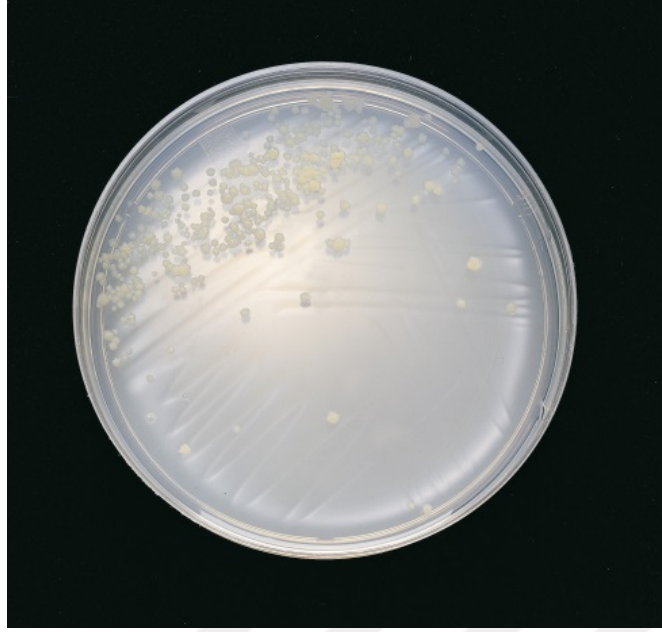
	Görülen ARB sayısı		
	Karbol fuksin boyama	Florokrom boyama	
	×1000	×250	×400
Negatif	0	0	0
Şüpheli, tekrar	1-2/300 alan	1-2/30 alan	1-2/70 alan
1+	1-9/100 alan	1-9/10 alan	2-18/50 alan
2+	1-9/10 alan	1-9/1 alan	4-36/10 alan
3+	1-9/1 alan	10-90/1 alan	4-36/1 alan
4+	>9/1 alan	>90/1 alan	>36/1 alan

Yayma inceleme sonuçlarının 24 saat içinde ilgili klinisyene bildirilmesi gerekmektedir (23). Yayma sonucu derecesine göre ARB pozitifliği olarak bildirilmelidir (1).

2.4.2. Kültür

Bakteriyolojik olarak TB tanısını koyabilmek için, MTB'nin kültürde üretimi altın standarttır. Hasta örneğinin kültürde üremesi için, 1 ml'sinde sadece 10 adet canlı basilin olması yeterlidir (23). Kültür, mikroskopik incelemeden daha yüksek duyarlılığa sahip olmasının yanı sıra, türlerin tanımlanmasını, ilaç duyarlılığının araştırılmasını, tedavinin izlenmesini ve negatif kültürlerle dayanarak hastanın geri kazanılmasını da sağlamaktadır. Mikobakterilerin klinik örneklerden izolasyonunun iyileştirilmesi için katı bir kültür ortamının sıvı bir ortam ile birlikte kullanılması önerilmiştir (45). Bölünme süresi 18-24 saate kadar uzayabilmesi nedeniyle MTB'nin üremesi oldukça yavaştır. Mikobakterilerin üremeleri için gliserol ve asparajin içeren yumurta ve agar bazlı katı besiyerlerine, serum ve sığır albümini ile zenginleştirilmiş sıvı besiyerlerine ihtiyacı bulunmaktadır (Şekil 4-5) (24, 35).

MTB'nin koloni morfolojisini gözlemleyebilmek için bir katı besiyerine (LJ, Ogawa, Middlebrook 7H10, Middlebrook 7H11) ve duyarlılığı arttırabilmek için bir sıvı besiyerine (Middlebrook 7H9, Bact/Alert 3D, MGIT 960, vb) ekim yapılması önerilmektedir (Tablo 6) (46, 47). Kültür işlemlerinin tümünün, temiz alandan kirli alana doğru tek yönlü hava akımına ve saatte 6-12 kez temiz hava değişimi sağlayan mekanik havalandırma sistemine sahip odada ve biyolojik güvenlik düzeyi sınıf 2 olan BGK içinde yapılması gerekmektedir. (23).



Şekil 4: Agar besiyerinde *M. tuberculosis* H37Ra (48)



Şekil 5: LJ besiyerinde *M. tuberculosis* H37Ra (49)

Katı besiyerinin avantajı (tüpte veya plakta) karışık kültürlerin ve kontaminantların tespitine olanak sağlamasıdır. Yumurta bazlı katı besiyerinin başlıca avantajı, birçok mikobakterinin üremesini ve niyasin testine olanak sağlamasıdır. Fakat besiyerinde kontaminasyon daha kolay gerçekleşmektedir. Yumurta bazlı besiyerleri (LJ, Petragani, ATS) içeriğinde bulunan malaşit yeşilinin kontaminant bakterilerin üremesini engelleyici özelliği mevcuttur. Agar bazlı besiyerinin başlıca avantajları, daha az kontaminasyon, daha erken ve daha kolay görülebilir koloni morfolojisidir. Koloni morfolojisi mikobakterilerin tanımlanmasına yardımcıdır. İzolasyon için seçici ve seçici olmayan besiyerlerinin her ikisinin de kullanılması gerekmektedir. Seçici besiyeri kontaminant bakteri veya

mantarların üremesini engellemek için bir veya birden çok antimikrobiyal ajan içermektedir (47). Katı veya sıvı besiyerlerindeki inkübasyon süreleri 6-8 hafta arasındadır. Ancak yayma sonucu pozitif olan ve kültürü negatif çıkan örnekler için bu sürenin uzatılması (4 hafta kadar) yararlıdır. Katı besiyerlerinin, kontaminasyon ve üreme takibi açısından ilk hafta iki kez, sonra 8. haftaya kadar en az haftada bir kez üreme açısından kontrol edilmesi gerekmektedir (23). Mikobakterilerin izolasyonu için kullanılan besiyerlerinin avantaj ve dezavantajları Tablo 7’de gösterilmiştir (23).

Tablo 6: Tüberkülozun izolasyonunda kullanılan katı (yumurta ve agar temelli) ve sıvı besiyerleri (23)

Kültür besiyerleri			
Katı		Sıvı	
Yumurta Bazlı	Agar Bazlı	Manuel	Otomatize
Löwenstein Jensen	Middlebrook 7H10	Middlebrook 7H9	Bact/Alert 3D
Ogawa	Middlebrook 7H11	MGIT Manuel	MGIT 960
Petragnani			VersaTREK
American Thoracic Society (ATS)			

Tablo 7: Kültür yöntemlerinin özellikleri (23)

	Yumurta temelli	Agar temelli	Sıvı
Hazırlık	Zahmetli	Kolay	Kolay
Raf ömrü	6 ay	4 hafta	Sisteme göre değişir
Besiyeri görünümü	Opak	Şeffaf	Şeffaf
Koloni morfolojisi	Ayırt edilebilir	Ayırt edilebilir	Ayırt edilemez
Ortalama üreme süresi	21-42 gün	18-28 gün	7-14 gün
Sonuçlandırma süresi	8 hafta	6 hafta	6 hafta
İzolasyon şansı	Yüksek	Yüksek	Çok yüksek
Maliyet	Düşük	Orta	Orta-Yüksek

Klinik örneklerde mikobakterileri tespit etme süresini azaltmak için çeşitli manuel ve otomatik sistemler geliştirilmiştir. Manuel yaklaşımın örnekleri, iki fazlı Septi-Chek AFB (Becton Dickinson, Sparks, MD) ve MB-Redox (Biotest AG, Dreieich, Almanya) sistemlerini içermektedir. Otomasyon ve bakteri üreme tespit yöntemlerinde kaydedilen ilerlemeler, radyometrik BACTEC 460TB (Becton

Dickinson), florometrik BACTEC MB9000 ve BACTEC MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 960 sistemlerinin (Becton Dickinson), karbondioksit algılayan MB / BacT ALERT 3D Sistemi (Organon Teknika, Durham, NC) ve basınç algılayıcı ESP Kültür Sistemi II (Trek Diagnostic Systems, Westlake, OH)'nin geliştirilmesini sağlamıştır (46).

2.4.2.1 Bifazik kültür sistemi

Septi-Chek AFB Sistem (BD BBL, Becton Dickinson Microbiology Systems); kendi kendine yeten bir CO₂ (%20) ortamı olan bir bifazik besiyeridir (Şekil 6). Bu besiyeri 20 ml Middlebrook 7H9 brot içeren kapaklı şişe ile her iki yüzeyinde gömülü katı kültür besiyeri (bir yüzde Middlebrook 7H11, diğer yüzde; yarısı modifiye LJ ve diğer yarısı çukulata agar) bulunan plastik bir tüpten oluşmaktadır. Plastik tüp çıkarılabilir vidalı kapak ile şişenin bir ucuna tutturulmuştur. Bu besiyeri geleneksel agar ve sıvı bazlı sistemler ile karşılaştırılabilir duyarlılıkta bulunmuştur. Bu sistemde çukulata agarın bulunması kontaminant bakterilerin eş zamanlı olarak görüntülenmesi bakımından avantaj sağlamaktadır (33).



Şekil 6: Septi-Chek bifazik kültür şişesi (50)

Ekim yapılmadan önce Middlebrook 7H9 içerisine üretici tarafından sağlanan 1 ml zenginleştirici eklenmektedir. İşlenmiş örnekten 0.5 ml alınarak sıvı besiyerine ekilerek ardından vidalı kapaklı ve katı kültür besiyeri entegre edilmiş plastik tüp sıvı besiyerinin bulunduğu kültür şişesine takılarak sabitlenmektedir. Besiyeri hafifçe ters yüz edilerek, katı kültür besiyerine ekim yapılması sağlanmaktadır. Sistem dik pozisyonda 35 °C'de inkübe edilmektedir. CO₂ sağlayan inkübatör gerekli olmasa da kullanılması da mümkündür. Her üç günde bir agar yüzeyleri ve kültür besiyerinde üreme olup olmadığı kontrol edilmektedir. Üreme yoksa agar besiyerinin tekrar ekimi için şişenin ters çevrilmesi gerekmektedir. Üreme görölürse agar yüzeyinden ve Middlebrook 7H9'dan örnek alınarak yayma hazırlanarak değerlendirme yapılması gerekmektedir (33).

Dört farklı merkezde 3000 farklı klinik örneğin değerlendirildiği bir çalışmada Septi-Check sisteminin mikobakteri izole elde edilmesi oranının LJ, 7H11 ve BACTEC brot'dan daha yüksek olduğu bulunmuştur (51). Bu sonucun, Septi-Check sisteminin bifazik doğası ile ilişkili olabileceği düşünölmüş, sıvı ortamda çoğalan bakterilerin agar besiyeri ile erken temas etmelerinin (şişenin ters çevrilmesi) bakteri izolasyonu şansını arttırarak avantaj sağlandığı bildirilmiştir. LJ ve 7H11 ile karşılaştırıldığında Septi-Check AFB Sisteminin MTB tespitinde ortalama 3, *Mycobacterium avium* kompleks (MAC) tespitinde 9 gün avantaj sağladığı tespit edilmiştir. BACTEC brot, Septi-Check'e göre, MTB tespiti için 3, MAC tespiti için 12 gün avantajlı gibi görünmesine rağmen, BACTEC brotta koloninin gözlenememesi nedeniyle son tanımlama zamanı bakımından iki sistem için eşit olarak değerlendirilmiştir (51). Daha sonra yapılan bir çalışmada da BACTEC 12A şişelerinde mikobakteri türlerinin üremesi erken tespit edilmesine rağmen, Septi-Check daha erken koloni izolasyonu imkanı sağlamış ve üremenin tespiti için özel ekipmanlara ihtiyaç duyulmamıştır (33).

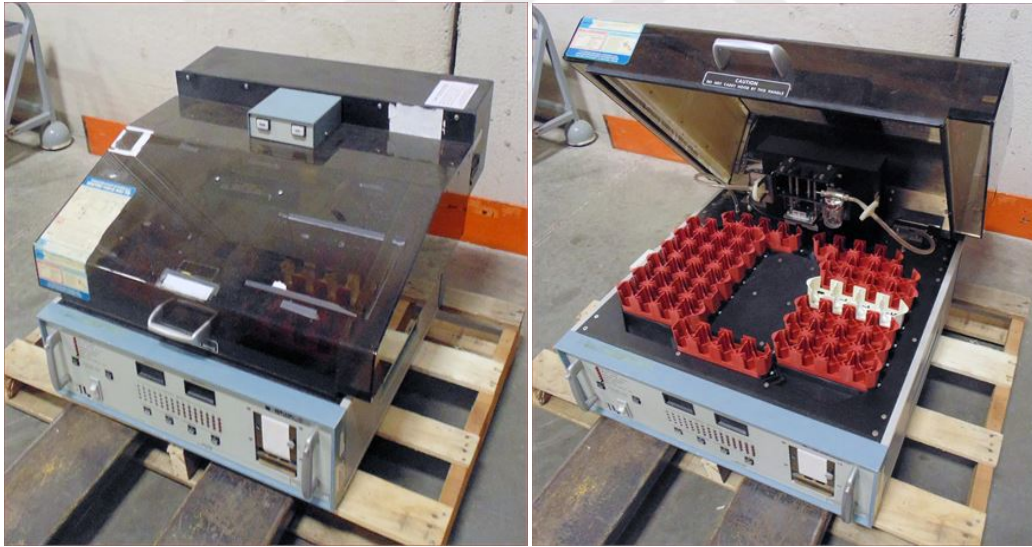
2.4.2.2. Üreme kontrollü kültür sistemleri

2.4.2.2.1. BACTEC 460 TB sistemi (Becton Dickinson)

Bu sistemde palmitik asit (¹⁴C) içeren Middlebrook 7H9 (BACTEC 12B) veya Middlebrook 7H13 (BACTEC 13A) sıvı besiyerleri kullanılmaktadır. Mikobakterilerin ¹⁴C işaretili palmitik asiti kullanması sonucu ¹⁴CO₂ oluşmakta,

işaretli gaz çıkışı BACTEC 460 TB cihaz tarafından izlenmektedir (Şekil 7). Ekim öncesi besiyerlerine OADC (Oleik asit-albümin-dekstroz-katalaz) ve antibiyotik karışımının eklenmesi gerekmektedir. Örneklerin BACTEC 12B'ye ekim miktarı 0.1-0.5 ml'dir. BACTEC 12B şişeleri, altı hafta süresince 35-37°C'de ve %5-10 CO₂'li ortamda inkübe edilmekte, ilk 2-3 hafta boyunca haftada 3 kez, sonraki haftalarda ise haftada 1 kez BACTEC 460 TB cihazı ile değerlendirmeleri yapılmaktadır (52).

Yarı-otomatik radyometrik bir sistem olan BACTEC 460 TB, besiyerinde radyoaktif madde kullanımı, hantal elle yükleme ve boşaltma, iğne batması yaralanmalarının olası tehlikesi, çapraz kontaminasyon riski ve bilgisayarlı veri yönetiminin eksikliği ile ilgili problemleri içeren bazı iyi bilinen kısıtlamalar içermektedir (3). Bu nedenlerle yerini, radyometrik olmayan, tamamen otomatik, sürekli izleme sistemi olan BACTEC 960/MGIT'a bırakmıştır (52).



Şekil 7: BACTEC 460 TB cihazı (53)

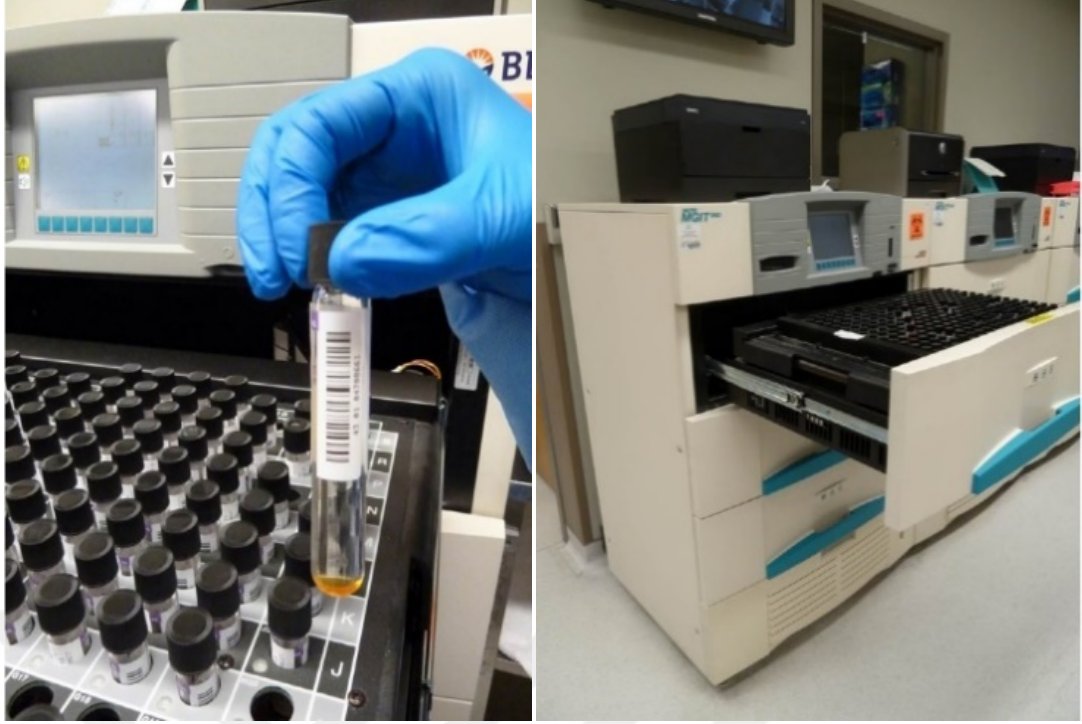
2.4.2.2.2. BACTEC mycobacteria growth indicator tube (MGIT) 960 sistemi

BACTEC MGIT 960 sistemi, kan hariç her tür klinik örnekte mikobakterilerin hızlı tespiti için tasarlanmış olan otomatik algılama sistemlerinden biridir (Şekil 8). Sistem, her tüpün dibinde silikonun içine gömülü floresan büyüme göstergeli modifiye Middlebrook 7H9 ortamı içeren bir kültür tüpünden oluşur. Bu

bileşik çözülmüş oksijen varlığına karşı hassastır (46). Mikobakteri veya diğer mikroorganizmalar ürettiğinde, oksijen kullanımı sonucunda UV ışınlarına karşı floresans oluşmakta ve floresans miktarı üreme endeksi olarak değerlendirilmektedir (3, 33). İşlenmiş örneklerin ekiminden önce besiyerine OADC (Oleik asit-albümin-dekstroz-katalaz) ile antibiyotik karışımı içeren PANTA (polymyxin B, amphoterecin B, nalidixic acid, trimetropim, azlocilin) eklenmelidir. İşlenmiş örnekten 0.5 ml MGIT' a ekilerek hem inkübasyon hem de üreme kontrolü sağlayan cihaza yüklenir. Bu cihazda tüpler 37 °C'de sürekli olarak inkübe edilir ve her 60 dakikada bir floresandaki artış açısından izlenir. En az 42 gün (en çok 56 gün) boyunca negatif sonuç veren ve üreme belirtisi göstermeyen kültür şişeleri cihazdan alınarak negatif olarak değerlendirilir ve atılmadan önce sterilize edilir (54).

Otomatik MGIT sistemi, klinik örneklerden mikobakterilerin geri kazanılmasında geleneksel LJ'ye göre daha iyi bir hassasiyet gösterse de, yapılan bir çalışma klinik olarak önemli Mycobacterium türlerinin yaklaşık %10'unun tek başına bu sistemin kullanımı ile kaçırılacağını göstermiştir. MGIT sistemi, ilave katı ortamların ortadan kaldırılmasını garanti etmek için henüz yeterince hassas değildir (46).

Bir çalışmada klinik örneklerinden mikobakteri üretilmesi için BACTEC MGIT 960 ve BACTEC 460 TB Sistemlerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Sekiz aylık bir süre zarfında toplanan 2624 klinik örnek, BACTEC 460 TB sisteminde, MGIT 960 sisteminde ve LJ ortamında paralel olarak işlenmiş ve 127 mikobakterinin üremesi olmuştur. Elde edilen MTB izolatlarının sayısı 57'dir. Kombine MTB üremesine bakıldığında BACTEC 460 TB+LJ 54 (%94.7) üreme, MGIT 960+LJ 54 (%94.7) üreme bulunmuştur. TDM (n =70) için ise BACTEC 460 TB+LJ 64 (%91.4), MGIT 960+LJ 49 (%70.0) üreme bulunmuştur. MGIT 960 sisteminde yüksek kontaminasyon oranları hastalar (kistik fibroz) ve malzeme tipi ile ilişkilendirilmiştir. MGIT 960 sisteminde tespit süresinin kısa olduğu bildirilmiştir. BACTEC 460 TB sistemine kıyasla yapılan çeşitli çalışmaların sonuçları, MGIT 960 sisteminin, mikobakterilerin klinik örneklerden üretilmesinde hızlı, hassas ve etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir (55).



Şekil 8: BACTEC™ MGIT™ 960 cihazı (Becton Dickinson) ve MGIT tüpü (1)

2.4.2.2.3. Versa TREK (ESP culture system II) sistemi

Versa TREK sistemi de BACTEC 960 benzeri bir inkübatör ve üreme algılayıcı sistem birleşimidir. Versa TREK, kültür şişelerinin yerleştirilmesi için uygun kuyucukları bulunan bir dizi çekmecelerden oluşmaktadır. Kültür şişeleri Middlebrook 7H9 brot ve üremeyi kolaylaştırıcı selüloz bir sünger içermektedir. Besiyeri, üreme ilavesi OADC ile zenginleştirilmiştir. Örnek ekiminden önce antibiyotik karışımı eklenmelidir. Cihazdaki her kuyucuk, ekilmiş kültür şişesinin plastik bir konnektör ile bağlandığı bir sensör içermektedir. Versa TREK (ESP) cihazı kültür şişesindeki oksijen tüketim hızını otomatik olarak takip ederek (her 24 dakikada bir) mikobakteriyel üremeyi kontrol etmektedir. Bu bilgi, her şişe için bir grafik (eğri) üretmek için kullanılmaktadır. İç algoritmalar bu değişiklikleri analiz etmekte ve uygun olduğunda pozitif kültür sinyali vermektedir. Pozitif kültür şişelerinden preparat hazırlanarak EZN boyama yapılmalıdır. Tüm klinik örnek tipleri (kan ve kemik iliği örnekleri de dahil) Versa TREK sistemi ile çalışlabilmektedir(Şekil 9). Kan örneklerinin izolatör tüp ya da etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)'li tüpte alınarak işleme sokulması önerilmektedir (33).

VersaTrek sistemi ve BACTEC MGIT 960 sisteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada kültür pozitiflik oranları hem VersaTrek hem de BACTEC MGIT 960 sistemleri için % 4 (2/50) olarak tespit edilmiş, sistemler arasında kontaminasyon oranı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır(3).



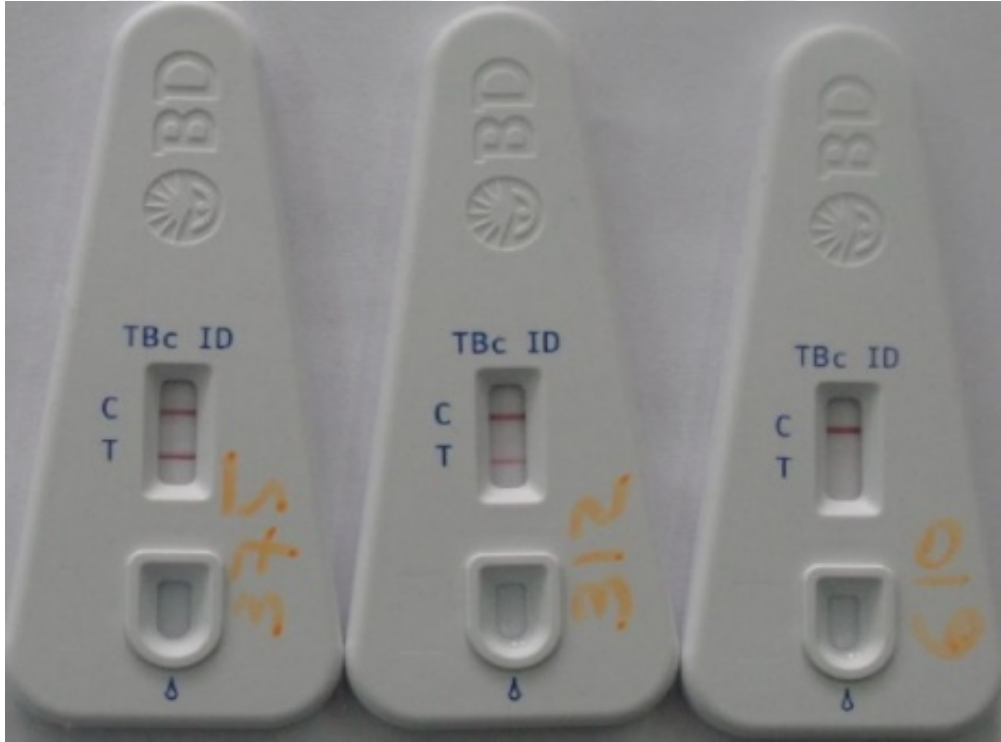
Şekil 9: VersaTrek®system ve VersaTrek® kültür şişesi (1)

2.4.3. Mikobakteri tür ayrımı

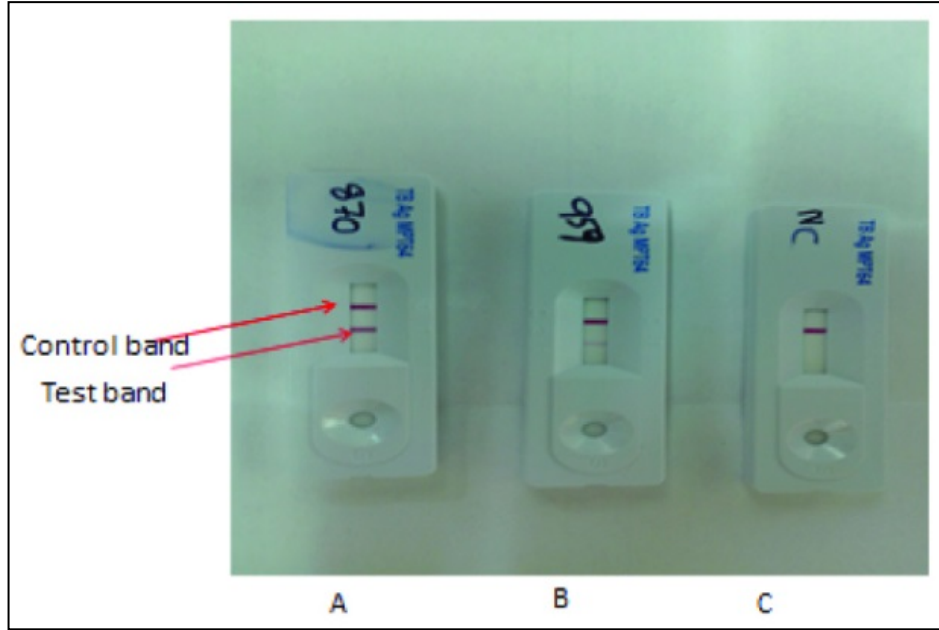
MTB'nin katı besiyerinde R tipi (düzensiz), kuru, devetüyü renğinde ve pigmentsiz koloni morfolojisi, sıvı kültür ARB boyamasında kord faktörünün görülmesi gibi fenotipik üreme özellikleri ön tanımlayıcı olsa da MTB'nin tanımlanması için yeterli değildir. Katı veya sıvı besiyerlerinde üreyen mikobakterilerin ayrımı için fenotipik (üreme özellikleri, biyokimyasal testler, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), genotipik (PZR, ters hibridizasyon testleri) ve immünokromotografik yöntemler bulunmaktadır. Biyokimyasal testler (katalaz, niasin, nitrat indirgenme testleri) zahmetli, zaman alıcı ve değerlendirmesi güç olduğu için mikobakterilerin ayrımında tercih edilmemektedir. Günümüzde daha çok farklı genotipik ve immünokromotografik yöntemler kullanılmaktadır (23).

2.4.3.1. İmmünokromotografik yöntemler

MTB ve TDM ayrımının sağlanması için BD (Becton Dickinson, ABD) tarafından anti-MPT64 antikorları kullanılarak 15 dakika kadar kısa bir sürede sonuç veren basit bir immünokromatografik analiz testi geliştirmiştir. Bu amaçla sıvı kültür ortamından alınan 100 µl örnek, herhangi başka bir işlem gerekmeden doğrudan numune kuyucuğuna uygulanmaktadır. Agarda üreyen bakteriler için üç veya dört koloni katı kültür ortamından alınarak 300 µl özütleme tamponu içerisinde süspansiyon edilmiş, daha sonra numune kuyucuğuna 100 µl süspansiyon eklenmektedir. Test (T) bölgesinde ve kontrol (C) bölgesinde iki pembe-kırmızı çizginin görünmesi MTB için pozitif bir sonuç gösterirken, yalnızca C bölgesinde çizginin varlığı MTB için negatif bir sonuç göstermektedir. C bölgesi test yapıldıktan 15 dakika sonra görünmüyorsa, sonuç geçersiz kabul edilmeli ve test tekrar edilmelidir. Herhangi bir yoğunlukta bir renk çizgisinin, pozitif bir reaksiyon olarak okunması önerilmektedir (Şekil 10-11) (56, 57).



Şekil 10: BACTEC BD ile MTB ile tanımlanma testi (56)



Şekil 11: MPT64 ICA kiti ile MTB tanımlanması (57)

2.4.4. İlaç duyarlılık testi

DSÖ'ye göre, TB ilaç direnci küresel bir sorundur. Dünyada ÇİD-TB izolatlarının artan oranları ve YİD-TB'nin ortaya çıkması göz önüne alındığında, MTB'nin İDT için hızlı ve doğru yöntemlerin geliştirilmesi küresel bir öncelik olarak kabul edilmektedir (58). İDT'nin, tüm ilk mikobakteri TB izolatlarında ve nüks ya da tekrar tedavi olgularında, birincil ilaç direncinden şüphelenildiğinde yapılması gerekmektedir. Pek çok ülkede, ÇİD olarak tanımlanan INH ve RIF'e karşı direnç artmaktadır. Bu olgular uygun şekilde tedavi edilmezse, YİD olarak tanımlanan ve florokinolonların yanısıra enjekte edilebilir aminoglikozitler gibi diğer ilaçlara da dirençli olan suşlar gelişebilmektedir. İlaça dirençli vakaların daha iyi yönetimi ve etkin tedavinin reçete edilebilmesi için erken direnç tespiti son derece önemlidir. Hızlı İDT'ler, ÇİD/YİD TB'nin saptanmasında ve kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır (59).

Katı agara dayalı İDT'ler katı agar ve yumurta bazlı LJ besiyerlerinde proporsiyon yöntemi ile test edilmektedir. Bu yöntemin amacı, test edilen izolatın belli bir antibiyotiğe karşı %1 veya daha yüksek orandaki direnç kriterini (kritik konsantrasyon) belirlemektir. Agar proporsiyon metodu, yavaş üreyen mikobakterilerin (örn: MTB, *M. kansasii*), doğrudan dekontamine edilmiş yayma pozitif balgam örneğinden veya dolaylı olarak saf bir kültürden, ilaç duyarlılıklarının

belirlenmesi için kullanılmaktadır. Agar besiyeri, 4 kadranlı plaklara konulmakta, bu kadranlardan birini ilaç içermeyen kontrol besiyeri oluşturmakta, diğer kadranlar ise farklı konsantrasyonlarda antimikrobiyal ilaç içermektedir. Birincil ilaçlar olan INH, EMB ve RIF test için yaygın olarak seçilmektedir. PZA bu yöntemle test edilememektedir (47).

Otomatik sistemlerde de, üremiş sıvı besiyerinde proporsiyon yöntemi baz alınmaktadır. Sıvı brot sistemleri ana primer ilaçlara (INH, RIF, EMB ve bazen de PZA) duyarlılığın test edilmesini sağlamaktadır. MGIT (Becton Dickinson) sistemi için, homojen bir TB süspansiyonu ile inokülasyon ve 37° C'de inkübasyondan sonra, ilacı içeren tüplerin floresansı, ilaç içermeyen kontrol tüpü ile karşılaştırılmaktadır. BACTEC MGIT 960 cihazını kullanılırken, ilacı içeren tüpün ve üreme kontrol tüpünün nispi üremesinin oranı yazılım algoritmaları ile belirlenmektedir. İlaç içeren tüpteki üreme, kontrol tüpüne eşit veya ondan daha fazla olduğunda bakteri o ilaca dirençli olarak bildirilmektedir. VersaTREK sistemi (Trek Diagnostic Systems Inc.), kapalı bir şişede sıvı ortamın üstündeki boşluğun basınç değişikliklerini tespit ederek mikobakteriyel üremeyi tespit etmektedir. Tespit süresi, kontrol şişesinin pozitif hale geldiği zaman ile aynı veya ona göre en fazla 3 gün içinde olması durumunda, izolat test edilen ilaca dirençli olarak kabul edilmektedir (60). Birinci basamak ilaç duyarlılık testleri için otomatik BACTEC MGIT 960 Sistemi ile VersaTREK Sisteminin değerlendirilmesi yapılmıştır. Toplam 67 suşun değerlendirildiği çalışmada VersaTREK sisteminin MTB İDT'deki güvenilirliği BACTEC MGIT 960 sistemi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında %98.5 olarak bulunmuştur (61).

Doğrudan İDT, ilaç içeren besiyerinin, dirençli MTB suşlarının oranını veya yüzdesini belirlemek için yalnızca ARB pozitif olan işlenmiş balgam örnekleri ile ekilmesine dayanmaktadır (23). BACTEC MGIT 960 sistemini kullanarak ÇİD'in hızlı tespiti için yapılan bir çalışmada doğrudan İDT ile elde edilen sonuçlar, bu yaklaşımla doğruluk ve zaman tasarrufu sağlamak için dolaylı İDT ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Üç farklı ülkede, dört farklı merkezde doğrudan İDT için oluşturulan toplam 360 yayma pozitif balgam örneğinden 307 (% 85)'si raporlanabilir sonuçlar vermiştir. Doğrudan İDT için ortalama raporlama süresi 11 gün (10 -12 gün) olarak belirlenmiştir. Bir kültürü izole etme ve İDT gerçekleştirme

zamanını içeren bu süre dolaylı İDT'ye kıyasla ortalama 8 gün zaman tasarrufu (6-9 gün) sağlamıştır. Direkt İDT sonuçları dolaylı İDT sonuçları ile karşılaştırıldığında, INH ile % 95.1, RIF ile % 96.1 oranında uyum tespit edilmiştir. Bu bulgular BACTEC MGIT 960 sistemli doğrudan İDT'nin daha fazla zaman tasarrufu sağladığını ve ÇİD vakalarını güvenilir bir şekilde saptamanın hızlı bir yöntemi olduğunu göstermiştir (59).

LJ ortamını kullanan kültüre dayalı proporsiyon yöntemi, uzun zamandan beri yaygın olarak kullanılan DSÖ tarafından önerilen bir yöntemdir. Bu tür katı veya yarı katı bazlı İDT yöntemleri, sonucun 6. haftada okumasını gerektiren, ilaca direnç tespitini geciktirebilen yavaş yöntemlerdir. Bu olumsuzluklar, sıvı kültür sistemleri ve moleküler prob analizleri dahil olmak üzere daha yeni İDT metodolojilerinin geliştirilmesine yol açmıştır (58).

2.4.5. Moleküler tanı ve ilaç direnci

Moleküler testler yeni olmamakla birlikte düşük ve orta gelirli ülkelerde, hızlı nükleik asit amplifikasyon testinin (NAAT) TB için kullanımı, bu ülkelere girişi DSÖ onayına kadar sınırlı kalmıştır (62). Moleküler tanı araçlarının mevcudiyeti ile hızlı TB teşhisi ve ilaç direncinin tespiti son yıllarda önemli iyileşmeler sağlamıştır (Tablo 8). CDC kılavuzlarının 2009 yılındaki yayınında, TB şüphesi olan kişilerde TB tanısını koymaya yardımcı olmak için standart uygulama olarak NAAT'nin kullanılmasını önermiştir. Yayma mikroskopisinin performansını aşan moleküler yöntemler, yayma negatif hastalar için bile hızlı bir şekilde TB teşhisi ve/veya ilaç direncinin saptanmasını sağlamaktadır. TB'nin endemik bölgelerde eskiye göre daha makul fiyatlarda mevcut olduğundan, moleküler testler uygun maliyetli ve teknik olarak dünya çapında uygulanabilir hale gelmiştir (63).

Tablo 8: *Mycobacterium tuberculosis*'te ilaç direncinin tespiti için moleküler yöntemler (63)

	Cepheid GeneXpert MTB/RIF	HAIN MTBDRplus & MTBDRsl	Pyrosequencing ^a (Laboratuvarda Geliştirilen, Ticari Olmayan Testler)	Sanger Sequencing ^a (Laboratuvarda Geliştirilen, Ticari Olmayan Testler)
Metodoloji	Gerçek zamanlı PZR Moleküler işaretçi problemleri	PZR LIPA	PZR pirosekanslanma	PZR Sanger sıralama
Örnek türleri	1. Doğrudan numune 2. Konsantr örnek	1. Yayma pozitif, konsantr pulmoner örnek 2. Kültür	1. Konsantr numune 2. Kültür	1. Konsantr numune 2. Kültür
Test süresi	2 saat	6-7 saat	5-6 saat	1-2 gün
İlaç testine uygunluğu	RIF	INH, RIF, EMB, fQs, AMK, CAP, KAN	INH, RIF, EMB, fQs, AMK, CAP, KAN Diğer ilaçlar	INH, RIF, EMB, fQs, AMK, CAP, KAN, PZA Diğer ilaçlar
Sonuçlar	1. Mutasyon tespit edildi veya edilmedi 2. Sekans verilmez	1. Mutasyon tespit edildi veya edilmedi 2. Birkaç yaygın mutasyon sekansını verir	Sekanslar verilir	Sekanslar verilir
Metodoloji Sınırlamaları	1. Karışık popülasyonu tespit etmek zordur. 2. Sessiz mutasyonlar ve direnç sağlamayan mutasyonlar yanlış direnç yorumlamasına neden olur.	1. Karışık popülasyonu tespit etmek zordur. 2. Sessiz mutasyonlar ve direnç sağlamayan mutasyonlar yanlış direnç yorumlamasına neden olur.	1. Minör popülasyonu <%30 ise karışık popülasyon tespit edilemeyebilir. 2. Yaygın olarak dağılmış mutasyonları tespit etmek için uygun değildir	Minör popülasyonu <%30 ise karışık popülasyon tespit edilemeyebilir.
Avantajları	1. Uygulama süresinin kısa olması 2. Uygulanması kolay 3. Yerine getirilmesi kolay 4. Tedavi noktasında uygulanabilir	Düşük ekipman maliyeti	1. Kullanıcılar bir mutasyonun dirençle ilişkisini değerlendirebilir 2. Oldukça geniş uygulanabilirlik 3. Karışık popülasyonu tespit etmek mümkün	1. Kullanıcılar bir mutasyonun dirençle ilişkisini değerlendirebilir 2. Geniş uygulanabilirlik 3. Karışık popülasyonu tespit etmek mümkün

^a Pyrosequencing veya Sanger sıralama teknolojilerini kullanan analizler laboratuvarda geliştirilen testlerdir. Performans özellikleri değişebilir. Laboratuvarlar, solunum numuneleriyle sınırlı olmayan çeşitli kaynaklardan numunelerin test edilmesi için kendi testlerini doğrulayabilir.

^b NALC-NaOH ile konsantr edilmiş klinik örnekler uygundur. Yayma negatif örnekler test edilebilir, ancak duyarlılık yayma pozitif numunelerdekenden daha düşüktür.

DSÖ, 2008 yılında, iki ana birinci basamak TB ilacı olan INH ve RIF'e karşı direnci saptamak için hızlı ters hibridizasyon testi (LPA)'nin kullanılmasını onaylamıştır. Genotype MTBDRplus (Nipro Corporation, Osaka, Japonya) ve NTM + MDRTB Detection Kit 2 (Hain Lifesciences, Nehren, Almanya), testleri PZR ile çoğaltılmış MTB DNA fragmanlarının özgül problemlere bağlanmasını tespit ederek ilaç direnci mutasyonlarını tanımlamaktadır. 2008 yılında DSÖ, yayma pozitif örneklerde INH ve RIF direncinin hızlı tespiti için Genotip MTBDRplus testinin Versiyon 1'in

kullanımını onaylamıştır. DSÖ, 2015 yılında GenoType MTBDRplus Sürüm 2 ve Nipro Corporation NTM + MDRTB Tespit Kiti 2'nin onaylandığı LPA politikasının bir güncellemesini yayınlamıştır. Her iki test de, TB'yi tespit etmek ve yayma pozitif balgam örneklerinden veya kültürden türetilmiş izolatlardan RIF ve INH'ye direnç sağlayan genotip alelleri belirlemek için kullanılabilir. LPA'ların üçüncül ya da referans laboratuvarlarında kullanılması amaçlanmıştır. DSÖ, 2010 yılında, Xpert MTB / RIF (Cepheid Inc, Sunnyvale, CA, ABD) kullanımını onaylamıştır. Kartuş tabanlı olan bu test MTB'yi 90 dakika içinde yüksek doğrulukla saptayabilmekte ve aynı zamanda minimum operatör bağımlılığıyla doğrudan klinik örneklerden RIF direncini tespit edebilme imkanı sağlamaktadır. DSÖ, Xpert MTB / RIF'in, ÇİD-TB veya HIV ile ilişkili TB olduğundan şüphelenilen yetişkinlerde ve çocuklarda konvansiyonel mikroskopi, kültür ve İDT yerine kullanılmasını önermektedir (62).

DSÖ, 2016 yılında çıplak gözle görselleştirilebilecek bir sonuç üreten izotermal bir amplifikasyon işlemi kullanan TB-LAMP (loop-mediated isothermal amplification) testinin kullanımını onaylamıştır (64). Bu test DNA'yı çok hızlı bir şekilde çoğaltan (bir saatten az bir sürede), oldukça yeni bir tekniğe dayanan bir test olup sonuçları bulanıklığa, renge ve floresansa dayanmakta, kolay sonuç değerlendirme imkanı ile çok az alt yapı gerektirmektedir. DSÖ, TB-LAMP'ın, TB belirtileri ve semptomları olan yetişkinlerde pulmoner TB teşhisinde mikroskopi yerine kullanılmasını önermektedir. Yetişkinlerde mikroskopiye ek test olarak kabul edilebilmektedir (65). Fakat, pulmoner TB belirtileri ve semptomları varlığında özellikle de yayma negatif balgam örneklerin test edilmesi gerektiğinde bu yöntemin donanımlı laboratuvarlar dışında uygulanması için uygun olmayan çeşitli manuel adımlara sahip olması gibi kısıtlılıkları mevcuttur. Ayrıca İDT eksikliği, bu yöntemin ÇİD-TB prevalansının yüksek olduğu bölgelerde uygulanmasını zorlaştırmaktadır (63).

Referans laboratuvar düzeyinde genişletilmiş İDT için, DSÖ yakın zamanda ikinci düzey LPA'ların kullanılmasını onaylamıştır (64). Bu şekilde, MTBDRsl versiyon 2.0 ile, florokinolon ve ikinci sıra enjekte edilebilir ilaçlarla ilişkili mutasyonların tespit edilebilmesi mümkün olmaktadır. Böylece, özellikle bedaquilin ve delamanid gibi yeni TB ilaçlarının kullanımı ile ve son zamanlarda DSÖ'nün onayladığı kısa ÇİD rejiminin başlatılması ile ilgili önemli avantaj elde edilmiştir

(65). Bir defa RIF dirençli TB veya ÇİD-TB teşhisi konulduktan sonra, ikincil ilaçlara ek direnci tespit etmek için ikincil LPA kullanılabilir. Onaylanmış RIF dirençli TB veya ÇİD-TB'si olan hastalar için, DSÖ, florokinolonlara ve ikinci seçenek enjekte edilebilir ilaçlara olan direnci tespit etmek için fenotipik kültür esaslı İDT yerine, ilk test olarak MTBDRsl'nin kullanılmasını önermektedir (66).

2.4.5.1. İlaç direnci mekanizmaları ve ilişkili genler

Zhang ve ark. 1992 yılında, katalaz-peroksidazı kodlayan katG'deki mutasyonların, INH direnci ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır (67). O zamandan beri, ilaç direncinin moleküler olarak anlaşılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Kültürde üreme şartı olmadan doğrudan klinik örnekler üzerinde gerçekleştirilebilen moleküler İDT'ler ile önemli bir gelişme elde edilmiştir. MTBK ilaç direnci ve klinik izolatlarda bulunan en baskın mutasyonlarla ilişkili genlerinin kısa özeti Tablo 9'da sunulmuştur. Her ne kadar ilaç direnci ile ilgili ana genler tanımlanmış olsa da, tüm ilaç dirençlerinin saptanması için %100 duyarlılık henüz mümkün değildir. Genetik olarak belirlenen direncin fenotipik ifadesinin bulunmaması nedeniyle, fenotipik İDT yöntemleri ile alınan sonuçlar ile moleküler İDT yöntemleri ile alınan sonuçlar arasında uyumsuzluk olabilmektedir. Hekimlere doğru ilaç duyarlılığı sonuçları sunmak için fenotipik İDT, moleküler İDT sonuçlarının doğrulanması ve moleküler İDT'nin henüz uygulanmadığı ilaçların test edilmesinde ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) belirlenmesinde hala önemli bir rol oynamaktadır (63).

Tablo 9: *Mycobacterium tuberculosis*'te ilaç direnci ile ilişkili genler ve mutasyonlar (63)

İlaç	Gen	Mutasyonlar	Yorumlar
Izoniazid (INH)	katG	AGC315ACC	En sık görülen mutasyon, yüksek seviye INH direnci ile ilişkili Kodondaki diğer bazı mutasyonlar 315: ACA, AAC, ATC, ACT, GGC
	inhA promoter	-15C/T	Genellikle düşük seviye INH direnci ve etiyonamid direnci ile ilişkilendirilir Diğer bazı mutasyonlar: -8T/C, -8T/A, -8T/G, -9G/T, -16A/G, -17G/T
	ahpC promoter	-12G/A	KatG mutasyonlarına karşı telafi edici; yüksek INH dirençli izolatlarda bulunur Diğer bazı mutasyonlar: -6C/T, -9C/T, -10G/A, -10G/T
Rifampin (RIF)	rpoB	TCG531TTG	MDR TB'de en sık görülen mutasyon RIF ve RFB direnci ile ilişkili HAIN tarafından tespit edilebilir, tanımlanır GeneXpert'in Probu E ile tespit edilebilir ama tanımlanmaz
		CAC526TAC	RIF ve RFB direnci ile ilişkili
		CAC526GAC	HAIN tarafından tespit edilebilir, tanımlanır GeneXpert'in Probu D ile tespit edilebilir ama tanımlanmaz
		GAC516GTC	Genellikle RIF direnci ile ancak RFB duyarlılığı ile ilişkilidir. HAIN tarafından tespit edilebilir, tanımlanır GeneXpert'in Probu B ile tespit edilebilir ama tanımlanmaz
		Sessiz mutasyon: TTC514TTT	En sık sessiz mutasyon RIF veya RFB direnci ile ilişkili değil. Yanlışlıkla, prob yöntemleri ile RIF-direnç olarak yorumlanır HAIN tarafından tespit edilebilir, WT3 eksiktir, ama tanımlanmaz GeneXpert'in Probu B ile tespit edilebilir ama tanımlanmaz Yanlışlıkla "RIF direnci tespit edildi" şeklinde raporlanır
Etambutol (EMB)	embB	ATG306GTG	EMB direnci ile ilişkili en sık görülen mutasyon Kodondaki diğer bazı mutasyonlar 306: CTG, ATA, ACG, ATT, TTG EmbB'deki tüm mutasyonlar EMB direnciyle ilişkili değildir
Pirazinamid (PZA)	pncA	Baskın mutasyon yok	Gen ve promotör boyunca dağılmış Tüm mutasyonlar PZA direnci ile ilişkili değildir

Tablo 9: *Mycobacterium tuberculosis*'te ilaç direnci ile ilişkili genler ve mutasyonlar (devam) (63)

İlaç	Gen	Mutasyonlar	Yorumlar
Kinolonlar	gyrA	GAC94GGC	En sık görülen mutasyon, genellikle MOX MIC >1 µg/mL. MİK ≤ 2 µg / mL'den ise MOX hala klinik etkinliğe sahip olabilir; dozu artırmak gerekebilir. Kodon 94'teki diğer bazı mutasyonlar: TAC, CAC, GCC, AAC Diğer bazı mutasyonlar: TCG91CCG; GGC88GCC, GGC88TGC
		GCG90GTG	Sık bir mutasyondur. Genellikle MOX MIC ≤1 µg/mL. MOX hala klinik etkinliğe sahip olabilir.
Amikasin (AMK)	Rrs	1401A/G	En yaygın mutasyon; AMK direnci ile ilişkili
		1402C/T	Genellikle AMK direnci ile ilişkili değildir.
		1484G/T	AMK direnci ile ilişkili
Kaproemisin (CAP)	Rrs	1401A/G	En yaygın mutasyon; genellikle CAP direnci ile ilişkilidir. Diğer bazı mutasyonlar: 1402C/T, 1484G/T
	tlyA	Baskın mutasyon yok	Mutasyonlar gen boyunca yaygın olarak dağılır. Bazı mutasyonlar CAP direnci ile yüksek oranda ilişkilidir: GGG196GAG, Nükleotid 202'de GC yerleştirme, 755 nükleotidinde GT eklenmesi.
Kanamisin (KAN)	Rrs	1401A/G	En yaygın mutasyon. KAN direnci ile ilişkili. Diğer bazı mutasyonlar: 1402C/T, 1484G/T
	eis promotör	-10G/A	KAN direnci ile yüksek oranda ilişkili Diğer bazı mutasyonlar: -14C/T, -37G/T
Bedaquiline (BDQ)	atpE		Adenozin trifosfat sentaz C halkasındaki mutasyonlar BDQ direnci ile ilişkili olabilir

MOX, moxifloxacin; RFB, rifabutin. HAIN, GenoType MTBDRplus testini ifade eder. GeneXpert, MTB/RIF testine karşılık gelir.

2.4.5.2. İzoniazid

INH'nin direnç mekanizmalarının genetik anlayışı hala gelişmektedir. KatG'deki mutasyonlar inhA ve ahpC promotörleri, INH direnci ile ilişkili bulunmuştur. Bu mutasyonlar, ABD'de tespit edilen INH dirençli izolatların %85 ila %90'ını oluşturmaktadır. Bu bölgelerde mutasyondan yoksun INH dirençli izolatlar olmasına rağmen, ABD'nin geneli için, INH direnç oranı %10 veya daha düşükken, katG veya inhA promotöründe tespit edilmiş bir mutasyon olmadığında, INH duyarlılığı için öngörü değerleri %98 veya daha yüksek bulunmaktadır. Bu bulgu, katG veya inhA promotörünün INH direncinin saptanması amacıyla moleküler İDT'lerinde kullanılması bakımından yüksek güven oluşturmuştur. INH'ye dirençli suşlardaki mutasyonların prevalansının genellikle coğrafik olarak bağımlı olması

dikkat çekicidir. Rusya gibi bazı ülkelerde, katG 315ACC mutasyonu oldukça yaygın olup INH'ye dirençli suşların %94'ünü oluşturabilmektedir. Bu mutasyonu tespit edebilen testler, bu ülkelerde INH direnç saptaması için ABD'de olduğundan daha yüksek hassasiyet sağlamaktadır. İnHA promotöründeki mutasyonlar genellikle düşük seviyeli INH direnci ve eş zamanlı etiyonamid direnci ile ilişkilidir (68).

2.4.5.3. Rifampin ve rifabutin

RIF direncini belirleyen bölgede (RRDR) mevcut olan mutasyonları değerlendirmek için moleküler İDT kullanılması, RIF'e direncin tespiti için yüksek hassasiyete ve özgüllüğe sahiptir. RIF'e dirençli suşların %95'den fazlası RRDR'de mutasyonlara sahiptir. Fakat burada bulunan mutasyonların hepsi eşit değildir. RIF direncinin seviyesi çeşitli mutasyonlarla değişebilmektedir (63). ÇİD TB'de bulunan en yaygın mutasyonlar, yüksek seviyeli RIF direnci ve rifabutin (RFB) direnci ile ilişkili olan TCG531TTG, CAC526GAC ve CAC526TAC'dir. Bununla birlikte, GAC516GTC veya CAC526CTC gibi diğer mutasyonlar, RIF'e dirençli fakat RFB'ye duyarlılıkla ilişkili olabilmektedir (69). Son yayınlar fenotipik olarak RIF'e duyarlı olup belirli rpoB mutasyonlarına sahip suşları taşıyan kişilerde tekrarlayan enfeksiyonlar olabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, mevcut RIF kritik konsantrasyonunun gözden geçirilmesi gerektiğini düşündürmektedir (70). Moleküler İDT performansını karakterize etmek için bir standart olarak kültür İDT kullanımının geçerliliği de sorgulanmaktadır. Bununla birlikte tedavi başarısızlığının nedenleri çok yönlüdür. TB hastalığının yoğunluğu, altta yatan hastalıkların varlığı (diyabet, HIV veya diğer durumlar), beslenme durumu, gastrointestinal sistemden ilaç emilim etkinliği, hastanın tedaviye bağlılığı, TB ilaçlarının kalitesi gibi durumların tedavi başarısızlıklarını araştırırken değerlendirilmesi önerilmektedir (63).

2.4.5.4. Etambutol

EMB direnci genetik düzeyde tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan çalışmalar embB'deki mutasyonların sıklıkla EMB direnci ile ilişkili olduğunu göstermiştir. EMB dirençli izolatlarda en sık 306, 319, 354 ve 406 kodonlarda gelişen mutasyonlar belirlemiştir. Bunlar arasında en sık tespit edilen ATG306GTG mutasyonudur. EmbB' deki diğer mutasyonlarda EMB direnci sağlayabilmekte,

ancak 100'den fazla kodonun üzerine yayıldıklarından, prob tabanlı veya segmentli sekanslama yöntemleri kullanarak maliyeti etkin bir şekilde tespit edilmeleri kolay olmamaktadır. EmbB 'deki mutasyonların EMB direncinin saptanması için duyarlılığı %60-%80 ve özgülüğü %93-%100 olarak bildirilmektedir (5). EMB direncinin moleküler tespitinin, diğer ilaçlara direnç mutasyonlarının tespit edildiği durumlarda refleks test olarak düşünülmesi önerilmektedir. Böylece elde edilen sonuçlar, EMB'nin tedavi rejiminde tutulması gerekip gerekmediğine ilişkin klinik kararları büyük ölçüde etkileyebilmektedir (63).

2.4.5.5. Pirazinamid

PncA'daki mutasyonlar sıklıkla PZA direnci ile ilişkili bulunmuştur (5, 63). Bu mutasyonların, gen ve promotör bölgesi içinde yaygınlık göstermeleri nedeniyle, prob bazlı metotlar veya kısa segment sekanslama yöntemleri ile tespit edilmeleri zor ve maliyeti uygun değildir. PZA mutasyonlarının belirlenmesi için uzun gen dizilerini sıralayabilen Sanger yöntemi veya yeni nesil dizileme yöntemleri daha uygun bulunmuştur. Bu sekans bazlı yöntemlerle mutasyon kimliğinin ortaya çıkarılmasının, pncA sonuçlarının doğru yorumlanması için önemli olduğu belirtilmektedir. Bazı mutasyonlar PZA direnci vermemekle birlikte, MİK çeşitli mutasyonlarla önemli ölçüde değişmektedir (63). CDC'de yapılan bir çalışmada, pncA geninin ve promotör bölgesinin dizilenmesiyle PZA direncinin saptanmasına yönelik duyarlılığın % 85.8 ve özgülüğün % 84.6 olduğunu göstermiştir (5).

2.4.5.6. Florokinolonlar

Ofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin ve diğer florokinolonlar, TB'yi tedavi etmek için ikinci basamak ilaç olarak kullanılmaktadır. GyrA'nın kinolon direncini belirleyen bölgede (QRDR) tespit edilen mutasyonlar genellikle kinolon direnciyle ilişkilendirilmektedir. En yaygın mutasyonların GAC94GGC ve GCG90GTG olduğu belirlenmiştir. QRDR'deki mutasyonlar farklı direnç seviyelerine neden olabilmekte, GAC94GGC mutasyonuna sahip izolatlar genellikle GCG90GTG mutasyonuna sahip olanlardan daha yüksek MİK değerleri sergilemektedir. Moksifloksasin'in diğer eski nesil florokinolonlardan daha etkili olduğu bildirilmektedir. Her bir mutasyon için MİK aralıklarının oluşturulmasının direnç seviyesinin tahmin edilmesinde yardımcı olacağı bildirilmektedir (62).

Florokinolon direncinin saptamasının LPA (HAIN), pyrosequencing veya Sanger dizilimi ile hassasiyetinin % 80 oran ile orta aralıkta ve özgülüğü % 100'e yakın olduğu belirtilmektedir (5, 63).

2.4.5.7. Enjekte edilebilir ilaçlar

Rrs'deki mutasyonların genellikle enjekte edilebilir ilaçlara, amikasin (AMK), kapreomisin (CAP) ve kanamisine (KAN) dirençle ilişkili olduğu belirtilmektedir. En yaygın mutasyon 1401 A / G mutasyonudur. Bu mutasyonun AMK ve KAN direnci ile ilişkisi % 100 civarında iken, CAP direnci ile ilişkisi değişkendir. Bu ilaçlara karşı direnci saptamak için rrs diziliminin duyarlılığı ortalama % 80 aralığındadır (63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örnek ve Hasta Bilgileri

Ocak 2013-Şubat 2018 yılları arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen tüberküloz ön tanılı hastalara ait olan 7842 örnek değerlendirildi. Hasta bilgileri kayıt defterleri ve hastane bilgi işletim sisteminden elde edildi.

3.2. Mikroskopik İnceleme

3.2.1. Yaymaların hazırlanması

Örneklerin tümünün mikroskopik incelemesi EZN yöntemi ile boyanan yaymalarda yapıldı. Bunun için, steril vücut sıvıları direkt santrifüj edilerek ve steril olmayan örneklerden de homojenizasyon-dekontaminasyon-nötralizasyon işleminden sonra çökelti kısmından alınarak, her örnek için ikişer yayma hazırlandı.

3.2.2. Yaymaların boyanması

Boyama için aşağıda belirtilen kimyasal malzemeler kullanıldı (23, 71).

- Karbol Fuksin

Çözelti A
Bazik Fuksin 0.3 gr
Etil Alkol (%95)..... 10.0 ml

Çözelti B
Kristalize Fenol 5 gr
Distile Su..... 100 ml

10 ml çözelti A, 90ml çözelti B ile karıştırılarak koyu renkli bir şişeye aktarıldı. İyiçe çalkalanarak homojenize edildi. Oda ısısında 24 saat bekletildikten sonra, filtre kağıdından süzülerek kullanıldı.

- Asit Alkol

Etil Alkol (%95) 97 ml
Konsantre HCl 3 ml

- Metilen Mavisı

Metilen Mavisı 0.3 gr
Distile Su 100 ml

Yayma hazırlanması için işlem (homojenizasyon-dekontaminasyon-nötralizasyon) görmüş olan örnek çöktisinden steril pastör pipeti yardımı ile bir damla lamin ortasına bırakıldı. Hazırlanan yaymalar BGK'de ultraviyole ışık altında bekletilerek kurutuldu. Kurutulan yaymalar bekin mavi alev kısmından 3-4 defa yavaşça (yayma üstte kalacak şekilde) geçirilerek tespit edildi. Boyama işlemi için aşağıda belirtilmiş olan basamaklar uygulandı:

- Tespit edilen yaymalar, boya düzeneğinin üzerine, birbirleri ile temas etmeyecek şekilde yerleştirildi.
- Preparatların üzerini kaplayacak şekilde karbol fuksin döküldü. Yaymalar, buhar çıkacak fakat kaynamayacak şekilde 5 dakika boyunca alttan ısıtıldı. Buharlaştırma sonucu yaymalar üzerinde azalan karbol fuksin boyası eklendi.
- Yaymalar su ile yıkandı. Lamlar eğilerek üzerinde kalan su süzdürüldü. Yaymaların üzerine %3'lük asit-alkol (HCl-etanol) çözeltisinden dökülerek (1-2 dakika) renksizleştirme işlemi yapıldı.
- Yaymalar su ile yıkandı. Lamlar eğilerek üzerinde kalan su süzdürüldü. Preparatların üzerine yayma alanını kaplayacak şekilde metilen mavisi çözeltisinden dökülerek, 1-2 dakika bekletildi. Yaymalar su ile yıkandı. Lamlar eğilerek üzerinde kalan su süzdürüldü. Lamların arkasında ısıtmadan dolayı oluşan isler temizlendi. Lamlar dik bir şekilde oda ısısında kurumaya bırakıldı (23).

3.2.3. Yaymaların değerlendirilmesi

Boyanan yaymalar ışık mikroskopunda x1000 büyütme (100X objektif ve 10X oküler) ile incelendi. Yayma, negatif olarak sonuçlandırılmadan önce en az 9 dikey ya da 3 yatay çizgi boyunca (yaklaşık 300 alan) dikkatli bir şekilde tarandı. Yayma değerlendirilmesi Tablo 10'da belirtilen kriterlere göre yapıldı (23). Yapılan boyamanın kalite kontrolü için bir pozitif kontrol (MTB H37Ra ATCC 25177), bir negatif kontrol (*Esherichia coli*) kullanıldı (23).

Tablo 10: Yaymaların değerlendirme kriterleri (23)

Karboll fuksin boyama ile görülen ARB sayısı	
Negatif	0
Şüpheli, tekrar	1-2/300 alan
1+	1-9/100 alan
2+	1-9/10 alan
3+	1-9/1 alan
4+	>9/1 alan

3.3. Mikobakteri Kültürü

Kültür için LJ ve BACTEC MGIT 960 sistemi eş zamanlı uygulandı. Aerosol oluŐumuna neden olan tüm iŐlemler (homojenizasyon-dekontaminasyon-nötralizasyon, kültür işlemleri ve ilaç duyarlılık testleri) kiŐisel koruyucu donanım kullanılarak ve Sınıf IIA BGK içerisinde yapıldı.

Steril olmayan klinik örneklerin dekontaminasyon, homojenizasyon ve nötralizasyonu için sırasıyla sodyum hidroksit (NaOH), N asetil L sistein (NALC) ve fosfat tamponu (PBS) kullanıldı. Gerekli olan solüsyonlar aşağıda belirtildiği miktarlarda hazırlandı.

NaOH Stok Solüsyon

Solüsyon A	Miktar
Tri-Sodyum sitrat dihidrat	29 gr
Distile Su	1000 ml

Solüsyon B

NaOH Pellet	40 gr
Distile Su	1000 ml

Solüsyon A ve B'den eşit miktarlarda alınarak karıştırıldı. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı.

3.3.1. NALC/ NaOH çalışma solüsyonu

Toz haldeki NALC ve NaOH Tablo 11 de belirtildiği şekilde hazırlandı (47).

Tablo 11: NALC ve NAOH hazırlanması

Toplam hacim (ml)	NaOH-Na sitrat (ml)	NALC (gr)
50	50	0.25
100	100	0.50
250	250	1.25
500	500	2.50
1000	1000	5.00

Fosfat tamponu (PBS)

Stok Alkale Buffer	Miktar
Na ₂ HPO ₄	11.8 gr
Distile Su	1000 ml
KH ₂ PO ₄	9.47 gr
Distile su	1000 ml

Hazırlanan stok solusyonlar 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Her iki solüsyon eşit olarak karıştırılarak (pH:6.8) kullanıldı (47).

3.3.2. Homojenizasyon, dekontaminasyon ve nötralizasyon

- Örneklerin homojenizasyonu, dekontaminasyonu ve nötralizasyonu için 50 ml hacimli, polipropilen, vida kapaklı, konik tabanlı, falkon santrifüj tüpleri kullanıldı.
- Örnekler 50 ml'lik tüplere alındı. Hasta örneği üzerine eşit hacimde NALC-NaOH çalışma solüsyonu ilave edilerek karıştırıldı.
- Örnek tüpleri 30 saniyeyi geçmeyecek şekilde vortekslendi ve oda ısısında 15 dakika bekletildi.
- Süre tamamlandığında tüpün 50 ml işaretine kadar PBS ilave edildi. Bu şekilde nötralizasyon sağlanarak dekontaminasyon işlemi durduruldu.
- Tüpler 4500 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.

- Santrifüj edilen tüpün üst kısmındaki sıvı (süpernatant) %10'luk sodyum hipoklorid bulunan atık kabına boşaltıldı. Tüpün alt kısmındaki sediment 1-2 ml steril PBS (pH:6.8) ilave edilerek yeniden süspansiyon edildi. Tüp içindeki sediment vortekslenerek 5 dakika bekletildi (23, 47).

3.3.3. Löwenstein jensen besiyerinde kültür

3.3.3.1. Löwenstein jensen besiyerinin hazırlanması

Örneklerin ekimi için yumurta temelli LJ kullanıldı. LJ toz besiyeri (L-asparagin, monopotasyum fosfat, magnezyum sülfat, magnezyum sitrat, patates nişastası ve malaşit yeşili içerikli)'nden 37.24 gr tartılarak 600 ml distile suda çözdürüldü. İçerisine 12 ml gliserol ilave edildi ve 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Bir karton (24-28 adet) iri boy taze yumurta (1000 ml olacak şekilde) bir fırça yardımı ile sabunlu su ile temizlendi. Bir sepet içerisinde etanolde 30 dakika bekletildi. Yumurtalar tek tek aseptik şartlarda bir beherin içine kırılarak yapışkan özelliği kayboluncaya kadar karıştırıldı. Steril huni ve iki katlı gazlı bez yardımı ile yumurtalar süzülerek LJ besiyerinin içerisine ilave edildi. Hazırlanan bu yumurta temelli LJ bir magnetik karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. İyice karıştırılıp steril hortum yardımıyla dökme işlemine geçildi. Yeşil renkli olan besiyeri hava kabarcığı oluşturmadan steril tüplere 6 ml kadar dolduruldu. Kapaklar gevşek bırakılarak, yatık bir vaziyette pastör fırınında 1 saat (80 °C) pişirildi. Kontaminasyon takibi açısından, kontrol amaçlı LJ besiyeri içerikli tüplerin belli miktarı 37 °C'de etüvde bekletildi.

3.3.3.2. Örneklerin ekimi

Tek kullanımlık steril pastör pipeti ile aerosol oluşturmadan dikkatlice, işlem görmüş örnekten alınarak 2-3 damla LJ yüzeyine ekim yapıldı. İşlem görmüş örnekler kontaminasyon takibi açısından kanlı agar da ekildi (23).

3.3.3.3. İnkübasyon ve değerlendirme

LJ besiyerine ekilen örnekler, emilinceye kadar kapakları gevşek, besiyeri yüzeyi yukarı bakacak şekilde yatık pozisyonda 35-37°C'de bir hafta süresince inkübe edildi. Birinci hafta bitiminde kapakları sıkıştırılarak dik konumda inkübasyona devam edildi. LJ kontaminasyon ve üreme takibi açısından ilk hafta iki

kez, sonraki haftalarda haftada bir kez kontrol edildi. İnkübasyon bitiminde (45 gün) üreme gözlenmeyen LJ kültür tüpleri negatif olarak çıkarıldı.

3.3.4. BD BACTEC MGIT 960 sistem kültürü

3.3.4.1. Örneklerin ekimi

BBL MGIT sıvı besiyerine üretici firma önerileri doğrultusunda steril vücut sıvılarından ve işlenmiş örneklerden alınarak 0.5 ml ekim yapıldı. Tüp kapağı kapatılarak 1-2 kez alt üst edildi. MGIT tüplerine ekim yapmadan önce her tüpe; MGIT PANTA + OADC karışımından 0.8 ml eklendi.

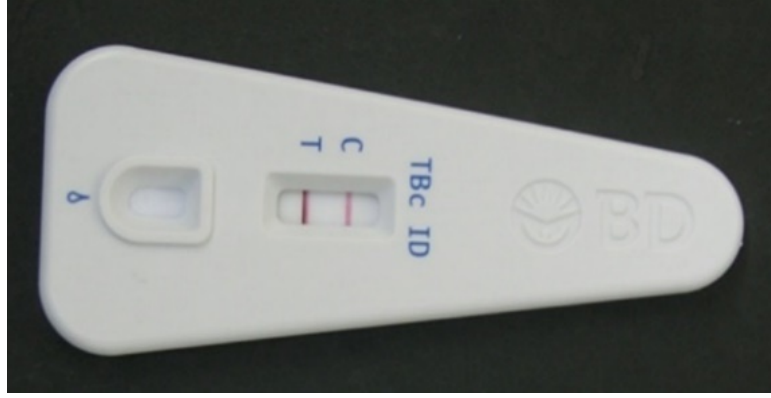
3.3.4.2. İnkübasyon ve değerlendirme

Ekim yapılan BBL MGIT tüpler MGIT 960 cihazına yüklendi. İnkübasyon süresinin bitiminde (42 gün) üreme gözlenmeyen tüpler negatif kültür olarak değerlendirildi. Üreme gözlenen tüplerden örnek alınarak, kanlı agara ekildi ve mikroskopik inceleme için yayma hazırlanarak ARB pozitifliğine bakıldı. Kanlı agarda kontaminant üremesi olan ve ARB negatif kültürler kontamine kültür olarak değerlendirildi. ARB pozitif ve kanlı agarda kontaminant üremesi olan kültürlerin homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemleri tekrar edilerek kültür için ekim yapıldı. Kanlı agarda kontaminant üremesi olmayan ve ARB pozitif olan kültürler tiplendirme testi (MTB-TDM) için işleme alındı (23).

3.4. *Mycobacterium tuberculosis* Tanımlama

Kültürde üreyen ve ARB pozitif olduğu belirlenen bakteriler de MTB ve TDM tanımlaması için MPT64 antijeni tespit eden yatay immürokromatografik yöntem olan BD MGIT TBC ID kiti (Beckton Dickinson, USA) kullanıldı. Pozitif MGIT tüpü vorteksleyerek, tamamen karıştırarak beş dakika bekletildi. Süre bitiminde MGIT tüpünün kapağı çıkarıldı ve steril bir pipet ucu kullanarak uygun şekilde etiketlenmiş olan kitin örnek kuyusuna, örneğin 100 µl'si pipetlendi. MGIT tüpünün kapağı sıkıca kapatıldı ve 15 dakika beklendi. Testin sonucu 15. dakikada görsel olarak okunup kaydedildi. Okuma penceresinde T konumunda ve C konumunda pembe-kırmızı çizgi görülmesi durumunda test pozitif, okuma penceresinin C konumunda pembe-kırmızı çizgi görülmesine rağmen T konumunda pembe-kırmızı çizgi görülmemesi negatif yorumlandı. Okuma penceresinde C

konumunda pembe-kırmızı çizgi görülmemesi veya arka plan renginin test yorumunu engellediği durumlarda test geçersiz olarak kabul edildi (Şekil 12).



Şekil 12: MTB'nin pozitif MGIT kültür tanımlanması

3.5. *Mycobacterium tuberculosis*'in Klinik Örnekten Moleküler Yöntemle Tanımlanması

Bakterinin PZR ile tespiti TB AMPLICOR (Roche Diagnostics) sistemi ile üreticinin talimatlarına göre çalışılarak yapıldı.

3.6. İlaç Duyarlılık Testi

MTB'nin STR, INH, RIF ve EMB'ye karşı duyarlılığını test etmek için, BACTEC MGIT 960 SIRE kiti üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı (54). Üretici firma tarafından liyofilize halde tedarik edilen ilaç (STR, INH, RIF, EMB) flakonlarının her biri 4 ml steril distile su ile sulandırılarak Tablo 12'de belirtilen ilaç konsantrasyonları elde edildi. Hazırlanan ilaç sulandırımından 100'er µl alınarak, OADC zenginleştirici sıvı eklenmiş olan MGIT tüplerine içerisine konuldu. Bu şekilde Tablo 12'de belirtilen son ilaç konsantrasyonlarına ulaşıldı.

3.6.1. Pozitif MGIT tüpünden inokulum hazırlanması

Hasta örneğinin ekilmiş olduğu ve MTB olarak tiplendirilen tüpten 100 µl alınıp yeni MGIT tüpüne aktarılarak alt kültür yapıldı. Yeni tüpte 4 günden daha kısa bir sürede pozitif üreme sinyali alındığında, kontaminasyon ihtimali değerlendirilerek yeni bir inokülasyon tüpü hazırlandı. Hazırlanan bu tüp, pozitifliği izleyen 1-5 gün içinde kullanıldı. Yeni MGIT tüpünün pozitiflik verdiği gün 0.gün

olarak kabul edildi. Bu tüp vorteksenerek iyice karıştırıldı ve içerisinden 100 µl alınarak 1:100'lük bir seyreltim hazırlandı. Bu süspansiyondan 500 µl alınarak, OADC eklenmiş MGIT tüpüne ekim yapıldı. Tüpün kapağı sıkıca kapatılarak 2-3 kez alt üst edildi. Tüp cihaza yerleştirilerek, pozitif oluncaya kadar inkübe edildi. Bu şekilde ilaçsız üreme kontrol (ÜK) tüpü hazırlanmış oldu. İlaçlı tüpler için, kontrol tüpündeki uygulamadan farklı olarak, alt kültürden seyreltme yapılmadan, ilaç ilave edilmiş olan tüplere direkt ekim yapılarak antimikrobiyal duyarlılık testi hazırlandı.

Tablo 12: Antimikrobiyal duyarlılık testi için ilaç konsantrasyonlarının hazırlanması

İlaç	Sulandırım sonrası elde edilen ilaç konsantrasyonu	MGIT tüplerine eklenen ilaç hacmi	MGIT tüplerindeki son ilaç konsantrasyonu
MGIT STR	83 µg/ml	100 µl	1.0 µg/ml
MGIT INH	8.3 µg/ml	100 µl	0.1 µg/ml
MGIT RIF	83 µg/ml	100 µl	1.0 µg/ml
MGIT EMB	415 µg/ml	100 µl	5.0 µg/ml

Kontaminasyon takibi için, hazırlanan ve inoküle edilen her süspansiyondan kanlı agara ekim yapıldı ve 37 °C'de inkübe edildi. Kanlı agar plağında üreme olduğunda, İDT setinin çalışması sonlandırıldı ve işlem saf kültürle tekrarlandı.

3.6.2. Sonuçların değerlendirilmesi

BACTEC MGIT cihazı, tüpler için duyarlı veya dirençli belirleme işlemi yapılabilmesi için ÜK tüpündeki üreme, 400 üreme indeksine ulaşana kadar sürekli olarak izledi. İlaç içeren tüplerdeki üreme indeksi, ÜK tüpündeki üreme indeksine eşit (400) veya ondan fazlaysa, izolatin ilaca dirençli olduğu kabul edildi. İlaç içeren tüpteki üreme indeksi değeri ÜK tüpünden daha az olduğunda, test edilen izolat ilaca duyarlı kabul edildi. ÜK tüpünde 4 günden önce üreme indeksi 400'e ulaştığında, antibiyogram tekrarı yapıldı. On üç günden sonra üreme gözlenmeyen kontrol tüpleri ise bakteri yoğunluğu yetersiz olarak değerlendirilerek ilgili izolat için antibiyogram tekrarı yapıldı.

3.6.3. Kalite kontrol

Duyarlılık testlerinde kalite kontrol olarak, denenen dört ilaca da duyarlı olduğu bilinen MTB H37Ra ATCC 25177 suğu kullanıldı.

3.7. İstatistiksel Analizler

Toplanan Veriler SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL,USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler aritmetik ortamala±standart sapma, sözel değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Sözel değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı ve tüm değerlendirmeler için $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Örnek ve Hasta Bilgileri

Ocak 2013-Şubat 2018 yılları arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen TB ön tanılı hastalara ait 7842 örnek işleme alınmıştır. Örneklerin %72.7'sinin solunum sistemine (balgam, bronkoalveoler lavaj, trakeal aspirat, açlık mide sıvısı) ait olduğu gözlenmiştir (Tablo 13). Değerlendirilen 7842 örneğin %67.4'ünün (5289/7842)erkek hastaya ait olduğu belirlenmiştir.

Tablo 13: Çalışmaya alınan örneklerin dağılımı

Örnek	Sayı	%
Balgam	2243	28.6
Bronkoalveoler lavaj	3022	38.5
Trakeal aspirat	9	0.1
Açlık mide sıvısı	428	5.5
Plevra	656	8.4
Periton	267	3.4
Sinovyal sıvı	124	1.6
Beyin omurilik sıvısı	160	2.0
İdrar	446	5.7
Doku	475	6.1
Apse	12	0.2
Toplam	7842	100.0

İşleme alınan 7842 örneğin %40'ının 65 yaş ve üzeri hastalara ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 14).

Tablo 14: Örneklerin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	Sayı	Yüzde
0-4	164	2.1
5-14	278	3.5
15-24	294	3.7
25-34	434	5.5
35-44	657	8.4
45-54	978	12.5
55-64	1908	24.3
>=65	3129	39.9
Toplam	7842	100.0

4.2. Mikroskopik İnceleme

İşleme alınan 7842 örneğin %2.7'sinde EZN boyama ile pozitiflik belirlenmiştir. Yıllara göre dağılımı incelendiğinde yıllar arasında örneklerde ARB pozitifliği bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Örneklerde belirlenen basil yükünün derecelendirilmesi Tablo 15' de gösterilmiştir.

Tablo 15: Örneklerin ARB pozitifliği yönünden değerlendirilmesi

ARB	YILLAR					Toplam
	2013	2014	2015	2016	2017	
1+	0	4	0	2	21	27
2+	4	3	4	2	7	20
3+	4	4	16	12	11	47
4+	5	3	3	0	1	12
+	30	24	25	26	2	107
Toplam	43	38	48	42	42	213

4.3. Mikobakteri Kültürü

Belirtilen tarihler arasında değerlendirilen 7842 örneğin 380'i (%4.8) MGIT'ta kültür pozitif bulunmuştur. MGIT'ta kültür pozitif bulunan 380 örneğin 373'ü (%98.2) LJ'de kültür pozitif bulunmuş, 4'ü LJ'de ürememiş ve 3'ü kontamine olmuştur. Her iki kültür yöntemi ile pozitiflik oranı %4.8 bulunmuştur (Tablo 16).

Tablo 16: Değerlendirilen örneklerin kültür sonuçlarının kıyaslanması

		LJ			
		Üreme yok	Üreme var	Kontamine	Toplam (%)
MGIT	Üreme yok	7221	0	53	7274 (95.3)
	Üreme var	4	373	3	380 (4.8)
	Kontamine	95	0	93	188 (2.4)
Toplam		7320	373	149	7842

2013-2018 yılları arasında pozitif kültür oranlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 17). Kültür pozitif 380 örneğin 263 hastaya ait olduğu, bu hastaların yedisi haricindekilerin (%97.3) önceden tedavi almamış yeni tanı konulan hastalar olduğu anlaşılmıştır. Kültür pozitif 380 örneğin 190 (%50)'ünün 65 yaş ve üzeri hastalara ait olduğu, kültür pozitifliğinin 65 yaş ve üzeri hastalarda istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur.

Tablo 17: Yıllara göre kültür pozitifliği n (%)

P<0.001	2013	2014	2015	2016	2017
LJ	83 (22.2)	87 (23.3)	76 (20.4)	56 (15)	71 (19)
MGIT	85 (22.4)	89 (23.4)	76 (20)	57 (15)	73 (19.2)

Kültür pozitifliğinin en fazla solunum sistemi örneklerinde ($p<0.001$) ikinci sırada steril vücut sıvısı örneklerinde bulunduğu belirlenmiştir (Tablo 18). İdrar örneklerinde kültür ve yayma pozitifliğinin sırasıyla %0.67 ve %0.67 olduğu belirlenmiştir. Kültür pozitif idrar örnekleri tamamında yayma pozitif bulunmuştur. Kültür negatif yayma pozitif örneklerin tedavi kapsamında olan hastalara ait olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda değerlendirilen steril vücut sıvısı örneklerinin %3.4'ü periton, %8.4'ü plevra, %1.6'sinovyal sıvı ve %2'si beyin omurilik sıvısı olmuştur (Tablo 13). Bu örneklerde kültür ve yayma pozitiflikleri sırasıyla %1.87, %3.20, %3.22, %1.25 ve %0, %0, %0.80, %0 bulunmuştur.

Tablo 18: Değerlendirilen örneklerin kültür ve yayma pozitifliği

Örnek	Kültür pozitif		Kültür negatif	
	Yayma Pozitif	Yayma Negatif	Yayma Pozitif	Yayma Negatif
Solunum sistemi	174	143	14	5070
Steril vücut sıvıları	1	31	0	1138
İdrar	3	0	0	382
Doku	3	21	1	435
Apse	0	1	0	11

Belirtilen süre içinde, TB tanısı amacıyla değerlendirilen örnekler içinde PZR istemi olan 303 örneğin 5 (%1.6)'i RT-PZR ile pozitif bulunmuş ve bunların tümünün kültürde üremesi olmuştur. PZR negatif olan 298 örneğin ise 9 (%3)'unun kültürde üremesi olmuştur. PZR negatif olan solunum örneklerinin %3.2'si, steril vücut sıvısı örneklerinin %2.9'u ve doku örneklerinin %4.4'ü kültürde üremesi olması nedeniyle TB bildirimini yapılmıştır.

Kültür pozitif 380 örneğin 90 (%23.7)'inin kadın hastalara, 290 (%76.3)'inin erkek hastalara ait olduğu belirlenmiştir. Kültür pozitif 380 örneğin 263 hastaya ait olduğu, bunlardan 71'inin kadın, 192'sinin erkek olduğu tespit edilmiştir. Kültür pozitifliğinin erkek hastalarda istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 19: Cinsiyete göre kültür pozitifliği

P<0.001		MGIT n (%)			Toplam
		Üreme yok	Üreme var	Kontamine	
Cinsiyet	Kadın	2412 (34.2)	90 (23.7)	51 (27.1)	2553
	Erkek	4862 (68.9)	290 (76.3)	137 (72.9)	5289
	Toplam	7061	380	188	7842

Kültür pozitifliği kadın hastalara ait solunum ve solunum dışı örneklerde sırasıyla %4.2 (66/1552) ve %2.4 (24/1001) iken erkek hastalara ait örneklerde sırasıyla %6.1 (254/4150) ve %3.2 (36/1139) bulunmuştur. Solunum örneklerinde kültür pozitifliği yüksekliği erkek hastalarda istatistiksel olarak anlamlı (p=0.004)

bulunurken solunum dışı örneklerde kültür pozitifliği bakımından cinsiyetler arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p=0.302).

4.4. İlaç Duyarlılık Testi

Belirtilen süre içinde çalışılan toplam 263 izolata antibiyogram yapılmıştır. Primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları Tablo 20’de gösterilmiştir. Cinsiyetler arasında belirlenen direnç oran farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 21). Beş yıllık süreç içinde %15.9 oranla en fazla izoniazide dirençli izolatlar olduğu belirlenmiştir. Yıllara göre primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir (Tablo 20) İzolatların 17 (%6.4)’si iki ilaca dirençli, 1 (%0.4)’i üç ilaca dirençli olarak bulunmuştur. ÇİD izolat sayısı 3 (%1.1) bulunmuştur. İzoniazid+rifampin+streptomisin dirençli bir izolat (%0.4) bulunduğu tespit edilmiştir. Dört ilaca dirençli izolat bulunmamıştır. (Tablo 22).

Tablo 20: Yıllara göre primer antitüberküloz ilaç direnci

İlaçlar	Yıllar					Toplam n (%)
	2013	2014	2015	2016	2017	
Streptomisin	2	3	12	2	6	25 (9.5)
İzoniazid	5	7	16	6	8	42 (15.9)
Rifampin	0	0	1	0	2	3 (1.1)
Etambutol	0	1	3	0	0	4 (1.5)

Tablo 21: Cinsiyetlere göre primer antitüberküloz ilaç direnci

İlaçlar	Cinsiyet		Toplam n	P değeri
	Kadın n (%)	Erkek n (%)		
Streptomisin	4 (5.6)	21 (10.9)	25	P=0.069
İzoniazid	13 (18.3)	29 (15.1)	42	P=0.123
Rifampin	0	3 (1.6)	3	P=0.098
Etambutol	1 (1.4)	3 (1.6)	4	P=0.118

Tablo 22: İzolatların primer antitüberküloz ilaçlara direnç durumu

Primer ilaçlar	Direnç n (%)
Streptomisin+izoniazid	8 (3)
Rifampin+izoniazid	3 (1.1)
Rifampin+streptomisin	1 (0.4)
Streptomisin+etambutol	1 (0.4)
Etambutol+izoniazid	4 (1.5)
İzoniazid+rifampin+streptomisin	1 (0.4)



5. TARTIŞMA

TB, tipik olarak akciğerleri etkilemekle birlikte (pulmoner TB), böbrek, kemik ve beyin gibi diğer organlara (ekstrapulmoner TB) da yayılım gösterebilmektedir. MTB ile enfekte olan tahmini 1.7 milyar insanın nispeten küçük bir kısmında (% 5-10) yaşamları boyunca TB hastalığı gelişmektedir. Bununla birlikte, önemli bir immün süpresyon nedeni olan AIDS hastalığı olan kişiler arasında TB gelişme olasılığı çok daha yüksektir. Ayrıca yetersiz beslenme, diyabet, sigara ve alkol tüketimi gibi faktörler de immün süpresyon oluşturmaları nedeniyle TB gelişimini kolaylaştırmaktadır. Genel olarak TB olgularının yaklaşık % 90'ı yetişkinlerde gözlenmekte, erkeklerde ise kadınlara göre daha fazla (2: 1) rastlanmaktadır (22).

DSÖ'nün Küresel TB Kontrolü 2018 yılı raporunda 10 milyon insanda (9.0-11.0 milyon aralığında) 2017 yılı içinde TB hastalığı geliştiği bildirilmiştir (22). Ülkemize ait veriler 2012 yılından itibaren DSÖ'ye düzenli olarak aktarılmaya başlanmıştır (72). Küresel Tüberküloz 2016 Raporu'na göre; toplam 12,772 tüberküloz hastasının 2015 yılında verem savaşı dispanserleri kayıtlarına girdiği, 2014 yılında yüz binde 17.2 olan olgu hızının 2015 yılında yüz binde 16.2'ye (-%5.8) düştüğü anlaşılmaktadır (11). Ülkemizde coğrafi bölgelere göre dağılım değerlendirildiğinde en yüksek olgu hızları Marmara ve Bartın (Karadeniz) bölgesinde (20-29.9) görülmektedir (Şekil 13) (7). Bunun nedeni olarak sanayinin etkisi, hava kirliliği, nüfusun yoğun olması ve aynı ortamı paylaşan insan topluluklarının artmasına bağlı olarak TB enfeksiyonuna açık olunması düşünülmüştür. Ayrıca Bartın bölgesi endüstriyel hammaddeler (kuvars kumu, kuvarsit) ve taşkömürü maden ocaklarına sahiptir (8). En düşük olgu hızı ise İç Anadolu ve Akdeniz Bölgelerindedir.

madencilerin 1136'sı bakteriyolojik olarak yeni aktif TB vakası olarak tespit edilmiş, ortalama insidans 100 000'de 150 (\pm 31) olarak hesaplanmıştır. Madenciler arasında tüberküloz riski aynı alanın genel nüfusuna göre üç kat daha fazla bulunmuştur (72).

Silika toza ve silikoza maruz kalma, aktif TB'nin gelişimi için iyi bilinen risk faktörleridir. Hem silikoz hem de TB, dünyanın birçok yerinde, özellikle madencilik hala büyük bir endüstri olduğu yerlerde yaygın ve eşlik eden hastalıklardır. Silikozis, maruz kalmanın kesilmesinden sonra bile ilerlemeye devam ettiğinden, olgular tanı anında sıklıkla ileri yaştadır (73). Madenciler kadar madencilik yerlerine yakın yerleşimlerde yaşayanlar da solunum yolu bozukluklarına karşı hassastırlar. Yapılan bir çalışmada, maden ve çevresindeki tüberküloz oranı ile ilişkili toz konsantrasyonu ve toz dozu analiz edilmiştir. Üç yıl boyunca (2005-2007) maden ve çevresinde çeşitli saha gezileri yapılmış, maden sahalarının çoğunda toz dozları güvenli tozdan (32 mg) daha fazla bulunmuştur. Bu çalışma TB olgularının yıllara göre önemli ölçüde arttığını ortaya koymuştur (74). Sağlık Bakanlığı Tüberküloz Daire Başkanlığı verilerine göre 2017 yılında Zonguldak ilinin tüberküloz insidansı (19.3) (596,892 nüfusta) Türkiye'nin tüberküloz insidansından (14.9) yüksek olduğu belirlenmiştir (7). İlimize yakın bir bölge olan Sakarya'da Terzi ve ark.'nın 2012-2017 yıllarını kapsayan çalışmasında 11194 klinik örnek değerlendirilmiş, örneklerin 466 (%4.1)'sında MTB tanımlanarak, İDT yapılmıştır. Klinik örneklerde MTB pozitifliği, 2012-2017 yılları arasında sırasıyla; %4.5, %3.4, %3.5, %4.6, %5.4 ve %3.1 bulunmuştur (75). Bizim çalışmamızda değerlendirilen 7842 örnekte kültür pozitifliği %4.8, 2013-2018 yılları arasında ise kültür pozitifliği sırasıyla %5.7, %5, %5.5, %3.8 ve %4.2 olarak belirlenmiştir. Yıllara göre kültür pozitifliğinde belirlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.001$) bulunmuştur.

TB olgularının üçte birini kadınlar, üçte ikisini erkekler oluşturmaktadır. TB yükü yüksek olan ülkelerde yapılan ulusal TB prevalans anketlerinin büyük çoğunluğu, erkekler arasında sistematik olarak daha yüksek TB hastalığı yükü olduğunu doğrulamıştır (76). Güneydoğu Asya, Batı Pasifik Bölgesi ve Afrika kıtasında yer alan 14 ülkeyi kapsayan 29 çalışma değerlendirildiğinde ülkeler arasında farklılık göstermesine rağmen kadın/erkek oranı 1'in altında bulunmuştur (77). Düşük ve orta gelirli ülkelerde cinsiyete bağlı sağlık hizmetlerine erişim sorunlarının değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasında, erkekler arasındaki TB

prevalansının kadınlardan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (78). Almanya ve ABD gibi cinsiyetler arasında sağlık hizmetlerine erişim bakımından belirgin bir farkın olmadığı TB yükü düşük olan ülkelerde de erkeklerdeki yüksek hastalık oranları belirgindir. Kadın ve erkeklerin TB bildirim hızlarındaki fark, erkeğin görevinin aile geçimini sağlamak olması nedeniyle ev dışında kadına göre daha çok zaman geçirerek TB'li olgularla aynı iş ortamlarını paylaşması ve bazı mesleki (madencilik gibi) risk faktörlerinin erkeklerde daha yüksek olması ve bu şekilde enfeksiyona açık hale gelmesinden kaynaklanabilmektedir (76). Diğer taraftan da, kadınlarda TB en çok rastlanan beş ölüm sebebinden biri olarak bildirilmektedir. (76, 79) Kadınların TB hakkında bilgisiz olmaları, toplum tarafından cinsiyet kısıtlamalarına maruz kalmaları ve toplumsal damgalanma kaygısı onların sağlık kuruluşuna başvurmalarını engellemektedir (80). Hindistan'da yapılan bir çalışmada, TB'li erkek hastaların eşlerinin kendilerine bakmalarını bekledikleri, ancak enfekte eşlerin nadiren tedavi aldıkları tespit edilmiştir. Bu nedenle, evli kadınlar yardım aramak yerine semptomlarını gizlemeye çalışabilmektedir (81). Türkiye genelindeki TB olgularının %56.5'i erkek, %43.5'i kadın olgulardır. Erkek/kadın oranı 1.3/1 bulunmuştur (11). Zonguldak ilinde 2003-2005 yılları arasında Aydın ve ark.'nın yaptığı çalışmada suşların izole edildikleri hastaların 101 (%80.8)'inin erkek, olduğu gözlenmiştir (82). Karadeniz Ereğli Verem Savaş Dispanserine ait 1997-2016 yılları arasındaki tüberküloz verilerine göre erkek kadın oranı 2.5/1 bulunmuştur (83). Bizim çalışmamızda 2013-2018 yılları arasında kültür pozitifliğinin erkek hastalarda istatistiksel olarak belirgin düzeyde yüksek ($P<0.001$) olduğu belirlenmiş ve erkek/kadın oranı 2.7/1 bulunmuştur. İlimizdeki erkek hasta oranının Türkiye geneline göre yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonucun ilimizdeki erkek hastaların maden çalışanı ve bununla ilişkili silikozis ve pnömokonyoza maruz kalmasına dayalı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda erkek hastaların mesleklerine yönelik detaylı bilgi elde edilememiştir.

Balgam, akciğer enfeksiyonu tanısında en sık kullanılan örnektir. Yayma duyarlılığını arttırmak için sabah balgamının alınması önerilmektedir. Gece boyunca uykuda iken, bakteri akciğerde konsantre olmakta, sabah alınan balgam ile izolasyon şansı artmaktadır. Karadeniz Ereğli Verem Savaş Dispanserine ait 1997-2016 yılları arasındaki TB verilerine göre olguların %74'ünün akciğer TB'si olduğu gözlenmiş, akciğer TB'li olgularda yayma pozitiflik oranı ortalama olarak ilk dört yılda %20.3

iken, sonraki 16 yılda %67.6 bulunmuş, yayma pozitifliğindeki artışa yönelik bir yorum yapılmamıştır (83). Mevcut uygulamada, pulmoner TB tanısında üç farklı balgam örneğinin incelenmesi önerilse de çalışmalar yayma pozitif olguların %95'ten fazlasının ilk iki örnekte yakalandığını göstermektedir (38). Genel olarak olguların %85'i ilk, %11.9'u ikinci örnekte tespit edilmektedir. İlk iki örnek yayma negatif olduğunda üçüncü örneğin tanıya katkısı %3.1 bulunmuş, bu veriye dayanak DSÖ uluslararası önerisini iki örnek olarak değiştirmiştir (84). Kurumumuzda da ulusal rehber önerisi doğrultusunda halen üç örnek değerlendirilmektedir. Çocuklarda balgam çıkarma güçlüğü nedeniyle açlık mide sıvısı tercih edilen örnektir. Balgam çıkaramayan hastalarda bronkoalveoler lavaj önerilmektedir (85). Bizim çalışmamızda incelenen örneklerin %28.6'sı balgam, %38.5'nin bronkoalveoler lavaj, %0.1'nin trakeal aspirat, %5.5'inin açlık mide sıvısı ve kültür pozitif örneklerin %84.2'sinin solunum sistemi örneği olduğu belirlenmiş, kültür pozitif örneklerde yayma pozitiflik oranı % 47.6 bulunmuş (181/380), yıllara göre dağılımı incelendiğinde yıllar arasında örneklerde yayma pozitifliği bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Solunum dışı örneklerden idrar, balgam gibi üç ardışık örnek olarak istenmekte, tespit duyarlılığının artırılması için bu örneklerin benzer şekilde gece boyunca mesanede beklemiş ve basil konsantrasyonu yüksek olan sabah ilk idrarı olması önerilmektedir (86). Çalışmamızda örneklerin %5.7'sinin idrar olduğu, idrar örneklerinde kültür ve yayma pozitifliğinin sırasıyla %0.67, %0.67 olduğu belirlenmiştir. Kültür pozitif idrar örneklerinde yayma pozitifliği %100 bulunmuştur. Steril vücut sıvıları (beyin omurilik sıvısı, plevral sıvı, perikardiyal sıvı ve snovyal sıvı) tüberküloz tanısı için yararlı olan diğer örnekler olmakla birlikte az sayıda bakteri içermeleri nedeniyle fazla miktarda örnek alınması önerilmektedir. Çalışmamızda değerlendirilen örneklerin %3.4'ü periton, %8.4'ü plevra, %1.6'si sinovyal sıvı ve %2'si BOS olmuştur. Bu örneklerde kültür ve yayma pozitiflikleri % 1.87, %0 ve %3.20, %0 ve %3.22, %0.80 ve %1.25, %0 bulunmuştur. Steril vücut sıvılarının mikroskobisinin tanısal yararının çok düşük olduğu gözlenmiştir.

Tüberküloz kültürü geleneksel olarak yumurta bazlı bir katı besiyeri olan LJ ile yapılmaktadır. MTBC üremesi için iyi bir besiyeri olan LJ halen pek çok laboratuvar tarafından kullanılmaktadır. Bazı laboratuvarlarda daha hızlı üreme

sağlaması bakımından agar bazlı besiyerleri tercih edilmektedir. MTBC tipik olarak katı besiyerinde sıvı besiyerine göre daha yavaş üreme özelliğinde olmasına rağmen koloni morfolojisinin gözlenebilmesi ve bunun da bakterinin tanımlanması bakımından önemli olması nedeniyle katı besiyerleri avantaj sağlamaktadır. MTBK kolonileri tipik olarak kuru, beyaz-krem renkli ve buruşuk kolonilerdir. MTBK'nın tüm üyeleri pigment oluşturmamaları nedeniyle besiyerinde herhangi bir pigment gözlenmesi NTM lehine kabul edilmektedir. Diğer yandan, sıvı besiyerinde bakterinin daha hızlı üremesi yaklaşık 10 gün zaman kazandırmaktadır. Çalışmamızda kullanılan BACTEC 960 sistemi besiyerlerinin üreme bakımından günlük kontrolünün sağlanabildiği otomatize bir sistemdir (1). Bu sistem, 14,745 örnekten elde edilen 1381 izolatin değerlendirildiği bir meta-analiz ile %81.5 analitik duyarlılığa sahip bulunmuştur. Aynı çalışmada LJ analitik duyarlılığı ise %67 olarak belirtilmiştir (87). Bizim çalışmamızda örneklerde kültür pozitifliği LJ ve BACTEC 960 ile aynı oranda bulunmuştur. Kontaminasyon düzeyi değerlendirildiğinde LJ ve MGIT ortamlarındaki kontaminasyonun sırasıyla %1.9 ve %2.4 olduğu belirlenmiştir. Kontaminasyon oranları kabul edilebilir sınırların içinde olmakla birlikte sıvı kültür ortamında beklendiği gibi bir miktar yüksek bulunmuştur.

Daha önce hiç TB tedavisi almamış ya da bir aydan daha kısa bir süre tedavi almış olgular yeni olgu olarak, daha önce en az bir ay tedavi görmüş (nüks, tedavi başarısızlığından ve tedaviyi terkten dönen ve kronik olgular) olgular ise eski olgu olarak tanımlanmaktadır (88). Aydın ve ark.'nın 2003-2005 yılları arasında ilimizde yaptığı çalışmada izole edilen 125 suşun 99 (%79.2)'unun yeni tanı konulmuş, 14 (%11.2)'ünün daha önce tanı konulmuş ve tedavi almış hastalardan elde edildiği bildirilmiştir (82). Bizim çalışmamızda izole edilen 263 suşun, 256 (%97.3)'ünün yeni tanı konulmuş, 7 (%2.7)'sinin daha önce tanı konulmuş ve tedavi almış hastalara ait olduğu gözlenmiştir. DSÖ 2017 Türkiye verilerine göre, ülkemizde 2017 yılında bildirilen olgu sayısı 12,046, toplam yeni ve nüks olgu sayısı 1821'dir. Olguların %87'sinin tedavi kapsamında olduğu anlaşılmaktadır. 2016 yılında tedavi başarı oranı %87 olarak kaydedilmiştir (22).

Türkiye'de 2005-2015 yılları arasındaki TB olgularında yaşlara göre olgu hızları değerlendirildiğinde 44 yaş ve üzerinde olgu hızında belirgin bir artış olduğu gözlenmektedir. En yüksek olgu hızları 65 yaş ve üstü hastalarda elde edilmiştir (11).

Yaşlı nüfusta (65 yaş ve üzeri) hastalığın fazla olması, geçmişteki karşılaşmanın etkisi ile enfekte olmuş insanların yaşlanınca hastalandığını ve yeni bulaşmanın olmadığını göstermektedir. Yaşlılarda TB hastalığı daha çok latent infeksiyonun reaktivasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Yaşlanma, TB hastalığı gelişimi için risk faktörü olmamakla beraber, yaşlanmaya bağlı hücrel ve humoral immünitedeki zayıflama, eşlik eden ko-morbid hastalıklar (diabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, gastrektomi, malignite, malnütrisyon), immüsupresif tedavi kullanımı ve huzurevi, bakımevi gibi toplu yaşanan yerlerde bulunma nedeniyle yaşlılarda TB hastalığı gelişme riski oldukça yüksektir (89). Bizim çalışmamızda hastalarımızın %23'ünün 15-44 arasında olduğu belirlenmiştir. Altmış beş yaş ve üstü hasta oranı %40 bulunmuştur. Bu verilere göre, Zonguldak ili hastalarının yaş dağılımı literatür ve ülke geneli sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

DSÖ, TB'yi önlemek ve yönetmek için çeşitli politikalar geliştirmiştir. TB'nin büyük yükü, düşük ve orta gelirli ülkeler arasında ve özellikle küresel TB vakalarının % 90'ından fazlasının ve ölümlerin meydana geldiği tahmin edilen gelişmekte olan ülkeler arasında bulunmaktadır. Özellikle, sağlığın üç sosyal belirleyicisi, yani düşük eğitim, düşük gelir ve alkol bağımlılığı, düşük gelirli ülkelerde oldukça yaygın sorundur. Düşük eğitim, düşük gelir ve alkol kullanımı TB hastalarında tedavi başarısızlığının ve ÇİD'in önemli bir nedenidir (2). Toplum sağlığı açısından TB'nin bulaşmasını engellemek için, olguların tedavi edilmesi gereklidir. TB tedavisi için en az 6-8 ay gibi uzun bir zamana ihtiyaç vardır. Tedavi sürecinin uzun olması ve tedaviye başladıktan sonra bir iki hafta içinde hastaların iyileştiklerini zannedip tedaviyi bırakmaları (nüks, çok ilaca dirençlilik, kronikleşme) bulaştırıcılığın devam etmesine sebep olmaktadır (90). Bu nedenle 1997 yılından itibaren ülkemizde Doğrudan Gözetimli Tedavi (DGT) uygulaması yapılmaktadır (91). DGT, TB hastalarına ilaçlarının bir başkasının gözetimi altında yutturulmasıdır (92). Amaç, hastanın ilacı düzenli ve eksiksiz bir şekilde almasını ve tedavinin tamamlanmasını sağlamaktır (93). Zonguldak Verem Savaş Derneği'nin çalışmalarına göre 1975-1984 yıllarında ilimizde STR ve INH direnci sırasıyla %23 ve %18.0, 1984-1989 yıllarında sırasıyla %6.8 ve %10.1 bulunmuştur (94). Süreç içinde direnç oranlarında belirgin bir düşüş olduğu gözlenmektedir (Tablo 23). Kart ve ark.'nın Zonguldak ve Kayseri illerinin izolatlarını değerlendirdikleri çalışmalarında 1972-1981 yıllarında STR ve INH direnci sırasıyla %14.8 ve %9.8,

1982-1991 yıllarında %14.4 ve %14.2, 1992-1999 yıllarında %21.1 ve %14.4 bulunmuştur (95). Bu bildirimlerde 1992-1999 yıllarında direnç oranları önceki yıllara göre artmış olarak gözlenmesine rağmen bu oranların Zonguldak ve Kayseri illerinin toplam izolat bilgilerine göre yapılmış olduğu ve araştırmacılar tarafından bir yorum yapılmadığı gözlenmiştir. İlimizde Aydın ve ark.'nın çalışmasına göre 2003-2005 yılları arasında STR ve INH direnci sırasıyla %19.2 ve %23.2 olarak belirlenmiştir (82). Bizim çalışmamızda, toplam 7842 örnekte 380 kültür pozitif ve 263 olguyu kapsayan, STR, INH, RIF ve EMB'ye direnç sırasıyla %9.5, %15.9, %1.1 ve %1.5 bulunmuştur. Bulgularımızın Aydın ve ark.'nın ilimizde daha önce belirledikleri direnç oranlarına göre belirgin olarak düşük olması TB'nin ülkemizdeki kontrolü için DGT gibi yüksek performans gerektiren çabaların başarısı olarak düşünülmüştür. Çalışmamızda kurumumuzun 2015 yılından itibaren iç ve dış kalite kontrol uygulamaları ile düzenli olarak kontrol altında olduğu ve kayıtların da daha düzenli tutulduğu belirlenmiştir. Ülkemizin 2015 yılı genel verilerine göre STR direncinin bir miktar düşük, INH direncinin ise bir miktar yüksek olduğu gözlenmiştir. DSÖ 2018 Global TB raporuna göre dünya genelinde rifampin direnci yeni tanı alan hastalarda %24 iken, önceden tedavi almış olan hastalarda %70 olarak bildirilmektedir. Direncin kıtalara göre değerlendirmesi yapıldığında yeni olgularda Doğu Akdeniz ve Batı Pasifik ülkelerinde sırasıyla %14 ve %17, Afrika ve DSÖ üyesi olan Amerika kıtası ülkelerinde sırasıyla %23 ve %31, Rusya Federasyonu ve Avrupa ülkelerinde ise sırasıyla %42 ve %56 olduğu gözlenmektedir. Önceden tedavi gören olgularda direnç oranları bu oranların oldukça üzerindedir. ÇİD izolatlar değerlendirildiğinde yine aynı rapora göre yeni olgularda %3.5 iken önceden tedavi almış hastada %18 olduğu belirlenmiştir (22)

Tablo 23: İlimizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları

	Suş	STR	RIF	INH	EMB	Tarih	
ZVSD (94)	735	23.0		18.0		1975-1984	Zonguldak
ZVSD (94)	59	6.8	5.0	10.1	1.7	1984-1989	Zonguldak
Kart ve ark. (95)	2172	14.8		9.8		1972-1981	Zonguldak- Kayseri
Kart ve ark. (95)	683	14.4	10.5	14.2	2.7	1982-1991	Zonguldak- Kayseri
Kart ve ark. (95)	863	21.1	10.6	14.4	2.4	1992-1999	Zonguldak- Kayseri
Aydın ve ark. (82)	125	19.2	8.0	23.2	4.0	2003-2005	Zonguldak
Bizim çalışmamız	263	9.5	1.1	15.9	1.5	2013-2018	Zonguldak
Ülkemiz geneli (11)	5629	11.3	5.4	13.7	4.4	2015	Türkiye

ZVSD: Zonguldak Verem Savaş Dispanseri

DSÖ verilerine göre Türkiye genelinde TB olgularının %4.1'inin ÇİD TB olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 24). Ülkemizden farklı bölgelerden yapılan bildirimler de bu oran ile benzerlik göstermekle birlikte, coğrafi farklılıklar olduğu dikkati çekmektedir (75, 99, 100, 101, 102, 107, 109, 111, 114, 115, 116). Bizim çalışmamızda (2013-2018) ÇİD oranı %1.1 bulunmuştur. Bu oranın ilimizde daha önceki yıllarda yapılan bildirimlere (95, 82) göre düşük olmasının tedavi ve korunma konusunda alınan önlemlerinin başarısına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Ülkemizde oluşturulan Tüberküloz Laboratuvar Sürveyans Ağı (TULSA) çalışmaları, TB kontrolüne laboratuvarın (doğru ve zamanında tanı, doğru ve zamanında tedavi) ve laboratuvar ağının katkısının (laboratuvar kapasitesi ve geliştirilmesi) sağlanması ve ülke genelinde ilaca dirençli TB olgularının direnç yükünün belirlenmesini amaç edinmiştir. TULSA, kültür pozitif TB hasta verilerinin paylaşıldığı web tabanlı bir sistemdir (96). TB tanı laboratuvarları, Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı (UTRL)'na yolladıkları izolatlara ait tüm sonuçları bu web sitesinden takip edebilmektedir. Bu web sitesine 2016'dan beri laboratuvarımız tarafından düzenli olarak hasta verilerini aktarılmaktadır. Bu çalışmada izole edilen ÇİD suşunun (2017 yılında) UTRL'ye gönderilerek sonucun doğrulanması sağlandığı belirlenmiştir.

Tablo 24: Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen primer antitüberküloz ilaç direnç oranları (%)

Yıl	INH	RIF	STR	EMB	ÇİD	Suş sayısı	Bölge	Kaynak
1982-1991	14.2	10.5	14.4	2.7	7.3	683	Zonguldak-Kayseri	95
1992-1999	14.4	10.6	21.1	2.4	6.6	863	Zonguldak-Kayseri	95
1998-2004	24.6	15.8	9.9	18.8	14.7	442	Trabzon	97
1998-2001	13.9	2.9	1.9	3.4	12.9	201	Gaziantep	98
1999-2000	14.8	3	2.5	10.7	2.7	363	İstanbul	99
1999-2001	9	4.5	2.2	1.5	3	134	Edirne	100
1999-2004	19.9	4.1	5.2	2.5	2.5	385	Sivas	101
2000-2002	6.8	9.3	5.1	4.2	1.7	237	İzmir	102
2000-2004	8.0	4.8	11.3	0.0	4.8	62	Düzce	103
2001-2003	24	11	13	10	8	100	Diyarbakır	104
2003-2005	23.2	8.0	19.2	4.0	8	125	Zonguldak	82
2004-2006	6.0	2.7	2.7	2.3	9.7	216	Gaziantep	105
2004-2011	8.5	2.5	0.3	0.3	4.6	284	Eskişehir	106
2005-2007	10.4	3	0.7	0.7	2.2	134	Edirne	107
2005-2010	6.1	0.5	5.2	2.4	4.8	212	Trabzon	108
2005-2010	2.9	0.5	2.1	3.2	2.1	373	Adana	109
2006-2009	15.2	5.8	2.7	6.6	4.7	257	İstanbul (GATA)	110
2006-2010	3.7	1.1	3.7	0.5	1.6	189	Sivas	111
2007-2008	13	0.0	4	3	5	157	Kocaeli	112
2009	12.5	7.7	0.9	5.8	5.8	104	İstanbul-Ankara	113
2009-2012	14.9	6.2	9.5	7.9	4	275	Kayseri	114
2011-2017	20	5.2	9.6	8.2	4	251	İstanbul	115
2012-2017	9.8	4.1	7.7	4.0	4.1	466	Sakarya	75
2014-2015	6.4	9	4.5	4.5	2.6	266	Konya	116
2013-2018	15.9	1.1	9.5	1.5	1.1	263	Zonguldak	Bizim çalışmamız
2015	13.7	5.4	11.3	4.4	4.1	5629	Türkiye	11

Çalışmamızda değerlendirilen tarih sürecinde, kurumumuzda hastane bilgi işletim sisteminde 2013-2014 yılları arasında TB tetkik istemlerinin, mikroskopi, katı kültür ve sıvı kültür olarak farklı kodlar ile yer alması nedeniyle istemlerin birbirinden bağımsız olarak yapıldığı, bütünlük gözlenmediği anlaşılmıştır. Bu durum bazı hastalardan sadece mikroskopi, bazılarında ise sadece kültür ya da mikroskopi ve katı kültür isteminin yapılmasına neden olmuştur. On altı örneğin sadece PZR istemi yapılmış olup, istemi olmadığı için ARB ve kültürleri çalışılmamış olduğu belirlenmiştir. İki yüz on üç örnek ARB ve katı kültür istemleri olduğu için sıvı kültür çalışılmamış hastalara ait örneklerdir. Bu nedenle sonuçların birbirleriyle tam olarak kıyaslanmasının yapılması mümkün olmamıştır. Duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olması nedeniyle, mikroskopi TB tanısında bir yardımcı özellikte olup kültürün yerine geçmemektedir (47). Bu yüzden mikroskopi ile kültür eş zamanlı olarak yapılması önerilmektedir (1) . Kültürün katı ve sıvı besiyerlerinde kombine olarak yapılmasının mikobakterilerin yakalanma şansını artırdığı bildirilmektedir (45, 117). Bu öneriler doğrultusunda kurumumuzda 2014 yılı ortalarından itibaren bu tetkiklerin hepsi tek bir kod altında toplanmış TB yönünden incelemesi istenen hasta örneğinin mikroskopi, katı ve sıvı kültürün eş zamanlı istem yapılması sağlanmıştır. Bundan sonra tüm örneklerin sağlıklı değerlendirilmesi yapılabilmiş, enfeksiyon tanısında laboratuvarın daha etkin olması sağlanmıştır. Bu çalışmada katı besiyerinde negatif olan 7 örneğin sıvı besiyerinde üremesine bağlı olarak TB bildirimini yapıldığı belirlenmiştir. Bu sonuç, öneriler doğrultusunda çalışmanın yararının fark edilmesini sağlamıştır.

Çalışmamızda 2013-2018 yılları arasında değerlendirilen örnekler içinde PZR istemi olan 303 örneğin 5 (%1.6)'i RT-PZR ile pozitif bulunmuş ve bunların tümünün kültürde üremesi olmuştur. PZR negatif olan 298 örneğin ise 9 (%3)'ünün kültürde üremesi olmuştur. PZR negatif olan solunum örneklerinin %3.2'si, steril vücut sıvısı örneklerinin %2.9'u ve doku örneklerinin %4.4'ü kültürde üremiştir. PZR negatif olan idrar örneklerinin kültürlerinde üreme olmamıştır. Nükleik asit amplifikasyon testleri 2000'li yıllar başından itibaren TB tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Roche Diagnostics tarafından geliştirilen COBAS Amplicor PZR sistemi ilk ticari otomatize nükleik asit amplifikasyon sistemi olarak kullanılmıştır. Bu sistem yayma pozitif örneklerde mükemmel bir duyarlılık gösterirken yayma negatif örneklerde orta duyarlılıkta bulunmuş, bu sistem için özgüllük düzeyi iyi ve

inhibisyon oranları kabul edilebilir olarak bildirilmiştir. Ardından, yine Roche Diagnostics tarafından geliştirilen bir Real Time PZR sistemi olan COBAS TaqMan kullanıma girmiştir. TB tanısı için COBAS TaqMan MTB, 16S rRNA geninin bir segmentini hedeflemektedir. 2010 yılından beri yapılan bildirimlerde bu sistem üzerine kabul edilemez düzeyde kültür ile uyumsuz sonuçlar mevcuttur. Bunun nedeni olarak da, örneklerin standart kurallara uygun olmaması ve/veya örneklerin yayma mikroskopisi (pozitifliği ve pozitiflik düzeyi) öne sürülmüştür. Bu sistem genel olarak solunum örnekleri için önerilmiş olmasına rağmen solunum dışı örneklerde de kullanılabilir (118). Kim ve ark.'ı tarafından 247 hastadan alınan toplam 406 örnek eş zamanlı olarak kültür, Cobas Amplicor MTB PZR ve TaqMan MTB PZR ile test edilmiş, TaqMan ve Amplicor MTB PZR için duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPV) ve negatif (NPV) prediktif değerleri sırasıyla % 79.1,% 98.2,% 73.1 ve% 98.7 ve % 58.3,% 99.5,% 87.5 ve% 97.4 bulunmuştur. Cobas TaqMan MTB PZR testi M. tuberculosis kompleksinin saptanması için Amplicor MTB PZR testinden daha yüksek hassasiyet göstermiştir. (119). Yang ve ark. (2011), 446 hastadan alınan 1093 örneğin değerlendirdiği ve kültürün referans alındığı çalışmada Cobas TaqMan MTB testinin genel duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla % 91.5 ve% 98.7 bulmuştur (120). Tayvan'daki 586 solunum örneğinin değerlendirildiği ve referans yöntem olarak kültür kullanıldığı bir çalışmada, Cobas TaqMan MTB testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla% 82.7 ve% 96.5 olarak bulunmuştur (121). COBAS TaqMan (Real Time PZR)'nın solunum ve solunum dışı örneklerdeki performansının değerlendirildiği bir metaanaliz çalışmasında, 1900'ü kültür pozitif ve 20983'ü kültür negatif toplam 22883 solunum örneğinde özet tahmini duyarlılık ve özgüllük sırasıyla 0.808 (0.758-0.850) ve 0.990 (0.981-0.994) olarak değerlendirilmiştir. Duyarlılık ve özgüllük yayma pozitif örnekler için sırasıyla 0.952 (0.526-0.969) ve 0.916 (0.797-0.969), yayma negatif örnekler için ise sırasıyla 0.600 (0.459-0.726) ve 0.989 (0.981-0.993) olarak değerlendirilmiştir. Aynı çalışma içinde solunum dışı örneklerin bulunduğu (307'si kültür pozitif ve 3809'u kültür negatif) 7 makale değerlendirilmiş, özet tahmini duyarlılık ve özgüllük sırasıyla 0.586 (0.437-0.721) ve 0.984 (0.955-0.994) olarak belirlenmiştir. Tanısal yararı solunum sistemi örneklerinden düşük ancak kabul edilebilir düzeyde bulunmuştur (118). DSÖ 2008'den beri üç tip hızlı NAAT önermektedir. Bunlar birinci ve ikinci basamak ilaçlara direncin tespiti için kullanılan LPA, kartuş bazlı otomatize bir sistem olan Xpert MTB/RIF ve bir izotermal amplifikasyon yöntemi olan manuel TB-LAMP

testidir (1). Buna rağmen düşük ve orta gelişmişlik seviyesindeki ülkeler bu testlerden yeterince yararlanılamamakta, 2016 yılında bile, gelişme düzeyi orta ve düşük olan ülkelerde mikroskopi TB tanısında en yaygın kullanılan test olarak bildirilmektedir (6).

Karadağ ve ark.'nın Mayıs 2008 ve Şubat 2011 tarihleri arasında 182 pulmoner ve 521 ekstrapulmoner toplam 703 örneğin değerlendirilerek kültürün altın standart olarak kabul edildiği çalışmada, pulmoner örnekler için BD ProbeTec ET ve EZN'nin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla% 100, % 98,8, % 87,5, % 100 ve % 71,4, % 98,8, % 83,3, % 97,6 olarak bulunmuştur. Akciğer dışı örnekler için ise BD ProbeTec ET ve EZN'nin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla % 80, % 98,7, % 76,9, % 98,9 ve % 24, % 98,3, % 42,8, % 96,2 olarak elde edilmiş, BD ProbeTec ET sisteminin EZN'den daha güvenilir olduğu bildirilmiştir (122).

Genel olarak solunum yolu örnekleri için moleküler testlerin güvenilirliğinin yayma negatif örneklerinde, pozitif örneklere göre daha az olduğu bildirilmektedir (103). Bizim çalışmamızda 2013-2018 yılları arasında değerlendirilen örnekler içinde PZR istemi olan 303 örneğin 5'i RT-PZR ile pozitif bulunmuş ve 5'inde kültürde üremesi olmuş ve örnekler yayma negatif olarak değerlendirilmiştir. Üç yüz üç örnekten yayma negatif ve kültür pozitif olan 9 örnekte (2 akciğer, 3 steril vücut sıvısı, 4 doku) PZR ile M. tuberculosis belirlenememiştir. Bu nedenle ve aynı zamanda NTM üremesini de sağlaması ve izolattan antimikrobiyal duyarlılık testi yapılma imkanı vermesi nedeniyle PZR negatif olan örneğe kültür yapılması gerekmektedir (1). Moleküler direnç testi ve konvansiyonel test sonuçları arasında uyumsuzluk olduğunda da, uyumsuzluk çözülmeye kadar konvansiyonel test sonucu dikkate alınması tercih edilmesi önerilmektedir (123).

6. SONUÇ

- 1- 2013-2018 (Şubat) arasında 5 yıl iki aylık süreçte 7842 hasta örneği (%72.7 akciğer, %15.4 steril vücut sıvısı, %6.1 doku ve %5.7 idrar) incelendi. Akciğer örneklerinin %53'ü (3022) BAL %39.5'i (2243) balgam, %7.5'i (428) AMS ve %0.15'i (9) trakeal aspirattır.
- 2- Değerlendirilen örneklerin %67.4'ü erkek (5289), %32.6'sı (2553) kadın ve %40'ının 65 yaş ve üzeri hastalardan gönderilmiştir.
- 3- Örneklerde yayma pozitiflik oranı %2.7 olarak bulundu.
- 4- Kültür pozitifliği akciğer örneklerinde %5.6, steril vücut sıvı örneklerinde %2.7, doku örneklerinde %5.1 ve idrar örneklerinde %0.7 olarak belirlendi.
- 5- Her iki kültür yöntemi ile pozitiflik oranı %4.8 bulundu. LJ ile negatif bulunan 7 hasta MGIT ile tespit edildi.
- 6- Toplam kontaminasyon oranları LJ ve MGIT için sırasıyla %1.9 ve %2.4 olarak belirlendi.
- 7- Kültür pozitif 380 örneğin 263 hastaya ait olduğu, bu hastaların yedisi haricindekilerin (%97.3) önceden tedavi almamış yeni tanı konulan hastalar olduğu anlaşıldı.
- 8- Kültür pozitif 380 örneğin 190 (%50)'ünün 65 yaş ve üzeri hastalara ait olduğu bulundu.
- 9- Kültür pozitif 380 örneğin 263 hastaya ait olduğu, bunlardan 71'inin kadın, 192'sinin erkek olduğu tespit edildi. Kadın hastalara ait solunum sistemi örneklerinde kültür pozitifliğinin %4.2 ve solunum dışı örneklerinde kültür pozitifliğinin %2.4, erkek hastalara ait solunum sistemi örneklerinde kültür pozitifliğinin %6.1 ve solunum sistemi dışı örneklerinde kültür pozitifliğinin %3.2 olduğu belirlendi.
- 10- Kültür pozitifliğinin en fazla solunum sistemi örneklerinde, ikinci sırada ise steril vücut sıvısı örneklerinde olduğu belirlendi. İdrar örneklerinde kültür ve yayma pozitifliğinin sırasıyla %0.67 ve %0.67 olduğu belirlendi. Kültür pozitif idrar örnekleri tamamında yayma pozitif bulundu.
- 11- Çalışmamızda değerlendirilen steril vücut sıvısı örneklerinin %3.4'ü periton, %8.4'ü plevra, %1.6'sinovyal sıvı ve %2'si beyin omurilik sıvısı olmuştur. Bu örneklerde kültür ve yayma pozitiflikleri sırasıyla %1.87, %3.20, %3.22, %1.25 ve %0, %0, %0.80, %0 bulundu.

- 12- Değerlendirilen süre içinde 303 hastadan PZR istemi yapılmıştır. Beş örnek (%1.6) (1 akciğer ve 4 doku) PZR pozitif bulundu ve bunların tümünün kültüründe üremesi oldu. PZR negatif bulunan 9 örnek (%3) (2 akciğer, 3 steril vücut sıvısı, 4 doku) kültüründe üremesi oldu. PZR negatif olan solunum örneklerinin %3.2'si, steril vücut sıvısı örneklerinin %2.9'u ve doku örneklerinin %4.4'ünün kültürde üremesi olması nedeniyle TB bildirim yapıldı.
- 13- Belirtilen süre içinde çalışılan toplam 263 izolata antibiyogram yapıldı.
- 14- STR, EMB, INH ve RIF dirençleri sırasıyla %9.5, %1.5, %15.9 ve %1.1 olarak belirlendi.
- 15- Beş yıllık süreç içinde %15.9 oranla en fazla izoniazide dirençli izolatlar olduğu tespit edildi.
- 16- Sekiz izolat STR+INH, 3 izolat RIF+INH, 1 izolat RIF+STR, 1 izolat STR+EMB, 4 izolat EMB+INH ve 1 izolat INH+RIF+STR'ye dirençli bulundu.
- 17- İzolatların 17 (%6.4)'si iki ilaca dirençli, 1 (%0.4)'i üç ilaca dirençli olarak bulundu.
- 18- ÇİD izolat sayısı 3 (1.1) bulundu.
- 19- INH+RIF+STR dirençli bir izolat (%0.4) bulunduğu tespit edildi.

7. KAYNAKLAR

1. Caulfield AJ, Wengenack NL. Diagnosis of active tuberculosis disease: From microscopy to molecular techniques. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases* 4: 33–43, 2016.
2. Gennaro FD, Pizzol D, Cebola B, Stubbs B, Monno L, Saracino A, Luchini C, Solmi M, Segafredo G, Putoto G, Veronese N. Social determinants of therapy failure and multi drug resistance among people with tuberculosis: A review. *Tuberculosis* Volume 103, Pages 44-51, March 2017
3. Yuksel P, Saribas S, Bagdatli Y. Comparison of the VersaTrek and BACTEC MGIT 960 systems for the contamination rate, time of detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 5(9), pp. 985-989, 2011.
4. Parsons LM, Somoskövi A, Gutierrez C, Lee E, Paramasivan CN, Abimiku A, Spector S, Roscigno G, Nkengasong J. Laboratory Diagnosis of Tuberculosis in Resource-Poor Countries: Challenges and Opportunities. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 24(2), p. 314–350, 2011.
5. Campbell PJ, Morlock GP, Sikes RD, et al. Molecular detection of mutations associated with first- and second-line drug resistance compared with conventional drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 55(5):2032–2041, 2011.
6. Kik SV, Denkinger CM, Chedore P, et al. Replacing smear microscopy for the diagnosis of tuberculosis: what is the market potential? *Eur Respir J.*, 43(6):1793–1796, 2014.
7. T. C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Tüberküloz Dairesi Başkanlığı. Sağlık Personeli Eğitim Sunusu 2019 A.
8. Maden Tetkik ve Arama Genel Müdürlüğü, Bartın İli Maden ve Enerji Kaynakları. http://www.mta.gov.tr/v3.0/sayfalar/bilgi-merkezi/maden_potansiyel_2010/Bartın_Madenler.pdf. Erişim Tarihi: 13.05.2019
9. Tor M. Kömür işçisi pnömokonyozu. *Klinik gelişim*, cilt 23, sayı 4: 38-48, 2010.
10. T. C. Zonguldak Valiliği, Taşkömürü. www.zonguldak.gov.tr/taskomuru Erişim Tarihi: 21.05.2019
11. Türkiye’de Verem Savaşı 2017 Raporu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1091 Ankara, 2017
12. Stead WW. Epidemiology of the Global Distribution of Tuberculosis. In: Koprowski H, Oldstone MBA. Eds. *Microbe Hunters. Then and Now*. Medi-Ed Pres; 23: 311-317, 1996.

13. Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. Proc Natl Acad Sci USA; 19: 3684-9, 2002.
14. Barış Yİ. Dünyada Tüberkülozun Tarihi. Toraks Dergisi ; 3(3): 338-340, 2002.
15. Daniel TM. The history of tuberculosis. Respiratory Medicine, ISSN: 0954-6111, Vol: 100, Issue: 11, Page: 1862-1870, 2006.
16. Seber E. Tüberkülozun Dünü. Ankem Derg; 24(Ek 2):52-60, 2010.
17. Dormandy T. A History of Tuberculosis. The Hambledon Press. London and Rio Grande, Page 1-50, 1999.
18. Cambau E, Drancourt M. Steps towards the discovery of Mycobacterium tuberculosis by Robert Koch, 1882. Clinical Microbiology and Infection. Vol: 20, Issue:3, 196-201, 2014.
19. Sakula A. BCG: Who were Calmette and Guerin? Thorax; 38: 806-812, 1983.
20. Ayık S, Karasu I, Çil E, Mertoğlu A, Özsöz A. Hastaların tüberküloz hastalığı hakkında bilgi düzeyleri. İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi, Cilt XXVII Sayı 2, s. 81-87, 2013.
21. Gençaslan FS. Kliniğimizde son altı yılda izlenen ekstrapulmoner tüberküloz olgularının değerlendirilmesi. T. C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2007.
22. Global tuberculosis report 2018. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
23. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 935, Ankara, 2014.
24. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji. 7. Baskı (Çev. Ed: Us AD, Başustaoglu A) s. 235-247, Pelikan Kitapevi, Ankara, 2013.
25. Kıyan M. Mycobacteriaceae. Ustaçelebi Ş, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, 419-437, Ankara, 1999.
26. Saniç A. Mycobacterium Cengiz T, ed. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi. S. 418-428, Ankara, 2014.
27. Akdoğan FN. Mycobacterium tuberculosis klinik izolatlarında ilaç direncinin multipleks real-time pcr yöntemiyle saptanması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2013.
28. Zorluer E. Yöremizde izole edilen mycobacterium tuberculosis suşlarında direnç profili. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2010.

29. Schematic diagram of the cell envelope of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). <https://pharmchem.ucsf.edu/research/chembio/drug-targeting>. Erişim Tarihi: 18.04.2019
30. Bozok T. Pulmoner tüberkülozlu hastalardan izole edilen mycobacterium tüberkulozis suşlarında mofsifloksasin direncinin epidemiyolojik özellikleri ve moleküler mekanizmaların araştırılması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Adana, 2015.
31. Brown-Elliott BA, Wallace RJ. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late pigmented rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Rev*: 15: 716–46, 2002.
32. Woods GL, Washington JA. Mycobacteria other than mycobacterium tuberculosis: review of microbiologic and clinical aspects. *Rev Infect Dis* 79: 275-279, 1987.
33. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Sixth Edition, pp: 1064-1124, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2006.
34. Wayne LG, Kubica GP. Mycobacteria In: Sneath PHA, NS Mair, Sharpe ME, Holt JG (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol: 2, pp: 1435-1457, The Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1986.
35. Pfyffer GE, Brown-Elliott BA, Wallace RJ. Mycobacterium: General Characteristics, Isolation, and Staining Procedures. Ed: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Manual Of Clinical Microbiology. 8th Edition, Vol: 1, pp: 532-559, ASM Press, Washington DC, USA, 2003.
36. Murray SJ, Barrett A, Magee JG, et al. Optimisation of acid fast smears for the direct detection of mycobacteria in clinical samples. *Journal of Clinical Pathology* 2003;56: 613–615.
37. Alp, A. Tüberkülozun laboratuvar tanısında güncel durum. *Hacet Tıp Derg* (42), 28-33, 2011.
38. Trebucq A. Revisiting sputum smear microscopy Editorial. *The Internat J Tubercul and Lung Disease* 8 (7): 805-805, 2004.
39. Van Deun A, Maug, AK, Cooreman E, Hossain M, Chambuganj N, Rema V, et al. Bleach sedimentation method for increased sensitivity of sputum smear microscopy: does it work? *The Internat J Tubercul and Lung Disease* 4 (4): 371-376, 2000.
40. Mase SR, Ramsay A , Ng V , Henry M , Hopewell PC , Cunningham J , et al. Yield of serial sputum specimen examinations in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. *Int J Tuberc Lung Dis* 11(5): 485–95, 2007.

41. World Health Organization. Reduction of number of smears for diagnosis of pulmonary tuberculosis, Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007.
42. Balakrishna J. et al. Comparative Study of Different Staining Techniques - Ziehl-Neelsen Stain, Gabbet's Stain, Fluorochrome Stain for Detecting of Mycobacterium Tuberculosis in the Sputum. J. Pharm. Sci. & Res. Vol.5(4): 89-92, 2013.
43. Khagi AR, Singh S, Subba S, Bajracharya A, Tuladhar R, Lekhak B, Shrestha KB. Comparison of Different Diagnostic Method for Mycobacteria Tuberculosis in Suspected Patients. J Nepal Health Res Counc 7(15):84-8, 2009.
44. Laifangbam S, Singh HL, Singh NB, Devi KM, Singh NT. A comparative study of fluorescent microscopy with Ziehl-Neelsen staining and culture for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Kathmandu University Medical Journal 7(3): 226-230, 2009.
45. Sorlozano A, Soria I, Roman J, Huertas P, Soto MJ, Piedrola G, Gutierrez J. Comparative Evaluation of Three Culture Methods for the Isolation of Mycobacteria from Clinical Samples. J Microbiol Biotechnol 19(10): 1259–1264, 2009.
46. Lu D, Heeren B, Dunne WM. Comparison of the Automated Mycobacteria Growth Indicator Tube System (BACTEC 960/MGIT) With Löwenstein-Jensen Medium for Recovery of Mycobacteria From Clinical Specimens. Am J Clin Pathol 118: 542-545, 2002.
47. Della-Latta P. Mycobacteriology and Antimycobacterial Suceptibility Testing. Ed: Isenberg HD. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Second Edition, vol 2, Section 7, ASM Press, Washington, USA, 2004.
48. Seven H11 Agars. Difco™ & BBL™ Manual, 2nd Edition. BD, Becton Dickinson and Company.
49. *Mycobacterium tuberculosis* on Löwenstein-Jensen medium. <http://www.bacteriainphotos.com/Mycobacterium%20tuberculosis.html>. Erişim Tarihi: 21.04.2019
50. BD BBL™ SEPTI-CHEK™ Blood Culture System: Sub/Venting units <https://www.fishersci.com/shop/products/bd-bbl-septi-chek-blood-culture-system-sub-venting-units-sub-venting-units-culture-bottles/14371056>. Erişim Tarihi: 23.05.2019
51. Isenberg HD, D'Amato RF, Heifets L, et al. Collaborative feasibility study of a biphasic system (Roche Septi-Check AFB) for rapid detection and isolation of mycobacteria. J Clin Microbiol 129: 1719-1722, 1991.
52. Williams-Bouyer N, Yorke R, Lee HI, Woods GL. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and ESP Culture system II for growth and detection of mycobacteria. J. Clin. Microbiol 38: 4167-4170, 2000.

53. BacTec 460TB Radiometric Culture Growth System
<https://swapauction.wisc.edu/Listing/Details/4998332/BacTec-460TB-Radiometric-Culture-Growth-System-49832-C>. Erişim Tarihi: 03.05.2019
54. BD BBL MGIT Mycobacteria Growth Indicator Tube 7 mL Med BACTEC MGIT 960 Supplement Kit. 2016-10 Türkçe.
<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=18341> Erişim Tarihi: 09.02.2019
55. Leitritz L, Schubert S, Bücherl B, Masch A, Heesemann J, Roggenkamp A. Evaluation of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460TB Systems for Recovery of Mycobacteria from Clinical Specimens of a University Hospital with Low Incidence of Tuberculosis. *Journal Of Clinical Microbiology* 39(10): 3764–3767, 2001.
56. Barouni AS, Alnajh ZB, Aboguttaia NB, Alamri WM. Evaluation of the BD MGIT™ TBc identification test for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis Complex from positive BACTEC MGIT 960 cultures in a routine laboratory work. *African Journal of Microbiology Research* 6(5): 1065-1068, 2012.
57. Shenoy VP, Mukhopadhyay C. Rapid Immunochromatographic Test for the Identification and Discrimination of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates from Non-tuberculous Mycobacteria. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. Vol-8(4): DC13-DC15, 2014.
58. Banu S, Rahman MM, Rahman Khan MS, Ferdous SS, Ahmed S, Gratz J, Stroup S, Pholwat S, Heysell SK, Houpt ER. Discordance across Several Methods for Drug Susceptibility Testing of Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Isolates in a Single Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*; Volume 52(1), p. 156–163, 2014.
59. Siddiqi S, Ahmed A, Asif S, Behera D, Javaid M, Jani J, Jyoti A, Mahatre R, Mahto D, Richter E, Rodrigues C, Visalakshi P, Rüsç-Gerdes S. Direct Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis for Rapid Detection of Multidrug Resistance Using the Bactec MGIT 960 System: a Multicenter Study. *Journal of Clinical Microbiology*, Volume 50(2), p. 435–440, 2012.
60. Gravet A, Souillard N, Habermacher J, Moser A, Lohmann C, Schmitt F, Delarbre JM. Culture and susceptibility testing of mycobacteria with VersaTREK. *Pathologie Biologie* 59 (1): 32-38, 2011.
61. Espasa M, Salvadó M, Vicente E, Tudó G, Alcaide F, Coll P, Martin-Casabona N, Torra M, Fontanals D, González-Martín J. Evaluation of the VersaTREK System Compared to the Bactec MGIT 960 System for First-Line Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* 50(2): 488 – 491, 2011.
62. MacLean E, Huddart S, Pai M. Molecular diagnosis of tuberculosis: we need solutions that span the healthcare value chain. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 17(1): 5-7, 2017.

63. Grace Lin SY, Desmond EP. Molecular Diagnosis of Tuberculosis and Drug Resistance. Clin Lab Med 34: 297–314, 2014.
64. World Health Organization. The use of loop-mediated isothermal amplification (TB-LAMP) for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: policy guidance. Geneva: WHO; 2016. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/249154/1/9789241511186-eng.pdf?ua=1>. Erişim Tarihi: 23.03.2019
65. World Health Organization. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Policy guidance. Geneva: WHO; 2016. <http://www.who.int/entity/tb/areas-of-work/laboratory/WHOPolicyStatementSLLPA.pdf?ua=1>. Erişim Tarihi: 10.05.2019
66. World Health Organization. The shorter MDR-TB regimen. Geneva: WHO; 2016. http://www.who.int/tb/Short_MDR_regimen_factsheet.pdf. Erişim Tarihi: 19.04.2019
67. Zhang Y, Heym B, Allen B, et al. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of Mycobacterium tuberculosis. Nature 358:591–593, 1992.
68. Mokrousov I, Otten T, Filipenko M, et al. Detection of isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by a multiplex allele-specific PCR assay targeting katG Codon 315 variation. J Clin Microbiol 40(7):2509–2512, 2002.
69. Tan Y, Hu Z, Zhao Y, et al. The beginning of the rpoB gene in addition to the rifampin resistance determination region might be needed for identifying rifampin/rifabutin cross-resistance in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates from Southern China. J Clin Microbiol 50(1):81–85, 2012.
70. Van Deun A, Aung KJ, Bola V, et al. Rifampin drug resistance tests for tuberculosis: challenging the gold standard. J Clin Microbiol 51(8):2633–2640, 2013.
71. İşitez M. Afyon bölgesindeki tüberküloz olgularının Löwenstein-jensen, bactec ve Tk medium yöntemleri ile saptanıp dört majör ilaca karşı dirençlerinin belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Afyon, 2003.
72. Mosquera JA, Rodrigo L, Gonzálvez F. The evolution of pulmonary tuberculosis in coal miners in Asturias, northern Spain. An attempt to reduce the rate over a 15-year period, 1971-1985. Eur J Epidemiol ;10(3):291-7, 1994.
73. Ringshausen FC, Nienhaus A, Schablon A, Costa JT, Knoop H, Hoffmeyer F, Bünger J, Merget R, Harth V, Schultze-Werninghaus G, Rohde G. Frequent Detection of Latent Tuberculosis Infection among Aged Underground Hard Coal Miners in the Absence of Recent Tuberculosis Exposure. PLoS ONE 8(12): e82005, s. 1-9, 2013.

74. Mohapatra H, Goswami S, Dey D. Coalmine dust concentration and rate of tuberculosis infection around Ib Valley Coalfield, Orissa, India. *Environ Biol*; 31(6):953-956, 2010.
75. Terzi HA, Aydemir Ö, Karakeçe E, Köroğlu M, Altındış M. M. tuberculosis kompleks izolatlarının antitüberküloz ilaçlara direnç oranlarında yıllara göre değişim; *Sakarya. Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi* 4 (1): 47-56, 2019.
76. Hertz D, Schneider B. Sex differences in tuberculosis. *Seminars in Immunopathology* 41: 225–237, 2019.
77. Borgdorff MW, Nagelkerke NJD, Dye C, Nunn P. Gender and tuberculosis: a comparison of prevalence surveys with notification data to explore sex differences in case detection. *Int J Tuberc Lung Dis* 4(2):123–132, 2000.
78. Horton KC, MacPherson P, Houben RM, White RG, Corbett EL. Sex Differences in Tuberculosis Burden and Notifications in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-analysis. DOI: [10.1371/journal.pmed.1002119](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002119). Erişim Tarihi: 14.02.2019
79. Mathad JS, Gupta A. Tuberculosis in Pregnant and Postpartum Women: Epidemiology, Management, and Research Gaps. *Clin Infect Dis* 55 (11): 1532-49, 2012. Doi: 10.1093/cid/cis732. Epub 2012 Aug 31
80. Allotey P, Gyapong M. Gender in tuberculosis research. *Int J Tuberc Lung Dis* 12(7):831–836, 2008.
81. Connolly M, Nunn P. Women and tuberculosis. *World Health Stat Q*. 49(2):115-9, 1996.
82. Aydın O, Cömert FB, Külah C, Aktaş E, Sumbüloğlu V. Zonguldak ilinde izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının Bactec MGIT 960 sistemi ile belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 38 (2) : 61-70, 2008.
83. Korkmaz Y, Demiray E, Çakır Y, Ünlü G, Yüksel C, Özkara Ş. Yirmi Yıllık Tüberküloz Kontrolü: Karadeniz Ereğli Verem Savaşı Dispanseri Deneyimi. XXIX. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi, P 57, Antalya, 17-19 Ocak 2019.
84. TB diagnostics and laboratory strengthening - WHO policy. Reduction of number of smears for diagnosis of pulmonary tuberculosis, Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007. https://www.who.int/tb/areas-of-work/laboratory/policy_diagnosis_pulmonary_tb/en/. Erişim Tarihi: 11.04.2019
85. Sağlam L , Akgun M , Aktas E . Usefulness of induced sputum and fiberoptic bronchoscopy specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Int Med Res* 33(2): 260–5, 2005.
86. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Laboratory detection and identification of mycobacteria. Document M48-A. Wayne, PA; 2008.

87. Cruciani M , Scarparo C , Malena M , Bosco O , Serpelloni G , Mengoli C . Meta-analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without solid media, for detection of mycobacteria. J Clin Microbiol 42(5): 2321-5, 2004.
88. T.C. Sağlık Bakanlığı. Tüberküloz Tani ve Tedavi Rehberi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 862, Ankara, 2011.
89. Köksal D. Yaşlı hastalarda tüberküloz. Solunum Dergisi 14(2):59-62, 2012.
90. Tüberküloz Tedavisi ve DGT. T. C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Tüberküloz Dairesi Başkanlığı. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/tuberkuloz/tuberkuloz-tedavisi-ve-dgt.html>. Erişim Tarihi: 22.05.2019
91. Cömert Aksu M, Togay A, Yılmaz TD. Tüberküloz olgularında doğrudan gözetimli tedavi uygulamalarına retrospektif bakış. Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 10(1): 45-53, 2017.
92. Çağaltay Kayaoğlu S, Esin MN. Tüberküloz Hastalığında Doğrudan Gözetimli Tedavi Uygulamaları: Sistemik İnceleme. İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi, Cilt XXVII Sayı 1, 2013.
93. Kuzuca İG. Tüberküloz Hastasında Doğrudan Gözetimli Tedavi (DGT) Uygulamasında Karşılaşılan Etik İkilemler. Türkiye Biyoetik Dergisi 3 (3): 165-172, 2016.
94. Zonguldak Verem Savaş Dispanseri Verileri.
95. 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. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 1(6): 1-5, 2002.
96. Uçarman N, Arslantürk A, Şimşek H. Laboratuvar Sürveyans Ağı (TULSA) Çalışmaları. 37. TMC Kongresi, Antalya, 12-20 Kasım 2016.
97. Bayraktar Saral Ö, Sucu N, Boz GA, Erdem M, Köksal İ. 442 Mycobacterium tuberculosis Suşunda BACTEC Yöntemi ile Kombine İlaç Direncinin Araştırılması. Toraks Dergisi 8(3): 174-178, 2007.
98. Orhan G, Zer Y, Balcı İ, Korkmaz G. Mikobakteriyoloji Laboratuvarında İncelenen Örneklerin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cem Derg 32: 225-229, 2003.
99. Kartaloğlu Z, Bozkanat E, Öztürkeri H, Okutan O, İlvan A. Bactec Yöntemi Kullanılarak Primer Antitüberküloz İlaç Direnci Saptanan 365 Tüberküloz Olgusu. Solunum 4:443-448, 2002.
100. Tansel Ö, Yüksel P, Kuloğlu F, Akata F. Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloz ilaçlara direnci: Trakya Üniversitesi Hastanesi'nin iki

- yıllık sonuçları. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 17 (1): 23-26, 2003.
101. Doğan ÖT, Özşahin SL, Kaya S, Bakıcı MZ. Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde 1999 Yılından İtibaren Takip Edilen Ardışık 385 Olguda Anti Tüberküloz İlaç Direnci. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 26 (2): 81 – 84, 2004.
 102. Esen N, Gündüz AT. Dokuz Eylül Üniversitesi'nde İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* İzolatlarında İlaç Direnci (2000 - 2002). *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 33:337-342, 2003.
 103. Öztürk CE, Balbay OA, Kaya D, Ceyhan I, Bulut I, Sahnı I. The Resistance to Major Antituberculous Drugs of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated from the Respiratory System Specimens of Tuberculosis Patients in Duzce, Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis.* 58: 47-49, 2005.
 104. Özekinci T, Özbek E, Gedik M, Temiz H, Atmaca S. 2001-2003 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarında ilaç direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 36 (1) : 31 - 34, 2006.
 105. Zer Y, Çiçek H, Mehli M, Bayıl S, Balcı İ. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2006 Yılları Arasında Tüberküloz Hastalarından Soyutlanan Mikobakterilerin Antitüberküloz İlaç Direnci. *Klimik Dergisi* 20 (1): 20-22, 2007.
 106. Öz Y, Aslan M, Akşit F, Durmaz G, Kiraz N. *Mycobacterium Tuberculosis* Kompleks İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılığının Değerlendirilmesi. *Ankem Derg* 26(1):20-24, 2012.
 107. Perincek G, Tabakoğlu E, Otkun M, Özdemir L, Özdemir B. *Mycobacterium Tuberculosis* Üremesi Saptanan Akciğer Tüberkülozlu Hastaların Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları. *Türk Toraks Dergisi* 12: 111-113, 2011.
 108. Aydın F, Kaklıkaya N, Bayramoğlu G, Özkul G, Buruk K, Dinç U, Köse T, Dede R. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları. *Mikrobiyol Bul* 45(1): 36-42, 2011.
 109. Alışkan HE, Bostanoğlu E, Turunç T, Çolakoğlu Ş, Demiroğlu YZ, Kurşun E, Göçmen JS, Demirbilek M. Retrospektif Olarak Tüberküloz Laboratuvarının Altı Yıllık Sonuçları ve Antimikobakteriyel İlaçlara Direnc Oranları. *Türk Toraks Dergisi* 14: 53-8, 2013.
 110. Sezer O, Çiftçi F, Kutlu A, Kaya H, Bozkanat E, Çalışkan T, Özkısa T, Kartaloğlu Z. Yeni Olgu, Genç Erişkin, Tüberkülozlu Erkek Hastalarda İlaç Direnç Oranları. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*;32(1):139-45, 2012.
 111. Çelik C, Dayı F, Kaygusuz R, Bakıcı MZ. Sivas İlinde Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks Suşlarının Primer Anti-tüberküloz İlaçlara Direnç Oranları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 41(1):37-41, 2011.

112. Dündar D, Sönmez-Tamer G. Mycobacterium tuberculosis Kompleksi İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları. Klimik Dergisi 22(2): 52-4, 2009.
113. Taş D, Taşçı C, Demirer E, Sezer O, Okutan O, Kartaloğlu Z. Genç Askerlerde Tüberküloz İnsidansı ve Primer İlaç Direnci Oranları: Ülkemizdeki 14 Asker Hastanesinin Verileri. Mikrobiyol Bul 46(1): 26-32, 2012.
114. Artan C, Deniz E, Biraderoğlu H, Atan A, Oğuzkaya Artan M. Solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen Mycobacterium Tuberculosis Kompleksi İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılığının Değerlendirilmesi. ANKEM Derg 27(4):179-183, 2013.
115. Öncel B, Karahasan A, İlki A, Söyletir G. Mycobacterium tuberculosis Kompleksi Suşlarında Duyarlılık Oranları. ANKEM Derg 33(1):1-5, 2019.
116. Taşbent FE, Doğan M. Konya İlinde Klinik Örneklerden İzole Edilen Mycobacterium tuberculosis Kompleks Suşlarının Birinci Seçenek Anti-tüberküloz İlaçlara Direnç Oranları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 46(4):165-171, 2016.
117. Sesli Çetin E, Aynali A, Öztürk T, Özseven AG, Kaya S. Mikobakterilerin klinik örneklerden izolasyonunda Löwenstein-Jensen besiyeri kültürü ve Bactec Mycobacterium Growth Indicator Tube 960 sisteminin değerlendirilmesi. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg 19(1): 12-16, 2012.
118. Horita N, Yamamoto M, Sato T, Tsukahara T, Nagakura H, Tashiro K, Shibata Y, Watanabe H, Nagai K, Nakashima K, Ushio R, Ikeda M, Sakamaki K, Yoshiyama T, Kaneko T. Sensitivity and specificity of Cobas TaqMan MTB real-time polymerase chain reaction for culture-proven Mycobacterium tuberculosis: metaanalysis of 26999 specimens from 17 Studies. Scientific Reports | 5:18113 | DOI: 10.1038/srep18113
119. Kim JH, Kim YJ, Ki CS, Kim JY, Lee NY. Evaluation of Cobas TaqMan MTB PCR for Detection of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol 49 (1): 173–176, 2011.
120. Yang YC, Lu PL, Huang SC, Jenh YS, Jou R, Chang TC. Evaluation of the Cobas TaqMan MTB Test for Direct Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex in Respiratory Specimens. J Clin Microbiol 49 (3): 797–801, 2011.
121. Lee MR, Chung KP, Wang HC, Lin CB, Yu CJ, Lee JJ, Hsueh PR. Evaluation of the Cobas TaqMan MTB real-time PCR assay for direct detection of Mycobacterium tuberculosis in respiratory specimens. Journal of Medical Microbiology 62: 1160–1164, 2013.
122. Karadağ A, Usta E, Bilgin K, Güney AK, Eroğlu C, Günaydın M. Comparison of Culture, Real-Time DNA Amplification Assay and Ehrlich-Ziehl-Neelsen for Detection of Mycobacterium tuberculosis. Balkan Med J. Mar 30(1): 13–15, 2013.

123. Durmaz R. Tüberkülozda Hızlı Moleküler Tanı Testleri. ANKEM Derg 26(Ek 2):72-81, 2012.



8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

TOPLANTI TARİHİ : 12/06/2019
TOPLANTI NO : 2019/09

KARARLAR :

- 18- 28/02/2018 tarih ve 2018/05 sayılı toplantıda onay alan Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2018-70-28/02 Protokol no'lu "Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde 2013-2017 Yıllarında İzole Edilen Mycobacterium tuberculosis Kompleks İzolatlarının Değerlendirilmesi" konulu çalışma başlığının "Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde 2013-2017 Yıllarında İzole Edilen Mycobacterium tuberculosis Kompleks İzolatlarının Değerlendirilmesi" olarak değiştirilmesi talebinin uygunluğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Prof. Dr. Ali Uğur EMRE
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkan V.

Ek 2. Kurum İzni



T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 33479383/
KONU : Toplantı Kararı

05/03/2018

Sayın, Prof. Dr. Füsun CÖMERT
B.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Bülent Ecevit Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 28/02/2018 tarihinde yapmış olduğu toplantıda çalışmanızla ilgili almış olduğu karar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Günnur ÖZBAKİŞ DENGİZ
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Ek: Karar 1 adet

9. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Zonguldak ilinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Zonguldak ilinde tamamladıktan sonra lisans öğrenimini 1995-2001 yılları arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yaptı. 2001 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışmaya başladı. 2015 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. Halen Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Tüberküloz laboratuvarında biyolog olarak çalışmaktadır. Evli ve üç çocuk annesidir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Merkez mah. Elma sk. Yeniceliler Yapı Kooperatifi no:7/7

Kozlu/ ZONGULDAK

Tel: (+90) 531 639 88 67

E-posta: mindasilknur@gmail.com