

T. C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TİBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**TÜBERKÜLOZ TANISINDA SIVI KÜLTÜR BESİYERİ İLE
BİRLİKTE KULLANILAN KATI BESİYERİNİN SEKİZ HAFTALIK
İNKÜBASYON SÜRESİNİN TANIYA KATKISI**

UZMANLIK TEZİ
Araş. Gör. Ferdi ÇETİN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Nuri ÖZKÜTÜK

MANİSA-2025

ÖNSÖZ

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Nuri Özkütük'e, yapıcı önerileri ve nazik yaklaşımlarıyla desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Süheyla Sürücüoğlu'na, eğitimime büyük katkısı olan, desteklerini her zaman hissettiren değerli hocalarım Prof. Dr. Hörü Gazi, Prof. Dr. Sinem Akçalı, Prof. Dr. Semra Kurutepe, Prof. Dr. Talat Ecemiş ve Prof. Dr. Kenan Değerli 'ye,

Tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen Sibel Hurma'ya ve Selin Bölük'e,

Asistanlığım boyunca iyi ve kötü zamanlarda birbirimize destek olduğumuz tüm asistan arkadaşlarıma ve isimlerini sayamadığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Maddi ve manevi olarak destekleyen, hep yanımda olan eşim Ebru Bayraktar Çetin ve aileme,

yürekten teşekkür ederim.

Dr. Ferdi ÇETİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TABLO DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mikobakterilerin Genel Özellikleri	3
2.1.1. Hücre Duvarı Yapısı	3
2.1.2. Üreme Özellikleri	5
2.2. Mikobakterilerin Sınıflandırılması	6
2.2.1. Mycobacterium tuberculosis kompleks	6
2.2.2. Tüberküloz Dışı Mikobakteriler	7
2.3. Tüberküloz	9
2.3.1. Bulaş ve Patogenez	9
2.3.2. Epidemiyoloji	11
2.3.2.1. Dünyada Tüberküloz Epidemiyolojisi	12
2.3.2.2. Türkiye’de Tüberküloz Epidemiyolojisi	12
2.4. Antitüberküloz İlaçlar ve Direnç	13
2.5. Tüberkülozun Laboratuvar Tanısı	14
2.5.1. Örneklerin Alınması ve Taşınması	15
2.5.2. Örneklerin İşlenmesi	16
2.5.3. Mikroskopik İnceleme	17
2.5.4. Kültür	19
2.5.4.1. Tam Otomatize Kültür Sistemleri	22
2.5.4.1.1. BACTEC MGIT 960	22
2.5.5. Moleküler Tanı Yöntemleri	23
2.6. Tür Tanımlama	24
2.6.1. Üreme Özelliklerine göre Tanımlama	24
2.6.2. Biyokimyasal Testlerle Tanımlama	25
2.6.3. İmmunokromatografik Tanımlama	25
2.6.4. Moleküler Yöntemlerle Tanımlama	25
2.6.5. MALDI-TOF MS	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. Çalışmaya Dahil Edilecek Klinik Örneklerin Belirlenmesi	28
3.2. Örneklerin Laboratuvara Kabulü	28
3.3. Örnek İşleme Basamakları (Homojenizasyon-Dekontaminasyon-Nötralizasyon-Konsantrasyon)	28
3.4. Boyama ve Mikroskopik Bakı	29
3.4.1. Erlich Ziehl Neelsen (EZN) Boyama Yöntemi	29
3.5. Kültür	30
3.5.1. Löwenstein-Jensen (LJ) Besiyeri	30
3.5.2. Bactec MGIT 960 Otomatize Kültür Sistemi	31
3.6. Üremelerin Tanımlanması	32
3.6.1. TBc ID Testi (BD MGIT TBc Identification Test)	32
3.6.2. Moleküler Tanımlama Testleri	32
3.6.2.1. DNA Ekstraksiyonu	32

3.6.2.2. GenoType Mycobacterium CM/AS, GenoType NTM-DR ve GenoType MTBC Testleri	33
3.7. Mikobakteri Laboratuvarı Excel Veri Dosyası Oluşturulması	33
3.8. Laboratuvar Sonuç Dosyalarının Taranması ve Verilerin Kaydedilmesi	33
3.9. MGIT Cihaz Sonuçlarının Taranması ve Kaydedilmesi	34
3.10. İstatistiksel Analiz	34
3.11. Etik Kurul onayı	34
4. BULGULAR	35
4.1. Çalışmaya Alınan Örnek Verileri	35
4.2. Katı ve Sıvı Besiyerinde İzolasyon Oranları	36
4.2.1. Katı ve Sıvı Besiyerinde Mikobakteri İzolasyon Oranları	36
4.2.2. Katı ve Sıvı Besiyerinde MTBC İzolasyon Oranları	38
4.2.3. Katı ve Sıvı Besiyerinde TDM İzolasyon Oranları	40
4.2.4. Yayma Pozitiflik Durumuna göre Katı ve Sıvı Besiyerinde İzolasyon Oranları	43
4.2.4.1. Yayma ARB Pozitif Örneklerde Mikobakteri İzolasyon Oranları	43
4.2.4.2. Yayma ARB Pozitif Örneklerde MTBC İzolasyon Oranları	45
4.2.4.3. Yayma ARB Pozitif Örneklerde TDM İzolasyon Oranları	47
4.2.4.4. Yayma ARB Negatif Örneklerde Mikobakteri İzolasyon Oranları	49
4.2.4.5. Yayma ARB Negatif Örneklerde MTBC İzolasyon Oranları	51
4.2.4.6. Yayma ARB Negatif Örneklerde TDM İzolasyon Oranları	53
4.3. Katı ve Sıvı Besiyerinde Üreme Süreleri ve Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Tanısal Katkısı	56
4.3.1. Katı ve Sıvı Besiyerinde Üreme Saptama Süreleri	56
4.3.2. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Tanısal Katkısı	57
4.3.2.1. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Mikobakteri Tanısına Katkısı	58
4.3.2.2. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun MTBC Tanısına Katkısı	61
4.3.2.3. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun TDM Tanısına Katkısı	64
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	82
7. ÖZET	83
8. ABSTRACT	84
KAYNAKLAR	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATS	American Trudeau Society
AC	Akciğer
AD	Akciğer Dışı
AMS	Açlık Mide Sıvısı
ARB	Aside Dirençli Basil
BCG	Bacillus-Calmette-Guerin
BAL	Bronkoalveolar Lavaj Sıvısı
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BM	Birleşmiş Milletler
CD4+	Cluster of Differentiation 4
CLSI	Clinical And Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CD8+	Cluster of Differentiation 8
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri)
C	Sitozin
ÇİD-TB	Çok İlaça Dirençli Tüberküloz
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EZN	Ehrlich Ziehl Neelsen
End TB	Tüberkülozu Bitirme Stratejisi
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
G	Guanin
gr	Gram
GU	Growth Unit (Büyüme birimi)
HIV	Human Immunodeficiency Virüs
IQR	Çeyrekler arası aralık
IL-12	İnterlökin-12
IFN- γ	İnterferon-gamma
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
IGST	İnterferon Gama Salınım Testi
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
kDa	Kilodalton
LTBE	Latent Tüberküloz Enfeksiyonu
LJ	Löwenstein-Jensen
LPA	Line Probe Assay (Ters Hibridizasyon Yöntemi)
mAGP	Mikolil-Arabinogalaktan-Peptidoglikan Kompleksi
MTBC	Mycobacterium tuberculosis kompleks
MOTT	Mycobacteria other than tuberculosis
MALDI-TOF MS	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (Matriks Destekleli Lazer Dezorpasyon/İyonizasyon-Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi)
MDR-TB	Multidrug-resistant tuberculosis
ml	Mililitre

MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube
mg	Miligram
M	Molar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
NAAT	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
NALC	N asetil L sistein
OADC	Oleik asit, Albumin, Dekstroz, Katalaz
PAS	Para-Aminosalisilik Asit
PG	Peptidoglikan
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PCR-RFLP	Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Parça Uzunluk Polimorfizmi)
PNB	P-Nitrobenzoik asit
PANTA	Polimiksin-B, Amfoterisin-B, Nalidiksik asit, Trimetoprim, Azlosilin
RD-TB	Rifampisin Dirençli Tüberküloz
RRDR	Rifampin Resistance Determining Region (Rifampisin Direncini Belirleyici Bölge)
SS	Standart sapma
SPS	Sodyum Polianetilen Sülfat
SDA	Strand Displacement Amplification (Zincir Ayırıştırma Amplifikasyon)
TDM	Tüberküloz Dışı Mikobakteri
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü-alfa
TB	Tüberküloz
Th	T helper
TDT	Tüberkülin Deri Testi
TTA	Transtrakeal Aspirat
TMA	Transcription Mediated Amplification (Transkripsiyona Bağlı Çoğaltma)
XDR-TB	Extensively Drug-Resistant Tuberculosis
YİD-TB	Yaygın İlaç Dirençli TB
WGS	Whole Genome Sequencing (Tüm Genom Dizileme)
Z-TSP	Zefiran-Trisodyum Fosfat
μm	Mikrometre
μl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Mikobakteri hücre duvarı yapısı	5
Şekil 4.1. Kültüründe mikobakteri üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri	60
Şekil 4.2. Kültüründe MTBC üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri	63
Şekil 4.3. Kültüründe TDM üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri	65
Şekil 4.4. MGIT ile birlikte kullanılan LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun tanıya katkısı	66



TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Runyon sınıflandırması ve örnek türler	8
Tablo 4.1. MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	36
Tablo 4.2. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	37
Tablo 4.3. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	38
Tablo 4.4. MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	39
Tablo 4.5. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	39
Tablo 4.6. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	40
Tablo 4.7. MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	41
Tablo 4.8. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	42
Tablo 4.9. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	42
Tablo 4.10. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	43
Tablo 4.11. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	44
Tablo 4.12. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	45
Tablo 4.13. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	45
Tablo 4.14. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	46
Tablo 4.15. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	47
Tablo 4.16. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	47

Tablo 4.17. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	48
Tablo 4.18. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	48
Tablo 4.19. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	49
Tablo 4.20. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneğinde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	50
Tablo 4.21. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	51
Tablo 4.22. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	51
Tablo 4.23. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneğinde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	52
Tablo 4.24. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örnekte MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	53
Tablo 4.25. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	53
Tablo 4.26. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneklerinde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	54
Tablo 4.27. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları	55
Tablo 4.28. Katı ve sıvı besiyerinin mikobakteri izolasyon ve duyarlılık oranları	55
Tablo 4.29. MGIT ve LJ üreme saptama sürelerinin ortanca ve ortalamaları	57
Tablo 4.30. Kültürde mikobakteri üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri	59
Tablo 4.31. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda mikobakteri üreme sayıları ve yüzdeleri	60
Tablo 4.32. Kültürde MTBC üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri	62
Tablo 4.33. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda MTBC üreme sayıları ve yüzdeleri	63
Tablo 4.34. Kültürde TDM üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri	65

Tablo 4.35. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda TDM üreme sayıları ve yüzdeleri

66



1. GİRİŞ

Tüberküloz (TB) her yıl çok sayıda insanın enfekte olmasına ve yaşamını kaybetmesine neden olan küresel bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2023 Küresel Tüberküloz Raporu'nda 2022 yılında TB'ye yakalananların sayısını tahmini olarak 10.6 milyon, TB'ye bağlı ölümlerin ise 1.3 milyon olduğunu raporlamıştır (1). Tüberküloz ile mücadelede bu mikroorganizmanın zaman kaybetmeden tanımlanması ve doğru tedavinin hızlı şekilde başlanması ile enfekte vakaların toplum içerisindeki bulaştırıcılığının önüne geçilmesi son derece kritiktir. Tüberküloz tanısında radyolojik tetkikler, histopatoloji, mikroskopik inceleme, kültür ve özellikle son dönemde yaygınlığı artan moleküler yöntemler gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Tüm bu yöntemler arasında günümüzde kültür TB tanısında altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Oldukça duyarlı (>10 basil/ml) bir yöntem olan kültürün mikobakterileri tür düzeyinde tanımlama, ilaç duyarlılığının test edilebilmesi, canlı ve ölü basil ayrımı yapılarak tedavi takibinde kullanılabilmesi gibi birçok avantajı bulunmaktadır (2–6). Kültür amacıyla çeşitli sıvı ve katı temelli besiyerleri kullanılmaktadır. Katı temelli besiyerlerini ucuz, koloni morfolojisinin görülmesi, koloni sayımı, pigment üretiminin saptanması, sıvı besiyerinin kontaminasyonu durumunda yedek olarak kullanılması gibi avantajları bulunmasına rağmen, katı besiyerlerinden en sık kullanılan yumurta temelli Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde *M. tuberculosis*'in üremesi uzun zaman almaktadır. Ayrıca katı kültür besiyeri sonucunun negatif olarak raporlanabilmesi için sekiz haftalık inkübasyon süresinin tamamlanması önerilmektedir (2,3,7). Günümüzde TB tanısında sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemleri geliştirilmiş ve ülkemizde de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Mikobakteriler sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemlerinde katı besiyerine göre daha hızlı üreyebilmekte ve ilaç duyarlılık testleri de hızlı sonuçlanabilmektedir. Ayrıca sıvı besiyerinde yapılan mikobakteri kültürünün negatif olarak raporlanabilmesi için altı hafta inkübe edilmesi yeterlidir. Günümüzde hızlı ve güvenilir kültür sonuçlarının elde edilebilmesi için katı besiyeri ve otomatize sıvı besiyeri temelli kültür sistemlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Mikobakteri kültürü için sıvı besiyerine bir LJ besiyeri eklenmesiyle izolasyon oranında %4-6'lık bir artış bildirilirken, LJ besiyerine sıvı bir besiyeri eklenmesinin izolasyon oranını %15-30 artırdığı bildirilmiştir (2,6,7).

Katı besiyeri ile sıvı besiyeri temelli ticari otomatize kültür sistemlerinin birlikte kullanılması pozitif kültür sonuçlarının daha kısa sürede raporlanmasını sağlamaktadır. Ancak negatif kültür sonuçlarının raporlanması için sıvı besiyerinin altı hafta, LJ besiyerinin ise sekiz hafta inkübe edilmesi gerekmektedir. Mevcut rehberlerde her iki besiyerinin birlikte kullanılması durumunda LJ için daha kısa süre inkübasyonun yeterli olacağıyla ilgili bir öneri bulunmamaktadır. Bu durum negatif sonuçlarda kesin rapor vermek için sekiz hafta beklenmesine neden olmakta ve negatif sonuçlar için sıvı besiyerinin avantajını ortadan kaldırmaktadır. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical And Laboratory Standards Institute, CLSI) LJ kültürünü negatif raporlayabilmek için gerekli inkübasyon süresini her laboratuvarın verilerini en az altı ay boyunca analiz ederek oluşturduğu kendi protokolüne dayandırmasını önermiştir (2).

Bu çalışmada sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemi ile birlikte kullanılan katı besiyerinin, sıvı besiyerinde negatif sonuç alındıktan sonra (altıncı hafta) iki hafta daha inkübe edilmesinin tanısal yararının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikobakterilerin Genel Özellikleri

Mikobakteriler prokaryot bakterilerin Mycobacteriales takımı içerisine dahil edilen Mycobacteriaceae ailesi içerisinde sınıflandırılmaktadır (8). Bu bakterilerin çoğu saprofit olmak üzere insan ve oldukça farklı canlı türlerini enfekte edebilen, her geçen gün sayıları artan yaklaşık 200 civarında türü içinde barındırmaktadır (9). Genom içerisindeki tüm nükleotidlerin %61-71'i (*M. leprae* %55) Guanin (G) + Sitozin (C) bazlarından meydana gelmektedir (7,10,11). Mikobakteri hücre duvarında bulunan ve bakterinin seçici geçirgenliğine katkı sağlayan mikolik asitler *Nocardia spp.*, *Rhodococcus spp.* ve *Corynebacterium spp.* gibi bakterilere kıyasla daha fazla sayıda karbon molekülü (C60–C90) içermektedir (7,10,12). Mikobakteriler hareketsiz, kapsül ve spor oluşturmeyen, fagositik hücrelerin içerisine yerleşerek yaşamlarına devam eden aerob basillerdir. Bakteri genişliği 0.2-0.6 µm, uzunluğu ise 1-10 µm arasında değişmektedir (7,10,13,14).

2.1.1. Hücre Duvarı Yapısı

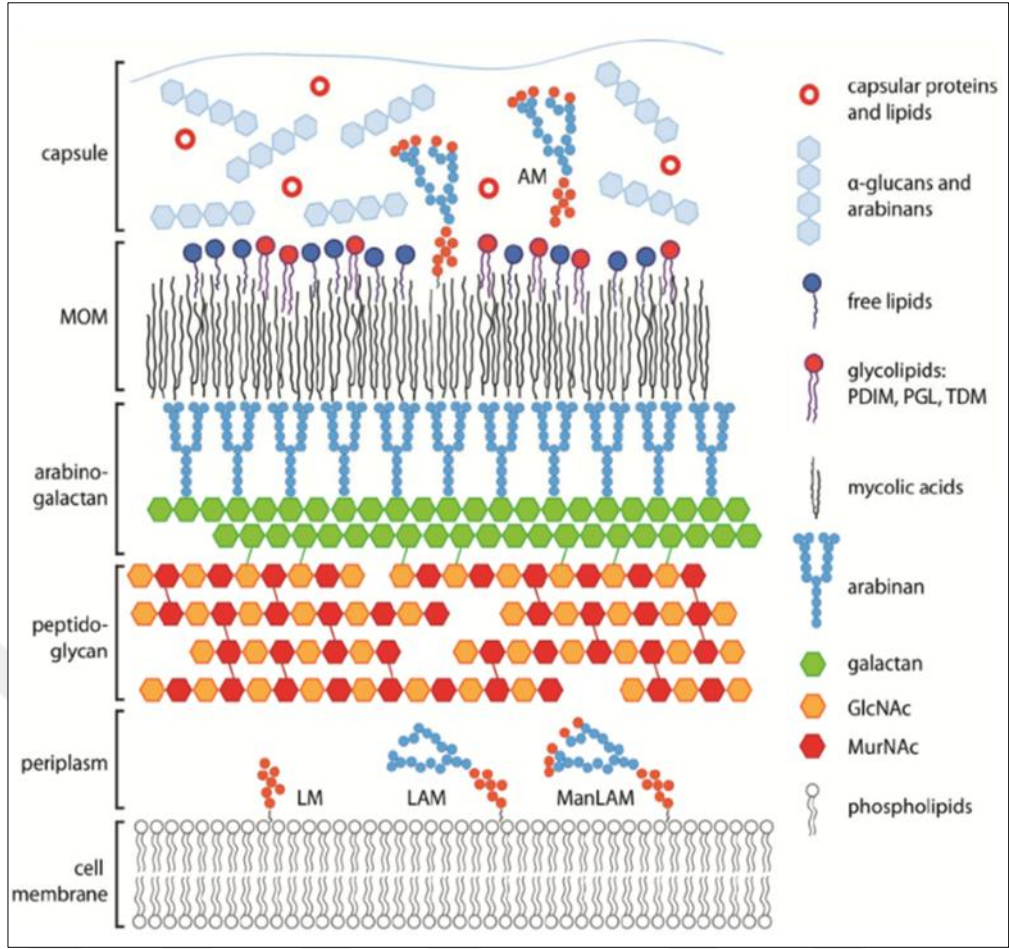
Hücre duvarının yüksek lipit içeriği ve sahip oldukları mikolik asitler sayesinde hücre içerisine giren boyayı kolay kolay bırakmazlar ve gram boyama gibi basit boyama yöntemleriyle boyanmazlar (15). Nadiren gram boyalı preparatlarda hücre içi şeffaf veya bakteri gövdesi aralıklı şekilde boyanmış gram pozitif basiller şeklinde görülebilirler. Aside dirençli boyanmış preparatlarda kıvrık şekilli, bakteri gövdesi koyu kırmızı boyanmış veya arada boyanmamış alanlar bulunan dalgalı boyanma paterni şeklinde görülebilirler. Mikobakteri türüne göre ve kültürün inkübasyon koşullarına bağlı olarak değişen şekillerde uzun iplikli morfolojiden kokoid formlara kadar değişen çeşitli bakteri şekillerine de rastlanabilir (7,15,16).

Mikobakteri hücre duvarı her ne kadar gram pozitif bakteri hücre duvarıyla benzerlik gösterse de lipit içeriği ve daha karmaşık yapısı ile bu bakterilerden oldukça farklıdır. Hücre duvarının en iç katmanında sitoplazmik çift katlı lipit membran bulunmakta ve bunun hemen üzerinde dış zarla madde alışverişine olanak sağlayan periplazmik boşluk yer almaktadır. Bu boşluğun hemen bitişiğinde hücre duvarının ana bileşeni olarak kabul edilen mikolil-arabinogalaktan-peptidoglikan (mAGP) kompleksi bulunmaktadır (17). Peptidoglikan bakterinin dışarıdan gelen kuvvetlere karşı şeklinin korunmasına yardımcı olmakta ve bakteriyi bulunduğu çevrenin ozmotik

etkisine karşı korumaktadır. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerde bulunan peptidoglikan (PG) yapısı N-asetilglukosamin ve N-asetilmuramik asit olarak adlandırılan yapılardan oluşmaktadır. Mikobakteri PG'sinde bu klasik yapıdan farklı olarak asetil molekülü glikolil molekülüyle yer değiştirerek N-glikolilmuramik asit yapısını oluşturmaktadır. Oluşan bu farklı moleküle aminoasitlerin de eklenmesiyle daha güçlü bir yapı elde edilmiştir. Ayrıca mikobakterilerdeki çapraz peptit bağlarının sayısı (%70-80) diğer bakterilere kıyasla daha fazladır (13,18). Arabinogalakтан iki farklı şekerin (arabinoz ve galaktoz) bir araya gelmesinden meydana gelen ve dallanan polisakkarit yapısında bir moleküldür (18). Mikolik asitler, mikobakteri hücre duvarında bulunan ve çok sayıda karbon atomu içeren alfa yan zincire sahip lipid molekülleridir. Mikolik asitler özellikle akciğer makrofajlarında kolesterol ve lipidlerin birikmesine yol açmaktadır (19,20). Hücre duvarının dış katmanlarına doğru gidildikçe mAGP kompleksinin üzerinde ikinci bir lipid dış membranla birlikte, temelde polisakkarit ve proteinlerden meydana gelen ve lipid içeriği oldukça az olan kapsül yerleşim göstermektedir (17).

Mikobakteri hücre duvarı hemen hemen her bölgesinde serbest veya kovalent bağlı olarak farklı lipid molekülleri barındırmaktadır ve bu moleküller bakteri duvar ağırlığının yaklaşık üçte ikisini oluşturmaktadır. Lipitler mikobakteri hücre duvarında maddelerin sınırlı geçişine izin veren bir bariyer görevi görür, çeşitli moleküllerin taşınmasına aracılık eder ve hücre için gerekli enerjinin bir kısmının sağlanması da dahil olmak üzere birçok farklı sürece katkıda bulunur. Lipitler ayrıca sitokin dengesini değiştirerek mikobakterilerin savunma mekanizmalarından kaçmasını sağlar. Makrofaj apoptozisi, T hücre yanıtı ve fagozom ile lizozom birleşmesi gibi birtakım yolları da etkileyerek konakçının immün yanıtını düzenlerler (19,21,22).

Mikobakteriyel kord faktör (trehaloz-6,6'-dimikolat) mikobakterilerin sıvı kültür besiyerinde oluşturdukları ve aside dirençli boyanmış preparatlarda halata benzeyen, kordonvari yapıların oluşumundan sorumludur. Başta *M. tuberculosis* olmak üzere bazı Tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) türlerinin de kord oluşturduğu bilinmektedir. *M. tuberculosis*'in virölansı ile ilişkili olan bu yapının lökositlerin göçünü engellemekle birlikte granümatöz reaksiyonun oluşumunu da tetiklediği düşünülmektedir (15,23–25).



Şekil 2.1. Mikobakteri hücre duvarı yapısı (26)

2.1.2. Üreme Özellikleri

Mikobakterilerin en iyi şekilde üreyebilmesi için inkübasyon koşulları pH, inkübasyon sıcaklığı ve CO² yoğunluğu gibi birtakım parametrelerden etkilenmektedir. Mikobakterilerin üremesi için en elverişli pH aralığı 6 ile 7.6 arasında değişmektedir. Ayrıca inkübasyon ortamında CO² bulunmasının mikobakterilerin üremesini artırıcı etkisi bulunmaktadır. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) için en uygun üreme sıcaklığı 35-37 °C arasında değişmekle birlikte bazı mikobakterilerin optimal üreme sıcaklığının daha düşük veya daha yüksek olduğu bilinmektedir. Deriyi enfekte eden mikobakterilerden *M. marinum*, *M. ulcerans* ve *M. haemophilum* 25-33 °C gibi daha düşük sıcaklıklara ihtiyaç gösterirken *M. xenopi* 40-42 °C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilmektedir (2,7,10,16).

Mikobakterilerin kültür ortamındaki üreme hızları ve koloni pigmentleri birbirinden farklılık göstermekle birlikte benzer özelliklere sahip türlerin de gruplandırılmasına yardımcı olmaktadır. Mikobakteriler diğer bakterilere kıyasla daha yavaş üremekte olup, MTBC yumurta temelli katı besiyeri LJ ‘de ortalama 2-3. haftalar arasında, kaba, kuru, pürüzlü görünümde ve deve tüyü rengine koloniler oluşturmaktadır (3,14,16). Mikobakteriler sıvı besiyerinde ise homojen bulanıklık oluşturmayan, besiyeri içerisinde yüzen partiküller şeklinde üreme gösterir (15,23).

Bazı mikobakterilerin üremesi için besiyerine ek bileşikler katmak gerekebilir. Bunlardan *M. haemophilum* demir bileşiklerine (ferrik amonyum sülfat, hemin); *M. genavense* mikobaktin J, demir veya kömüre; *M. bovis* ise pirüvata ihtiyaç gösterebilmekte olup besiyerine bu bileşiklerin eklenmesi bu mikobakterilerin üremesini desteklemektedir (27). *M. leprae* ise in vitro kültür besiyerlerinde üretilmemiştir (15).

2.2.Mikobakterilerin Sınıflandırılması

Mikobakteriler MTBC, TDM ve *M. leprae* olarak üç gruba ayrılmaktadır. Tüberküloz dışı mikobakteriler, MTBC ve *M. lepra* dışındaki mikobakteri türlerini içermektedir (28).

2.2.1. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks

Mycobacterium tuberculosis kompleks aralarında %99’un üzerinde DNA dizi benzerliği olan mikobakteri türlerini içermektedir. Günümüzde moleküler tekniklerdeki ilerlemeler ile çok sayıda türün dahil edildiği bu kompleksin içinde *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae* ve *M. orygis* bulunmaktadır. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks üyeleri enfekte ettikleri insan ve geniş hayvan rezervuarı, farklı coğrafik dağılım ve saprofitik veya patojenik davranış özellikleriyle kendi aralarında birtakım farklılıklar göstermektedir (13,29–31). Bunların içerisinde insan enfeksiyonlarına en fazla yol açan türler *M. tuberculosis*, *M. bovis* ve *M. africanum*’dur. İnsan TB’sinin çoğundan *M. tuberculosis* sorumlu olurken *M. bovis* sadece %1-2’sinden sorumlu tutulmaktadır (7). *M. bovis* başlıca sığırları enfekte etmekle beraber pastörize edilmemiş süt ürünleriyle, hayvanlarla yakın temasla ya da nadiren de olsa solunum partikülleriyle bulaşabilmektedir (28). Bulaşma şekli

nedeniyle insanlarda en sık sindirim sistemi organları gibi akciğer dışı organları etkilemektedir (32–34). *M. africanum* insanlarda akciğerleri enfekte edebilmekte, özellikle de Sahra Altı Afrika bölgesinde hastalık etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Endemik bölge dışında tanı alan olgular sıklıkla Afrika'dan gelen hastalar veya bunların temaslılarından oluşmaktadır (35). *M. bovis* BCG özellikle TB aşısı sonrası ya da mesane kanserine bağlı intravezikal BCG uygulamalarından sonra immün sistemi zayıf insanlarda hastalıktan sorumlu olabilir. Özellikle pirazinamide karşı doğal dirençli olduğu için tür düzeyinde tanımlanması tedavi başarısını etkilemektedir (32,36). *M. canetti* hem kompleks üyelerine moleküler olarak daha az benzemesi hem de kültürde düz, pürüzsüz koloniler şeklinde üremesiyle diğer türlerden ayrılmaktadır. *M. canetti*'ye bağlı olgular özellikle Doğu Afrika bölgesinde görülmektedir. İnsanlarda patojen olabilen bu tür *M. tuberculosis*'e kıyasla daha ılımlı bir tablo oluşturarak hem katı hem de sıvı kültür temelli besiyerlerinde kompleksin diğer üyelerine kıyasla daha erken üreyebilir (37,38). *M. caprae* keşfedilmesinden bu yana keçi, geyik, deve gibi geniş memeli konakçısı olduğu ortaya çıkarılmış ve insanda nadiren hastalığa neden olduğu bildirilmiştir. *M. microti* esas olarak kemirgenleri enfekte etmekte olup immün sistemi zayıf insanlarda zoonoza yol açabilmektedir. Kompleksin diğer üyelerinden olan *M. mungi* ve *M. suricattae*'in insanlarda hastalığa yol açtığı gösterilememiştir (30,39).

2.2.2. Tüberküloz Dışı Mikobakteriler

Tüberküloz dışı mikobakteriler MTBC ve *M. leprae* dışında kalan mikobakteriler olarak tanımlanmaktadır. Daha önce atipik mikobakteriler veya *MOTT* (*Mycobacteria other than tuberculosis*) olarak isimlendirilmişlerdir (13,40,41). Ernest Runyon TDM'lerin üreme süresi ve pigmentasyon özelliklerine göre bir sınıflandırma geliştirmiştir. Bu sınıflandırmaya göre fotokromojenler sadece ışık varlığında pigment oluştururken skotokromojenler hem ışıktaki hem de karanlıkta pigment oluşturabilir. Nonkromojenler ise pigment oluşturmamaktadır (15,42). Günümüzde mikobakterilerin hızlı saptanması ve tanımlanması için kullanılan yöntemler bu şemanın önemini azaltmıştır (11).

Tüberküloz dışı mikobakteriler akarsular ve göller gibi doğal su kaynaklarından, topraktan, bitkilerin veya eşyaların üzerinden, su depoları ile hastane su sistemleri gibi yapay su kaynaklarından, bronkoskop temizliğinde kullanılan çeşme

sularından ve diğer çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilebilir. Çoğu TDM türü birçok ilaca, inaktive edici ajana ve enzimlere karşı direnç göstererek yüzeylerde biyofilm tabakası oluşturur ve uzun süre canlı kalabilir (27,29,43). Moleküler tekniklerin gelişmesiyle günümüzde sayıları her geçen gün artan TDM türlerinin virülansı görece düşük olmasına rağmen Human immunodeficiency virüs (HIV), kistik fibrozis, bronşektazi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), pnömokonyoz ve geçirilmiş TB gibi risk faktörleri bulunan kişilerde çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu olabilmektedir (44,45).

Tablo 2.1. Runyon sınıflandırması ve örnek türler (15)

Yavaş üreyen mikobakteriler (>7 gün)	Runyon grup I (Fotokromojenler) • <i>M. kansasii</i> • <i>M. szulgai</i> (25 °C’de inkübe edildiğinde) • <i>M. marinum</i> • <i>M. simiae</i>
	Runyon grup II (Skotokromojenler) • <i>M. scrofulaceum</i> • <i>M. szulgai</i> (37 °C’de inkübe edildiğinde) • <i>M. gordonae</i> • <i>M. lentiflavum</i> • <i>M. flavescens</i>
	Runyon grup III (Nonkromojenler) • <i>M. avium</i> kompleks • <i>M. ulcerans</i> • <i>M. xenopi</i> • <i>M. malmoense</i> • <i>M. terrae</i> kompleks • <i>M. haemophilum</i> • <i>M. genavense</i>
Hızlı üreyen mikobakteriler (<7 gün)	Runyon grup IV • <i>M. abscessus</i> kompleks • <i>M. chelonae</i> • <i>M. fortuitum</i> kompleks • <i>M. smegmatis</i>

M. avium kompleks, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. xenopi* ve *M. abscessus* kompleks gibi TDM üyeleri TB’de olduğu gibi akciğer enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. *M. haemophilum*, *M. marinum* ve *M. ulcerans* sıklıkla cilt ve yumuşak dokuyu tutar. *M. marinum* balıkçılıkla uğraşan kişilerde genelde travma öyküsüyle

beraber akvaryum granülomu denilen ve cildi enfekte eden granümatöz bir hastalığa neden olmaktadır. *M. ulcerans* buruli ülseri ismiyle bilinen ve ekstremitte kayıplarına kadar gidebilen ciddi bir enfeksiyon tablosuna neden olabilir. *M. scrofulaceum* özellikle çocuklarda baş boyun bölgesinde lenfadenit olarak kendini göstermektedir. *M. xenopi* insanlarda sıklıkla akciğer ve eklemleri tutarak enfeksiyona neden olur. En fazla su kaynaklarından izole edilen bu mikobakteri optimum 40-45 °C sıcaklıklarda üremektedir. *M. haemophilum*, *M. marinum* ve *M. ulcerans* gibi optimum üreme sıcaklığı düşük olan ve sıklıkla cilt ve yumuşak dokuyu tutan türlerin enfeksiyonundan kuşkulandığında laboratuvara gelen biyopsi örneklerinin iki ayrı kültür ortamına ekimi yapılarak 28-32 °C ve 35-37 °C’de eş zamanlı inkübasyona alınması önerilmektedir (40,41,45–48). Tüberküloz dışı mikobakterilere bağlı mikobakteriyel enfeksiyonların, bu bakterilerin çevrede yaygın olarak bulunması ve TB’ye benzer hastalık tablosuna yol açması nedeniyle TB’den ayırıcı tanısı zordur. Bu nedenle TDM tanısında hastanın klinik bulguları ile birlikte radyolojik görüntüleme bulguları, ardışık balgam ARB pozitifliği ve tekrarlayan kültür pozitifliği gibi birtakım tanı kriterleri geliştirilmiştir (41,44,45).

2.3. Tüberküloz

2.3.1. Bulaş ve Patogenez

M. tuberculosis enfekte bireylerden yayılan 1-5 µm büyüklüğündeki damlacık çekirdekleriyle bulaşır. Bulaşma şekli nedeniyle en fazla akciğerler olmak üzere beyin, gastrointestinal sistem organları, üriner sistem organları, lenf bezleri, cilt, eklem ve yumuşak doku gibi birçok farklı organı etkileyebilmektedir. Bulaştırıcılığın en yüksek olduğu hastalar kaviter akciğer TB’li ve larinks TB’li bireylerdir. Bu hastaların öksürme, hapşıрма veya konuşma sırasında yaydığı enfektif damlacıklar duyarlı konaklar tarafından solunum yoluyla alınarak akciğer alveollerine ulaşmaktadır (27,49–51). Mikobakterilerin alveollere ulaşması her insanda enfeksiyona neden olmaz. Basilin vücuda girdikten sonra tamamen temizlenme, latent TB, subklinik TB veya aktif TB hastalığına ilerlemesine kadar giden farklı klinik spektrumlardan hangi yolu izleyeceği bulaşan suşun patojenitesi ile konağın immün sistemi arasındaki dengenin hangi yönde bozulacağına göre değişmektedir (52,53)

Akciğere ulaşan basillere karşı alveolar makrofajlar tarafından ilk immün yanıt oluşturulur. Aktive olan makrofajlardan başlıca tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) ve

interlökin-12 (IL-12) ortama salınır. TNF- α nötrofilleri indükler, reaktif oksijen radikalleri ile basili ortadan kaldırmaya yardımcı olur ve granülom oluşumunda da önemli bir role sahiptir. IL-12 ise interferon-gamma (IFN- γ) yanıtıyla beraber T helper (Th) 1 yanıtının tetiklenmesi ve makrofajlar içerisine yerleşmiş TB basillerinin yok edilmesini sağlar. Ayrıca TB'ye etkili savunma mekanizması olan sitotoksiteyi tetikler. İnterlökin-1 beta (IL-1 β) granülom oluşumu, ateş, makrofajların sitokin üretilmesi amacıyla uyarılması ve T hücre sayısının IL-2 aracılığıyla arttırılmasını sağlar. Fagosit edilen basillerin bir kısmı reaktif oksijen radikalleri, fagozom içerisindeki asidik pH ve proinflamatuvar sitokinlerle nötrofil ve monositlerin de enfeksiyon bölgesine çekilmesiyle ortadan kaldırılır. Alveolar makrofajlar ve dentritik hücrelerin içinde çoğalmaya devam eden basiller CD4+ T lenfositler tarafından lenf nodlarına taşınır ve burada CD8+ T lenfositleri aktive eder. Böylelikle T hücrelerinden IFN- γ salgılanmaya başlar ve TNF- α yanıtıyla beraber akciğere daha fazla inflamatuvar hücre göçü gerçekleşir. İnflamatuvar yanıtın ilerlemesiyle lenfositler, çok çekirdekli dev hücreler ile enfekte makrofajlardan oluşan granülom olarak isimlendirilen bir yapı ortaya çıkar. Granülom oluşumuyla beraber enfeksiyon o bölgeye hapsedilmeye çalışılsa da granülom içinde kalan TB basilleri T lenfositlerin sitotoksik etkisine daha az maruz kalarak yaşamlarını devam ettirir. Akciğerdeki oluşan bu inflamatuvar bölge Ghon odağı olarak isimlendirilmektedir. Ghon odağına eşlik eden bölgesel lenf nodu tutulumu da varsa her ikisine birlikte Ranke kompleksi ismi verilmektedir (16,28,51,53–55). Primer TB hastalarda hafif ateş, öksürük, dispne, kilo kaybı, iştahsızlık, halsizlik ve terleme gibi semptomlara neden olabilir. Akciğer grafisinde büyümüş mediastinal lenf nodları, plevral sıvı birikmesi, ateletazi ve nadiren de olsa akciğer parankim tutulumuna rastlanabilir. (3,16,28,53,56).

Enfekte hastaların bir kısmı basilleri vücudundan tamamen temizlerken %5-10'u aktif TB hastalığına ilerleyerek primer TB ortaya çıkar. Yaklaşık %90'lık kısım ise latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBE) olarak adlandırılan evreye geçer (57). Latent TB, bireylerde sadece tüberkülin deri testi (TDT) veya interferon gama salınım testiyle (IGST) saptanabilen bir tabloya neden olur. Tüberkülin deri testinin pozitifleşmesi basil ile maruziyetten 3-4 hafta sonra gerçekleşmektedir (11,15). Latent TB'li bireylerde aktif hastalığa özgü herhangi bir semptom, radyografik görüntüleme bulgusu ve bulaştırıcılık bulunmamakla birlikte bu bireylerin balgam örneklerinin aside dirençli boyanmış preparatlarında ARB saptanmamakta ve kültürlerinde de

üreme olmamaktadır (56,58). Bu evrede adeta uyku halinde (dormant) olan TB basilleri malignite, HIV enfeksiyonu, kronik böbrek yetmezliği (KBY), sigara, alkol, TNF- α blokörü kullanılması, glukokortikoid tedavisi, yetersiz beslenme gibi bireyin savunma sistemini bozan durumlarda reaktif olarak aktif TB tablosuna (sekonder TB) neden olur (4,59,60). Latent evredeki bireylerin ilk iki yılda en yüksek olmak üzere yaşamları boyunca %5-10 kadarı aktif hastalık geliştirmektedir (1).

Sekonder TB’de sıklıkla görülen semptom ve bulgular arasında ateş, iştah kaybı, kilo kaybı, gece terlemesi, hemoptizi, nefes darlığı ve öksürük yer almaktadır. Ayrıca tutulan organa özgü bulgular da görülebilir. Radyografik görüntülemeye en sık akciğer üst zonlarını tutan kaviter lezyonlar veya nadiren parankimal infiltratif lezyonlar tespit edilebilir. Bu hastalarda örneğin kalitesi, tutulan organ, basil yükü gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak tanı yönteminin duyarlılığı değişmekle birlikte aside dirençli boyama, kültür ve moleküler testlerle sekonder TB enfeksiyonu tanısı konulabilmektedir (3,28,53,61).

2.3.2. Epidemiyoloji

Tüberküloz insanlarda ciddi şekilde morbidite ve mortaliteye neden olabilen küresel çapta bir sağlık sorunudur (27). Dünya nüfusunun yaklaşık dörtte birinin *M. tuberculosis* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Dünyada aktif TB hastalarının esas kaynağını LTBE’li kişiler oluşturmaktadır. Tüberküloz son verilere göre dünyada en sık ölüm nedenleri arasında HIV enfeksiyonunu da geçerek 13. sıraya kadar yükselmiştir. Dünya Sağlık Örgütü 2023 Küresel Tüberküloz Raporu’nda TB’nin tek bir etkene bağlı ölüm nedenleri arasında COVID-19 (SARS-CoV-2) enfeksiyonundan sonra ikinci sırada yer aldığını belirtmiştir (1). Tüberkülozun eradikasyonu yolunda başta hızlı tanı ve doğru tedaviyle beraber ülkelere göre değişiklik göstermekle birlikte temaslı ve aktif hastalığa ilerleme riski veya bulaş riski yüksek grupların taranması gibi bütünsel bir yaklaşım sergilenmesi gerekmektedir (62,63). Dünya Sağlık Örgütü ve Birleşmiş Milletler (BM) 2014-2015 yılları arasında TB’yi küresel olarak ortadan kaldırmayı amaçlayan birtakım hedefler belirlemişlerdir. Bu hedefler doğrultusunda 2015 yılına kıyasla 2030 yılında TB’ye bağlı ölümlerin %90, 2035 yılında ise %95 oranında azaltılması; TB insidansının ise aynı yıllara kıyasla sırasıyla %80 ve %90 oranında düşürülmesi amaçlanmaktadır (1,5).

2.3.2.1. Dünyada Tüberküloz Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü her yıl TB verilerini içeren kapsamlı bir rapor yayınlamaktadır. 2023 yılında yayınlanan Küresel Tüberküloz Raporu'na göre 2022 yılında 10.6 milyon insanın TB'ye yakalandığı, 1.3 milyon insanın ise TB nedeniyle hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. Aynı rapora göre tüm olguların %46'sı Güneydoğu Asya bölgesi, %23'ü Afrika bölgesi ve %18'i Batı Pasifik bölgesindedir. Hindistan (%27), Endonezya (%10), Çin (%7,1) ve Filipinler (%7) dünyadaki toplam olgu sayısının yarısından fazlasını oluşturmaktadır. İnsidans oranlarında 2010-2020 yılları arasında yıllık yaklaşık %2 civarında istikrarlı bir düşüş görülürken, 2020-2022 yılları arasında %3.9'luk artışla bu düşüş tersine dönmüştür. Küresel TB insidansı 2022 yılında 133/100.000 tespit edilmiştir. Düşük TB insidansı (<10/100.000 nüfus) çoğunluğu Amerika ve Avrupa bölgesinde olmak üzere 57 ülkede saptanmıştır. Yüksek TB yükü olan 30 ülkenin çoğunda 100.000 kişide 150-400 arasında olgu bulunmakla birlikte Orta Afrika Cumhuriyeti, Kore gibi ülkelerde 100.000 kişide 500'den fazla olgu mevcuttur. Tüberküloz 2022 yılında 167.000'i HIV pozitif olmak üzere toplamda 1.3 milyon insanın ölümüne neden olmuştur. Hindistan tek başına bu ölümlerin %26'sından sorumludur. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2022 yılında rifampisin dirençli tüberküloz (RD-TB) ve çok ilaca dirençli tüberküloz (Multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB, ÇİD-TB) olgu sayısı tahmini olarak 410.000 raporlanmıştır. Bildirilen dirençli olguların üçte ikisinden fazlasını Hindistan (%27), Filipinler (%7,5) ve Rusya Federasyonu (%7,5) oluşturmaktadır (1). COVID-19 pandemisinin olumsuz etkisiyle beraber TB'nin eradikasyonunda DSÖ ve BM'nin belirlediği hedeflere ulaşmak için önümüzde uzun bir yolun olduğunu görmekteyiz. Her ne kadar şimdilik belirlenen hedeflerin uzağında bulunuyor olsak da TB'yle mücadele kapsamında geçtiğimiz son 20 yılda TB'ye bağlı 74 milyon insanın ölümünün önlendiği tahmin edilmektedir (64–66).

2.3.2.2. Türkiye'de Tüberküloz Epidemiyolojisi

Türkiye'de TB ile mücadele T.C. Sağlık Bakanlığı bünyesindeki Tüberküloz Dairesi Başkanlığı öncülüğünde verem savaş dispanserleri, mobil tarama ekipleri, özel ve kamuya bağlı laboratuvarlarla epidemiyoloji, aşılama, tarama, tanı, tedavi ve takip çalışmaları şeklinde yürütülmektedir. Tüberkülozla mücadele kapsamında yapılan çalışmalar Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi ve DSÖ' nün benimsediği Tüberkülozu

Bitirme Stratejisi'ne (End TB) göre planlanıp uygulanmaktadır. Türkiye'de TB epidemiyolojisine ait veriler 2005 yılından itibaren her hastadan kişisel olarak toplanmaya başlanmış olup her yıl düzenli olarak T.C. Sağlık Bakanlığı bünyesinde raporlar oluşturularak verilerin eş zamanlı DSÖ'ye gönderilmesi sağlanmıştır (4,5,67,68).

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre Türkiye'nin 2022 yılı tahmini TB insidansı 100.000 kişide 14 olarak rapor edilmiş olup TB'ye bağlı mortalite 357 olarak bildirilmiştir (69). T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye'de Verem Savaşı 2021 Raporu'na göre Türkiye'de 2020 yılında kayıtlı yeni ve nüks olgu sayısını 8.830 olarak bildirmiştir. Bu rapora göre hastaların %57.2'sini erkekler, %42.8'ini ise kadınlar oluşturmaktadır. Tüberkülozda akciğer (AC) tutulumu %58.4 oranında raporlanırken akciğer dışı (AD) tutulum %35, her iki (AC+AD) bölge tutulumu ise %6,6 olarak raporlanmıştır. Akciğer TB'li olguların %91.7'sine aside dirençli boyama ve mikroskopi, %90'ına ise kültür yapılmıştır. 2020 yılında TB tespit edilen olguların %80'ine HIV testi yapılmış ve 87 hasta HIV pozitif TB olgusu olarak raporlanmıştır. Kayıtlı verilere bakıldığında Türkiye insidansı 2005 yılında saptanan 100.000'de 29.4 seviyesinden düzenli olarak düşüş eğilimi göstermiş olup 2020 yılında 100.000'de 10.6 olarak raporlanmıştır. İlaç duyarlılık testi çalışılan hastalarda tek ilaç olarak en sık izoniazide (%5,2) direnç saptanırken, ÇİD-TB %2.6 hastada tespit edilmiştir. Tüberküloz tedavi başarısı ise 2019 yılında %81.9 seviyesindedir (5,70).

2.4. Antitüberküloz İlaçlar ve Direnç

Tüberkülozun standart tedavi rejiminde kullanılan ilaçlar birinci seçenek ilaçlar olarak adlandırılmakta olup bu grupta; izoniazid, rifampisin, pirazinamid ve etambutol bulunmaktadır. İkinci seçenek ilaçlar arasında ise streptomisin, amikasin, kanamisin, kapreomisin, etionamid, para-aminosalisilik asit (PAS), sikloserin, bedakuilin, ofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, rifabutin, bedakuilin, linezolid ve klofazimin yer almaktadır (4). Standart tedavi rejiminde TB hastaları ilk iki ay izoniazid, rifampisin, pirazinamid ve etambutol kombinasyon tedavisinin ardından dört ay izoniazid ve rifampisine devam edilmesiyle toplamda altı ay boyunca tedavi edilmektedir. Antitüberküloz ilaçlara direnç durumunda ise birinci ve ikinci seçenek ilaç gruplarından uygun olanlar seçilerek tedavide başarı sağlanmaya çalışılmaktadır (4,71).

Tek başına rifampisin dirençli basillerin neden olduğu TB olguları RD-TB olarak adlandırılırken, en az rifampisinle birlikte izoniazide de dirençli basillerin neden olduğu TB olguları ÇİD-TB olarak adlandırılmaktadır. Rifampisin direncine ek olarak kinolon ve bedakuilin veya linezolide dirençli olgular ise yaygın ilaç dirençli TB (Extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB, YİD-TB) olarak adlandırılmaktadır [Eski tanımlamaya göre rifampisin ve izoniazid direnciyle birlikte kinolon grubundan ve enjekte edilebilir ikinci seçenek ilaçlardan (amikasin, kanamisin, kapreomisin) birine direnç olarak isimlendirilmekteydi]. 2023 Küresel Tüberküloz Raporu'na göre 2022 yılında tahmini RD-TB ve ÇİD-TB olgu sayısı 410.000 olarak raporlanmış olup en fazla direnç bildiren ülkeler arasında Hindistan, Filipinler ve Rusya Federasyonu yer almaktadır (1,64,72).

Birçok farklı yolla antitüberküloz ilaçlara karşı direnç gelişebilmektedir. Tüberküloz tedavisinde kullanılan en önemli ilaçlardan biri olan rifampisin DNA-bağımlı RNA polimerazın β alt ünitesine tutunur ve RNA sentezini bozarak hücrenin protein sentezini durdurur. Rifampisin direncine neden olan mutasyonların %95'i RNA polimerazın β alt ünitesini kodlayan rpoB genindeki 81 baz çifti uzunluğundaki rifampisin direncini belirleyici bölgesinde (Rifampin Resistance Determining Region, RRDR) meydana gelmektedir (73). İzoniazid mikobakterilerin seçici geçirgenliğine katkıda bulunan mikolik asit sentezini bozmaktadır. İzoniazide karşı yüksek seviyede direnç katG genindeki mutasyonla ortaya çıkarken, inhA mutasyonu görülmesi düşük düzey dirençle ilişkilendirilmiştir. Etambutol arabinozil transferaz enziminin çalışmasını durdurarak mikobakteri hücre duvarı yapısındaki mAGP kompleksinin bir parçası olan arabinogalaktan sentezini bozmaktadır. Bu ilaca karşı direnç ise sıklıkla embB genindeki mutasyona bağlı gerçekleşmektedir (20,74). Pirazinamid pncA geni tarafından kodlanan pirazinamidaz enzimi aracılığıyla aktif hale gelir ve TB basilinin tedavisinde kullanılır. Bu gende ortaya çıkan mutasyonlar pirazinamid direncine yol açmaktadır (74,75).

2.5. Tüberkülozun Laboratuvar Tanısı

Tüberkülozun kontrolünde ve eradikasyonunda en önemli basamak TB olgularının erken tespit edilmesi ve etkin tedaviye hızlı bir şekilde başlanmasıyla bulaş zincirinin kırılmasıdır. Tüberküloz tanısında anamnez, fizik muayene bulguları, radyografi, mikroskopik inceleme, kültür, moleküler testler ve histopatolojik inceleme

gibi birçok farklı yöntem başvurulabilir. Dünya Sağlık Örgütü ve Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)'ne göre TB tanısında en etkili yöntem basilin kültür ortamında üretilmesidir (4-6,63,76,77). Tüberkülozun tanısı amacıyla mikobakteriyoloji laboratuvarına steril ve steril olmayan birçok örnek yollanabilir. En sık balgam, bronkoalveolar lavaj sıvısı (BAL), transtrakeal aspirat (TTA), uyarılmış balgam, açlık mide sıvısı (AMS) gibi akciğer örnekleri ile idrar, steril vücut sıvıları (plevra, periton, perikard, eklem sıvısı vb.), beyin omurilik sıvısı (BOS), kan, kemik iliği, doku biyopsisi, apse, dışkı gibi çeşitli akciğer dışı örnekler de yollanabilmektedir (3,78).

2.5.1. Örneklerin Alınması ve Taşınması

Uygun hasta örnekleri alınırken ve laboratuvara iletilirken birtakım kurallara dikkat edilmesi gerekmektedir. Örneğin hastaların semptomları göz önünde bulundurularak doğru seçilmesi ve tedaviye başlanmadan önce aseptik koşullarda alınarak vakit kaybetmeden laboratuvara ulaştırılması son derece önemlidir. Örnekler tek kullanımlık, burgu kapaklı, kırılmaya dayanıklı ve steril örnek kaplarının içerisine alınmalıdır. Alınan örnekler laboratuvara yollanmadan önce hastanın kimlik bilgilerinin doğruluğu ve doğru test istemi yapılıp yapılmadığı kontrol edildikten sonra uygun taşıma koşullarında laboratuvara iletilmelidir (4,6,7,78,79). Sürüntü örnekleri ile hatalı istem yapılmış, 24 saat biriktirilmiş, yetersiz miktar alınmış, formalin içerisine alınmış ya da uygun transport koşulları sağlanmadan yollanmış örneklerin hatalı sonuçlara neden olacağı için mikobakteri laboratuvarında çalışılması uygun değildir (3,29,78-80). Akciğer örneklerinden balgamın en az bir tanesi sabah olmak üzere ardışık üç gün, her biri yaklaşık 5-10 ml olacak şekilde alınması uygundur. Son çalışmalar üçüncü balgam örneğinin tanıya katkısının %3 civarında olduğunu ve iki balgam örneğinin de tanı koymada yeterli olabileceğini göstermiştir (7,29). Balgam örneği elde edilemeyen hastalardan uyarılmış balgam örneği alınabilir. Bu yöntemde hastaya hipertonic tuzlu su (%3-10 NaCl) 10-15 dakika boyunca nebulizatör yardımıyla solutulduktan sonra uyarılmış balgam örneği alınır (3,4,79). Uyarılmış balgam örneği sulu görünümde olabileceğinden laboratuvarında tükürük olarak değerlendirilerek reddedilmesi riskine karşı örneğin uyarılmış balgam olduğu belirtilerek yollanmalıdır (4,81). Balgam veya uyarılmış balgam örneği veremeyen hastalardan bronkoskop yardımıyla BAL (5-10 ml) ve bronşiyal fırçalama örnekleri

alınabilir (80,82). Diğer yollarla akciğer örneği alınamayan hastalardan TTA örnekleri de alınabilir. Balgam vermesi mümkün olmayan, bilinci kapalı hastalar veya küçük çocuklardan TB tanısı amacıyla AMS alınmasına da başvurulabilir. Açlık mide sıvısı, balgam örneğine benzer şekilde üç gün üst üste, sabah aç karnına alınmalı ve laboratuvara ulaşma süresi dört saati aşacak ise içerisinde 100 mg sodyum karbonat bulunan kaplarda gönderilmelidir (2,6,7,82).

Akciğer dışı örneklerden idrar örneğinin ardışık üç gün, tercihen gece mesanede beklemiş orta idrar olması ve yaklaşık 40 ml alınması uygundur. Kontaminasyon riski nedeniyle biriktirilmiş idrar veya sonda torbasından elde edilen idrar örnekleri uygun değildir (2,3,81). Steril vücut sıvıları alınırken aseptik koşulların sağlanmasına ve BOS'un en az 2 ml, diğer steril vücut sıvılarının ise 10 ml'nin üzerinde olmasına dikkat edilmelidir (2-4). Apse örnekleri steril bir iğne yardımıyla dikkatlice alınabilir (83). Doku ve biyopsi örnekleri en az 1-2 gr olmalı ve formalin eklenmeden steril bir kaba alınmalıdır. Daha küçük miktarlardaki doku örnekleri az miktarda izotonik sıvıyla nemlendirilerek yollanmalıdır (2,7,81). Yaygın mikobakteriyel enfeksiyon şüphesinde kan ve kemik iliği örneklerine başvurulabilir. Bu örnekler alındıktan sonra mikobakteriyel kan kültürü besiyerlerine doğrudan ekilebilir veya pıhtılaşmayı önleyici antikoagülan [heparin, sodyum polianetilen sülfat (SPS) veya sitrat] içeren tüplere alınarak laboratuvara yollanabilir. Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüpe alınmış veya pıhtılaşmış kan ve kemik iliği örnekleri laboratuvar açısından uygun değildir (2,7,13,78). Dışkı örneklerinin steril bir kap içerisine mümkünse 1 gr ve üzerinde alınması tercih edilir (78).

2.5.2. Örneklerin İşlenmesi

Tüberküloz basilinin diğer mikroorganizmalara kıyasla ikiye bölünme zamanı uzun olduğu için kültür ortamında üremesi haftalar sürebilmektedir. Tüberküloz tanısı amacıyla özellikle steril olmayan bölgelerden alınan örneklerdeki bakteri ve mantarların kültür besiyerinde mikobakterilerden daha hızlı üremesi besiyerinin kontaminasyonuna yol açmaktadır (80,81). Bu nedenle flora içeren vücut bölgelerinden alınan balgam, BAL, TTA, uyarılmış balgam, idrar, apse, dışkı gibi örnekler ile steril bölge olsa bile aseptik koşullara uyulmadan alınmış örnekler mikroskopi ve kültür işlemlerinden önce homojenizasyon, dekontaminasyon, nötralizasyon ve konsantrasyon işlemleri uygulanmaktadır. Kan, kemik iliği, BOS,

plevra, periton, perikard, eklem sıvısı gibi steril örneklerle ise dekontaminasyon uygulanmasına gerek yoktur. Steril vücut sıvıları ve BOS gibi örneklerle, yeterli miktarda örnek bulunuyorsa basil yoğunluğunu arttırmak amacıyla besiyerine ekilmeden önce konsantrasyon işlemi uygulanabilir (2,3,6,81).

Dekontaminasyon amacıyla tek başına sodyum hidroksit (NaOH), N-asetil-L-sistein (NALC) + Sodyum hidroksit (NaOH), Zefiran-trisodyum fosfat (Z-TSP), oksalik asit, sülfürik asit gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Rutin uygulamada en sık başvurulanan yöntem NALC-NaOH yöntemidir (3,13,84). Bileşimin içerisindeki NaOH'nin dekontaminasyon etkisi bulunurken ek olarak NaOH ve NALC'nin örneklerdeki mukus ve organik materyali parçalama etkisi bulunmaktadır. Bileşimin içerisindeki sodyum sitrat ise NALC inhibitörü olan iyonları ortamdan uzaklaştırmak amacı ile kullanılmaktadır (3,80,81).

Bu yöntem uygulanırken önce örnek miktarıyla NALC-NaOH eşit hacimde karıştırılarak vortekslenir, homojenize olması sağlanır. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra içerisine dekontaminasyonu sonlandırmak amacıyla fosfat çözeltisi eklenir. Dekontaminasyon işleminin süresi aşırsa mikobakterilere olan toksik etkisi de artacaktır. Fosfat çözeltisi eklenmiş bileşim konsantrasyon amacıyla 3000Xg kuvvetinde 15-20 dakika santrifüj edilerek üst kısımdaki sıvı seyreltilmiş çamaşır suyu bulunan atık kutusuna boşaltılır. Tüpün dibinde kalan konsantre edilmiş örneğe nötralizasyon amacı ile 1-2 ml fosfat çözeltisi eklenir ve elde edilen sediment mikroskopi ve kültürde kullanılmak üzere uygun hale getirilmiş olur (3,78,84).

2.5.3. Mikroskopik İnceleme

Mikroskopik inceleme sosyoekonomik düzeyi düşük, altyapı yetersizliği nedeniyle moleküler testler gibi pahalı tanı yöntemlerine erişimi olmayan bölgelerde daha sık tercih edilen ve TB tanısında hızlı, düşük maliyetli ve özgüllüğü yüksek bir tanı yöntemidir. Duyarlılığı çalışılan koşullara göre %25-75 arasında değişmekle birlikte özellikle akciğer dışı örneklerde, çocuk ve HIV pozitif hastalarda basil yükünün az olması nedeniyle düşmektedir (3,6,14,82). Ayrıca bu yöntemle canlı-ölü basil ayrımı ve MTBC-TDM ayrımı yapılamamakta olup antimikrobiyal duyarlılıkla ilgili veri de elde edilememektedir. Bunun yanında mikroskopik inceleme ile basillerin

görülebilmesi için örneğin mililitresinde 5.000-10.000 basil gibi yüksek mikobakteri konsantrasyonu bulunması gerekmektedir (4,14,85).

Mikobakteriler kalın ve yoğun lipid içeren hücre duvarı nedeniyle gram boyama yöntemleriyle boyanmazlar veya silik şekilde boyanırlar (15). Bu nedenle mikobakterilerin tanısı için mikroskopik incelemede aside dirençli boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Aside dirençli boyama, mikobakterilerin fazla miktarda lipid ve mikolik asit içeren hücre duvarının fenol içeren boyalar sayesinde aşılması ve asit-alkol karışımı ile yapılan dekolorizasyona rağmen hücrenin boyayı geri bırakmaması temeline dayanmaktadır (7,85). Fenol içeren boyaların kullanıldığı karbol fuksin temelli boyama yöntemleri Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) ve Kinyoun boyama yöntemi olarak iki farklı şekilde uygulanabilmektedir. Ayrıca fenol yerine floresan boyaların (Auramine O, Auramine-rhodamine) kullanıldığı bir diğer boyama yöntemi ise florokrom boyama yöntemidir. (4,6,7,11,80).

Ehrlich Ziehl Neelsen boyama yönteminde örneğin sabitlendiği preparatın üzerini kaplayacak şekilde fenol ve bazik fuksin içeren boya karışımı (karbol fuksin) dökülür ve preparat alttan hafif buhar çıkana kadar yaklaşık beş dakika boyunca ısıtılır. Isıtma işleminin ardından preparat dikkatlice su ile yıkanır. Yıkanan preparatın üzerine %3'lük asit-alkol karışımından dökülür. Boya gidene kadar yaklaşık 1-2 dakika boyunca beklenir ve tekrar suyla yıkanır. Son aşamada preparatın üzerine metilen mavisi eklenerek 1-2 dakika beklenir ve suyla durulanarak dik bir şekilde kuruyana kadar bekletilir. Boyanan preparat immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskopunda 1000x'lik objektifle taranarak incelenir (3,6,79). Sonuç taranan alan ve her alandaki basil sayısına göre yayma ARB negatif ile yayma ARB +4 pozitif sonuca kadar değişen şekillerde raporlanır (2,4).

Kinyoun yönteminin EZN yönteminden farkı bazik fuksin konsantrasyonunun yaklaşık 10 kat, fenol konsantrasyonunun ise yaklaşık 1.5 kat artırılmasıyla boyanın hücre içine geçişinin kolaylaştırılması ve bu sayede ısıya ihtiyaç duyulmamasıdır. Fakat bu boyama yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü EZN'ye göre daha düşük saptanmıştır (3,6,85). Florokrom boyama yönteminde duyarlılık fenol bazlı boyama yöntemlerinden daha yüksektir ve bu yöntem daha geniş bir alanı daha kısa sürede tarama olanağı verdiği için TB basillerinin daha kolay saptanmasını sağlamaktadır. Ancak florokrom boyama yönteminin duyarlılığı EZN'ye göre daha yüksek olmasına rağmen floresan boyaların spesifik olmayan bağlanmaları nedeniyle özgüllüğü daha

düşüktür. Bu nedenle florokrom boyama yöntemini kullanan laboratuvarların kuşkulu durumlarda basil saptanan örnekleri, ikinci bir boyama yöntemiyle doğrulaması önerilmektedir (3,7,82,85).

2.5.4. Kültür

Günümüzde TB tanısında boyama yöntemleri, histopatolojik incelemeler veya ileri düzey moleküler teknikler gibi çeşitli araçlar kullanılıyor olsa da halen altın standart yöntem mikobakterilerin kültür ortamında üretilmesidir. Kültür yapılamıyorsa örneğin kültür yapılabilen bir laboratuvara uygun koşullarda yollanması önerilmektedir. Kültürün tanı basamaklarına dahil edilmesiyle birlikte tanı konulan vaka sayısında %50'ye yakın artış sağlanmıştır (3,4,6,86). Mikobakterilerin tanısında kültürün kullanılmasıyla canlı basillerin saptanması, tür düzeyinde tanımlama, ilaç duyarlılığının test edilerek hastalara doğru tedavinin uygulanması, mikobakterilerin stoklanması ve epidemiyolojik verilere katkı sağlanması gibi birçok avantaj sağlanmıştır. Kültür yöntemleri aside dirençli boyamaya kıyasla çok daha düşük sayıda basilin (>10 basil/ml) saptanabilmesi sayesinde HIV ile enfekte hastalar, çocuklar, akciğer dışı TB olgularındaki az sayıdaki mikobakterinin tespit edilmesiyle TB'nin daha erken dönemde yakalanmasını sağlar (3,4,6,82). Tüberküloz tanısında kullanılan ideal kültür besiyerinin; mikobakterilerin üremesini desteklemesi fakat diğer kontaminant mikroorganizmaların üremesinin inhibe edilmesi, kolonilerin kolay ayırt edilmesi, besiyeri içeriğinin kolay erişilebilir ve ucuz olması, hazırlanmasının zahmetli olmaması ve uzun süre saklanabilmesi gibi birtakım özelliklere sahip olması istenmektedir (81,84). Bu özelliklerin hepsini içeren ideal bir besiyeri hala geliştirilmeye çalışılıyor olsa da günümüzde belirtilen özelliklerin birçoğuna sahip çok sayıda katı ve sıvı temelli kültür besiyerleri mikobakterilerin tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, CLSI ile CDC TB tanısında katı ve sıvı kültür besiyerlerinin birlikte kullanılmasını önermektedir (2,4,13,77,80,86).

Mikobakterilerin üretilmesi amacıyla kullanılan kültür ortamları sıvı ve katı temelli besiyerleri olmak üzere iki grup olarak sınıflandırılmaktadır. Katı besiyerleri de içeriğinde bulunan temel bileşenin agar veya yumurta olmasına göre ikiye ayrılmaktadır (3,78,87). Katı besiyerlerinin; koloni morfolojisi, mikobakteri kolonilerinin sayımı, karışık üreme durumunda pasaj yapılarak saf kolonilerin elde edilmesi, pigment üretiminin gözlenmesi ve sıvı besiyeri kontamine olduğunda

hastadan yeni örnek istemesi yerine başvurulabilecek bir seçenek olması gibi birçok avantajı bulunmaktadır (2,88).

Yumurta temelli besiyeri bileşiminde yumurtanın sarısı veya tamamı, patates unu, gliserol, mineral tuzlar ve inhibitör olarak da farklı konsantrasyonlarda malaşit yeşili içermektedir. Bu besiyerleri kontaminantların çoğalmasını engellerken pH'nin belli bir aralıkta tutulmasını sağlayarak mikobakterilerin üremesini destekler. Ayrıca agar temelli besiyerlerine kıyasla daha uzun süre saklanabilir. Yumurta temelli besiyerlerinden en sık kullanılan LJ besiyerinde *M. tuberculosis* ortalama 2-3 hafta içerisinde kuru, deve tüyü renginde, pürüzlü koloniler oluşturarak üremektedir (7,78,81,87). Diğer yumurta içerikli Petraghani besiyeri malaşit yeşilini LJ'ye göre iki kat fazla miktarda içermekte ve kontaminasyon riski yüksek örneklerin ekiminde tercih edilmektedir. American Trudeau Society (ATS) besiyeri ise malaşit yeşilini LJ'den daha az miktarda içermekte olup, bu besiyerinde üreyen koloniler daha büyük boyutlara ulaşabilmektedir. Daha çok BOS, eklem sıvısı, plevra veya perikardiyal biyopsi gibi steril örneklerin ekimi amacıyla tercih edilmektedir. Bir diğer yumurta temelli besiyeri olan Ogawa besiyerinin özelliği ise asparajın yerine sodyum glutamat gibi daha az maliyetli bir maddenin eklenmesi ile işlenmiş örneklerin santrifüje gerek kalmadan besiyerine doğrudan ekilebilmesidir. Antimikrobiyal ajanlar eklenerek seçici hale getirilmiş ve kontamine örneklerin ekilmesi amacıyla kullanılan LJ Gruft (penisilin ve nalidiksik asit) ile Mycobactosel LJ (sikloheksimid, linkomisin ve nalidiksik asit) besiyerleri yumurta temelli seçici besiyerlerine örnek verilebilir. Yumurta temelli besiyerinin opak olması nedeniyle kolonilerin gözle görünür hale gelmesi 2-3 haftayı bulmakta ve sonuçların üreme negatif olarak raporlanabilmesi için ise sekiz haftalık inkübasyon süresinin beklenmesi gerekmektedir. Her ne kadar bu besiyerlerinde *M. tuberculosis*'in izolasyonu iyi olsa da bazı TDM türleri ürememektedir. Ayrıca koloni sayımı üreme kısıtlı bir alanda olduğu için zordur (2,6,86).

Agar temelli besiyeri içerisinde albumin, katalaz, gliserol, glikoz, vitamin, tuz bileşikleri ve çeşitli kofaktörler içermekte olup bu besiyerlerine Middlebrook 7H10 agar örnek verilebilir. Middlebrook 7H10 agara %0.1 kazein hidrolizat eklenmesiyle izoniazid dirençli TB basillerinin üremesini arttıran Middlebrook 7H11 agar üretilmiştir (15,86). Mikobakteriler agar temelli besiyerinde yaklaşık 10-12 günde, besiyerinin şeffaf olması sayesinde büyüteç veya mikroskopla görülebilen koloniler

oluşturur (2,7). Agar temelli seçici besiyerlerine mycobactosel Middlebrook 7H10 agar (sikloheksimid, linkomisin, nalidiksik asit) ve Mitchison'un seçici 7H11 agarı (polimiksin B, amfoterisin B karbenisilin, trimetoprim laktat) örnek olarak verilebilir (6,86). Her ne kadar mikobakterilerin üremesi agar temelli besiyerinde LJ besiyerine göre daha kısa sürede olsa da bu besiyerlerinin laboratuvar şartlarında hazırlanmasının zahmetli ve maliyetli olması, raf ömürlerinin kısa (buzdolabında yaklaşık bir ay) olması ve ışığa maruz kaldıklarında ortama salınan formaldehit nedeniyle mikobakterilerin üremesini olumsuz etkilemesi gibi birtakım dezavantajları bulunmaktadır.

Mikobakteri kültürü amacıyla yumurta temelli katı besiyeri kullanılmışsa örneklerin ekiminin ardından besiyeri kapakları tam sıkılmadan ve örnek ekilmiş yüzey yukarı bakacak şekilde, yatık pozisyonda, 35-37°C sıcaklıkta bir hafta inkübe edilmesi önerilmektedir. Ardından tüplerin kapakları sıkılarak dik konumda inkübasyona devam edilir. Eğer örneklerin ekiminde agar temelli katı besiyeri kullanılmışsa, örnek besiyerine absorbe olana kadar, besiyeri yüzeyi alta bakacak şekilde, %5-10 CO²'li etüvde, 35-37°C sıcaklıkta inkübe edilir. Ardından besiyeri aksine çevrilerek, CO² geçişine izin veren torbalarda inkübasyona devam edilmesi uygundur. Katı besiyerleri inkübasyona alındıktan sonra ilk hafta, haftada iki defa; daha sonra sekizinci haftaya kadar haftada bir defa olmak üzere üreme varlığı açısından kontrol edilir. Sekiz haftalık süreyi tamamlayan örneklerin inkübasyonu besiyeri yüzeyinde herhangi bir koloni görülmemesi durumunda sonlandırılmaktadır. Geç üreyen mikobakteri şüphesi varlığında (*M. ulcerans*, *M. genavense*) inkübasyon süresi sekiz haftalık süreye ek olarak birkaç hafta daha uzatılabilir (2,3,6,7).

M. tuberculosis sıvı besiyeri kültürlerinde ortalama 7-14 gün süreyle, besiyeri içerisinde yüzen, homojen bulanıklık oluşturmeyan küçük partikül tanecikleri şeklinde üremektedir (3,89). Yapılan birçok çalışmada mikobakterilerin sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha hızlı ürettiği ve sıvı besiyerinde izolasyon oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Özellikle sıvı besiyerinin katı besiyerine göre basil yükü düşük hastalarda (akciğer dışı TB, HIV ile enfekte hastalar, çocuk hastalar) daha yüksek izolasyon oranları sayesinde, bu hasta grubunda avantaj sağlamaktadır. Sıvı besiyerinde yapılan ilaç duyarlılık testleri de katı besiyerine göre daha hızlı sonuçlanmaktadır (2,90–92). En yaygın kullanılan sıvı temelli kültür besiyerleri Dubos tween albumin ve Middlebrook 7H9 besiyeridir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan

mikobakteriyel otomatize ticari kültür sistemlerinde özellikle Middlebrook 7H9 sıvı temelli besiyeri kullanılmaktadır. Otomatize kültür sistemlerindeki sıvı besiyerleri; mikobakterilerin üretilmesi, alt kültürlere pasajlama, ilaç duyarlılık testi ve deneysel araştırmalar amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır (7).

Mikobakteri tanısında sıvı besiyerinin inkübasyon süresinin altı hafta olması önerilmektedir. Sıvı besiyerindeki üreme takibi otomatize sistemler tarafından otomatik olarak takip edilir ve üreme saptanmayan örneklerin altıncı hafta sonunda inkübasyonu sonlandırılır. Altıncı haftanın sonunda otomatize cihazın negatif raporladığı tüpler kullanıcı tarafından sıvı besiyeri içerisinde yüzen partikül olup olmadığı kontrol edilerek partikül görülmeyen örnekler “mikobakteri üremesi saptanmadı” şeklinde raporlanır (93).

2.5.4.1. Tam Otomatize Kültür Sistemleri

Günümüzde kullanılan tam otomatize kültür sistemlerine örnek Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD), Bactec 9000 MB (Becton Dickinson, ABD), VersaTREK (Thermo Fisher Scientific, ABD), BacT/ALERT 3D (bioMérieux, ABD) ve TK Culture System (Diagnostis, Türkiye) sayılabilir (13,94).

2.5.4.1.1. BACTEC MGIT 960

Yarı otomatize ve radyometrik bir sistem olan Bactec 460 TB (Becton Dickinson, ABD) kültür sisteminin yerine üretilen ve radyometrik olmayan, tam otomatize bu yeni kültür sistemi günümüzde tüberkülozun tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bactec MGIT 960 otomatize kültür sistemi MGIT 960 cihazı ile örneklerin ekimi için kullanılan, içerisinde Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri bulunan, 7 ml hacimli MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) besiyeri içermektedir. Sistem eş zamanlı olarak toplamda 960 adet MGIT besiyerinin inkübasyonuna olanak sağlamaktadır. Klinik örneklerin ekimi sırasında MGIT besiyerine birtakım antimikrobiyaller içeren PANTA (polimiksin-B, amfoterisin-B, nalidiksik asit, trimetoprim, azlosilin) ile mikobakterilerin üremesini destekleyici OADC (oleik asit, albumin, dekstroz, katalaz) eklenmektedir. Sıvı besiyerine eklenen bu antibiyotik karışımı ve zenginleştirici maddeler sayesinde mikobakterilerin üremesini arttırıcı bir ortam oluşturulurken, kontaminant mikroorganizmaların üremesi de engellenmiş olur. Ardından klinik örneklerin eklendiği tüpler MGIT 960 cihazındaki kuyucuklara

yerleştirilerek altı hafta (42 gün) boyunca inkübe edilir. İnkübe edilen tüplerdeki üreme kontrolü her 60 dakikada bir cihaz tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir. Her bir MGIT tüpü tabanına gömülü olarak bulunan, sıvı besiyerinde çözünmüş oksijenin varlığına duyarlı olarak floresans yayan bir materyal (rutenyum pentahidrat) içermektedir. Başlangıçta tüp içerisinde bulunan yoğun oksijen bu materyalin yaydığı floresansı söndürür. Örneklerde bulunan mikroorganizmalar üreme sırasında tüp içerisindeki oksijeni kullanarak tüketir ve oksijenin baskılayıcı etkisi ortadan kalkarak yayılan floresans cihaz tarafından algılanır. Cihaz saptanan floresansı büyüme birimine (GU, Growth Unit) çevirir. Eşik değeri aşan floresans cihaz tarafından örneğin ekim tarihi, üreme tarihi, üremenin saptanmasına kadar geçen süre ve GU değeri ile birlikte raporlanır. Altı hafta boyunca üreme saptanmayan tüplerin cihaz tarafından otomatik olarak inkübasyonu sonlandırılır. Kan ve kemik iliği gibi kanlı örnekler floresansı etkilediği için bu sistemde çalışılması uygun değildir (29,86,95).

2.5.5. Moleküler Tanı Yöntemleri

Moleküler yöntemlerden olan nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) TB'nin doğrudan hasta örneklerinden saptanmasında yaygın olarak kullanılan testlerin başında gelmektedir. Diğer moleküler yöntemlere örnek olarak polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR), transkripsiyona bağlı çoğaltma (Transcription Mediated Amplification, TMA), zincir ayrıştırma amplifikasyon (Strand Displacement Amplification, SDA), polimeraz zincir reaksiyonu-parça uzunluk polimorfizmi (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism, PCR-RFLP) testleri sıralanabilir. Moleküler testlerden Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) onaylı ticari testlerin kullanılması sonuçların çok daha doğru ve güvenilir şekilde raporlanmasını sağlamaktadır. Günümüzde akciğer TB şüpheli hastaların solunum yolu örneklerinden MTBC saptanması veya rifampisin direncini belirlemek için Xpert MTB/RIF (Cepheid, ABD), Xpert MTB/RIF Ultra (Cepheid, ABD) ve Truenat MTB (Molbio Diagnostics, Hindistan), Truenat MTB Plus (Molbio Diagnostics, Hindistan) gibi çok sayıda NAAT bulunmakta ve bu testlerin küresel olarak kullanımı DSÖ tarafından yaygınlaştırılmaktadır. Bu testler kullanılırken yüksek seviye biyogüvenliğe gerek duyulmamakta ve sonuçlar doğrudan hasta örneklerinden çalışılarak saatler içerisinde raporlanabilmektedir (6,7,96). Son yıllarda geliştirilen yeni moleküler testlerle klinik

örneğin mililitresinde 100'den az sayıda basil tespit edilebilmektedir. Kullanılan yönteme bağlı olarak değişmekle birlikte moleküler testlerin duyarlılıkları yayma ARB pozitif, kültür pozitif örneklerde oldukça yüksek olup yayma ARB negatif, kültür pozitif örnekler ile akciğer dışı TB'de düşmektedir (34,82,97,98). Moleküler testlerin canlı/ölü basil ayrımı yapılamaması nedeniyle TB hastalarının tedavi takibinde kullanılamaması önemli dezavantajlarından (2,3)

2.6. Tür Tanımlama

Kültürde mikobakteri üremesi saptandıktan sonra daha ileri düzey tanımlama amacıyla üreme özellikleri (koloni görünümü, pigmentasyon, üreme hızı, üreme sıcaklığı), kord oluşumu, biyokimyasal testler, immünokromatografik testler, moleküler testler ve MALDI-TOF MS gibi farklı seçenekler kullanılabilmektedir (42).

2.6.1. Üreme Özelliklerine göre Tanımlama

M. tuberculosis kompleks LJ besiyerinde 2-3. haftalar arasında besiyeri yüzeyinden dışarıya doğru kabarık, koloni etrafı düzensiz, kuru, kaba ve deve tüyü renginde koloniler oluşturmaktadır. Agar temelli besiyerinde ise LJ besiyerinden daha erken sürede (yaklaşık 10-12 günde) mikroskop veya büyüteç yardımıyla görülebilen koloniler oluşturmaktadır. Sıvı besiyerinde ortalama 7-14 günde besiyerinde homojen bulanıklık oluşturmayan, besiyeri içerisinde yüzen partiküller şeklinde üreme saptanabilmektedir. Sıvı besiyerindeki üremeden hazırlanan aside dirençli boyanmış preparatların mikroskopik incelemesinde halat benzeri kord yapıları görülmektedir (3,7,15,16,84,89).

Tüberküloz dışı mikobakteriler ise katı besiyerinde inkübasyon koşullarına ve TDM türüne göre değişiklik gösteren pigmentli veya pigmentsiz koloniler oluşturabilir. Tüberküloz dışı mikobakteriler üreme hızları, üreme sıcaklıkları ve pigmentasyon özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Her ne kadar mikobakterilerin üreme özellikleri mikobakterilerin sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında yardımcı olsa da, günümüzde sayıları gittikçe artan TDM'lerin sadece bu özellikler kullanılarak tümünün tür düzeyinde tanımlanması pek mümkün değildir (42). Bu nedenle günümüzde mikobakterilerin üreme özelliklerinden, tür düzeyinde kesin tanımlama yapılan güvenilir yöntemlere ek olarak faydalanılmaktadır (11).

2.6.2. Biyokimyasal Testlerle Tanımlama

Biyokimyasal testler arasında arilsülfataz aktivitesi, katalaz aktivitesi, pirazinamidaz aktivitesi, niasin birikim testi, nitrat redüksiyonu, p-nitrobenzoik asit (PNB) testi, tellürit redüksiyonu, tween-80 hidrolizi ve üreaz aktivitesi bulunmaktadır. Bu testlerden özellikle niasin birikim testi, nitrat redüksiyonu, katalaz aktivitesi ve PNB testi MTBC'nin ayırt edilmesinde anahtar testler olarak kullanılmaktadır (3,13,27,99). Günümüzde sayıları katlanarak artan yeni mikobakteri türlerinin keşfedilmesi, bazı türleri tanımlarken biyokimyasal testlerin yetersiz kalması, biyokimyasal testlerin uzun zaman alması ve zahmetli olması gibi dezavantajları nedeniyle konvansiyonel biyokimyasal yöntemler rutin laboratuvar uygulamasında çok tercih edilmemektedir (11).

2.6.3. İmmünokromatografik Tanımlama

Mikobakterilerin tanımlanmasında MTBC ve TDM arasındaki ayrımın yapılması son derece önemlidir. Günümüzde bu iki grup arasındaki ayrımı hızlı, ucuz ve basit olarak yapabilen, duyarlılık ve özgüllüğü oldukça yüksek immünokromatografik testler geliştirilmiştir (100). Bu testlerde kullanılan ve MTBC üyelerinde bulunan 24 kDa ağırlığındaki MPT64 antijeni MTBC ile TDM arasındaki ayrımı sağlamaktadır (101). Bu amaçla günümüzde rutin laboratuvar tanısında BD MGIT TBc Identification Test (Becton Dickinson, ABD), Capilia TB-Neo Test (TAUNS, Japonya), TBCheck MPT64 VER 1.0 (Hain Lifescience, Almanya) gibi birçok ticari immünokromatografik test geliştirilmiştir. İmmünokromatografik testlerin direk hasta örneğinden çalışılamaması ve *M. bovis* BCG'nin bazı suşlarında olduğu gibi MPT64'ü kodlayan gendeki mutasyonların varlığında yalancı negatif sonuçlarla karşılaşılabilmesi gibi birtakım dezavantajları bulunmaktadır (102,103).

2.6.4. Moleküler Yöntemlerle Tanımlama

Günümüzde mikobakterilerin tanımlanmasında kullanılan farklı teknikleri içeren çok sayıda moleküler test mevcuttur (2). Sıklıkla başvurulmuş moleküler yöntemlere NAAT, hibridizasyon testleri, spoligotiplendirme, tüm genom dizileme (Whole Genome Sequencing, WGS) gibi testler örnek verilebilir (6). Bu testlerle mikobakterilerin tür seviyesinde tanımlanması hızlı bir şekilde yapılabilmekte ve kullanılan yöntemle göre değişmekle birlikte belirli sayıda ilaca karşı duyarlılık da

saptanabilmektedir. (2,4,6). Dezavantajları arasında ise bazı testlerde kültürde üremeye ihtiyaç duyulması ve diğer tanı yöntemlerine göre daha pahalı olması sayılabilir (2,3). Mikobakterilerin tanımlanmasında başlıca 16S rRNA, hsp65 ve rpoB genlerinin analizi kullanılmaktadır. Bunların içerisinde 16s rRNA en sık başvurulmuş hedeflerden birisidir (104). Moleküler yöntemlerden hibridizasyon testlerine GenoType MTBC, GenoType Mycobacterium CM, GenoType Mycobacterium AS, GenoType NTM-DR (Hain Lifescience, Almanya), AccuProbe (Hologic, ABD) ve INNO-LiPA Mycobacteria v2 (Fujirebio Diagnostics, İsveç) örnek verilebilir (7,105).

GenoType MTBC, kompleksi oluşturan mikobakteri türlerini ters hibridizasyon yöntemiyle (Line Probe Assay, LPA) 4-6 saat gibi kısa bir sürede tanımlar. Bu teste benzer yöntemle çalışan GenoType Mycobacterium CM/AS ve GenoType NTM-DR testlerinde ise CM, AS veya NTM-DR şeritleri kullanılarak birçok TDM türü tanımlanabilmektedir. Ters hibridizasyon yöntemi PCR ile hedef gen bölgesinin çoğaltılması sonrası elde edilen ampliconların, şerit üzerinde sabitlenmiş problemlere ters hibridizasyonu sonucu çizgiler oluşturmaları ve oluşan bu çizgi deseninin türe özgü paternlerle karşılaştırılması prensibi ile çalışılmakta olup mikobakterileri tanımlamak için kullanılmaktadır (6,7,105).

2.6.5. MALDI-TOF MS

Matriks destekli lazer rezorpsiyon/iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS) mikroorganizmaların protein kütle spektrumlarının veri tabanındaki bilinen referans spektrumlarla karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Son derece kolay basamaklarla gerçekleştirilen cihaz prosedürleri çok kısa sürede, doğru ve yüksek duyarlılıkta saptama yapabilir. Günümüzde bakteri ve mayaların tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Mikobakterilerin tanımlanmasında MALDI-TOF BioTyper (Bruker Daltonics, Almanya) ve Vitek MS (bioMérieux, Fransa) olarak iki farklı ticari sistem bulunmaktadır. Her iki cihaz da mikobakteriler için farklı veri tabanları içerse de Vitek MS mikobakteri kütüphanesi FDA onaylıdır (106,107). Bu yöntemle mikobakterilerin tanımlanması diğer bakterilerin tanımlanmasına kıyasla yüksek lipid içeren özgün hücre duvarı yapısı nedeniyle daha zordur. Mikobakterilerin hücre yapılarının ekstraksiyonu diğer bakterilere kıyasla daha karmaşık basamaklarla

gerçekleştirilmektedir. Ayrıca mikobakteri şüpheli örneklerin dekontaminasyonunda başvurulan yöntemler de MALDI-TOF MS sonuçlarını etkileyebilmektedir. Son zamanlarda yöntemin mikobakteriyel tanı performansını arttıran birçok farklı ön işleme protokolü tanımlanmıştır (108,109). MALDI-TOF-MS ile her geçen gün sayısı artan çalışmalar mikobakterilerin kompleks, tür veya cins düzeyinde tanımlanabildiğini göstermekte fakat bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (110,111).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışmaya Dahil Edilecek Klinik Örneklerin Belirlenmesi

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi poliklinik ve servislerinden 01.01.2011-31.12.2021 tarihleri arasında tüberküloz kuşkulu hastalardan alınmış ve mikobakteriyoloji laboratuvarında mikobakteri tanısı amacıyla hem Bactec MGIT 960 otomatize sıvı kültür sisteminde hem de LJ katı kültür besiyerinde kültürü yapılmış akciğer örnekleri (balgam, uyarılmış balgam, BAL, TTA, AMS) ve akciğer dışı örneklerin (idrar, steril vücut sıvıları, BOS, kan, kemik iliği, doku biyopsisi, apse, dışkı) laboratuvar verileri retrospektif olarak taranmıştır. Kültür uygulanmamış, sadece bir yöntemle (katı veya sıvı besiyerinde) kültür uygulanmış, Bactec MGIT 960 sisteminde kültürü yapılmamış olan kan ve kemik iliği örnekleri ve üreme süresiyle ilgili kayıtlara ulaşılamamış örneklerin verileri çalışma dışı bırakılmıştır.

3.2. Örneklerin Laboratuvara Kabulü

Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen ve ön değerlendirme sonucu uygun olduğu kabul edilen klinik örneklerin laboratuvar bilgi yönetim sistemine kaydı yapılmış olup her örnek için oluşturulmuş barkodlar laboratuvar sonuç defterine sırasıyla kaydedilmiştir. Her bir barkoda laboratuvar takip numarası verilmiştir. Kabul işlemlerinin ardından örnek işleme basamaklarına geçilmiştir (3).

3.3. Örnek İşleme Basamakları (Homojenizasyon-Dekontaminasyon-Nötralizasyon-Konsantrasyon)

Kabulü yapılan örnekler içerisinde ilk basamakta mikobakteri yoğunluğu düşük olan steril vücut sıvılarına (10 ml üzeri) ve idrar örneklerine basil yoğunluğunu arttırmak amacıyla 15 dakika boyunca 3000Xg kuvvetinde santrifüj edilerek konsantrasyon uygulanmış ve ardından diğer dekontaminasyon aşamalarına geçilmiştir. Steril olmayan akciğer (balgam, uyarılmış balgam, BAL, TTA, AMS) ve akciğer dışı örnekler (idrar, doku biyopsisi, apse, dışkı vb.) ile steril bölgeden alınmış olsa bile aseptik koşullarda alınamamış örneklerle dekontaminasyon işlemleri uygulanmıştır. Steril vücut sıvıları (plevra, periton, perikard, eklem sıvısı vb.) ve BOS gibi steril örneklerin dekontaminasyon işlemi uygulanmadan, konsantrasyon işleminin ardından doğrudan kültür besiyerlerine ekimi yapılmıştır (2,3,6).

Dekontaminasyon için standart NALC-NaOH yöntemi kullanılmıştır. NALC-NaOH yöntemi NaOH ve sodyum sitrat içeren hazır ticari kit (Innomed Life Sciences, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnek işleme basamaklarına ilk olarak her örneğe verilen laboratuvar takip numarasının örneğin aktarılacağı falkon tüpünün üzerine yazılmasıyla biyogüvenlik kabini içerisinde başlanmıştır. Örnekler üzerinde laboratuvar takip numarasının yazılı olduğu, içerisinde NALC ile homojenizasyona yardımcı boncuklar bulunan steril, burgu kapaklı, konik tabanlı ve 50 ml'lik falkon tüplerine aktarılmıştır. Falkon tüplerine örnek miktarıyla eşit hacimde NaOH (%4) + sodyum sitrat (%2.9) karışımı eklenip (NaOH son konsantrasyonu %1 olacak şekilde) kapağı sıkıca kapatılmıştır. Karışım ara ara vortekslenerek homojenize olması sağlanmış ve 20-25 C° arasında 15 dakika (20 dakikayı geçmeyecek sürede) dik konumda bekletilmiştir. Ardından dekontaminasyonun sonlandırılması amacıyla falkon tüpüne 50 ml seviyesine kadar fosfat tamponu (pH 6.8, 0.067 M) ilave edilerek tekrar kapağı kapatılmıştır. Karışıma 10-15 saniye vorteks uygulandıktan sonra soğutmalı santrifüjde 15 dakika 3000Xg kuvvetinde santrifüj işlemi uygulanmıştır. Tekrar kabin içerisine alınan tüplerin kapağı açılmış ve üstteki sıvı içerisinde dezenfektan bulunan atık kabına dökülmüştür. Son olarak dipte kalan sedimentin üzerine 1-2 ml fosfat tamponu (pH 6.8, 0.067 M) ilave edilip vortekslenerek nötralizasyon sağlanmıştır. Elde edilen işlenmiş örnek mikroskopi ve kültür işlemlerinde kullanılmıştır (2,3,6,86).

3.4. Boyama ve Mikroskopik Bakı

Ön işleme basamakları tamamlanmış örneklerden otomatik pipet yardımıyla bir miktar alınarak örnek numarasının yazılı olduğu lamın üzerine eşit dağılacak şekilde (1-2 X 2-3 cm) yayılarak preparat hazırlanmış ve biyogüvenlik kabini içerisinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar ısıtıcı blok üzerinde 65-75°C'de iki saat bekletilerek örneklerin lama sabitlenmesi sağlanmıştır. Ardından EZN yöntemi ile boyama basamağına geçilmiştir.

3.4.1. Erlich Ziehl Neelsen (EZN) Boyama Yöntemi

Fikse edilmiş preparatlar penset yardımıyla tutularak boyama aparatı üzerine yerleştirilmiş, preparatın tüm yüzeyi boşluk kalmayacak şekilde karbol fuksin boyasıyla kaplanmıştır. Boya kaplı preparatlar buhar çıkıncaya kadar (kaynatmamaya dikkat edilerek) aralıklı olarak yaklaşık 5 dakika boyunca alttan alevle ısıtılmıştır.

Isıtma işleminin ardından preparat dikkatlice su ile yıkanmıştır. Yıkanan preparatın üzerine %3'lük asit-alkol karışımından dökülerek preparat renksizleşene kadar yaklaşık 1-2 dakika beklenmiş ve dikkatlice suyla yıkanmıştır. Son aşamada preparatın üzerine metilen mavisi eklenerek 1-2 dakika beklenmiş ve suyla yıkanarak dik bir şekilde kurumaya bırakılmıştır. Kontrol olarak her boyama serisine yayma ARB pozitif (MTBC) ve yayma ARB negatif (*S. aureus*) boyanan birer mikroorganizma eklenmiştir. Boyanan preparat immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskopunda 1000x'lik objektifle taranarak incelenmiştir. Sonuç taranan alan ve her alandaki basil sayısına göre yayma ARB negatif ile yayma ARB +4 pozitif sonuca kadar değişen şekillerde raporlanmıştır (2,3,6).

3.5. Kültür

Katı ve sıvı kültür besiyeri için sırasıyla Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri (Becton Dickinson, ABD) ve BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) otomatize kültür sisteminin MGIT tüpleri kullanılmış olup örneklerin ekimi ile inkübasyon koşulları üretici firmanın önerilerine uyularak gerçekleştirilmiştir. Tüm ekim işlemleri biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. Löwenstein-Jensen (LJ) Besiyeri

Ön işleme basamağı tamamlanmış örneklerin ekiminde katı besiyeri olarak yumurta temelli LJ kültür besiyeri kullanılmıştır. İşlenmiş klinik örneklerden otomatik pipet yardımıyla 0.2 ml LJ besiyerine eklenerek kapağı kapatılmış ve eklenen örneğin besiyeri yüzeyine eşit bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Tüplerin kapakları gevşek bırakılarak eğik konumda ve besiyeri yüzeyi üst tarafa gelecek şekilde 37 C°'lik etüvde bir hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bir haftanın sonunda tüm tüplerin kapakları sıkılarak dik konuma getirilmiş ve inkübasyona devam edilmiştir. LJ besiyeri inkübasyona alındıktan sonra ilk hafta haftada iki defa, daha sonra sekizinci haftaya kadar haftada bir defa üreme varlığı açısından kontrol edilmiştir. Kontroller sırasında besiyeri yüzeyinde üreme saptandığında, kolonilerden aside dirençli boyama için preparat hazırlanmış, ayrıca kanlı agara (Becton Dickinson, ABD) pasaj çekilmiştir. Kanlı agar kontaminasyon açısından kontrol edilmek üzere 37 C°'de inkübasyona bırakılmıştır. Boyalı preparatın mikroskopik bakışında yayma ARB pozitif mikroorganizmaların görülmesi ve kanlı agarda üreme olmaması durumunda ARB pozitif mikroorganizmalara daha ileri tanımlama basamakları uygulanmıştır. Boyalı

preparatta ARB pozitif mikroorganizma görülmemesi, ARB negatif boyanmış kontaminant mikroorganizmaların görülmesi ve kanlı agarda üreme olması durumunda sonuç “kontaminasyon” olarak raporlanmıştır. Sekiz haftalık inkübasyon süresi sonunda besiyeri yüzeyinde herhangi bir üreme saptanmamış örneklerin inkübasyonu sonlandırılarak mikobakteri kültür sonucu LJ besiyerinde “mikobakteri üremesi saptanmadı” olarak raporlanmıştır (2,3,6,86).

3.5.2. Bactec MGIT 960 Otomatize Kültür Sistemi

Ön işleme basamağı tamamlanmış örneklerin ekiminde sıvı besiyeri olarak Bactec MGIT 960 otomatize kültür sisteminin MGIT besiyeri kullanılmıştır. Örneklerin ekiminden önce kontaminant mikroorganizmaların üremesini engelleyen antimikrobiyal karışım PANTA, mikobakterilerin üremesini destekleyici karışım olan OADC (15 ml) ile sulandırılarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışımdan 0.8 ml steril bir pipet yardımıyla her bir MGIT besiyerine eklenmiştir. Karışım ilavesinden sonra işlenmiş hasta örneğinden 0.5 ml alınarak MGIT besiyerine eklenmiştir. Ardından tüpün kapağı sıkıca kapatılmış ve yavaşça birkaç kez ters çevrilerek karıştırılmıştır. Klinik örneklerin ekimi tamamlanmış tüpler Bactec MGIT 960 cihazında üreticinin talimatlarına uygun olarak inkübasyona bırakılmıştır. Üremelerin otomatik olarak takip edildiği MGIT 960 cihazında inkübasyon periyodu boyunca üreme sinyali pozitif saptanan tüplerden aside dirençli boyama için preparat hazırlanmış, ayrıca kanlı agara (Becton Dickinson, ABD) pasaj çekilmiştir. Kanlı agar kontaminasyon açısından kontrol edilmek üzere 37 C°’de inkübasyona bırakılmıştır. Boyalı preparatın mikroskopik bakışında yayma ARB pozitif mikroorganizmaların görülmesi ve kanlı agarda üreme olmaması durumunda ARB pozitif mikroorganizmalara daha ileri tanımlama basamakları uygulanmıştır. Boyalı preparatta ARB pozitif mikroorganizma görülmemesi, ARB negatif boyanmış kontaminant mikroorganizmaların görülmesi ve kanlı agarda üreme olması durumunda sonuç “kontaminasyon” olarak raporlanmıştır. MGIT tüpleri cihazda altı hafta boyunca inkübe edilmiş ve bu sürenin sonunda herhangi bir üreme tespit edilmediyse inkübasyon cihaz tarafından otomatik olarak sonlandırılmıştır. Mikobakteri kültür sonucu sıvı besiyerinde “mikobakteri üremesi saptanmadı” olarak raporlanmıştır (112).

3.6. Üremelerin Tanımlanması

Mikroskopik incelemede ARB pozitif basillerin görülmesi ve kanlı agarda kontaminant mikroorganizmaların ürememiş olması mikobakteriler için anlamlı kabul edilmiş ve ileri tanımlama testleri uygulanmıştır. İlk basamakta MTBC ve TDM ayrımını yapmak amacıyla immunokromatografik test olan TBc ID testi (Becton Dickinson, ABD) kullanılmıştır. Mikobakterilerin tür düzeyinde ileri tanımlanması ise moleküler ters hibridizasyon testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm test basamakları üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.6.1. TBc ID Testi (BD MGIT TBc Identification Test)

TBc ID test prosedürleri üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Kullanım öncesi TBc ID test cihazı buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş ve koruyucusundan çıkarılarak yatay bir alana yerleştirilmiştir. Üreme saptanan kültür besiyerinden steril bir pipet yardımıyla 100 µl alınarak cihazın yükleme alanına transfer edilmiştir. Test cihazı sonucun okunması için yatay pozisyonda, sabit bir şekilde 15 dakika bekletilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir. Sonuçlar cihaz üzerinde bulunan test (T) ve kontrol (C) harflerinin yanında oluşan çizgilerin oluşup oluşmamasına göre yorumlanmış ve kaydedilmiştir. Kontrol (C) çizgisinin oluşması testin başarılı şekilde gerçekleştirildiğini, bu çizginin oluşmaması (T çizgisinin oluşup oluşmadığına bakılmaksızın) testin tekrar edilmesi gerektiğini göstermektedir. Kontrol (C) çizgisiyle beraber test (T) çizgisinin de oluşması MPT64 antijeninin saptandığını (MTBC pozitif) gösterirken sadece Kontrol (C) çizgisinin oluşması MPT64 antijeninin saptanmadığını (TDM pozitif) göstermektedir (113).

3.6.2. Moleküler Tanımlama Testleri

Mikobakterilerin tür düzeyinde tanımlanması amacıyla ticari moleküler ters hibridizasyon testleri [GenoType Mycobacterium CM/AS, GenoType NTM-DR ve GenoType MTBC (Hain Lifescience, Almanya)] kullanılmıştır. Tüm test basamakları üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.1. DNA Ekstraksiyonu

MGIT ve LJ besiyerinde üreyen mikobakterilerin moleküler yöntemlerle tanımlanması amacıyla ilk basamakta DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Nükleik asit izolasyonu amacıyla üretici firmanın talimatları doğrultusunda GenoLyse

DNA ekstraksiyon kiti (Hain Lifescience, Almanya) (veya FluoroLyse DNA ekstraksiyon kiti) kullanılmıştır. Elde edilen materyalden PCR basamağında kullanılmak üzere 5 µl alınarak bir sonraki aşamaya geçilmiştir (114,115).

3.6.2.2. GenoType Mycobacterium CM/AS, GenoType NTM-DR ve GenoType MTBC Testleri

Nükleik asit izolasyonu sonucu elde edilen DNA, PCR yöntemi kullanılarak GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, ABD) cihazında uygun şekilde çoğaltılmıştır. Çoğaltma sonrası elde edilen ürünler (amplikonlar) hibridizasyon aşamasına alınmış ve PCR amplikonları bu basamağın sonucunda şerit (strip) üzerinde oluşan koyu renkli bantlar şeklinde görünür hale getirilmiştir. Striplerin üzerinde oluşan bantlar kullanım kılavuzunda tanımlanmış türe özgü bant paternleriyle karşılaştırılarak tür tanımlaması yapılmıştır. Tüm basamaklar üretici firmanın kullanım kılavuzunda belirtilen talimatlara uyularak gerçekleştirilmiştir (116–119).

3.7. Mikobakteri Laboratuvarı Excel Veri Dosyası Oluşturulması

Öncelikle laboratuvar dosyalarının taranması sonucu elde edilen verilerin kaydedileceği excel veri dosyası oluşturulmuştur. Bu dosya içerisinde sırasıyla “örnek kabul tarihi”, “laboratuvar numarası”, “örnek türü”, “EZN sonucu”, “LJ besiyeri kültür sonucu”, “LJ besiyerine ekim tarihi”, “LJ besiyerinde üreme tarihi”, “LJ besiyerinde üreme süresi”, “MGIT besiyeri kültür sonucu”, “MGIT besiyerine ekim tarihi”, “MGIT besiyerinde üreme tarihi”, “MGIT besiyerinde üreme süresi” ve “üremesi saptanan mikobakteri izolatı (MTBC, TDM ya da tür düzeyinde)” verileri için sırayla sütunlar oluşturulmuştur.

3.8. Laboratuvar Sonuç Dosyalarının Taranması ve Verilerin Kaydedilmesi

Verilerin taranması amacıyla laboratuvar kayıt defterleri 2011 yılından başlanarak 2021 yılına kadar tarihsel olarak sıraya dizilmiştir. 01.01.2011-31.12.2021 tarihleri arasındaki tüm sonuçlar taranarak MGIT veya LJ besiyerinden en az birinde mikobakteri üremesi saptanmış örneklerin “örnek kabul tarihi”, “laboratuvar numarası”, “örnek türü”, “EZN sonucu”, “LJ besiyeri kültür sonucu”, “LJ besiyerine ekim tarihi”, “LJ besiyerinde üreme tarihi”, “LJ besiyerinde üreme süresi” ve “üreme tespit edilen mikobakteri (MTBC, TDM ya da tür düzeyinde) ismi” sırasıyla excel dosyasına kaydedilmiştir.

3.9. MGIT Cihaz Sonuçlarının Taranması ve Kaydedilmesi

Bactec MGIT 960 cihazında 01.01.2011-31.12.2021 tarihleri arasında mikobakteri üremesi saptanmış örneklerin sonuç raporları alınarak tarihsel olarak sıraya dizilmiştir. MGIT 960 cihazından raporlanan ve laboratuvar kayıt defterine daha önce kaydedilmiş mikobakteri üremesi saptanan sonuçlar eş zamanlı olarak laboratuvar kayıt defterinden sırayla teyit edilmiş ve “MGIT besiyeri kültür sonucu”, “MGIT besiyerine ekim tarihi”, “MGIT besiyerinde üreme tarihi” ve “MGIT besiyerinde üreme süresi” sırasıyla bir önceki basamakta excel dosyasına kaydedilmiş ilgili örneğe ait satıra, önceki bilgiler kontrol edilerek kaydedilmiştir.

3.10. İstatistiksel Analiz

Katı (LJ besiyeri) ve sıvı (MGIT besiyeri) besiyerinde akciğer, akciğer dışı, yayma ARB pozitif ve yayma ARB negatif örnek gruplarında mikobakteri, MTBC ve TDM izolasyon oranları, kültür duyarlılıkları, üreme saptama süreleri ve bu sürelerin ortanca ve ortalama değerleri excel programı (Microsoft 365, Sürüm 2412) kullanılarak hesaplanmıştır. Katı ve sıvı besiyerinde üreme süreleri ve katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun tanıya katkısının hesaplanması amacıyla en az bir besiyerinde mikobakteri saptanmış kültür sonuçları içerisinde üreme süresine ait kayıtlara ulaşılmış sonuçlar analiz edilmiştir. Üreme süresine ait kayıtlara ulaşılmış mikobakteri, MTBC ve TDM üremesinin katı ve sıvı besiyerinde ayrı ayrı olmak üzere üremenin saptanma haftasına göre kümülatif yüzdesi hesaplanmıştır. Sadece katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyon sonucunda üremiş mikobakteri, MTBC ve TDM izolatlarının sayısı belirlenerek bu mikobakterilerin akciğer, akciğer dışı, yayma ARB pozitif ve yayma ARB negatif örnek gruplarında ayrı ayrı tanıya katkısı hesaplanmıştır. Sadece katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyon sonunda üremiş mikobakteri, MTBC ve TDM izolatlarının önceki mikobakteri kültür sonucu, antimikobakteriyal tedavi, klinisyenin etken, kontaminat veya kolonizasyon yorumları gibi ek veriler için daha ileri araştırma yapılarak tanıya katkısının analizi detaylandırılmıştır.

3.11. Etik Kurul onayı

Çalışma protokolü Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından 02.11.2022 tarihli ve 1571 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmaya Alınan Örnek Verileri

Çalışmamız için 01.01.2011-31.12.2021 tarihleri arasında MCBÜ Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Mikobakteriyoloji laboratuvarına tüberküloz açısından incelenmesi için gönderilen 10032 hastaya ait 20744 klinik örneğin laboratuvar verileri retrospektif olarak taranmıştır. 20744 örnekten 18994'ünün (%91.5) en az bir besiyerinde (katı ve/veya sıvı) kültürü yapılmıştır. 18994 örneğin 1130'unda (%5.94) en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmış olup 446 (%2.3) örnekte her iki besiyerinde de kontaminasyon saptanmıştır.

20744 örnekten 18901'inin (%91.1) hem katı hem de sıvı besiyerinde (LJ ve BACTEC MGIT) kültürü yapılmıştır. Bu örnekler 9960 hastaya ait örnek olup, örneklerin 11133'ü (%58.9) akciğer örneği [6960'ı (%36.9) balgam, 3694 'ü (%19.6) BAL, 386'sı (%2) AMS, 93'ü (%0.5) ETA], 7768'inin (%41.1) ise akciğer dışı örnek [4054'ü (%21.4) idrar, 2.238'i (%11.8) steril vücut sıvısı, 892'si (%4.7) doku biyopsi örneği, 548'i (%2.9) eksuda ve 36'sı (%0.2) diğer örnekler] olduğu saptanmıştır. Örneklerin 8457'si (%44.7) kadın, 10444'ü (%55.3) erkek hastaya ait örneklerdir. Hastaların yaş ortalamasının 51.15 (0-99) olduğu görülmüştür.

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış örneklerin 18540'ına mikroskopik inceleme yapılmış ve 560'ı (%3; n:560/18540) mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif olarak değerlendirilmiştir. Akciğer örneklerinde ARB pozitifliği 479 (%4.3; n:479/11133) örnekte saptanırken, akciğer dışı örneklerde ARB pozitifliği 81 (%1.1; n:81/7407) örnekte saptanmıştır.

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 18901 klinik örneğin 1130'unda (%5.98; n:1130/18901) en az bir besiyerinde mikobakteri türü üremiştir. Kültürde izole edilen mikobakteri türlerinin 852'si (%75.4) MTBC, 278'i (%24.6) TDM olarak tanımlanmıştır. Tüberküloz Dışı Mikobakteri olarak tanımlanmış izolatlardan 178 tanesine tür düzeyinde ileri tanımlama yapılamamıştır. 100 TDM'nin ise tür tayini yapılmış olup 29 *M. gordonae*, 17 *M. abscessus* kompleks, 11'er *M. fortuitum* ve *M. avium* kompleks, dokuz *M. lentiflavum*, yedi *M. simiae*, dörder *M. chelonae* ve *M. kansasii*, ikişer *M. mucogenicum* ve *M. marinum*, birer tanesi ise *M. cellatum*, *M. szulgai*, *M. xenopi* ve *M. genavense* olarak tanımlanmıştır.

4.2. Katı ve Sıvı Besiyerinde İzolasyon Oranları

4.2.1. Katı ve Sıvı Besiyerinde Mikobakteri İzolasyon Oranları

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 18901 örnekten 1130'unda (%5.98; n:1130/18901) en az bir besiyerinde mikobakteri türü üremiş olup, LJ besiyerinde mikobakteri izolasyon oranı %3.89 (736/18901) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %5.75 (1086/18901) saptanmıştır. 394 (%2.08) örnekte MGIT besiyerinde üreme saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 44 (%0.23) örnekte ise LJ besiyerinde üreme saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 692 (%3.66) örnekte ise her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. MGIT besiyerinin izolasyon oranına katkısı %2.08 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.23 olarak hesaplanmıştır. LJ besiyerinde kontaminasyon oranı %7.04 (1332/18901), Bactec MGIT besiyerinde %5.23 (989/18901) oranında gözlenirken, 446 (%2.36) örneğin kültüründe her iki besiyerinde de kontaminasyon saptanmıştır. (Tablo 4.1) Her iki besiyerinde kültürü yapılmış tüm örnekler içinde en az bir besiyerindeki üreme sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %96.1, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %65.1 olarak hesaplanmıştır. MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %34.9 iken, LJ besiyerinin duyarlılığa katkısı sadece %3.9 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.1. MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	692 %3,66	30 %0,16	14 %0,07	736
	Kültür negatif	348 %1,84	15956 %84,42	529 %2,80	16833
	Kontaminasyon	46 %0,24	840 %4,44	446 %2,36	1332
TOPLAM		1086	16826	989	18901

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 11133 akciğer örneğinde mikobakteri izolasyon oranı %8.37 (932/11133) [500'ü (%44.2) balgam, 400'ü (%35.5) BAL, 22'si (%2) AMS, 10'u (%0.9) ETA] bulunmuştur. Akciğer örneklerinde LJ besiyerinde

mikobakteri izolasyon oranı %5.52 (614/11133) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %8.03 (894/11133) saptanmıştır. 318 (%2.85) örnekte MGIT besiyerinde üreme saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 38 örnekte (%0.34) ise LJ besiyerinde üreme saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 576 (%5.17) örnekte ise her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Akciğer örneklerinde MGIT besiyerinin izolasyon oranına katkısı %2.85 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %0.34 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer örnekleri içinde en az bir besiyerindeki üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %95.9, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %65.9 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %34.1 iken, LJ besiyerinin katkısı %4.1 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.2. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	576 %5,17	25 %0,22	13 %0,12	614
	Kültür negatif	273 %2,45	9143 %82,13	282 %2,53	9698
	Kontaminasyon	45 %0,40	565 %5,08	211 %1,90	821
TOPLAM		894	9733	506	11133

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 7768 akciğer dışı örnekte mikobakteri izolasyon oranı %2.55 (198/7768) [50'si (%4.4) idrar, 49'u (%4.3) steril vücut sıvısı, 50'i (%4.4) doku biyopsi örneği, 46'si(%4.1) eksuda ve üçü (%0.2) diğer örnekler] bulunmuştur. Akciğer dışı örneklerde LJ besiyerinde mikobakteri izolasyon oranı %1.57 (122/7768) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %2.47 (192/7768) saptanmıştır. 76 (%0.98) örnekte MGIT besiyerinde üreme saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. Altı (%0.08) örnekte ise LJ besiyerinde üreme saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 116 (%1.49) örnekte ise her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Akciğer dışı örneklerde MGIT besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.98 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.08 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.3). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer dışı

örnekleri içinde en az bir besiyerindeki üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %97.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %61.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %38.4 iken, LJ besiyerinin ise %3.0 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.3. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	116 %1,49	5 %0,06	1 %0,01	122
	Kültür negatif	75 %0,97	6813 %87,71	247 %3,18	7135
	Kontaminasyon	1 %0,01	275 %3,54	235 %3,03	511
	TOPLAM	192	7093	483	7768

4.2.2. Katı ve Sıvı Besiyerinde MTBC İzolasyon Oranları

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 18901 klinik örneğin 852'sinde (%4.51; n:852/18901) en az bir besiyerinde MTBC türü üremiştir. LJ besiyerinde MTBC izolasyon oranı %3.58 (676/18901) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %4.37 (826/18901) saptanmıştır. 176 (%0.93) örnekte MGIT besiyerinde MTBC üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 26 (%0.14) örnekte ise LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 650 (%3.43) örnekte ise her iki besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %0.93 iken, LJ besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı sadece %0.14 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış tüm örnekler içinde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %96.9, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %79.3 olarak hesaplanmış olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %20.7 iken, LJ besiyerinin %3.1'tür.

Tablo 4.4. MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	650 %3,44	20 %0,11	6 %0,03	676
	Kültür negatif	149 %0,79	16207 %85,75	537 %2,84	16893
	Kontaminasyon	27 %0,14	859 %4,54	446 %2,36	1332
TOPLAM		826	17086	989	18901

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 11133 akciğer örneğinde MTBC izolasyon oranı %6.0 (668/11133) bulunmuştur. Akciğer örneklerinde LJ besiyerinde MTBC izolasyon oranı %5.01 (558/11133) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %5.82 (648/11133) saptanmıştır. 110 (%0.98) örnekte MGIT besiyerinde MTBC üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 20 (%0.18) örnekte ise LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 538 (%4.83) örnekte ise her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Akciğer örneklerinde MGIT besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.98 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %0.18 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.5). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer örnekleri içinde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %97.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %83.5 olarak hesaplanmış olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %16.5 iken, LJ besiyerinin %3.0'tür.

Tablo 4.5. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	538 %4,83	15 %0,13	5 %0,04	558
	Kültür negatif	84 %0,75	9380 %84,25	290 %2,60	9754
	Kontaminasyon	26 %0,23	584 %5,25	211 %1,90	821
TOPLAM		648	9979	506	11133

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 7768 akciğer dışı örnekte MTBC izolasyon oranı %2.37 (184/7768) bulunmuştur. Akciğer dışı örneklerde LJ besiyerinde MTBC izolasyon oranı %1.52 (118/7768) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %2.29 (178/7768) saptanmıştır. 66 (%0.85) örnekte MGIT besiyerinde MTBC üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. Altı (%0.08) örnekte ise LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 112 (%1.44) örnekte ise her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Akciğer dışı örneklerde MGIT besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.85 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %0.08 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.6). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer dışı örnekleri içinde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %96.7, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %64.1 olarak hesaplanmış olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %35.9 iken, LJ besiyerinin %3.3'tür.

Tablo 4.6. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	112 %1,44	5 %0,06	1 %0,01	118
	Kültür negatif	65 %0,84	6827 %87,89	247 %3,18	7139
	Kontaminasyon	1 %0,01	275 %3,54	235 %3,03	511
TOPLAM		178	7107	483	7768

4.2.3. Katı ve Sıvı Besiyerinde TDM İzolasyon Oranları

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 18901 klinik örneğin 278'inde (%1.47; n:278/18901) en az bir besiyerinde TDM türü üremiştir. LJ besiyerinde TDM izolasyon oranı %0.32 (60/18901) saptanırken, MGIT besiyerinde %1.38 (260/18901) saptanmıştır. 218 (%1.15) örnekte MGIT besiyerinde TDM üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 18 (%0.09) örnekte ise LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 42 (%0.22) örnekte

ise her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.15 iken, LJ besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %0.09 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.7). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış tüm örnekler içinde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.5, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %21.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %78.4 iken, LJ besiyerinin ise %6.5 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.7. MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	42 %0,22	10 %0,05	8 %0,04	60
	Kültür negatif	199 %1,05	16775 %88,75	535 %2,83	17509
	Kontaminasyon	19 %0,10	867 %4,59	446 %2,36	1332
TOPLAM		260	17652	989	18901

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 11133 akciğer örneğinde TDM izolasyon oranı %2.37 (264/11133) bulunmuştur. Akciğer örneklerinde LJ besiyerinde TDM izolasyon oranı %0.50 (56/11133) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %2.21 (246/11133) saptanmıştır. 208 (%1.87) örnekte MGIT besiyerinde TDM üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 18 (%0.16) örnekte ise LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmış ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. 38 (%0.34) örnekte ise her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Akciğer örneklerinde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.87 iken, LJ besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %0.16 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.8). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.2, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %21.2 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %78.8 iken, LJ besiyerinin ise %6.8 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.8. Akciğer örneklerinde MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	38 %0,34	10 %0,09	8 %0,07	56
	Kültür negatif	189 %1,70	9780 %87,85	287 %2,58	10256
	Kontaminasyon	19 %0,17	591 %5,31	211 %1,90	821
TOPLAM		246	10381	506	11133

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış 7768 akciğer dışı örnekte TDM izolasyon oranı %0.18 (14/7768) bulunmuştur. Akciğer dışı örneklerde LJ besiyerinde TDM izolasyon oranı %0.05 (4/7768) saptanırken, MGIT besiyerinde ise %0.18 (14/7768) saptanmıştır. 10 (%0.13) örnekte MGIT besiyerinde TDM üremesi saptanırken LJ besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. LJ besiyerinde TDM üremesi olan ancak MGIT besiyerinde üreme saptanmayan veya MGIT besiyerinde kontaminasyon olarak sonuçlanan örnek bulunmamaktadır (%0.0). Dört (%0.05) örnekte ise her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Akciğer dışı örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %0.13 iken, LJ besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %0.0 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.9). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış akciğer dışı örneklerde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %100.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %28.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %71.4 iken, LJ besiyerinin ise duyarlılığa katkısı olmamıştır.

Tablo 4.9. Akciğer dışı örneklerde MGIT ve LJ besiyeri için TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	4 %0,05	0 %0,00	0 %0,00	4
	Kültür negatif	10 %0,13	6995 %90,05	248 %3,19	7253
	Kontaminasyon	0 %0,00	276 %3,55	235 %3,03	511
TOPLAM		14	7271	483	7768

4.2.4. Yayma Pozitiflik Durumuna göre Katı ve Sıvı Besiyerinde İzolasyon Oranları

4.2.4.1. Yayma ARB Pozitif Örneklerde Mikobakteri İzolasyon Oranları

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış örneklerin 18540'ına mikroskopik inceleme yapılmış olup, mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 560 örnekten 473 (%84.46) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 467 (%83.39) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 430 (%76.79) örnekte LJ besiyerinde, 424 (%75.71) örnekte ise her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif 43 (%7.68) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, yayma ARB pozitif altı (%1.07) örnekte ise sadece LJ besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %7.68 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %1.07 olarak hesaplanmıştır. 560 örnek içinde LJ besiyerinde kontaminasyon oranı %4.64 (n: 26), MGIT besiyerinde %1.96 (n: 11) gözlenirken, altı (%1.07) örneğin kültüründe her iki besiyerinde de kontaminasyon saptanmıştır (Tablo 4.10). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif örneklerde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %98.7, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %90.9 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %9.1 iken, LJ besiyerinin ise %1.3 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.10. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	424 %75,71	2 %0,36	4 %0,71	430
	Kültür negatif	31 %5,54	72 %12,86	1 %0,18	104
	Kontaminasyon	12 %2,14	8 %1,43	6 %1,07	26
	TOPLAM	467	82	11	560

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 479 akciğer örneğinden 422 (%88.1) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 417

(%87.05) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 387 (%80.79) örnekte LJ besiyerinde ve 382 (%79.74) örnekte her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif 35 (%7.31) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, yayma ARB pozitif beş (%1.05) örnekte ise sadece LJ besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %7.31 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %1.05 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.11). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %98.8, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %91.7 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %8.3 iken, LJ besiyerinin ise %1.2 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.11. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	382 %79,75	1 %0,21	4 %0,84	387
	Kültür negatif	23 %4,80	46 %9,60	1 %0,21	70
	Kontaminasyon	12 %2,51	6 %1,25	4 %0,84	22
	TOPLAM	417	53	9	479

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 81 akciğer dışı örnekten 51 (%62.96) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 50 (%61.72) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 43 (%53.08) örnekte LJ besiyerinde ve 42 (%51.85) örnekte her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif sekiz (%9.88) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, yayma ARB pozitif bir (%1.23) örnekte ise sadece LJ besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %9.88 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %1.23 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.12). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %98.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %84.3 olup, MGIT

besiyerinin duyarlılığa katkısı %15.7 iken, LJ besiyerinin ise %2.0 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.12. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	42 %51,85	1 %1,23	0 %0,00	43
	Kültür negatif	8 %9,88	26 %32,10	0 %0,00	34
	Kontaminasyon	0 %0,00	2 %2,47	2 %2,47	4
TOPLAM		50	29	2	81

4.2.4.2. Yayma ARB Pozitif Örneklerde MTBC İzolasyon Oranları

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 560 örnekten 449 (%80.18) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 445 (%79.46) örnekte MGIT besiyerinde, 413 (%73.75) örnekte LJ besiyerinde ve 409 (%73.03) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif 36 (%6.43) örnekte sadece MGIT besiyerinde, dört (%0.72) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %6.43 iken, LJ besiyerinin %0.72 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.13). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif örneklerde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %99.1, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %92 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %8 iken, LJ besiyerinin ise %0.9 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.13. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	409 %73,04	2 %0,36	2 %0,36	413
	Kültür negatif	24 %4,29	94 %16,79	3 %0,54	121
	Kontaminasyon	12 %2,14	8 %1,43	6 %1,07	26
TOPLAM		445	104	11	560

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 479 akciğer örneğinden 399 (%83.29) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 396 (%82.67) örnekte MGIT besiyerinde, 370 (%77.24) örnekte LJ besiyerinde ve 367 (%76.61) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif 29 (%6.06) örnekte sadece MGIT besiyerinde, üç (%0.63) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %6.06 iken, LJ besiyerinin sadece %0.63 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.14). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde en az bir besiyerinde MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %99.2, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %92.7 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %7.3 iken, LJ besiyerinin ise %0.8 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.14. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	367 %76,62	1 %0,21	2 %0,42	370
	Kültür negatif	17 %3,55	67 %13,99	3 %0,63	87
	Kontaminasyon	12 %2,51	6 %1,25	4 %0,84	22
	TOPLAM	396	74	9	479

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 81 akciğer dışı örnekten 50 (%61.72) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 49 (%60.49) örnekte MGIT besiyerinde, 43 (%53.08) örnekte LJ besiyerinde ve 42 (%51.85) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif yedi (%8.64) örnekte sadece MGIT besiyerinde, bir (%1.23) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %8.64 iken, LJ besiyerinin sadece %1.23 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.15). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %98.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %86.0 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %14.0 iken, LJ besiyerinin ise %2.0 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.15. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	42 %51,85	1 %1,23	0 %0,00	43
	Kültür negatif	7 %8,64	27 %33,33	0 %0,00	34
	Kontaminasyon	0 %0,00	2 %2,47	2 %2,47	4
TOPLAM		49	30	2	81

4.2.4.3. Yayma ARB Pozitif Örneklerde TDM İzolasyon Oranları

Yayma ARB pozitif bulunan 560 örnekten 24 (%4.29) örnekte en az bir besiyerinde TDM üremesi tespit edilmiştir. 22 (%3.93) örnekte MGIT besiyerinde, 17 (%3.04) örnekte LJ besiyerinde ve 15 (%2.67) örnekte her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif yedi (%1.25) örnekte sadece MGIT besiyerinde, iki (%0.36) örnekte ise sadece LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.25 iken, LJ besiyerinin %0.36 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.16). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif örneklerde en az bir besiyerinde TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %91.7, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %70.8 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %29.2 iken, LJ besiyerinin ise %8.3 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.16. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	TOPLAM
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	15 %2,68	0 %0,00	2 %0,36	17
	Kültür negatif	7 %1,25	507 %90,54	3 %0,54	517
	Kontaminasyon	0 %0,00	20 %3,57	6 %1,07	26
TOPLAM		22	527	11	560

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan 479 akciğer örneğinden 23 (%4.8) örnekte en az bir besiyerinde TDM üremesi tespit edilmiştir. 21 (%4.38) örnekte MGIT besiyerinde, 17 (%3.54) örnekte LJ besiyerinde ve 15 (%3.13) örnekte her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif altı (%1.25) örnekte sadece MGIT besiyerinde, iki (%0.42) örnekte ise sadece LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.25 iken, LJ besiyerinin %0.42 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.17). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %91.3, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %73.9 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %26.1 iken, LJ besiyerinin ise %8.7 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.17. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer örneklerinde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	15 %3,13	0 %0,00	2 %0,42	17
	Kültür negatif	6 %1,25	431 %89,98	3 %0,63	440
	Kontaminasyon	0 %0,00	18 %3,76	4 %0,84	22
	TOPLAM	21	449	9	479

Mikroskopik incelemede yayma ARB pozitif bulunan sadece bir akciğer dışı örnekte (doku biyopsi örneği) MGIT besiyerinde TDM üremesi saptanmış ancak LJ besiyerinde üreme gözlenmemiştir (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB pozitif akciğer dışı örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	0 %0,00	0 %0,00	0 %0,00	0
	Kültür negatif	1 %1,23	76 %93,83	0 %0,00	77
	Kontaminasyon	0 %0,00	2 %2,47	2 %2,47	4
	TOPLAM	1	78	2	81

4.2.4.4. Yayma ARB Negatif Örneklerde Mikobakteri İzolasyon Oranları

Her iki besiyerinde kültürü yapılmış ve mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 17980 örnekten 654 (%3,64) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 616 (%3.43) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken 305 (%1.7) örnekte LJ besiyerinde ve 267 (%1.48) örnekte her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 349 (%1.94) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 38 (%0.22) örnekte ise sadece LJ besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %1.94 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %0.22 olarak hesaplanmıştır. 17980 örnek içinde LJ besiyerinde kontaminasyon oranı %7.06 (n:1271), MGIT besiyerinde %5.22 (n:939) oranında gözlenirken, 418 (%2.32) örneğin kültüründe her iki besiyerinde de kontaminasyon saptanmıştır (Tablo 4.19). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif örneklerde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %94.2, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %46.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %53.4 iken, LJ besiyerinin ise %5.8 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.19. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	267 %1,48	28 %0,16	10 %0,06	305
	Kültür negatif	315 %1,75	15578 %86,64	511 %2,84	16404
	Kontaminasyon	34 %0,19	819 %4,56	418 %2,32	1271
	TOPLAM	616	16425	939	17980

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 10654 akciğer örneğinden 510 (%4.78) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 477 (%4.47) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 227 (%2.13) örnekte LJ besiyerinde ve 194 (%1.82) örnekte her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 283 (%2.66) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 33 (%0.31) örnekte ise sadece LJ

besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %2.66 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı %0.31 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.20). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.5, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %44.5 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %55.5 iken, LJ besiyerinin ise %6.5 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.20. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneğinde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	194 %1,82	24 %0,23	9 %0,08	227
	Kültür negatif	250 %2,35	9097 %85,39	281 %2,64	9628
	Kontaminasyon	33 %0,31	559 %5,25	207 %1,94	799
TOPLAM		477	9680	497	10654

Mikroskobik incelemede yayma ARB negatif bulunan 7326 akciğer dışı örnekten 144 (%1.96) örnekte en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi tespit edilmiştir. 139 (%1.89) örnekte MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, 78 (%1.06) örnekte LJ besiyerinde ve 73 (%0.99) örnekte her iki besiyerinde de mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 66 (%0.9) örnekte sadece MGIT besiyerinde mikobakteri üremesi saptanırken, beş (%0.06) örnekte ise sadece LJ besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin mikobakteri izolasyon oranına katkısı %0.9 iken, LJ besiyerinin izolasyon oranına katkısı sadece %0.06 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.21). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde en az bir besiyerindeki mikobakteri üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %96.5, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %54.1 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %45.9 iken, LJ besiyerinin ise %3.5 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.21. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde mikobakteri izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	73 %1,00	4 %0,05	1 %0,01	78
	Kültür negatif	65 %0,89	6481 %88,47	230 %3,14	6776
	Kontaminasyon	1 %0,01	260 %3,55	211 %2,88	472
	TOPLAM	139	6745	442	7326

4.2.4.5. Yayma ARB Negatif Örneklerde MTBC İzolasyon Oranları

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 17980 örnekten 401 (%2.23) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 379 (%2.11) örnekte MGIT besiyerinde, 263 (%1.46) örnekte LJ besiyerinde ve 241 (%1.34) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 138 (%0.76) örnekte sadece MGIT besiyerinde, 22 (%0.12) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %0.76 iken, LJ besiyerinin sadece %0.12 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.22). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif örneklerde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %94.5, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %65.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %34.4 iken, LJ besiyerinin ise %5.5 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.22. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	241 %1,34	18 %0,10	4 %0,02	263
	Kültür negatif	123 %0,68	15806 %87,91	517 %2,88	16446
	Kontaminasyon	15 %0,08	838 %4,66	418 %2,32	1271
	TOPLAM	379	16662	939	17980

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 10654 akciğer örneğinden 269 (%2.52) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 252 (%2.36) örnekte MGIT besiyerinde, 188 (%1.76) örnekte LJ besiyerinde ve 171 (%1.60) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 81 (%0.76) örnekte sadece MGIT besiyerinde, 17 (%0.16) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %0.76 iken, LJ besiyerinin sadece %0.16 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.23). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.6, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %69.8 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %30.2 iken, LJ besiyerinin ise %6.4 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.23. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneğinde MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	171 %1,61	14 %0,13	3 %0,03	188
	Kültür negatif	67 %0,63	9313 %87,41	287 %2,69	9667
	Kontaminasyon	14 %0,13	578 %5,43	207 %1,94	799
	TOPLAM	252	9905	497	10654

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 7326 akciğer dışı örnekten 132 (%1.8) örnekte en az bir besiyerinde MTBC üremesi tespit edilmiştir. 127 (%1.73) örnekte MGIT besiyerinde, 75 (%1.02) örnekte LJ besiyerinde ve 70 (%0.95) örnekte her iki besiyerinde de MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 57 (%0.77) örnekte sadece MGIT besiyerinde, beş (%0.06) örnekte ise sadece LJ besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin MTBC izolasyon oranına katkısı %0.77 iken, LJ besiyerinin sadece %0.06 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.24). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde en az bir besiyerindeki MTBC üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %96.2, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %56.8 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %43.2 iken, LJ besiyerinin ise %3.8 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.24. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örnekte MTBC izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	70 %0,96	4 %0,05	1 %0,01	75
	Kültür negatif	56 %0,76	6493 %88,63	230 %3,14	6779
	Kontaminasyon	1 %0,01	260 %3,55	211 %2,88	472
	TOPLAM	127	6757	442	7326

4.2.4.6. Yayma ARB Negatif Örneklerde TDM İzolasyon Oranları

Yayma ARB negatif bulunan 17980 örnekten 253 (%1.41) örnekte en az bir besiyerinde TDM üremesi tespit edilmiştir. 237 (%1.32) örnekte MGIT besiyerinde, 42 (%0.23) örnekte LJ besiyerinde ve 26 (%0.14) örnekte her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 211 (%1.18) örnekte sadece MGIT besiyerinde, 16 (%0.09) örnekte ise sadece LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.18 iken, LJ besiyerinin sadece %0.09 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.25). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif örneklerde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.7, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %16.6 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %83.4 iken, LJ besiyerinin ise %6.3 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.25. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	26 %0,14	10 %0,06	6 %0,03	42
	Kültür negatif	192 %1,07	15960 %88,77	515 %2,86	16667
	Kontaminasyon	19 %0,11	834 %4,64	418 %2,32	1271
	TOPLAM	237	16804	939	17980

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 10654 akciğer örneğinden 241 (%2.26) örnekte en az bir besiyerinde TDM üremesi tespit edilmiştir. 225 (%2.11) örnekte MGIT besiyerinde, 39 (%0.36) örnekte LJ besiyerinde ve 23 (%0.21) örnekte her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif 202 (%1.9) örnekte sadece MGIT besiyerinde, 16 (%0.15) örnekte ise sadece LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %1.9 iken, LJ besiyerinin sadece %0.15 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.26). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer örneklerinde en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %93.3, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %16.1 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %83.9 iken, LJ besiyerinin ise %6.7 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.26. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer örneklerinde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	23 %0,22	10 %0,09	6 %0,06	39
	Kültür negatif	183 %1,72	9349 %87,75	284 %2,67	9816
	Kontaminasyon	19 %0,18	573 %5,38	207 %1,94	799
	TOPLAM	225	9932	497	10654

Mikroskopik incelemede yayma ARB negatif bulunan 7326 akciğer dışı örnekten 12 (%0.16) örnekte en az bir besiyerinde TDM üremesi tespit edilmiştir. 12 örnekte (%0.16) MGIT besiyerinde, üç (%0.04) örnekte LJ besiyerinde ve üç (%0.04) örnekte her iki besiyerinde de TDM üremesi saptanmıştır. Yayma ARB negatif dokuz (%0.12) örnekte sadece MGIT besiyerinde TDM üremesi saptanmış olup, hiçbir örnekte sadece LJ besiyerinde TDM üremesi saptanmamıştır. Yayma ARB negatif örneklerde MGIT besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı %0.12 iken, LJ besiyerinin TDM izolasyon oranına katkısı bulunmamıştır (Tablo 4.27). Her iki besiyerinde kültürü yapılmış yayma ARB negatif akciğer dışı örnekler en az bir besiyerindeki TDM üremesi olanların sayısı referans alındığında MGIT besiyerinin duyarlılığı %100.0, LJ besiyerinin duyarlılığı ise %25.0 olup, MGIT besiyerinin duyarlılığa katkısı %75.0 iken, LJ besiyerinin katkısı görülmemiştir.

Tablo 4.27. MGIT ve LJ besiyeri için yayma ARB negatif akciğer dışı örneklerde TDM izolasyon oranları ve kontaminasyon oranları

		BACTEC MGIT 960			TOPLAM
		Kültür pozitif	Kültür negatif	Kontaminasyon	
LJ Besiyeri	Kültür pozitif	3 %0,04	0 %0,00	0 %0,00	3
	Kültür negatif	9 %0,12	6611 %90,24	231 %3,15	6851
	Kontaminasyon	0 %0,00	261 %3,56	211 %2,88	472
	TOPLAM	12	6872	442	7326

Tablo 4.28. Katı ve sıvı besiyerinin mikobakteri izolasyon ve duyarlılık oranları

		İzolasyon oranı					Duyarlılık	
		MGIT / LJ	MGIT	LJ	Sadece MGIT	Sadece LJ	MGIT	LJ
Tüm örnekler (n:18901)	Mikobakteri	1130 %5.98	1086 %5.75	736 %3.89	394 %2.08	44 %0.23	%96.1	%65.1
	MTBC	852 %4.51	826 %4.37	676 %3.58	176 %0.93	26 %0.14	%96.9	%79.3
	TDM	278 %1.47	260 %1.38	60 %0.32	218 %1.15	18 %0.10	%93.5	%21.6
Akc. örnekleri (n:11133)	Mikobakteri	932 %8.37	894 %8.03	614 %5.52	318 %2.86	38 %0.34	%95.9	%65.9
	MTBC	668 %6.00	648 %5.82	558 %5.01	110 %0.99	20 %0.18	%97.0	%83.5
	TDM	264 %2.37	246 %2.21	56 %0.50	208 %1.87	18 %0.16	%93.2	%21.2
Akc. dışı örnekler (n:7768)	Mikobakteri	198 %2.55	192 %2.47	122 %1.57	76 %0.98	6 %0.08	%97.0	%61.6
	MTBC	184 %2.37	178 %2.29	118 %1.52	66 %0.85	6 %0.08	%96.7	%64.1
	TDM	14 %0.18	14 %0.18	4 %0.05	10 %0.13	0 %0.00	%100.0	%28.6
Yayma ARB pozitif örnekler (n:560)	Mikobakteri	473 %84.46	467 %83.39	430 %76.79	43 %7.68	6 %1.07	%98.7	%90.9
	MTBC	449 %80.18	445 %79.46	413 %73.75	36 %6.43	4 %0.71	%99.1	%92
	TDM	24 %4.29	22 %3.93	17 %3.04	7 %1.25	2 %0.36	%91.7	%70.8
Yayma ARB negatif örnekler (n:17980)	Mikobakteri	654 %3.64	616 %3.43	305 %1.70	349 %1.94	38 %0.21	%94.2	%46.6
	MTBC	401 %2.23	379 %2.11	263 %1.46	138 %0.77	22 %0.12	%94.5	%65.6
	TDM	253 %1.41	237 %1.32	42 %0.23	211 %1.17	16 %0.09	%93.7	%16.6

4.3. Katı ve Sıvı Besiyerinde Üreme Süreleri ve Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Tanısal Katkısı

Çalışmada sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemi ve katı besiyerinin besiyerlerindeki üreme sürelerini karşılaştırmak ve sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemi ile birlikte kullanılan katı besiyerinin, sıvı besiyerinde negatif sonuç alındıktan sonra (6. hafta) iki hafta daha inkübe edilmesinin tanısal yararını değerlendirmek için 18901 örneğin 1130'unda en az bir besiyerinde mikobakteri saptanmış olup, 1130 örneğin 20'sinde üreme sürelerine ait kayıtlara ulaşılammış olduğundan çalışma dışında bırakılmış, üreme sürelerine ait kayıtlara ulaşılmış olan 1110 örnek çalışmaya alınmıştır.

1110 örnekten izole edilen mikobakterilerin 846'sı (%76.2) MTBC olarak tanımlanırken, 264'ü (%23.8) TDM olarak tanımlanmıştır. Bu örneklerin 1107'sine mikroskopik inceleme yapılmış olup, 472'si (%42.6) yayma ARB pozitif bulunurken, 635' i (%57.4) yayma ARB negatif bulunmuştur.

4.3.1. Katı ve Sıvı Besiyerinde Üreme Saptama Süreleri

MGIT besiyerinde mikobakteri üreme saptama süresi ortanca değeri ve çeyrekler arası aralık (Interquartile Range) 14 gün (IQR, 9-20), ortalama üreme saptama süresi 15.95 gün ($SS \pm 9.28$; min-maks: 1-42) olarak hesaplanmıştır. LJ besiyeri için ise mikobakteri üreme saptama süresi ortanca değeri 21 gün (IQR, 18-28), ortalama üreme saptama süresi ise 24.45 gün ($SS \pm 9.89$; min-maks: 6-56) olarak saptanmıştır.

MGIT besiyerinde MTBC üreme saptama süresi ortanca değeri 13 (IQR, 9-16), ortalama üreme saptama süresi 13.75 gün ($SS \pm 7.08$; min-maks: 1-41) olarak hesaplanmıştır. LJ besiyeri için ise MTBC üreme saptama süresi ortanca değeri 21 gün (IQR, 18-28), ortalama üreme saptama süresi ise 24.25 gün ($SS \pm 9.45$; min-maks: 7-56) olarak saptanmıştır.

MGIT besiyerinde TDM üreme saptama süresi ortanca değeri 25 (IQR, 13-33), ortalama üreme saptama süresi 23.12 gün ($SS \pm 11.65$; min-maks: 3-42) olarak hesaplanmıştır. LJ besiyeri için ise TDM üreme saptama süresi ortanca değeri 21 gün (IQR, 15-39), ortalama üreme saptama süresi ise 27.21 gün ($SS \pm 14.38$; min-maks: 6-56) olarak saptanmıştır.

Katı ve sıvı besiyerinde üreme saptama süreleri ve istatistikleri aşağıdaki tabloda görülmektedir (Tablo 4.29).

Tablo 4.29. MGIT ve LJ üreme saptama sürelerinin ortanca ve ortalamaları

		Ortanca değer (gün/IQR*)		Ortalama (gün/SS±**)		Minimum- Maksimum (gün)	
		MGIT	LJ	MGIT	LJ	MGIT	LJ
Tüm örnekler	Mikobakteri	14 (9-20)	21 (18-28)	15.95 (9.28)	24.45 (9.89)	1-42	6-56
	MTBC	13 (9-16)	21 (18-28)	13.75 (7.08)	24.25 (9.45)	1-41	7-56
	TDM	25 (13-33)	21 (15-39)	23.12 (11.65)	27.21 (14.38)	3-42	6-56
Akc. örnekleri	Mikobakteri	13 (8-21)	21 (18-28)	15.98 (9.70)	23.95 (9.76)	1-42	6-56
	MTBC	12 (8-16)	21 (18-27)	13.22 (7.15)	23.63 (9.18)	1-41	7-56
	TDM	25 (13-33)	22 (16-40)	23.39 (11.58)	27.84 (14.61)	3-42	6-56
Akc. dışı örnekler	Mikobakteri	15 (12-18)	25 (19.5-31)	15.84 (7.02)	26.98 (10.13)	1-42	10-56
	MTBC	15 (12-17.5)	25 (20-31)	15.67 (6.49)	27.22 (10.14)	1-37	10-56
	TDM	13 (8.5-22)	18 (14-19.5)	18.15 (11.88)	17.67 (2.87)	6-42	14-21
Yayma ARB pozitif örnekler	Mikobakteri	9 (7-13)	20 (17-26)	10.45 (5.27)	21.32 (7.28)	1-35	6-53
	MTBC	9 (7-13)	20 (17-26)	10.44 (5.00)	21.29 (7.09)	1-33	7-53
	TDM	6.5 (5-9)	19 (13.5-25.5)	10.59 (9.20)	22.00 (10.90)	3-35	6-46
Yayma ARB negatif örnekler	Mikobakteri	17 (13-26)	27 (20-35)	20.19 (9.49)	29.13 (11.30)	1-42	7-56
	MTBC	16 (13-20)	27 (20-35)	17.63 (7.22)	28.96 (10.74)	1-41	8-56
	TDM	26 (15-33)	28 (17-44)	24.38 (11.12)	30.60 (15.19)	4-42	7-56

*IQR: çeyrekler arası aralık; **SS: Standart sapma

4.3.2. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Tanısal

Katkısı

MGIT 960 ve LJ besiyerinden en az birinde mikobakteri üremesi saptanmış ve üreme sürelerine ait kayıtlara ulaşılmış olan 1110 örneğin verileri sıvı kültür sistemi ile birlikte kullanılan katı besiyerinin, sıvı besiyerinde negatif sonuç alındıktan sonra iki hafta daha inkübe edilmesinin tanısal yararını değerlendirmek için kullanıldı.

4.3.2.1. Katı Besiyerinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun Mikobakteri Tanısına Katkısı

Kültürü mikobakteri pozitif raporlanan 1110 örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 672'sinde (%60.54), altıncı haftadan sonra ise 47'sinde (%4.23) mikobakteri üremesi saptanmıştır (Tablo 4.30). 47 örneğin 41'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, altısında MGIT'ta üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. Bu verilere göre MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun mikobakteri tanısına katkısı %0.54 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.31).

Kültürü mikobakteri pozitif raporlanan 915 akciğer örneğinin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 566'sında (%61.86), altıncı haftadan sonra ise 34'ünde (%3.71) mikobakteri üremesi saptanmıştır (Tablo 4.30). 34 örneğin 30'unda daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, dördünde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre akciğer örnekleri için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun mikobakteri tanısına katkısı %0.44 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.31).

Kültürü mikobakteri pozitif raporlanan 195 akciğer dışı örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 106'sında (%54.36), altıncı haftadan sonra ise 13'ünde (%6.66) mikobakteri üremesi saptanmıştır (Tablo 4.30). 13 örneğin 11'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre akciğer dışı örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun mikobakteri tanısına katkısı %1.02 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.31).

Kültürü mikobakteri pozitif raporlanan 472 yayma ARB pozitif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 423'ünde (%89.62), altıncı haftadan sonra ise altısında (%1.27) mikobakteri üremesi saptanmıştır (Tablo 4.30). Altı örneğin hepsinde daha önce MGIT'ta üreme saptanmıştır. Bu verilere göre yayma ARB pozitif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun mikobakteri tanısına katkısı olmamıştır (Tablo 4.31).

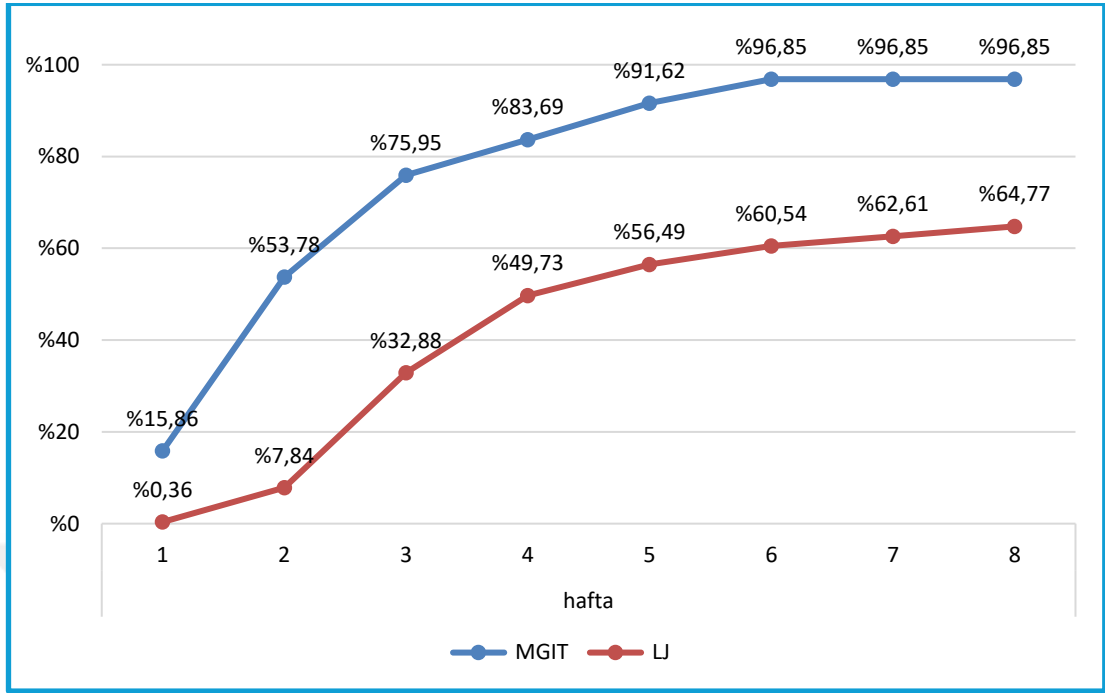
Kültürü mikobakteri pozitif raporlanan 635 yayma ARB negatif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 248'inde (%39.06), altıncı haftadan sonra ise 41'inde (%6.45) mikobakteri üremesi saptanmıştır (Tablo 4.30). 41 örneğin 35'inde

daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, altısında MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre yayma ARB negatif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun mikobakteri tanısına katkısı %0.94 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.31).

Mikobakteri üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri aşağıdaki tablolar ve şekillerde görülmektedir (Tablo 4.30, Tablo 4.31, Şekil 4.1, Şekil 4.4).

Tablo 4.30. Kültürde mikobakteri üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri

	n		Üreme saptanma haftasına göre kümülatif sayılar							
			1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta	7. hafta	8. hafta
Tüm Örnekler	1110	MGIT	176 %15.86	597 %53.78	843 %75.95	929 %83.69	1017 %91.62	1075 %96.85	1075 %96.85	1075 %96.85
		LJ	4 %0.36	87 %7.84	365 %32.88	552 %49.73	627 %56.49	672 %60.54	695 %62.61	719 %64.77
Akciğer örnekleri	915	MGIT	167 %18.25	503 %54.97	678 %74.10	754 %82.40	829 %90.60	884 %96.61	884 %96.61	884 %96.61
		LJ	4 %0.44	79 %8.63	322 %35.19	469 %51.26	529 %57.81	566 %61.86	579 %63.28	600 %65.57
Akciğer dışı örnekler	195	MGIT	9 %4.62	94 %48.21	165 %84.62	175 %89.74	188 %96.41	191 %97.95	191 %97.95	191 %97.95
		LJ	0 %0.00	8 %4.10	43 %22.05	83 %42.56	98 %50.26	106 %54.36	116 %59.49	119 %61.03
Yayma ARB pozitif örnekler	472	MGIT	146 %30.93	396 %83.90	447 %94.70	456 %96.61	466 %98.73	466 %98.73	466 %98.73	466 %98.73
		LJ	3 %0.64	72 %15.25	269 %56.99	375 %79.45	407 %86.23	423 %89.62	426 %90.25	429 %90.89
Yayma ARB negatif örnekler	635	MGIT	30 %4.72	200 %31.50	393 %61.89	470 %74.02	548 %86.30	606 %95.43	606 %95.43	606 %95.43
		LJ	1 %0.16	14 %2.20	95 %14.96	176 %27.72	219 %34.49	248 %39.06	268 %42.20	289 %45.51



Şekil 4.1. Kültüründe mikobakteri üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri

Tablo 4.31. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda mikobakteri üreme sayıları ve yüzdeleri

				Tüm Mikobakteriler
Tüm �rnekler (n:1110)			LJ (>6 hafta)	47 (%4.23)
			MGIT ≤6 hafta	41 (%3.69)
			MGIT'ta �remeyen	6 (%0.54)
Akciğer �rnekleri (n:915)			LJ (>6 hafta)	34 (%3.71)
			MGIT ≤6 hafta	30 (%3.27)
			MGIT'ta �remeyen	4 (%0.44)
Akciğer d�� örnekler (n:195)			LJ (>6 hafta)	13 (%6.66)
			MGIT ≤6 hafta	11 (%5.64)
			MGIT'ta �remeyen	2 (%1.02)
Yayma �rnekler (n:472)	ARB	pozitif	LJ (>6 hafta)	6 (%1.27)
			MGIT ≤6 hafta	6 (%1.27)
			MGIT'ta �remeyen	0 (%0.00)
Yayma �rnekler (n:635)	ARB	negatif	LJ (>6 hafta)	41 (%6.45)
			MGIT ≤6 hafta	35 (%5.51)
			MGIT'ta �remeyen	6 (%0.94)

4.3.2.2. Katı Besiyesinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun MTBC Tanısına Katkısı

Kültürü MTBC pozitif raporlanan 846 örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 635'inde (%75.06), altıncı haftadan sonra ise 36'sında (%4.25) MTBC üremesi saptanmıştır (Tablo 4.32). 36 örneğin 32'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, dördünde MGIT'ta üreme saptanmamış. Bu verilere göre MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun MTBC tanısına katkısı %0.47 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.33).

Kültürü MTBC pozitif raporlanan 664 akciğer örneğinin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 532'sinde (%80.12), altıncı haftadan sonra ise 23'ünde (%3.46) MTBC üremesi saptanmıştır (Tablo 4.32). 23 örneğin 21'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre akciğer örnekleri için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun MTBC tanısına katkısı %0.30 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.33).

Kültürü MTBC pozitif raporlanan 182 akciğer dışı örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 103'sinde (%56.59), altıncı haftadan sonra ise 13'ünde (%7.14) MTBC üremesi saptanmıştır (Tablo 4.32). 13 örneğin 11'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre akciğer dışı örnekleri için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun MTBC tanısına katkısı %1.10 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.33).

Kültürü MTBC pozitif raporlanan 448 yayma ARB pozitif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 408'inde (%91.07), altıncı haftadan sonra ise dördünde (%0.89) MTBC üremesi saptanmıştır (Tablo 4.32). Bu dört örneğin tümünde daha önce MGIT'ta üreme saptanmıştır. Bu verilere göre yayma ARB pozitif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun MTBC tanısına katkısı olmamıştır (Tablo 4.33).

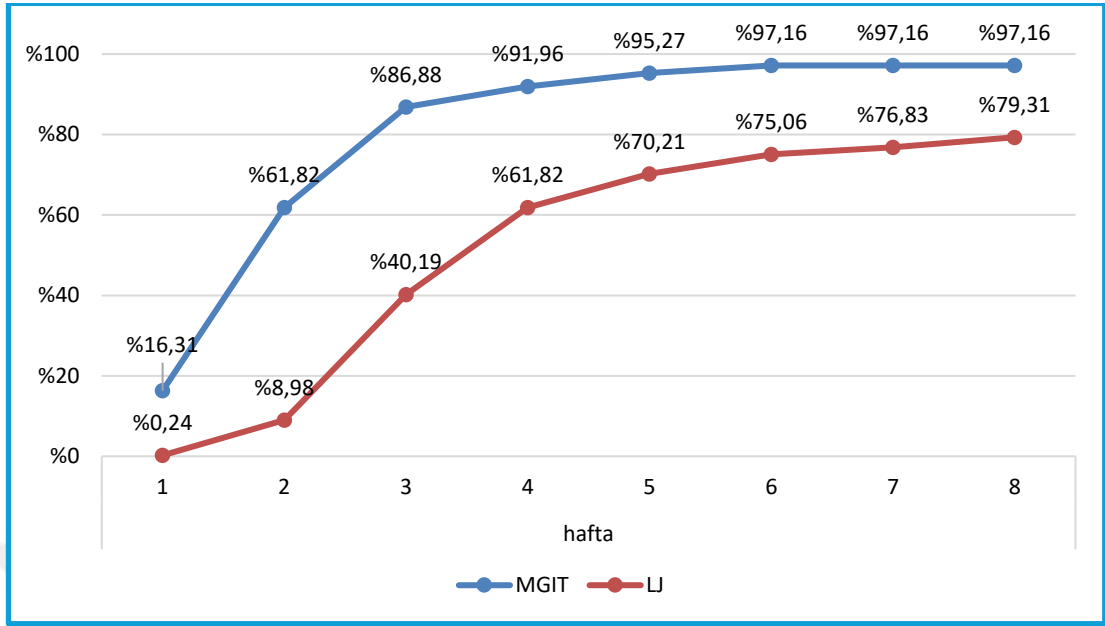
Kültürü MTBC pozitif raporlanan 396 yayma ARB negatif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 227'sinde (%57.32), altıncı haftadan sonra ise 32'sinde (%5.03) MTBC üremesi saptanmıştır (Tablo 4.32). 32 örneğin 28'inde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, dördünde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre yayma ARB negatif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında

LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun MTBC tanısına katkısı %0.63 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.33).

MTBC üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri aşağıdaki tablolar ve şekillerde görülmektedir (Tablo 4.32, Tablo 4.33, Şekil 4.2, Şekil 4.4).

Tablo 4.32. Kültürde MTBC üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri

	n		Üreme saptanma haftasına göre kümülatif sayılar							
			1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta	7. hafta	8. hafta
Tüm Örnekler	846	MGIT	138 %16.31	523 %61.82	735 %86.88	778 %91.96	806 %95.27	822 %97.16	822 %97.16	822 %97.16
		LJ	2 %0.24	76 %8.98	340 %40.19	523 %61.82	594 %70.21	635 %75.06	650 %76.83	671 %79.31
Akciğer örnekleri	664	MGIT	130 %19.58	438 %65.96	579 %87.20	612 %92.17	630 %94.88	644 %96.99	644 %96.99	644 %96.99
		LJ	2 %0.30	69 %10.39	300 %45.18	443 %66.72	499 %75.15	532 %80.12	537 %80.87	555 %83.58
Akciğer örnekler dışı	182	MGIT	8 %4.40	85 %46.70	156 %85.71	166 %91.21	176 %96.70	178 %97.80	178 %97.80	178 %97.80
		LJ	0 %0.00	7 %3.85	40 %21.98	80 %43.96	95 %52.20	103 %56.59	113 %62.09	116 %63.74
Yayma ARB pozitif örnekler	448	MGIT	132 %29.46	379 %84.60	428 %95.54	436 %97.32	444 %99.11	444 %99.11	444 %99.11	444 %99.11
		LJ	2 %0.45	67 %14.96	259 %57.81	362 %80.80	392 %87.50	408 %91.07	409 %91.29	412 %91.96
Yayma ARB negatif örnekler	396	MGIT	6 %1.52	144 %36.36	305 %77.02	340 %85.86	360 %90.91	376 %94.95	376 %94.95	376 %94.95
		LJ	0 %0.00	9 %2.27	81 %20.45	161 %40.66	202 %51.01	227 %57.32	241 %60.86	259 %65.40



Şekil 4.2. Kültüründe MTBC üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri

Tablo 4.33. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda MTBC üreme sayıları ve yüzdeleri

			MTBC	
Tüm örnekler (n:846)			LJ (>6 hafta)	36 (%4.25)
			MGIT ≤6 hafta	32 (%3.78)
			MGIT'ta üremeyen	4 (%0.47)
Akciğer örnekleri (n:664)			LJ (>6 hafta)	23 (%3.46)
			MGIT ≤6 hafta	21 (%3.16)
			MGIT'ta üremeyen	2 (%0.30)
Akciğer dışı örnekler (n:182)			LJ (>6 hafta)	13 (%7.14)
			MGIT ≤6 hafta	11 (%6.04)
			MGIT'ta üremeyen	2 (%1.10)
Yayma ARB pozitif örnekler (n:448)			LJ (>6 hafta)	4 (%0.89)
			MGIT ≤6 hafta	4 (%0.89)
			MGIT'ta üremeyen	0 (%0.00)
Yayma ARB negatif örnekler (n:396)			LJ (>6 hafta)	32 (%5.03)
			MGIT ≤6 hafta	28 (%4.40)
			MGIT'ta üremeyen	4 (%0.63)

4.3.2.3. Katı Besiyesinin Altı Haftadan Uzun İnkübasyonunun TDM Tanısına Katkısı

Kültürü TDM pozitif raporlanan 264 örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 37'sinde (%14.02), altıncı haftadan sonra ise 11'inde (%4.17) TDM üremesi saptanmıştır (Tablo 4.34). 11 örneğin dokuzunda daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamış. Bu verilere göre MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun TDM tanısına katkısı %0.76 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.35).

Kültürü TDM pozitif raporlanan 251 akciğer örneğinin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 34'ünde (%13.55), altıncı haftadan sonra ise 11'inde (%4.38) TDM üremesi saptanmıştır (Tablo 4.34). 11 örneğin dokuzunda daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre akciğer örnekleri için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun TDM tanısına katkısı %0.80 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.35).

Kültürü TDM pozitif raporlanan 13 akciğer dışı örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde üçünde (%23.08) TDM üremesi saptanırken, altıncı haftadan sonra TDM üremesi saptanmamıştır (Tablo 4.34). Bu verilere göre akciğer dışı örnekleri için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun TDM tanısına katkısı olmamıştır (Tablo 4.35).

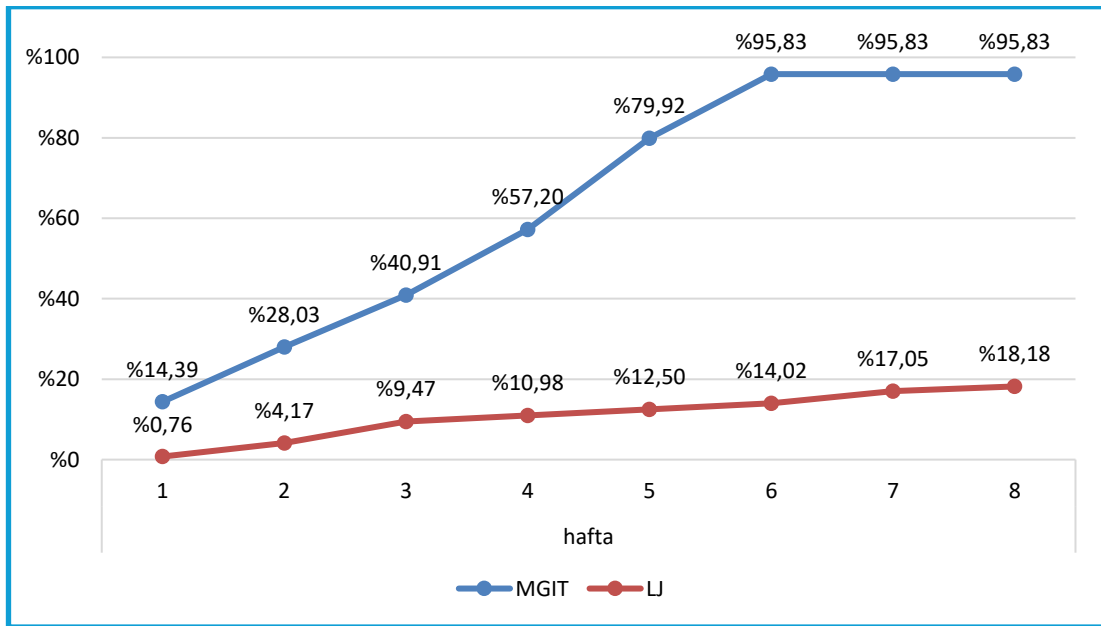
Kültürü TDM pozitif raporlanan 24 yayma ARB pozitif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 15'inde (%62.50), altıncı haftadan sonra ise ikisinde (%8.3) TDM üremesi saptanmıştır (Tablo 4.34). Bu iki örneğin tümünde daha önce MGIT'ta üreme saptanmıştır. Bu verilere göre yayma ARB pozitif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun TDM tanısına katkısı olmamıştır (Tablo 4.35).

Kültürü TDM pozitif raporlanan 239 yayma ARB negatif örneğin LJ besiyerinde altı hafta ve öncesinde 21'inde (%8.79), altıncı haftadan sonra ise dokuzunda (%3.77) TDM üremesi saptanmıştır (Tablo 4.34). Dokuz örneğin yedisinde daha önce MGIT'ta üreme saptanırken, ikisinde MGIT'ta üreme saptanmamıştır. Bu verilere göre yayma ARB negatif örnekler için MGIT 960 ile birlikte kullanıldığında LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonun TDM tanısına katkısı %0.84 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.35).

TDM üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri aşağıdaki tablolar ve şekillerde görülmektedir (Tablo 4.34, Tablo 4.35, Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Tablo 4.34. Kültürde TDM üreyen örneklerin katı ve sıvı besiyerinde üremenin saptanma haftasına göre kümülatif sayıları ve yüzdeleri

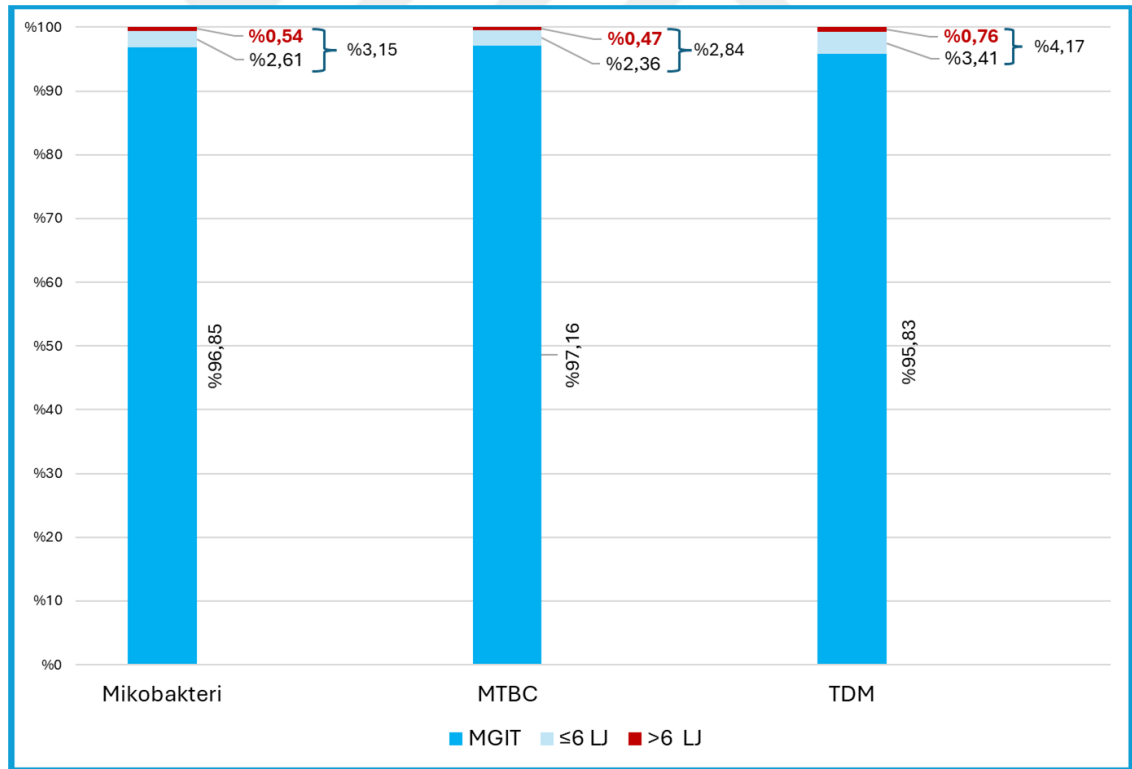
	n		Üreme saptanma haftasına göre kümülatif sayılar							
			1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta	7. hafta	8. hafta
Tüm Örnekler	264	MGIT	38 %14,39	74 %28,03	108 %40,91	151 %57,20	211 %79,92	253 %95,83	253 %95,83	253 %95,83
		LJ	2 %0,76	11 %4,17	25 %9,47	29 %10,98	33 %12,50	37 %14,02	45 %17,05	48 %18,18
Akciğer örnekleri	251	MGIT	37 %14,74	65 %25,90	99 %39,44	142 %56,57	199 %79,28	240 %95,62	240 %95,62	240 %95,62
		LJ	2 %0,80	10 %3,98	22 %8,76	26 %10,36	30 %11,95	34 %13,55	42 %16,73	45 %17,93
Akciğer dışı örnekler	13	MGIT	1 %7,69	9 %69,23	9 %69,23	9 %69,23	12 %92,31	13 %100,00	13 %100,00	13 %100,00
		LJ	0 %0,00	1 %7,69	3 %23,08	3 %23,08	3 %23,08	3 %23,08	3 %23,08	3 %23,08
Yayma ARB pozitif örnekler	24	MGIT	14 %58,33	17 %70,83	19 %79,17	20 %83,33	22 %91,67	22 %91,67	22 %91,67	22 %91,67
		LJ	1 %4,17	5 %20,83	10 %41,67	13 %54,17	15 %62,50	15 %62,50	17 %70,83	17 %70,83
Yayma ARB negatif örnekler	239	MGIT	24 %10,04	56 %23,43	88 %36,82	130 %54,39	188 %78,66	230 %96,23	230 %96,23	230 %96,23
		LJ	1 %0,42	5 %2,09	14 %5,86	15 %6,28	17 %7,11	21 %8,79	27 %11,30	30 %12,55



Şekil 4.3. Kültüründe TDM üremesi saptanan örneklerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri

Tablo 4.35. Katı besiyerinde altı haftadan uzun inkübasyonda TDM üreme sayıları ve yüzdeleri

		TDM	
Tüm örnekler (n:264)	LJ (>6 hafta)	11	(%4.17)
	MGIT ≤6 hafta	9	(%3.41)
	MGIT'ta üremeyen	2	(%0.76)
Akciğer örnekleri (n:251)	LJ (>6 hafta)	11	(%4.38)
	MGIT ≤6 hafta	9	(%3.59)
	MGIT'ta üremeyen	2	(%0.80)
Akciğer dışı örnekler (n:13)	LJ (>6 hafta)	0	(%0.00)
	MGIT ≤6 hafta	0	(%0.00)
	MGIT'ta üremeyen	0	(%0.00)
Yayma ARB pozitif örnekler (n:24)	LJ (>6 hafta)	2	(%8.33)
	MGIT ≤6 hafta	2	(%8.33)
	MGIT'ta üremeyen	0	(%0.00)
Yayma ARB negatif örnekler (n:239)	LJ (>6 hafta)	9	(%3.77)
	MGIT ≤6 hafta	7	(%2.93)
	MGIT'ta üremeyen	2	(%0.84)



Şekil 4.4. MGIT ile birlikte kullanılan LJ besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun tanıya katkısı

5. TARTIŞMA

Tüberkülozun kontrolünde en önemli basamaklar TB şüpheli hastalara hızlı ve doğru tanı konulması ve etkin tedaviyle bulaş zincirinin kırılmasıdır. Günümüzde TB tanısında hızlı, güvenilir yöntemlerin geliştirmesi ve bu yöntemler kullanılarak hastalara daha hızlı sonuç verilmesi öncelikli hale gelmiştir (29). Tüberküloz tanısında klinik bulgular, görüntüleme yöntemleri, histopatolojik inceleme, mikroskopik inceleme ve moleküler teknikler gibi farklı seçenekler olmasına rağmen henüz hiçbir yöntem tam anlamıyla kültürün yerini alamamış olup günümüzde kültür altın standart yöntem olmaya devam etmektedir (4,5). Kültürün birçok avantajı bulunmasına rağmen kültürde üreme saptanmayan örneklerin negatif olarak raporlanması için gerekli inkübasyon süreleri uzun zaman almaktadır. Kültür sonucunun negatif olarak raporlanabilmesi için sıvı besiyerinin altı hafta, katı besiyerinin ise sekiz hafta inkübe edilmesi önerilmektedir (3,6,13). Ayrıca tanıda daha hızlı ve güvenilir kültür sonuçları elde edebilmek için sıvı besiyerinin katı besiyeriyle birlikte kullanılması önerilmektedir (29).

Çalışmamızda yer alan 20744 örneğin 18901'ine katı (LJ besiyeri) ve sıvı (MGIT besiyeri) besiyerinde eş zamanlı kültür yapılmıştır. Her iki besiyerinde kültürü yapılmış örneklerin 1130'unda (%5.98) en az bir besiyerinde mikobakteri üremesi saptanmış olup 1130 mikobakterinin 852'si (%4,51) MTBC, 278'i (%1.47) ise TDM olarak tanımlanmıştır. Mikobakterilerin tanısında katı ve sıvı besiyeri temelli kültür sistemlerini kullanarak yapılmış çalışmalarda mikobakteri izolasyon oranının %3.7 ile %16.9, MTBC izolasyon oranının %2.2 ile %16.5, TDM izolasyon oranının ise %0.4 ile %6.9 arasında değiştiği ve bulgularımızın literatür verileriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmalar arasındaki izolasyon oranı farkının kullanılan kültür yöntemleri, örneklerdeki mikobakteri yükü, yayma ARB pozitifliği, yeni veya takipli hasta sayısı, akciğer ve akciğer dışı örnek dağılımı ve dekontaminasyon yöntemleri gibi değişkenlerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (120–126).

Çalışmamızda tüm örneklerde sıvı ve katı besiyerinde kültür duyarlılığı sırasıyla mikobakterilerde %96.1 ve %65.1; MTBC'de %96.9 ve %79.3; TDM'de ise %93.5 ve %21.6 saptanmış olup tüm örnekler içerisinde MGIT besiyerinin mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında LJ besiyerine göre duyarlılığının daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca tüm örneklerde mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında

MGIT besiyerinin izolasyon oranı ile izolasyon oranına katkısı LJ besiyerine göre daha fazla saptanmıştır (Tablo 4.28). Srisuwanvilai ve ark. Tayland'da yaptıkları bir çalışmada sırasıyla MGIT ve LJ besiyeri duyarlılığı mikobakterilerde %96, %71; MTBC'de %95, %79; TDM'de ise %98, %16 bulunmuş olup elde edilen verilerin bulgularımızla oldukça benzer olduğu görülmüştür. Çalışmadaki MTBC ve TDM tanısında MGIT besiyeri duyarlılığı çalışmamızdaki MGIT duyarlılığına oldukça yakın olmasına rağmen, TDM tanısında LJ besiyeri duyarlılığı (%16) çalışmamızdaki LJ besiyeri duyarlılığından (%21.6) daha düşük saptanmıştır. Yazarlar TDM tespitinde LJ besiyeri duyarlılığının düşük olmasının bu besiyerindeki kontaminasyon oranının normalden daha yüksek saptanmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (92). Başka bir çalışmada Hanna ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec MGIT 960 ve Bactec 460 TB) ile iki katı kültür (LJ ve middlebrook) besiyerinin eş zamanlı kültür sonuçlarını karşılaştırmışlar ve MGIT besiyeri duyarlılığı ile kombine katı besiyeri duyarlılığını sırasıyla tüm mikobakteriler için %80, %69; MTBC için %77, %79; TDM için ise %81.3, %63 saptamışlardır. Çalışmadaki MGIT besiyeri duyarlılığının mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında çalışmamıza kıyasla daha düşük olduğu görülmekle birlikte bunun çalışmada dört farklı besiyerinin (iki sıvı, iki katı) birlikte kullanılmasıyla toplamda izole edilen mikobakteri sayısının artması ve tek bir besiyeri duyarlılığının düşük saptanmasına neden olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışmada MGIT besiyeri kontaminasyonunun yüksek olması nedeniyle kontamine örnekler çalışma dışı bırakılmış ve MGIT besiyeri duyarlılığının yükseldiği tespit edilmiştir. Özellikle TDM tanısında katı besiyeri duyarlılığının (%63) bizim çalışmamızdan (%21.6) daha yüksek olduğu görülmekle birlikte bunun çalışmada sıvı besiyeri duyarlılıklarının ayrı ayrı hesaplanırken, iki farklı katı besiyeri (LJ ve middlebrook) duyarlılık sonuçlarının birleştirilerek raporlanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (122). Baylan ve ark.'nın 2969 örnek ile sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec 460 TB) ve katı kültür (LJ) besiyeri kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada mikobakteri izolasyon oranlarını Bactec 12B ve LJ besiyerinde sırasıyla %6 ve %4.7 saptamış olup izole edilen mikobakteriler içerisinde yedisinin sadece Bactec 12B besiyerinde, birinin ise sadece LJ besiyerinde ürediği görülmüştür. Çalışmada sıvı besiyerinin izolasyon oranı ve izolasyon oranına katkısının katı besiyerinden daha fazla olduğu saptanmıştır (127). Yayınlamış birçok çalışmada da benzer şekilde sıvı besiyeri temelli kültür sistemlerinin katı besiyerine göre mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında duyarlılık ve izolasyon oranının daha

yüksek olduğu görülmekle birlikte elde edilen verilerin çalışmalar arasında değişkenlik göstermesinin bölgesel TB insidansı yükü, örnek transportu, örneklerin işlenme basamakları, besiyerine ekilen örnek miktarı, kültür yöntemleri ve kontaminasyon oranları gibi çeşitli faktörlerden etkilenebileceği düşünülmüştür (92,122,128,129).

Çalışmamızda saptanan mikobakterilerin %75.4'ü MTBC, %24.6'sı TDM olarak tanımlanmıştır. Tüberküloz Dışı Mikobakteri olarak tanımlanmış izolatlardan 178 tanesine tür düzeyinde tanımlama yapılamamıştır. Geriye kalan 100 TDM'nin tür tayini yapılmış olup bunlar içerisinde en sık saptanan türler sıklık sırasına göre *M. gordonae*, *M. abscessus* kompleks, *M. fortuitum*, *M. avium* kompleks, *M. lentiflavum*, *M. simiae*, *M. chelonae* ve *M. kansasii*'dir.

Literatürde yapılan çalışmalarda MTBC ve TDM yüzdelerini sırasıyla Özen ve ark. %82.5, %17.5; Scarparo ve ark. %38.5, %61.5; Srisuwanvilai ve ark. %88.6, %11.4; Hanna ve ark. %35.7, %64.3 ve Tortoli ve ark. %58.9, %41.1 saptamış olup oranların çalışmalar arasında oldukça değişken olduğu görülmüştür. Tür tayini yapılmış TDM'ler arasında ise en sık *M. abscessus* kompleks, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. chelonae* ve *M. fortuitum* saptanmış olup çalışmamızda tanımladığımız TDM türlerinin literatürle genel olarak benzerlik gösterdiği görülmektedir. Özen ve ark. Türkiye'de yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde en sık izole ettikleri TDM türünün *M. gordonae* olduğunu bildirmişlerdir. Günaydın ve ark. da Türkiye'de en sık izole ettikleri TDM'nin *M. gordonae* olduğunu raporlamışlardır. Bir başka çalışmada Albayrak ve ark.'nın en sık saptadıkları TDM türlerinin *M. fortuitum*, *M. abscessus* kompleks, *M. gordonae*, *M. avium* kompleks olduğu ve çalışmamızda saptadığımız TDM türleriyle oldukça benzerlik gösterdiği görülmektedir (92,122,125,126,130–133). Literatürdeki çalışmalarda saptanan MTBC ve TDM dağılım oranları ile tespit edilen TDM türleri birçok faktörden etkilenmekle birlikte bu farklılıklar çalışılan popülasyonun yanı sıra kullanılan besiyeri, örnek türü veya inkübasyon koşullarının değişkenliğinden kaynaklanabilir. Örneğin HIV pozitif hasta grubunda MTBC ve *M. abscessus* kompleks görülme sıklığı daha fazlayken; kistik fibrozis, KOAH, bronşektazi gibi komorbiditelere sahip hastalarda da bazı TDM türleri daha sık görülmektedir. *M. gordonae* çevresel kaynaklardan sıklıkla kontaminant mikobakteri olarak izole edilirken, bazı TDM türleri de hastane su sistemlerinden izole edilerek çalışmalardaki TDM tür dağılımını etkileyebilmektedir

(45,134,135). Çalışmamızda literatürdeki bazı çalışmalara kıyasla daha az sayıda *M. xenopi* saptanması bu mikobakterinin kültür koşullarında daha yüksek sıcaklıklarda (42 °C) inkübasyona ihtiyaç duymasından kaynaklanabilir. Yine çalışmamızda *M. avium* kompleks izolatlarının daha az sayıda saptanması bu mikobakterinin HIV pozitif hastaların kan örneklerinde saptanabilmesi ve çalışmamızda Bactec MGIT 960 sisteminin kan örnekleri için uygun olmaması nedeniyle bu örnek türünün çalışma dışı bırakılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışmamızdaki TDM'lerin hepsine tür tayini yapılamamış olması da türlerin kısıtlı sayıda tanımlanmasına yol açmış olabilir (7).

Çalışmamızda tüm örnekler içerisinde kontaminasyon oranları MGIT besiyerinde %5.23, LJ besiyerinde %7.04 ve eş zamanlı olarak her iki besiyerinde %2.36 bulunmuştur. Mikobakteri laboratuvarı için kontaminasyon oranlarının katı besiyerinde %3-5, sıvı besiyerinde ise %5-10 arasında olması önerilmektedir. Çalışmamızdaki tüm örnekler içerisindeki sıvı besiyeri kontaminasyon oranı beklenen sınırlar içerisinde bulunmakla birlikte katı besiyeri kontaminasyon oranı beklenen aralığın biraz üzerinde saptanmış ve katı besiyeri kontaminasyon oranının yine beklenilenin tersine sıvı besiyerinden daha yüksek olduğu görülmüştür (3) Literatüre bakıldığında sıvı ve katı besiyeri kontaminasyon oranları arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Çalışmalar arasında sıvı besiyeri kontaminasyon oranlarının katı besiyerine göre daha yüksek bulunduğu birçok yayın bulunmakla birlikte, çalışmamıza benzer şekilde katı besiyeri kontaminasyon oranı sıvı besiyerinden daha yüksek saptanmış yayınlara da rastlanmaktadır (92,120,125,127,136). Bu kontaminasyon oranı değişikliklerinin örnek türü, örneklerin alınma ve taşınma koşulları, kullanılan besiyeri ve dekontaminasyon prosedürleri gibi birçok değişkenden etkilenebileceği düşünülmüştür. Kontaminasyon oranlarını etkileyen birçok değişkene ek olarak çalışmamızda MGIT besiyerine eklenen PANTA karışımı içerisindeki antimikrobiyallerin de sıvı besiyeri kontaminasyon oranının katı besiyerinden daha düşük saptanmasına neden olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca literatürde Bactec MGIT 960 sistemini kullanan laboratuvarlarda personelin vida kapaklı besiyerini kullanmaya alışmasıyla beraber kontaminasyon oranlarının zaman içerisinde düştüğünü raporlayan yayınlar da bulunmaktadır (123,124,136). Çalışmamızda MGIT besiyeri kontaminasyon oranlarının 2011, 2015 ve 2021 yıllarında sırasıyla %7.6, %6.6 ve %4.8 saptanması laboratuvar personelinin zaman içerisinde vida kapaklı

besiyerini kullanmaya alışmasıyla birlikte sıvı besiyeri kontaminasyon oranının düşmesine katkıda bulunmuş olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda akciğer örneklerinde mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyerinin katı besiyerine göre izolasyon oranı ve izolasyon oranına katkısı daha yüksek saptanmış olup, akciğer örneklerinde MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı sırasıyla %97.0 ve %93.2; katı besiyeri duyarlılığı ise %83.5 ve %21.2 saptanmıştır. Akciğer örneklerinde sıvı besiyeri duyarlılığının katı besiyeri duyarlılığından daha yüksek olduğu ve aradaki farkın özellikle TDM tanısında daha da arttığı görülmektedir (Tablo 4.28). Tortoli ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (ESP Kültür Sistemi II ve Bactec 460 TB) ile iki farklı LJ besiyerini kullanarak 2673 örnekle gerçekleştirdikleri çok merkezli bir çalışmada akciğer örneklerinde mikobakteri tanısında Bactec 12B besiyeri ve LJ besiyerinin duyarlılıkları sırasıyla %90.5 ve %64.8 saptanmış olup, akciğer örneklerinde sıvı besiyeri duyarlılığının bulgularımıza benzer şekilde katı besiyerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine çalışmada altısı MTBC olmak üzere 21 mikobakteri izolatu sadece Bactec 12B besiyerinde, biri MTBC olmak üzere üç mikobakteri izolatu ise sadece katı besiyerinde izole edilmiş olup bulgularımızla uyumlu bir şekilde sıvı besiyerinin mikobakteri, MTBC ve TDM izolasyon oranına katkısının katı besiyerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (133). Idigoras ve ark. sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec MGIT 960) ile üç katı kültür besiyerini (Middlebrook 7H11, LJ ve Coletsos) kullanarak 2832 akciğer örneğiyle gerçekleştirdikleri bir çalışmada MGIT, Middlebrook 7H11, LJ ve Coletsos besiyerlerinin duyarlılıkları sırasıyla MTBC tanısında %93, %76, %79.6 ve %75.1; TDM tanısında ise %83.3, %8.3, %29.1 ve %14.1 bulunmuştur. Çalışmada akciğer örneklerinde MTBC ile TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı katı besiyerlerine göre oldukça yüksek saptanmıştır. Katı besiyeri duyarlılığının akciğer örneklerinde özellikle TDM tanısında MTBC tanısına kıyasla belirgin şekilde düştüğü görülmekte ve çalışmada kullanılan katı besiyerleri arasında da birkaç kat duyarlılık farkı bulunmaktadır. Bu farklılığın çalışmada tüm katı besiyerlerinin inkübasyon sürelerinin aynı olmaması ve besiyeri içeriklerinin birbirinden farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (137).

Çalışmamızda akciğer dışı örneklerde de mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyerinin katı besiyerine göre izolasyon oranı ve katkısı daha yüksek saptanmış olup MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı sırasıyla %96.7 ve

%100; katı besiyeri duyarlılığı ise %64.1 ve %28.6 hesaplanmıştır. Akciğer dışı örneklerde sıvı besiyeri duyarlılığının katı besiyeri duyarlılığından daha yüksek olduğu ve akciğer örneklerinde olduğu gibi aradaki duyarlılık farkının özellikle TDM tanısında daha da arttığı görülmektedir (Tablo 4.28). Hillemann ve ark. sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec MGIT 960) ile iki katı kültür besiyerini (LJ ve Stonebrink) kullanarak 9558 akciğer dışı örnekten 753 (%7,9) mikobakteri izolatı izole ettikleri çalışmada, MTBC ve TDM tanısında MGIT besiyeri duyarlılığını sırasıyla %90.3, %86.1; katı besiyeri duyarlılığını (LJ ve Stonebrink birlikte) ise %72.5, %63.3 oranında saptamışlardır. Çalışmada akciğer dışı örneklerde verilerimizle benzer şekilde sıvı besiyeri duyarlılığının katı besiyerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. MGIT besiyeri duyarlılığı çalışmamıza benzer şekilde akciğer dışı örneklerde hem MTBC hem de TDM tanısında oldukça yüksek saptanmıştır. Akciğer dışı örneklerde katı besiyeri duyarlılığı ise hem MTBC ve TDM tanısında çalışmamızdan daha yüksek bulunmuş olup bunun çalışmadaki katı besiyeri duyarlılığının iki farklı besiyeri (LJ ve Stonebrink) verilerinin birleştirilerek hesaplanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışmada izole edilen 136 MTBC izolatı sadece MGIT besiyerinde ürerken, 48 MTBC izolatı sadece katı besiyerinde üremiş olup verilerimizle uyumlu olarak akciğer dışı örneklerde sıvı besiyerinin izolasyon oranına katkısının da katı besiyerine göre daha fazla olduğu görülmüştür (136).

Çalışmamızda yayma ARB pozitif örneklerde mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyerinin katı besiyerine göre izolasyon oranı ve katkısı daha yüksek saptanmış olup MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı sırasıyla %99.1, %91.7; katı besiyeri duyarlılığı ise %92, %70.8 saptanmıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde sıvı besiyeri duyarlılığının katı besiyeri duyarlılığından daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 4.28). Manterola ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec 460 TB ve MB/BacT) ve iki yumurta temelli katı kültür (LJ ve Coletsos) besiyerini kullanarak 600 örnekten 106 (%17,7) mikobakteri izole ettikleri çalışmada, yayma ARB pozitif örneklerde farklı besiyerlerinde oldukça yüksek duyarlılıklar saptamıştır. Yayma ARB pozitif örneklerde MTBC tanısında Bactec 12B, ve katı (LJ ve Coletsos birlikte) besiyeri duyarlılıkları sırasıyla %96.3, %96.3; TDM tanısında ise sırasıyla %92.8, %100 saptanmıştır. Özellikle MTBC ve TDM tanısında Bactec 12B besiyeri duyarlılığının çalışmamızdaki yayma ARB pozitif örneklerde

MGIT besiyeri duyarlılığına oldukça yakın bulunduğu görülmektedir. Katı besiyeri duyarlılığının (%96.3) ise çalışmamızdaki MTBC tanısında katı besiyeri duyarlılığıyla (%92) uyumlu olduğu, TDM tanısında ise saptadığımız duyarlılıktan (%70.8) oldukça yüksek (%100) olduğu görülmüştür. Bu farkın çalışmadaki katı besiyeri inokülasyon miktarının (0.25 ml) çalışmamıza göre (0.2 ml) daha yüksek olması ve iki katı besiyeri duyarlılık sonuçlarının birleştirilerek tek bir veri şeklinde raporlanmasından kaynaklanabileceği, ayrıca yayma ARB pozitif örneklerde izole edilen toplam TDM sayısının azlığının da (n:14) istatistiksel hataya neden olabileceği düşünülmüştür. (138). Srisuwanvilai ve ark. sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec MGIT 960) ve yumurta temelli katı kültür (LJ) besiyeriyle 1044 yayma ARB pozitif örneği dahil ettikleri çalışmadaki MGIT ve LJ besiyeri mikobakteri izolasyon oranları sırasıyla %87, %77; MTBC izolasyon oranları ise %84, %75,8 saptanmış olup MGIT ve LJ besiyerlerinin duyarlılığı sırasıyla mikobakteri tanısında %94,6, %83,8; MTBC tanısında %94,7, %85,4 saptanmıştır. Çalışmada tespit edilen ARB pozitif örneklerde katı ve sıvı besiyeri izolasyon oranlarının bizim çalışmamızdan az farkla yüksek, duyarlılığın ise az farkla düşük olduğu görülmekle birlikte benzer sonuçlar elde edildiği ve çalışmamız verileriyle uyumlu olarak sıvı besiyeri izolasyon oranı ile duyarlılığının katı besiyerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (92).

Çalışmamızda yayma ARB negatif örneklerde mikobakteri, MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyerinin katı besiyerine göre izolasyon oranı ve katkısı daha yüksek saptanmış olup MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı sırasıyla %94.5, %93.7; katı besiyeri duyarlılığı ise %65.6, %16.6 saptanmıştır. Yayma ARB negatif örneklerde sıvı besiyeri duyarlılığının katı besiyeri duyarlılığından çok daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 4.28). Brunello ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (MB/BacT ve Bactec 460 TB) ile bir katı kültür (LJ) besiyerini kullanarak 1830 örnekten 173 mikobakteriyi izole ettikleri çalışmada, yayma ARB negatif örneklerde MB/BacT, Bactec 12B ve LJ besiyeri duyarlılıkları sırasıyla MTBC tanısında %100, %100, %88.8; TDM tanısında ise %89.5, %97.9, %89.5 bulunmuştur. Verilere bakıldığında yayma ARB negatif örneklerde MTBC ve TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılıklarının çalışmamıza benzer şekilde oldukça yüksek bulunduğu görülmüştür. Çalışmada özellikle Bactec 12B besiyeriyle katı besiyerine göre daha yüksek duyarlılıklar elde edilmiştir. Ancak çalışmamıza kıyasla MTBC ve TDM tanısında katı besiyeri duyarlılığı ise oldukça yüksek saptanmış ve duyarlılık farkının TDM tanısında

(%16.6'ya kıyasla %88.8) daha belirgin olduğu görülmüştür (139). Chew ve ark. da iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (Bactec MGIT 960 ve Bactec 460 TB) ile iki farklı LJ (%0,75 gliserol eklenmiş LJ ve %0,45 pirüvat eklenmiş LJ) besiyerini kullanarak yayma ARB negatif örneklerde gerçekleştirdikleri çalışmada MGIT, Bactec 12B ve LJ besiyeri duyarlılığını MTBC tanısında sırasıyla %87, %93, %80; TDM tanısında ise %90, %95, %65 saptamıştır. Çalışmada yayma ARB negatif örneklerde hem MTBC hem de TDM tanısında sıvı besiyeri duyarlılığı çalışmamıza benzer şekilde katı besiyerine göre daha yüksek saptanmıştır. Fakat katı besiyeri duyarlılığının yayma ARB negatif örneklerde hem MTBC hem de TDM tanısında çalışmamızdan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu duyarlılık farkının çalışmamızdan farklı olarak canlı basil bulunma olasılığı daha yüksek örneklerin çalışmaya dahil edilmesi (mikobakteriyel enfeksiyona ilişkin klinik şüphenin yüksek olduğu hastalar) ve iki ayrı katı besiyeri duyarlılık sonuçlarının ortak olarak raporlanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (140).

Çalışmamızda tüm örneklerde MGIT ve LJ besiyerinde mikobakteri üreme saptama süresi ortalaması sırasıyla 15.95 gün ve 24.45 gün; MTBC üreme saptama süresi ortalaması 13.75 gün ve 24.25 gün; TDM üreme saptama süresi ortalaması ise 23.12 gün ve 27.21 gün olarak saptanmıştır. Tüm örnekler içerisinde MGIT besiyerinde LJ besiyerine göre mikobakteri, MTBC ve TDM üreme saptama süresi ortalamaları daha kısa bulunmakla birlikte, MGIT besiyerinde LJ besiyerine göre mikobakteri izolatları yaklaşık sekiz gün, MTBC izolatları dokuz gün, TDM izolatları ise dört gün daha erken üremiştir. Ayrıca yayma durumu ve örnek türüne göre analiz edildiğinde mikobakteri, MTBC ve TDM izolatlarında MGIT besiyeri üreme saptama süresi ortalaması hem yayma ARB pozitif ve negatif örneklerde hem de akciğer ve akciğer dışı örneklerde (TDM tanısı dışında) LJ besiyerine göre daha kısa bulunmuştur. Akciğer dışı örneklerde TDM tanısında ise MGIT ve LJ besiyeri üreme saptama süresi ortalamaları benzer (sırasıyla 18.15 gün ile 17.67 gün) saptanmıştır. Aynı zamanda çalışmamızda her iki besiyeri için de yayma ARB pozitif örneklerde üreme saptama süresi ortalaması yayma ARB negatif örneklere göre daha kısa saptanmıştır (Tablo 4.29). Tortoli ve ark. yaptıkları bir çalışmada iki sıvı besiyeri temelli kültür sisteminde (Bactec MGIT 960 ve Bactec 460 TB) mikobakteri üreme süresi ortalaması sırasıyla 13.34 ve 14.80 gün; katı besiyerinde (LJ) ise 25.67 gün saptanmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde sıvı besiyerinde mikobakteri, MTBC ve

TDM'lerin katı besiyerine göre daha erken ürediği ve bu sürelerin yayma ARB pozitif örneklerde yayma ARB negatif örneklerle göre kısaldığı raporlanmıştır (123). Brunello ve ark. sıvı besiyeri temelli kültür sistemleri (MB/BacT, Bactec 460 TB) ve katı besiyerini (LJ) kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada mikobakteri, MTBC ve TDM için sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha kısa üreme süresi ortalamaları elde edilmiştir. Aynı çalışmada her iki besiyerinde de yayma ARB pozitif örneklerin üreme süresi ortalaması yayma ARB negatif örneklerle göre daha kısa saptanmıştır. Elde edilen bulguların çalışmamız verileriyle uyumlu olduğu görülmekle birlikte çalışmada tek bir *M. kansasii* izolatının katı besiyerinde 12. günde, sıvı besiyerlerinde ise sırasıyla 12.5 ve 13. günlerde ürediği saptanmıştır. Bu örneğin çalışmada saptanan tek bir *M. kansasii* izolatı olması nedeniyle üreme saptama süresi ortalamasının tek bir örnek üzerinden hesaplanmasının yanıltıcı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışmamızdaki tüm TDM izolatları tür düzeyinde tanımlanmadığı için üreme süreleri TDM türleri düzeyinde tek tek hesaplanamamış ve bu verilerin karşılaştırılması yapılamamıştır (139). Manterola ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemi (MB/BacT ve Bactec 460 TB) ve iki yumurta temelli katı kültür (LJ ve Coletsos) besiyerini kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada da bulgularımızla uyumlu olarak sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha kısa üreme süresi ortalamaları elde edilmiştir. (138). Her üç çalışmada da akciğer ve akciğer dışı örneklerin üreme süresine ait veriler ayrı ayrı raporlanmadığı için çalışmamızdaki bu örnek türlerine ait üreme süresi sonuçlarıyla ilgili ayrıca karşılaştırma yapılamamıştır.

Çalışmamızda TDM tanısında akciğer dışı örneklerde üreme saptama süresi ortalaması LJ besiyerinde MGIT besiyerinden daha kısa saptanmıştır. Bunun olası nedeni araştırıldığında MGIT besiyerinde akciğer dışı örneklerde 13 TDM izolatının üremiş olup bu izolatların MGIT besiyeri üreme saptama süresi ortalamasının 18.15 gün olduğu görülmüştür. MGIT besiyerinde üremiş 13 TDM içerisinde ise sadece üç TDM izolatının eş zamanlı olarak LJ besiyerinde de ürediği ve üç TDM'nin LJ besiyerinde ortalama üreme süresinin 17.67 gün olarak hesaplanmıştır. Her iki besiyerinde de ortak olarak üremiş üç TDM türü üzerinden süreler tekrar hesaplandığında TDM tanısında akciğer dışı örneklerde MGIT besiyerindeki üreme saptama süresi ortalamasının 10.3 gün olduğu ve LJ besiyerinden (17.67 gün) daha kısa olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda katı ve sıvı besiyerinde üremelerin saptanma haftasına göre aynı haftadaki kümülatif yüzdeler karşılaştırıldığında sıvı besiyerinde katı besiyerine göre mikobakteri, MTBC ve TDM üremesinin daha erken haftalarda saptandığı görülmektedir. Tüm örneklerde olduğu gibi akciğer ve akciğer dışı örnekler ile yayma ARB pozitif ve negatif örneklerdeki üremeler de sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha erken haftalarda saptanmıştır (Tablo 4.30, Tablo 4.32, Tablo 4.34).

Williams-Bouyer ve ark. 3151 akciğer ve akciğer dışı örnekte gerçekleştirdikleri bir çalışmada bulgularımızla uyumlu olarak mikobakteri ve MTBC üremelerinin aynı haftadaki kümülatif yüzdesi, sıvı besiyerinde (MGIT besiyeri) katı besiyerinden (Middlebrook agar) daha yüksek saptanmıştır (141). Çalışmamızdaki kümülatif yüzdeler bu çalışmadan farklı olarak inkübasyon süresi sonunda hiçbir besiyerinde %100 oranına ulaşamamıştır. Bunun nedeni ise çalışmamızdaki kümülatif yüzdeler hesaplanırken en az bir besiyerindeki üreme sayısının referans alınarak hesaplanması, bu çalışmada ise kümülatif yüzdelerin her bir besiyerindeki üreme sayısının kendi içinde referans alınarak hesaplanmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Tortoli ve ark. 2567 örnekle gerçekleştirdikleri başka bir çalışmada mikobakterilerin haftalık olarak kümülatif yüzdelerini hesaplayarak oluşturdukları grafikte aynı haftadaki üremeler kıyaslandığında sıvı besiyerlerinde (Bactec MGIT 960 ve Bactec 460 TB) katı besiyerine göre daha yüksek yüzdeler elde edilmiş olup bulgularımızla uyumlu olduğu görülmüştür (123).

Çalışmamızda en az bir besiyerindeki üreme sayısı referans alındığında MGIT ve LJ besiyerinde sırasıyla mikobakteri izolatlarının %96.85 ve %60.54, MTBC izolatlarının %97.16 ve %75.06, TDM izolatlarının ise %95.83 ve %14.02'si altıncı haftada saptanmıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3). Çalışmamızda tüm örneklerde LJ besiyerinde altıncı haftadan sonra 47 örnekte mikobakteri üremesi saptanmış olup bu 47 örneğin 41'inde daha önce MGIT besiyerinde üreme saptanmıştır. Geriye kalan altı örnekte ise MGIT besiyerinde üreme saptanmamış veya kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. Altı örneğin daha ileri incelemesi yapıldığında dördünün MTBC, ikisinin TDM olarak tanımlandığı; dördünün akciğer örneği, ikisinin akciğer dışı örnek olduğu görülmüştür. Ayrıca bu altı örneğin tümü yayma ARB negatif örneklerdir. Altı izolatin çeşitli örnek türlerinde ve yayma durumuna göre mikobakteri, MTBC ve TDM tanısına katkısı hesaplanmıştır. Buna göre katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun mikobakteri tanısına katkısı tüm örneklerde %0.54 bulunurken diğer

örnek gruplarında (akciğer ve akciğer dışı örnekler, yayma ARB pozitif ve negatif örnekler) %0 ile %1.02 arasında değişmektedir (Tablo 4.31). Katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun MTBC tanısına katkısı tüm örneklerde %0.47 bulunurken diğer örnek gruplarında (akciğer ve akciğer dışı örnekler, yayma ARB pozitif ve negatif örnekler) %0 ile %1.1 arasında değişmektedir (Tablo 4.33). Katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun TDM tanısına katkısı tüm örneklerde %0.76 bulunurken diğer örnek gruplarında (akciğer ve akciğer dışı örnekler, yayma ARB pozitif ve negatif örnekler) %0 ile %0.84 arasında değişmektedir (Tablo 4.35). Yaklaşık on yıllık zaman diliminde katı besiyerinin altı haftadan daha uzun süre inkübe edilmesinin sıvı besiyerine ek olarak sadece altı mikobakterinin saptanmasına katkıda bulunduğu görülmüştür.

Çalışmamıza benzer şekilde katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun tanıya katkısını değerlendiren yayınlardan Tyrrell ve ark. iki sıvı besiyeri temelli kültür sistemini (Bactec MGIT 960 ve BacT/Alert) kullanarak halk sağlığı laboratuvarlarının da dahil olduğu dokuz farklı merkezde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, 19275 klinik örneğin kültüründe 1547 örnekte üreme saptamışlardır. Çalışmadaki Bactec MGIT 960 sistemini kullanan merkezlerden alınan verilere göre MGIT sistemine ek olarak 12 örnekte sadece katı besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. 12 MTBC izolatından bir örneğin (F merkezi) 24. günde, üç örneğin (B merkezi) ise 40-43. günlerde katı besiyerinde ürediği ve hepsinin eski tanısı bulunan takip hastalarına ait izolatlar olduğu raporlanmıştır. Geriye kalan sekiz MTBC (hepsi D merkezinden) izolatının ise katı besiyerinde 16-28. günler arasında ürediği saptanmıştır. TDM izolatlarından ise dördünün (hepsi B merkezinden) sadece katı besiyerinde altıncı haftadan sonra ürediği saptanmıştır. BacT/Alert sistemini kullanan merkezlerden alınan verilere göre BacT/Alert sistemine ek olarak üç örnekte sadece katı besiyerinde MTBC üremesi saptanmıştır. Bu üç izolatın da katı besiyerinde sırasıyla 10, 33 ve 52. günlerde ürediği görülmüş olup katı besiyerinde altı haftadan sonra (52. gün) üremiş izolatın daha önceden tanılı bir takip hastasına ait olduğu raporlanmıştır. TDM izolatlarından ise birinin katı besiyerinde altıncı haftadan sonra ürediği ve bu izolatın da daha önce sıvı besiyerinde 36. günde saptandığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda toplamda üç MTBC izolatının sadece katı besiyerinde altıncı haftadan sonra ürediği görülmüş olup hepsinin daha önce tanısı bulunan takip hastalarına ait olduğu görülmektedir (142).

Bir diğerk çalışmada Simner ve ark. sıvı (Bactec MGIT 960) ve katı besiyerinde (Middlebrook 7H11/S7H11) kültürü yapılmış yaklaşık 21500 örneğın sonuçlarını retrospektif olarak taramıştır. Daha sonra katı besiyerinde altı haftadan daha geç üremiş mikobakterilerin önceki mikobakteri tanısı, tedavi durumu, kontaminasyon ve kolonizasyon gibi farklı parametrelerini inceleyerek katı besiyerinin altı haftadan uzun inkübasyonunun tanıya katkısını araştırmışlardır. Toplamda 1110 TDM ile 98 MTBC'yi izole ettikleri çalışmada 67 TDM ve 2 MTBC izolatının katı besiyerinde altıncı haftadan sonra ürediğini saptamışlardır. 67 TDM'nin bir kısmı eş zamanlı olarak sıvı besiyerinde saptanmış olup büyük çoğunluğunun az koloni sayısına (1 ila 3 koloni) sahip olması, daha önceki mikobakteri enfeksiyonu tanısı, tedavi altındaki hasta, klinisyenin kontaminasyon veya kolonizasyon olarak değerlendirmesi ve tedavi başlanmaması gibi nedenlerle önemsiz olduğu raporlanmıştır. Geriye kalan TDM'lerden beş *M. xenopi* izolatının üçü daha önce sıvı besiyerinde ürediğı ve sadece iki *M. xenopi* izolatı ile dört *M. lentiflavum* izolatının ise sıvı besiyerinde üremediğı görölmüştür. Bu altı mikobakterinin hepsinin (2 *M. xenopi* ve 4 *M. lentiflavum*) dış merkezden gelmiş olması nedeniyle daha önceki tanı ve tedavi öyküsüne ulaşılammış ve klinik olarak anlamlı olup olmadıkları değerlendirilememiştir. Çalışmada TB tanısı açısından en önemli bulgu katı besiyerinde altıncı haftadan sonra üremiş iki MTBC izolatının sıvı besiyerinde yaklaşık iki haftalık (15 ve 16 gün) inkübasyonda tanımlanmış olmasıdır. Katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin TB tanısına katkısının olmadığı, TDM'lerde ise sıvı besiyerine ek olarak katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin sadece iki *M. xenopi* ile dört *M. lentiflavum* izolatını tanımlanmasına katkı sağladığı görölmektedir. Ayrıca bu hastaların da önceki bilgilerine ulaşılammış olması ve *M. xenopi*'nin üremesi için rutin inkübasyon sıcaklığından (35-37°C) daha yüksek sıcaklıklara (40-42 °C) ihtiyaç göstermesi gibi etkenler göz önüne alındığında, hasta bilgilerine ulaşılması ve uygun inkübasyon koşullarının sağlanmasıyla bu mikobakterilerin de katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesine gerek kalmadan tanımlanabileceğı düşünölmüştür (143).

Her iki çalışmanın sonucunda da katı besiyeri inkübasyonunun altı haftadan uzun tutulmasının TDM tanısına sadece bazı türlerde (*M. xenopi* ve *M. lentiflavum*) sınırlı katkı sağladığı görölmekle birlikte, katı besiyeri inkübasyonunun sıvı besiyeriyle birlikte altıncı haftada sonlandırılmasının hiçbir TB hastasını kaçırmayacağı çıkarımının yapılabileceğı düşünölmüştür.

Çalışmamızda sıvı besiyerinde ürememesine rağmen altıncı haftadan sonra katı besiyerinde üremiş dört MTBC izolatının daha detaylı incelemesi yapıldığında ilk MTBC izolatının sekiz yaşında bir çocuk hastaya ait dışkı örneğinde LJ besiyerinde 49. günde ürettiği saptanmıştır. Bu örneğin kabul edildiği gün yapılan moleküler test sonucunda MTBC izolatı, PCR yöntemiyle çok düşük düzeyde saptanmıştır. Hastanın diğer kültür sonuçlarına bakıldığında dışkı örneğinden yaklaşık on gün önce yollanmış ardışık üç AMS örneğinin hepsinin kültüründe MTBC üremesi saptandığı ve antitüberküloz tedavi başlandığı görülmüştür. İkinci MTBC izolatının bir yaşında çocuk hastaya ait izotonik sıvı içerisinde yollanan eküvyon çubuğuyla alınmış sürüntü örneği olduğu ve LJ besiyerinde 46. günde ürettiği saptanmıştır. Mikobakteri kültürü için tercih edilmeyen eküvyon çubuğuyla alınmış sürüntü örneği kültürünün klinisyenin özel istemi nedeniyle yapıldığı tespit edilmiştir. Hastanın diğer kültür sonuçlarına bakıldığında bir gün önce alınan iki lenf nodu biyopsi örneğinde mikroskopik inceleme, kültür ve PCR yöntemleriyle MTBC (*M. bovis* BCG) saptandığı görülmüştür. Bu hastanın da sürüntü örneğinden daha önce lenf nodu biyopsisi örneklerinden tanı aldığı görülmüş olup LJ besiyerindeki geç üremenin mikobakteri kültürü için uygun olmayan sürüntü örneklerinin klinisyenin istemi nedeniyle kültür işlemlerinin uygulanmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Üçüncü MTBC izolatının 67 yaşında kadın hastanın BAL örneğinde LJ besiyerinde 56. günde ürettiği saptanmıştır. Hastanın diğer mikobakteri şüpheli örnekleri incelendiğinde örneklerinin mikroskopi, kültür ve PCR sonuçlarının negatif olarak saptanması; sadece LJ besiyerinde çok geç sürede az sayıda koloni (tek bir koloni) üremesi ve hastanın klinik bulgularının TB ile örtüşmemesi nedeniyle bronkoskopi kaynaklı çapraz kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. Dördüncü MTBC izolatının 65 yaşında kadın hastanın BAL örneğinde LJ besiyerinde 56. günde ürettiği saptanmıştır. Hastaya ait yakın tarihli birçok örneğin (plevra biyopsisi, idrar, BAL) mikobakteri kültüründe üreme saptanmamıştır.

Çalışmamızda sıvı besiyerinde ürememesine rağmen altı haftadan sonra katı besiyerinde üremiş iki TDM izolatının daha detaylı incelemesi sonucunda birinci TDM izolatının 67 yaşında kadın hastanın BAL örneğinde LJ besiyerinde 47. günde ürettiği ve *M. xenopi* olarak tanımlandığı saptanmıştır. Hastanın diğer kültür sonuçları incelendiğinde BAL örneğinden bir hafta önce yollanmış iki balgam örneğinde de *M. xenopi*'nin hem katı hem de sıvı besiyerinde eş zamanlı ürettiği görülmüştür. İkinci

TDM izolatının ise 77 yaşında erkek hastanın balgam örneğinde LJ besiyerinde 44. günde ürediği ve *M. fortuitum* olarak tanımlandığı saptanmıştır. Aynı örneğin MGIT besiyerindeki kültür sonucu ise kontaminasyon olarak sonuçlanmıştır. Hastaya ait veriler incelendiğinde bu örneğinden beş gün sonra yollanmış her iki balgam örneğinde de MGIT (6. ve 8. gün) ve LJ besiyerinde (39. ve 39. gün) *M. fortuitum* üremesi saptandığı görülmüştür.

Bu altı örneğin alındığı hastaların diğer kayıtlarının daha ileri analizi sonucunda dört MTBC izolatından ikisinin hastalara ait diğer örneklerde daha önce ürediği, birinin ise bronkoskopi kaynaklı kontaminasyon olduğu görülmüştür. Geriye kalan sonuncu MTBC izolatının da BAL örneği olup, ARB boyalı preparatının mikroskopik incelemesi negatif raporlanmış ve hastanın diğer örneklerinin kültüründe üreme olmamıştır. Hastanın kültür sonucu elde edilinceye kadar geçen dönemde aldığı nonspesifik antibiyotik tedavisi ile radyolojik ve klinik iyileşme olduğu görülmüş olup tek bir BAL örneğinde katı besiyerindeki bu geç dönem üremenin bronkoskop kaynaklı kontaminasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür. TDM izolatlarının ise ikisinin de diğer kültürlerde ürediği ve *M. xenopi* ve *M. fortuitum* olarak bu kültürlerle uyumlu olarak daha önce tanımlandığı görülmüştür. Altı örneğin detaylı incelenmesi sonucunda katı besiyerinin (LJ besiyeri) altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin çalışmamızda sadece tek bir MTBC izolatının tanısına katkı sağladığı görülmüş olup, bu analiz sonucunda katı besiyerinin (LJ besiyeri) 6-8. haftalar arasında mikobakteri, MTBC ve TDM tanısına sağladığı katkı oranlarının (mikobakteri %0.54, MTBC %0.47, TDM %0.76) gerçekte saptadığımızdan daha da düşük olabileceği düşünülmüştür.

Günümüzde mikobakteri laboratuvarları başta olmak üzere birçok laboratuvarın iş yükü giderek artmaktadır. Özellikle mikobakteri tanısında kullanılan katı kültür temelli besiyerlerinin laboratuvar uzmanı tarafından en az haftada bir defa gözden geçirilip üreme varlığı açısından kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu da artan örnek sayıları nedeniyle katı besiyerlerinin düzenli aralıklarla verimli bir şekilde kontrol edilmesini zorlaştırmakta ve büyük zaman kayıplarına yol açmaktadır. Ayrıca uzun inkübasyon süreleri nedeniyle daha uzun süre saklanan tüpler laboratuvarında yer kapasitesi sorunlarını da ortaya çıkarabilmektedir. Ek olarak klinisyene kesin negatif raporların daha geç ulaştırılması klinisyenin hastaya tanı koyma aşamasında kararlarını geciktirebilir. Çalışma verileri göz önüne alındığında laboratuvarların raporlama sürecinde katı ve sıvı besiyerlerinde üremiş mikobakteri, MTBC ve

TDM'lerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri, en sık saptanan mikobakteri türleri ve geç üremelerin anlamlı olup olmadığını belirlemek için bir takım parametreleri içeren (örnek türü, katı kültür koloni sayısı, önceki mikobakteriyal tanı varlığı, birden fazla örnekte üreme, antimikobakteriyal tedavi ve klinisyen görüşü gibi) verileri düzenli aralıklarla analiz ederek kesin negatif raporlama zamanlarının daha erkene çekilebileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak literatürde bu konuda yapılmış yayınlar ve çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz veriler ışığında katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin mikobakteri, MTBC ve TDM tanısına katkısının oldukça az olduğu ve katı besiyerinin sıvı besiyeriyle birlikte altıncı haftada negatif olarak raporlanabileceğini önermekteyiz. Daha erken negatif raporlama protokollerinin laboratuvar işi yükünün azalması, laboratuvardaki yer kapasitesinin artması ve klinisyenlerin daha hızlı tanı koymasına yardımcı olma gibi birçok faydası olabilir. Bu konudaki mevcut rehber önerilerinin de tekrar gözden geçirilerek değerlendirilmesi gerekebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda katı besiyerinin (LJ) altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin mikobakteri, MTBC ve TDM tanısına katkısı sırasıyla %0.54, %0.47 ve %0.76 bulunmuştur. Katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin sıvı besiyerine ek olarak sadece altı mikobakterinin saptanmasına katkı sağladığı görülmüştür. Bu altı örneğin alındığı hastaların diğer kayıtlarının daha detaylı incelemesi yapıldığında, bunların dördünde aynı hastaya ait diğer örneklerde mikobakteri üremesinin saptandığı, birinin çapraz kontaminasyon olarak değerlendirildiği ve birinin ise kültür sonucu elde edilene kadar geçen süreçte hastanın nonspesifik tedaviden yarar görmesi nedeniyle üreme sonucu klinisyen tarafından etken olarak düşünmediği gibi ek verilere ulaşılmıştır. Bu ek analiz sonucunda katı besiyerinin inkübasyonunun sıvı besiyeriyle birlikte altıncı hafta sonunda sonlandırılmamasının mikobakteri, MTBC ve TDM tanısı için katkı oranlarının gerçekte saptadığımızdan daha düşük olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak literatürde bu konuda yapılmış yayınlar ve çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin mikobakteri, MTBC ve TDM tanısına katkısının çok az olması nedeni ile katı besiyerinin sıvı besiyeriyle birlikte altıncı haftada negatif olarak raporlanabileceğini önermekteyiz. Laboratuvarların raporlama sürecinde katı ve sıvı besiyerlerinde üremiş mikobakteri, MTBC ve TDM'lerin üreme haftasına göre kümülatif yüzdeleri, en sık saptanan mikobakteri türleri ve geç üremelerin anlamlı olup olmadığını belirlemek için bir takım parametreleri içeren (örnek türü, katı kültür koloni sayısı, önceki mikobakteriyal tanı varlığı, birden fazla örnekte üreme, antimikobakteriyal tedavi ve klinisyen görüşü gibi) verileri düzenli aralıklarla analiz ederek kesin negatif raporlama zamanlarını daha erkene çekilebileceği düşünülmüş olup bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmüştür.

ÖZET

Tüberküloz Tanısında Sıvı Kültür Besiyeri ile Birlikte Kullanılan Katı Besiyerinin Sekiz Haftalık İnkübasyon Süresinin Tanıya Katkısı

Tüberkülozun hızlı ve güvenilir tanısında kültür için katı ve sıvı besiyerlerinin birlikte kullanılması önerilmektedir. Ancak kültür sonuçların negatif raporlanabilmesi için sıvı besiyerinin altı, katı besiyerinin sekiz hafta inkübe edilmesi gerekmektedir. Mevcut rehberlerde her iki besiyerinin birlikte kullanılması durumunda katı besiyeri için daha kısa süre inkübasyonun yeterli olabileceği ile ilgili bir öneri bulunmamaktadır. Çalışmamızda sıvı besiyeri temelli otomatize kültür sistemiyle birlikte kullanılan katı besiyerinin iki hafta daha (sıvı besiyerinde negatif sonuç alındığı altıncı haftadan sonra) inkübe edilmesinin tanısal yararının araştırılması amaçlanmıştır.

01.01.2011-31.12.2021 tarihleri arasında mikobakteri laboratuvarında Bactec MGIT 960 otomatize kültür sistemi ve Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde kültürü yapılmış 18901 örneğin verileri taranmıştır. İki kültür besiyerinden en az birinde üreme saptanmış örneklerin üreme sürelerinin istatistiksel analizleri yapılarak katı besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübasyonunun tanıya katkısı hesaplanmıştır.

En az bir besiyerinde mikobakteri saptanmış 1130 örnekten 1110'unun üreme sürelerine ait kayıtlara ulaşılmıştır [846'sı *M. tuberculosis* kompleks (MTBC), 264'ü Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM)]. 1110 örnek içerisinde LJ besiyerinde 6-8. haftalarda mikobakteri üremesi saptanan 47 (%4.23) örnekten altısında (%0.54) MGIT'ta üreme saptanmamıştır. MTBC pozitif örneklerden LJ besiyerinde 6-8. haftalarda üreme saptanan 36 (%4.25) örnekten dördünde (%0.47) MGIT'ta üreme saptanmamıştır. TDM pozitif örneklerden LJ besiyerinde 6-8. haftalarda üreme saptanan 11 (%4.17) örnekten ikisinde (%0.76) MGIT'ta üreme saptanmamıştır.

Sıvı kültür sistemiyle beraber kullanılan LJ besiyerinin altı haftadan uzun süre inkübe edilmesinin tüberküloz tanısına katkısının sadece %0.47 olduğu görülmüş olup altı hafta sonunda sıvı besiyeriyle birlikte katı besiyerinin de negatif olarak raporlanabileceği, erken raporlama protokollerinin hastalara, klinisyenlere ve laboratuvarlara önemli faydalar sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, MGIT, LJ, kültür, inkübasyon süresi

ABSTRACT

The Contribution of Eight-Week Incubation of Solid Media Used Alongside Liquid Culture Media in Tuberculosis Diagnosis

It is recommended to use both solid and liquid culture media together for the rapid and reliable diagnosis of tuberculosis. However, to report negative culture results, liquid media should be incubated for six weeks, and solid media for eight weeks. Current guidelines do not include recommendations on whether a shorter incubation period for solid media could suffice when both media are used together. In our study, we aimed to investigate the diagnostic benefit of extending the incubation of solid media by two additional weeks (after the sixth week, when the liquid media resulted as negative) when used in conjunction with a liquid media-based automated culture system.

We reviewed data from 18,901 samples cultured using the Bactec MGIT 960 automated culture system and Löwenstein-Jensen (LJ) medium between 01.01.2011 and 31.12.2021, in the mycobacteriology laboratory. Statistical analyses of the growth times of samples in which growth was detected in at least one of the two culture media were performed and the contribution of incubation of solid media for more than six weeks to the diagnosis was calculated.

Among 1,130 samples that tested positive for mycobacteria in at least one medium, growth times were available for 1,110 samples [846 were *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC), and 264 were non-tuberculous mycobacteria (TDM)]. Among 1110 samples, out of 47 (%4.23) samples in which mycobacteria growth was detected in LJ medium between 6-8 weeks, no growth was detected in MGIT in six (%0.54). Among MTBC positive samples, out of 36 (%4.25) samples in which growth was detected in LJ medium between 6-8 weeks, no growth was detected in MGIT in four (%0.47). Among TDM positive samples, out of 11 (%4.17) samples in which growth was detected in LJ medium between 6-8 weeks, no growth was detected in MGIT in two (%0.76).

The diagnostic contribution of incubating LJ media beyond six weeks when used alongside liquid culture systems was found to be only 0.47% for tuberculosis diagnosis. It was concluded that reporting both liquid and solid media as negative at

the end of six weeks could significantly benefit patients, clinicians, and laboratories by enabling earlier reporting protocols.

Key words: Tuberculosis, MGIT, LJ, culture, incubation duration



KAYNAKLAR

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2023. WHO, Geneva, 2023, 57 s.
- [2] CLSI. Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria 2nd ed. CLSI guideline M48. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2018, 90 s.
- [3] T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi (UTTR). Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 2014, 197 s.
- [4] Kara, F. (Ed.) Tüberküloz Tanı ve Tedavi Rehberi. Sağlık Bakanlığı Yayınları. Ankara, 2019, 348 s.
- [5] T.C. Sağlık Bakanlığı. Ulusal Tüberküloz Kontrol Programı. Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 2022, 27 s.
- [6] European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC Technical Report, Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union. ECDC, Stockholm, 2023, 121 s.
- [7] Pfyffer, G. E. Mycobacterium: General Characteristics, Laboratory Detection, and Staining Procedures. in: Jorgensen, J. H., Carroll, K. C., Funke, G., Pfaller, M. A., Landry, M. L., Richter, S.S. (Eds.), Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington, USA, 2015, pp. 536-612.
- [8] Val-Calvo, J., Vázquez-Boland, J. A. Mycobacteriales taxonomy using network analysis-aided, context-uniform phylogenomic approach for non-subjective genus demarcation. MBio. 2023, 14(5), e02207-23. doi.org/10.1128/mbio.02207-23
- [9] Armstrong, D. T., Eisemann, E., Parrish, N. A Brief Update on Mycobacterial Taxonomy, 2020 to 2022. Journal of Clinical Microbiology. 2023, 61(4), e00331-22. doi: 10.1128/jcm.00331-22.
- [10] Drasar, B. S. The Bacteria: Historical Introduction. in: B. W. J. Mahy, V. T. Meulen, S. P. Borriello, P. R. Murray, G. Funke, S. H. E. Kaufmann, ve ark. (Eds.), Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. John Wiley & Sons, England, 2010.
- [11] Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A. Medical Microbiology. Elsevier, USA, 2020, 848 s.
- [12] Verschoor, J. A., Baird, M. S., Grooten, J. Towards understanding the functional diversity of cell wall mycolic acids of Mycobacterium tuberculosis. Progress in Lipid Research. 2012, 51(4), 325-339. doi: 10.1016/j.plipres.2012.05.002.
- [13] Tille, P. M. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, 2021, 1185 s.
- [14] Campelo, T. A., Cardoso de Sousa, P. R., Nogueira, L. de L., Frota, C. C., Zuquim Antas, P. R. Revisiting the methods for detecting Mycobacterium tuberculosis: What has the new millennium brought thus far? Access Microbiology. 2021, 3(8), 000245. doi: 10.1099/acmi.0.000245
- [15] Mycobacteria. in: Riedel, S., Morse, S., Mietzner, T., Miller, S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. McGraw Hill Medical Books, 2019, 880 s.
- [16] Kıyan, M., Mycobacteriaceae. in: Ustaçelebi, Ş. (Ed.). Temel ve klinik mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara, 1999, 1339 s.
- [17] Batt, S. M., Minnikin, D. E., Besra, G. S. The thick waxy coat of mycobacteria, a protective layer against antibiotics and the host's immune system. Biochemical Journal. 2020, 477(10), 1983-2006. doi: 10.1042/BCJ20200194
- [18] Alderwick, L. J., Harrison, J., Lloyd, G. S., Birch, H. L. The Mycobacterial Cell Wall—Peptidoglycan and Arabinogalactan. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2015, 5(8), a021113. doi: 10.1101/cshperspect.a021113
- [19] Queiroz, A., Riley, L. W. Bacterial immunostat: Mycobacterium tuberculosis lipids and their role in the host immune response. Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical. 2017, 50(1), 9-18. doi: 10.1590/0037-8682-0230-2016.

- [20] Khawbung, J. L., Nath, D., Chakraborty, S. Drug resistant Tuberculosis: A review. *Comparative Immunology. Microbiology and Infectious Diseases*. 2021, 74, 101574. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101574. Epub 2020 Nov 16.
- [21] Tran, T., Bonham, A. J., Chan, E. D., Honda, J. R. A paucity of knowledge regarding nontuberculous mycobacterial lipids compared to the tubercle bacillus. *Tuberculosis*. 2019, 115, 96-107. doi: 10.1016/j.tube.2019.02.008.
- [22] Jackson, M. The Mycobacterial Cell Envelope—Lipids. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2014, 4(10), a021105. doi: 10.1101/cshperspect.a021105
- [23] Julián, E., Roldán, M., Sánchez-Chardi, A., Astola, O., Agustí, G., Luquin, M. Microscopic cords, a virulence-related characteristic of *Mycobacterium tuberculosis*, are also present in nonpathogenic mycobacteria. *Journal of Bacteriology*. 2010, 192(7), 1751-1760. doi: 10.1128/JB.01485-09
- [24] Hunter, R. L., Hwang, S.-A., Jagannath, C., Actor, J. K. Cord factor as an invisibility cloak? A hypothesis for asymptomatic TB persistence. *Tuberculosis*. 2016, 101, 2-8. doi: 10.1016/j.tube.2016.09.023.
- [25] Hunter, R. L., Armitage, L., Jagannath, C., Actor, J. K. TB research at UT-Houston-A review of cord factor: new approaches to drugs, vaccines and the pathogenesis of tuberculosis. *Tuberculosis*. 2009, 89, 18-25. doi: 10.1016/S1472-9792(09)70007-1
- [26] Raffetseder, J. Interplay of human macrophages and *Mycobacterium tuberculosis* phenotypes. 2016. doi.org/10.3384/diss.diva-132321
- [27] Murray, P. R., Jo Baron, E., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. *Klinik Mikrobiyoloji (A. Başustaoglu, A. Kubar, Ş. T. Yıldırım ve M. Tanyüksel, Çev.)*. Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009, 2490 s.
- [28] Bennett, J. E., Dolin, R., Blaser, M. J. (Eds.), Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Elsevier, USA, 2020, 3904 s.
- [29] Forbes, B. A., Hall, G. S., Miller, M. B., Novak, S. M., Rowlinson, M.-C., Salfinger, M. et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: *Mycobacteria*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018, 31(2), e00038-17. doi: 10.1128/CMR.00038-17.
- [30] Rodriguez-Campos, S., Smith, N. H., Boniotti, M. B., Aranaz, A. Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Research in Veterinary Science*. 2014, 97, 5-19. doi: 10.1016/j.rvsc.2014.02.009.
- [31] Coscolla, M. Biological and Epidemiological Consequences of MTBC Diversity. *Advances in experimental medicine and biology*. 2017, 1019, 95–116. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7_5.
- [32] Esteban, J., Muñoz-Egea, M.-C. *Mycobacterium bovis* and Other Uncommon Members of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Microbiology Spectrum*. 2016, 4(6), 1-11. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0021-2016.
- [33] Tientcheu, L. D., Koch, A., Ndengane, M., Andoseh, G., Kampmann, B., Wilkinson, R. J. Immunological consequences of strain variation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *European Journal of Immunology*. 2017, 47(3), 432-445. doi: 10.1002/eji.201646562
- [34] Public Health England, UK Standards for Microbiology Investigations Investigation of specimens for *Mycobacterium* species. Standards Unit, National Infection Service, England, 2020, 56 s.
- [35] Silva, M. L., Cá, B., Osório, N. S., Rodrigues, P. N. S., Maceiras, A. R., Saraiva, M. Tuberculosis caused by *Mycobacterium africanum*: Knowns and unknowns. *PLoS Pathogens*. 2022, 18(5), e1010490. doi: 10.1371/journal.ppat.1010490.
- [36] Green, D. B., Kawashima, A., Menias, C. O., Tanaka, T., Redelman-Sidi, G., Bhalla, S., Shah, R., King, B. F. Complications of Intravesical BCG Immunotherapy for Bladder Cancer. *Radiographics*. 2019, 39(1), 80-94. doi: 10.1148/rg.2019180014.

- [37] Supply, P., Brosch, R. The Biology and Epidemiology of *Mycobacterium canettii*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017, 1019, 27-41. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7_2.
- [38] Aboubaker Osman, D., Bouzid, F., Canaan, S., Drancourt, M. Smooth Tubercle Bacilli: Neglected Opportunistic Tropical Pathogens. *Frontiers in Public Health*. 2015, 3, 283. doi: 10.3389/fpubh.2015.00283
- [39] Malone, K. M., Gordon, S. V. *Mycobacterium tuberculosis* Complex Members Adapted to Wild and Domestic Animals. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017, 1019, 135-154. doi: 10.1007/978-3-319-64371-7_7.
- [40] Franco-Paredes, C., Marcos, L. A., Henao-Martínez, A. F., Rodríguez-Morales, A. J., Villamil-Gómez, W. E., Gotuzzo, E., Bonifaz, A. Cutaneous Mycobacterial Infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 2018, 32(1), e00069-18. doi: 10.1128/CMR.00069-18.
- [41] Gentry, C. A., D., P. Atypical mycobacteria. in: Devlin, J. W., Fagan, S. C., *Pharmacotherapy self assessment program*. MEDLINE, 2005, s. 99-126.
- [42] Koh, W.-J. Nontuberculous Mycobacteria-Overview. *Microbiology Spectrum*. 2017, 5(1), 1-7. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0024-2016.
- [43] Cafri, U., Aslan G., Direkel Ş., Tarhan G., Ceyhan İ., Emekdaş G. Çevre örneklerinden tüberküloz dışı mikobakterilerin izolasyonu ve tanımlanması. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2010, 44(3), 395-403.
- [44] Daley, C. L., Iaccarino, J. M., Lange, C., Cambau, E., Wallace, R. J., Andrejak, C., et al. Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline. *The European respiratory journal*. 2020, 56(1), 2000535. doi: 10.1093/cid/ciaa241.
- [45] Griffith, D. E., Aksamit, T., Brown-Elliott, B. A., Catanzaro, A., Daley, C., Gordin, F., et al. An official ATS/IDSA statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2007, 175(4), 367-416. doi: 10.1164/rccm.200604-571ST.
- [46] Aubry, A., Mougari, F., Reibel, F., Cambau, E. *Mycobacterium marinum*. *Microbiology Spectrum*. 2017, 5(2), 1-17. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0038-2016.
- [47] Johnston, J. C., Chiang, L., Elwood, K. *Mycobacterium kansasii*. *Microbiology Spectrum*. 2017, 5(1), 1-9. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0011-2016.
- [48] Bittner, M. J., Preheim, L. C. Other Slow-Growing Nontuberculous Mycobacteria. *Microbiology Spectrum*. 2016, 4(6), 1-9. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0012-2016.
- [49] Lee, S. H. Tuberculosis Infection and Latent Tuberculosis. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2016, 79(4), 201-206. doi: 10.4046/trd.2016.79.4.201.
- [50] Alsayed, S. S. R., Gunosewoyo, H. Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens and New Drug Targets. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, 24(6), 5202. doi: 10.3390/ijms24065202.
- [51] Sakamoto, K. The pathology of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Veterinary Pathology*. 2012, 49(3), 423-439. doi: 10.1177/0300985811429313.
- [52] Migliori, G. B., Ong, C. W. M., Petrone, L., D'Ambrosio, L., Centis, R., Goletti, D. The definition of tuberculosis infection based on the spectrum of tuberculosis disease. *Breathe*. 2021, 17(3), 210079. doi: 10.1183/20734735.0079-2021.
- [53] Luies, L., du Preez, I. The Echo of Pulmonary Tuberculosis: Mechanisms of Clinical Symptoms and Other Disease-Induced Systemic Complications. *Clinical Microbiology Reviews*. 2020, 33(4), 1-19. doi: 10.1128/CMR.00036-20.
- [54] Avkan Oğuz, V. Tüberküloz Basilinin Bulaş Yolları ve Konaktaki Seyri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı. Samsun, 2003, 48-58.

- [55] Goering, R. V., Dockrell, H. M., Zuckerman, M., Chiodini, P. L. (Eds.), Mims' medical microbiology and immunology. Elsevier, 2019, 568.
- [56] CDC, Clinical Overview of Latent Tuberculosis Infection <<https://www.cdc.gov/tb/hcp/clinical-overview/latent-tuberculosis-infection.html>>, 2024 (accessed 15.06.24)
- [57] Zhuang, L., Yang, L., Li, L., Ye, Z., Gong, W. Mycobacterium tuberculosis: Immune response, biomarkers, and therapeutic intervention. MedComm. 2024, 5(1), e419. doi: 10.1002/mco2.419.
- [58] Palanivel, J., Sounderrajan, V., Thangam, T., Rao, S. S., Harshavardhan, S., Parthasarathy, K. Latent Tuberculosis: Challenges in Diagnosis and Treatment, Perspectives, and the Crucial Role of Biomarkers. Current Microbiology. 2023, 80(12), 392. doi: 10.1007/s00284-023-03491-x.
- [59] Dheda, K., Barry, C. E., Maartens, G. Tuberculosis. Lancet. 2016, 387(10024), 1211-1226. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00151-8.
- [60] Bloom, B. R., Atun, R., Cohen, T., Dye, C., Fraser, H., Gomez, G. B., ve ark. Tuberculosis. İn: Holmes, K. K., Bertozzi, S., Bloom, B. R., Jha, P. (Eds.), Major Infectious Diseases, 3rd edition. The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, Washington, 2017.
- [61] Loddenkemper, R., Lipman, M., Zumla, A. Clinical Aspects of Adult Tuberculosis. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2015, 6(1), 1-25. doi: 10.1101/cshperspect.a017848.
- [62] Kalender, N., Sütçü Çiçek, H. Eski Değil Eskimeyen Hastalık: Tüberküloz. Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi. 2016, 3(2), 58-67.
- [63] World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis, module 2, Systematic screening for tuberculosis disease. WHO, Geneva, 2021, 51 s.
- [64] World Health Organization. Global tuberculosis report 2022. WHO, Geneva, 2022, 51 s.
- [65] Zhang, T., Zhang, J., Wei, L., Liang, H., Zhang, J., Shi, D., Wang, Z. The global, regional, and national burden of tuberculosis in 204 countries and territories, 1990-2019. Journal of Infection and Public Health. 2023, 16(3), 368-375. doi: 10.1016/j.jiph.2023.01.014.
- [66] Falzon, D., Zignol, M., Bastard, M., Floyd, K., Kasaeva, T. The impact of the COVID-19 pandemic on the global tuberculosis epidemic. Frontiers in Immunology. 2023, 14, 1-5. doi: 10.3389/fimmu.2023.1234785.
- [67] T.C. Sağlık Bakanlığı. Tüberküloz Kontrol Faaliyetleri Saha Uygulama Kılavuzu. Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 2019, 31 s.
- [68] Aslan, D., Kara, Ş. A. Küreselleşen Dünyada Tüberküloz: Halk Sağlığı Bakış Açısıyla Güncel Durum Değerlendirmeleri. Sağlık ve Toplum. 2021, 31(1), 3-22.
- [69] WHO, Tuberculosis profile: Türkiye <https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_entity_type=%22country%22&iso2=%22TR%22&lan=%22EN%22>, 2022 (accessed 14.02.24)
- [70] T.C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı 2021 Raporu. Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 2023, 163 s.
- [71] Dookie, N., Ngema, S. L., Perumal, R., Naicker, N., Padayatchi, N., Naidoo, K. The Changing Paradigm of Drug-Resistant Tuberculosis Treatment: Successes, Pitfalls, and Future Perspectives. Clinical Microbiology Reviews. 2022, 35(4), 1-30. doi: 10.1128/cmr.00180-19.
- [72] Baylan, O. Çok ilaca dirençli tüberkülozdan sonra yaygın ilaca dirençli ve tüm ilaçlara dirençli tüberküloz formları: Eski hastalığın yeni yüzleri. Mikrobiyoloji Bülteni. 2011, 45(1), 181-195.
- [73] Zaw, M. T., Emran, N. A., Lin, Z. Mutations inside rifampicin-resistance determining region of rpoB gene associated with rifampicin-resistance in Mycobacterium tuberculosis. Journal of Infection and Public Health. 2018, 11(5), 605-610. doi: 10.1016/j.jiph.2018.04.005.

- [74] Arbex, M. A., Varella, M. de C. L., Siqueira, H. R. de, Mello, F. A. F. de. Antituberculosis drugs: Drug interactions, adverse effects, and use in special situations. Part 1: first-line drugs. *Jornal Brasileiro De Pneumologia*. 2010, 36(5), 626-640. doi: 10.1590/s1806-37132010000500016.
- [75] Janin, Y. L. Antituberculosis drugs: Ten years of research. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007, 15(7), 2479-2513. doi: 10.1016/j.bmc.2007.01.030.
- [76] Török, M. E., Moran, E., Cooke, F. J. *Oxford handbook of infectious diseases and microbiology*. Oxford University Press, United Kingdom, 2017. 879 s.
- [77] World Health Organization. Algorithm for laboratory diagnosis and treatment-monitoring of pulmonary tuberculosis and drug-resistant tuberculosis using state-of-the-art rapid molecular diagnostic Technologies. European Tuberculosis Laboratory Initiative (ELI), UN City, 2017, 29 s.
- [78] Klimik Derneği Tüberküloz Çalışma Grubu. VIII. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kurs Kitabı. Erzurum, 2009, 112 s.
- [79] Organismo Andino De Salud – Convenio Hipólito Unanue. Handbook for the Bacteriologic Diagnosis of Tuberculosis, Part 1: Smear Microscopy Update. Peru, 2018, 82 s.
- [80] Procop, G. W. Laboratory Diagnosis and Susceptibility Testing for *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiology Spectrum*. 2016, 4(6), 1-14. doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0022-2016.
- [81] Narvaiz De Kantor, I., Kim, S. J., Frieden, T., Laszlo, A., Luelmo, F., Norval, P.-Y. et al. Laboratory Services in Tuberculosis Control, Part III: Culture. World Health Organization. Switzerland, 1998, 95 s.
- [82] Behr, M.C., Lapierre, S.G., Kunimoto, D. Y., Lee, R. S., Long, R., Sekirov, I. Ve ark. Chapter 3: Diagnosis of tuberculosis disease and drug-resistant tuberculosis. *Canadian Journal of Respiratory, Critical Care, and Sleep Medicine*. 2022, 6(1), 33-48.
- [83] van Zyl, L., du Plessis, J., Viljoen, J. Cutaneous tuberculosis overview and current treatment regimens. *Tuberculosis*, 2015, 95(6), 629-638. doi: 10.1016/j.tube.2014.12.006.
- [84] Kent, P. T., Kubica, G. P. *Public Health Mycobacteriology: a Guide for the level III laboratory*. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, Atlanta, 1985, 207 s.
- [85] Natarajan, A., Beena, P. M., Devnikar, A. V., Mali, S. A systemic review on tuberculosis. *Indian Journal of Tuberculosis*. 2020, 67(3), 295-311. doi: 10.1016/j.ijtb.2020.02.005.
- [86] Della-Latta, P. (Ed.), *Mycobacteriology and Antimycobacterial Susceptibility Testing*. in: Leber, A. L. (Ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*. ASM Press, Washington, 2016, 7.1.-7.9.
- [87] The Central TB Division. Revised National TB Control Programme Training Manual for *Mycobacterium tuberculosis* Culture & Drug susceptibility testing. New Delhi, 2009, 76 s.
- [88] Armitige, L. Y., Dunbar, D. F., Jost, K. C., Seaworth, B. J. *A Clinician's Guide to the TB Laboratory*. Heartland National TB Center, United States, 2018.
- [89] Procop, G. V., Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C. Ve ark. Koneman's Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology Türkçe Baskı (A. Başustaoğlu ve A. Dürdal Us, Çev.). Ankara, Hipokrat Yayınevi, 2017, 1968 s.
- [90] The Curry International Tuberculosis Center. Drug-Resistant Tuberculosis: A Survival Guide For Clinicians 3rd Edition / 2022 Updates. California Department of Public Health, USA, 2022, 49 s.
- [91] Zhao, P., Yu, Q., Chen, L., Zhang, M. Evaluation of a liquid culture system in the detection of mycobacteria at an antituberculosis institution in China; A retrospective study. *The Journal of International Medical Research*. 2016, 44(5), 1055-1060. doi: 10.1177/0300060516655243.

- [92] Srisuwanvilai, L.-O., Monkongdee, P., Podewils, L. J., Ngamlert, K., Pobkeeree, V., Puripokai, P., et al. Performance of the BACTEC MGIT 960 compared with solid media for detection of *Mycobacterium* in Bangkok, Thailand. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2008, 61(4), 402-407. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.015.
- [93] Peña, J. A., Ferraro, M. J., Hoffman, C. G., Branda, J. A. Growth Detection Failures by the Nonradiometric Bactec MGIT 960 *Mycobacterial Culture System*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012, 50(6), 2092-2095. doi: 10.1128/JCM.00108-12.
- [94] Kocagöz, T., Altın, S., Türkyılmaz, Ö., Taş, İ., Karaduman, P., Bolaban, D., et al. Efficiency of the TK Culture System in the diagnosis of tuberculosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012, 72(4), 350-357. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.12.004.
- [95] World Health Organization. Practical manual on tuberculosis laboratory strengthening 2022 update. Global Laboratory Initiative (GLI), Switzerland, 2022, 140 s.
- [96] World Health Organization, WHO consolidated guidelines on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update, World Health Organization, Geneva, 2021, 137 s.
- [97] Noor, A. M., Ghazali, S. M., Bakar, Z. A., Ruzan, I. N. Diagnostic performance of Xpert MTB/RIF ultra in detecting *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampicin Resistance in AFB Smear-negative Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis samples in Malaysia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2024, 109(2), 1-6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2024.116230.
- [98] Chakravorty, S., Simmons, A. M., Rowneki, M., Parmar, H., Cao, Y., Ryan, J., et al. The New Xpert MTB/RIF Ultra: Improving Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Resistance to Rifampin in an Assay Suitable for Point-of-Care Testing. *mBio*. 2017, 8(4), 1-13. doi: 10.1128/mBio.00812-17.
- [99] Bilgehan, H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları. İzmir, 2009, 777 s.
- [100] Hasegawa, N., Miura, T., Ishii, K., Yamaguchi, K., Lindner, T. H., Merritt, S., et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: A multicenter study. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002, 40(3), 908-912. doi: 10.1128/JCM.40.3.908-912.2002.
- [101] Yin, X., Zheng, L., Lin, L., Hu, Y., Zheng, F., Hu, Y., et al. Commercial MPT64-based tests for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex: A meta-analysis. *Journal of Infection*. 2013, 67(5), 369-377. doi: 10.1016/j.jinf.2013.06.009.
- [102] Abe, C., Hirano, K., Tomiyama, T. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, 37(11), 3693-3697. doi: 10.1128/JCM.37.11.3693-3697.1999.
- [103] Muhammad, N., Khan, M. T., Ali, S., Khan, T. A., Khan, A. S., Ullah, N., et al. Novel Mutations in MPT64 Secretory Protein of *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023, 20(3), 1-11. doi: 10.3390/ijerph20032530.
- [104] Machado, D., Couto, I., Viveiros, M. Advances in the molecular diagnosis of tuberculosis: From probes to genomes. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019, 72, 93-112. doi: 10.1016/j.meegid.2018.11.021.
- [105] Huh, H. J., Kim, S.-Y., Shim, H. J., Kim, D. H., Yoo, I. Y., Kang, O.-K., et al. GenoType NTM-DR Performance Evaluation for Identification of *Mycobacterium avium* Complex and *Mycobacterium abscessus* and Determination of Clarithromycin and Amikacin Resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019, 57(8), 1-10. doi: 10.1128/JCM.00516-19.

- [106] Tudó, G., Monté, M. R., Vergara, A., López, A., Hurtado, J. C., Ferrer-Navarro, M., et al. Implementation of MALDI-TOF MS technology for the identification of clinical isolates of *Mycobacterium* spp. In mycobacterial diagnosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2015, 34(8), 1527-1532. doi: 10.1007/s10096-015-2381-2.
- [107] Huang, T.-S., Lee, C.-C., Tu, H.-Z., Lee, S. S.-J. Rapid identification of mycobacteria from positive MGIT broths of primary cultures by MALDI-TOF mass spectrometry. *PLOS ONE*. 2018, 13(2), 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0192291.
- [108] Bacanelli, G., Araujo, F. R., Verbisck, N. V. Improved MALDI-TOF MS Identification of *Mycobacterium tuberculosis* by Use of an Enhanced Cell Disruption Protocol. *Microorganisms*. 2023, 11(7), 1692. doi: 10.3390/microorganisms11071692.
- [109] Zingue, D., Flaudrops, C., Drancourt, M. Direct matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry identification of mycobacteria from colonies. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2016, 35(12), 1983-1987. doi: 10.1007/s10096-016-2750-5.
- [110] Neuschlova, M., Vladarova, M., Kompanikova, J., Sadlonova, V., Novakova, E. Identification of *Mycobacterium* Species by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017, 1021, 37-42. doi: 10.1007/5584_2017_26.
- [111] Toney, N. C., Zhu, W., Jensen, B., Gartin, J., Anderson, K., Lonsway, D., et al. Evaluation of MALDI Biotyper *Mycobacteria* Library for Identification of Nontuberculous *Mycobacteria*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2022, 60(9), 1-9. doi: 10.1128/jcm.00217-22.
- [112] BD BACTEC MGIT 960 System, User's Manual. Becton, Dickinson and Company, USA, 2022.
- [113] BD MGIT™ TBc Identification Kit (MGIT™ TBc Tanımlama Kiti), User's Manual. Becton, Dickinson and Company, USA, 2023.
- [114] FluoroLyse VER 1.0, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2022.
- [115] GenoLyse VER 1.0, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2016.
- [116] GenoType *Mycobacterium* CM VER 2.0, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2021.
- [117] GenoType *Mycobacterium* AS VER 1.0, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2016.
- [118] GenoType MTBC VER 1.X, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2017.
- [119] GenoType NTM-DR VER 1.0, User's Manual. Hain Lifescience, Almany, 2019.
- [120] Sumbul, B., Doymaz, M. Z. A Current Microbiological Picture of *Mycobacterium* Isolates from Istanbul, Turkey. *Pol J Microbiol*. 2020, 69(2):1-7. doi: 10.33073/pjm-2020-021.
- [121] Satti, L., Ikram, A., Abbasi, S., Butt, T., Malik, N., Mirza, I. A. Evaluation of BACTEC MGIT 960 system for recovery of *Mycobacterium tuberculosis* complex in Pakistan. *Malaysian Journal of Microbiology*. 2010, 6(2):pp. 203 – 208. doi:10.21161/mjm.22509
- [122] Hanna, B. A., Ebrahimzadeh, A., Elliott, L. B., Morgan, M. A., Novak, S. M., Rusch-Gerdes S., et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. *J Clin Microbiol*. 1999, 37(3):748-52. doi: 10.1128/JCM.37.3.748-752.1999.
- [123] Tortoli, E., Cichero, P., Piersimoni, C., Simonetti, M. T., Gesu, G., Nista, D. Use of BACTEC MGIT 960 for recovery of mycobacteria from clinical specimens: multicenter study. *J Clin Microbiol*. 1999, 37(11):3578-82. doi: 10.1128/JCM.37.11.3578-3582.1999.
- [124] 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. *J Clin Microbiol.* 2001, 39(10):3764-7. doi: 10.1128/JCM.39.10.3764-3767.2001.
- [125] Kanchana, M. V., Cheke, D., Natyshak, I., Connor, B., Warner, A., Martin, T. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for the recovery of mycobacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000, 37(1):31-6. doi: 10.1016/s0732-8893(99)00151-0.
- [126] Özen, N., Kula Atik, T., Çetin Duran, A. Evaluation of Mycobacterium tuberculosis Culture and Drug Susceptibility Test Results and the Distribution of Nontuberculosis Mycobacteria from the Clinical Specimens. *Mikrobiyol Bul.* 2020, 54(4):559-74. doi: 10.5578/mb.70088.
- [127] Baylan, D. O., Kısa, Ö., Albay, D. A., Doğanç, L. Mycobacterium tuberculosis Complex (MTC) Strains Isolated from Tuberculosis Cases in Our Mycobacteriology Laboratory and Their Antituberculosis Drug Susceptibilities in 2002. *Gulhane Medical Journal.* 2003, 45(3):256-262
- [128] Somoskövi, A., Ködmön, C., Lantos, A., Bártfai, Z., Tamási, L., Füzy, J. et al. Comparison of recoveries of mycobacterium tuberculosis using the automated BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Löwenstein-Jensen medium. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2395-7. doi: 10.1128/JCM.38.6.2395-2397.2000.
- [129] Pfyffer, G. E., Welscher, H. M., Kissling, P., Cieslak, C., Casal, M. J., Gutierrez, J., Rüsç-Gerdes, S. Comparison of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) with radiometric and solid culture for recovery of acid-fast bacilli. *Journal of Clinical Microbiology.* 1997, 35(2), 364-368. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.2.364-368.1997>
- [130] Gunaydin, M., Yanik, K., Eroglu, C., Sanic, A., Ceyhan, I., Erturan, Z., Durmaz, R. Distribution of Nontuberculous Mycobacteria strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 2013, 12(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-12-33>
- [131] Albayrak, N., Şimşek, H., Sezen, F., Arslantürk, A., Tarhan, G., Ceyhan, İ. Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarında 2009-2010 Yıllarında Tespit Edilen Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Dağılımlarının İrdelenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni.* 2012, 46(4): 560-567
- [132] Scarparo, C., Piccoli, P., Rigon, A., Ruggiero, G., Ricordi, P., Piersimoni, C. Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in comparison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2002, 44(2), 157-161. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(02\)00437-6](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(02)00437-6)
- [133] Tortoli, E., Cichero, P., Chirillo, M. G., Gismondo, M. R., Bono, L., Gesu, G., Marone, P. Multicenter comparison of ESP Culture System II with BACTEC 460TB and with Lowenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from different clinical specimens, including blood. *Journal of Clinical Microbiology.* 1998, 36(5), 1378-1381. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.5.1378-1381.1998>
- [134] Bruchfeld, J., Correia-Neves, M., Källénus, G. Tuberculosis and HIV Coinfection. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* 2015, 5(7), a017871. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017871>
- [135] Daley, C. L. Mycobacterium avium Complex Disease. *Microbiology Spectrum.* 2017, 5(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TNMI7-0045-2017>
- [136] Hillemann, D., Richter, E., Rüsç-Gerdes, S. Use of the BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 Automated System for Recovery of Mycobacteria from 9,558 Extrapulmonary Specimens, Including Urine Samples. *Journal of Clinical Microbiology.* 2006, 44(11), 4014-4017. <https://doi.org/10.1128/jcm.00829-06>
- [137] Idigoras, P., Beristain, X., Iturzaeta, A., Vicente, D., Pérez-Trallero, E. Comparison of the Automated Nonradiometric Bactec MGIT 960 System with Löwenstein-Jensen, Coletsos, and Middlebrook 7H11 Solid Media for Recovery of

- Mycobacteria. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2000, 19(5), 350-354. <https://doi.org/10.1007/s100960050492>
- [138] Manterola, J. M., Gamboa, F., Padilla, E., Lonca, J., Matas, L., Hernández, A., Ausina, V. Comparison of a Nonradiometric System with Bactec 12B and Culture on Egg-Based Media for Recovery of Mycobacteria from Clinical Specimens. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1998,17(11), 773-777. <https://doi.org/10.1007/s100960050183>
- [139] Brunello, F., Favari, F., Fontana, R. Comparison of the MB/BacT and BACTEC 460 TB systems for recovery of mycobacteria from various clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, 37(4), 1206-1209. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.4.1206-1209.1999>
- [140] Chew, W. K., Lasaitis, R. M., Schio, F. A., Gilbert, G. L. Clinical evaluation of the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) compared with radiometric (Bactec) and solid media for isolation of Mycobacterium species. *Journal of Medical Microbiology*. 1998, 47(9), 821-827. <https://doi.org/10.1099/00222615-47-9-821>
- [141] Williams-Bouyer, N., Yorke, R., Lee, H. I., Woods, G. L. Comparison of the BACTEC MGIT 960 and ESP Culture System II for Growth and Detection of Mycobacteria. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000, 38(11), 4167-4170. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.11.4167-4170.2000>
- [142] Tyrrell, F. C., Budnick, G. E., Elliott, T., Gillim-Ross, L., Hildred, M. V., Mahlmeister, P., Starks, A. M. Probability of negative mycobacterium tuberculosis complex cultures based on time to detection of positive cultures: A multicenter evaluation of commercial-broth-based culture systems. *Journal of Clinical Microbiology*. 2012, 50(10), 3275-3282. <https://doi.org/10.1128/JCM.01225-12>
- [143] Simner, P. J., Doerr, K. A., Steinmetz, L. K., Wengenack, N. L. Mycobacterium and Aerobic Actinomycete Culture: Are Two Medium Types and Extended Incubation Times Necessary? *Journal of Clinical Microbiology*. 2016, 54(4), 1089-1093. <https://doi.org/10.1128/jcm.02838-15>