

Tüberküloz Şüpheli Hastalardan *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks İzolasyon Oranı ve Suşların BACTEC™ NAP ve İmmünokromatografik TB Ag MPT64 Rapid™ Testleri ile Tanımlanması

Isolation Rate of *Mycobacterium tuberculosis* Complex from Patients with Suspected Tuberculosis and Identification of the Strains with BACTEC™ NAP and Immunochromatographic TB Ag MPT64 Rapid™ Tests

Muhammet Güzel KURTOĞLU¹, Mehmet ÖZDEMİR², Recep KEŞLİ¹, Birol ÖZKALP³, Bülent BAYSAL²

¹ Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Konya.

¹ Konya Training and Research Hospital, Central Laboratory, Konya, Turkey.

² Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

² Selçuk University Meram Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Konya, Turkey.

³ Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü, Konya.

³ Selçuk University Vocational School of Health Services, Department of Medical Laboratory, Konya, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 14.05.2010 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 17.01.2011

ÖZET

Tüberküloz (TB), morbidite ve mortalitesi oldukça yüksek enfeksiyon hastalıklarından biri olarak tüm dünyada ve ülkemizde halen önemini korumaktadır. TB kontrol programının en önemli aşaması olan aktif olguların tespiti için *Mycobacterium tuberculosis*'in izolasyonu, tiplendirilmesi ve ilaç direncinin saptanmasında klinik mikobakteriyoloji laboratuvarları büyük role sahiptir. Bu çalışmada, TB şüpheli hastaların klinik örneklerinden *M. tuberculosis* kompleks (MTC) izolasyon oranının araştırılması ve katı ve/veya sıvı besiyerinde üretilen mikobakterilerin BACTEC NAP ve immünokromatografik TB Ag MPT64 hızlı testi ile karşılaştırmalı olarak tanımlanması amaçlanmıştır. Çalışmaya, hastanemizin çeşitli servislerine başvuran ve tüberküloz ön tanısıyla izlenen anti-HIV seronegatif 1670 hastaya ait klinik örnek dahil edilmiştir. Örneklerin dekontaminasyon/homojenizasyonu NALC-NaOH yöntemi ile yapılmış; hazırlanan preparatlar Erlich-Ziehl-Neelsen yöntemiyle boyanarak aside dirençli basil (ARB) yönünden direkt mikroskopik olarak incelenmiştir. Kültür için tüm örnekler, BACTEC™ MGIT-960 (Becton Dickinson, ABD) ve Löwenstein-Jensen besiyerlerine ekilmiştir. 37°C'de 6-8 haftalık inkübasyondan sonra üreyen mikobakterilerin tanımlanması BACTEC™ NAP

İletişim (Correspondence): Muhammet Güzel KURTOĞLU, SB Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Merkez Laboratuvarı Sorumlusu, Meram Yeniyol, Konya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 505 506 2165, **E-posta (E-mail):** kurtoglumg@hotmail.com

(Becton Dickinson, ABD) ve TB Ag MPT64 hızlı testi (SD Bioline Ag MPT64 Rapid™; Standard Diagnostics, Kore) ile yapılmıştır. Çalışmamızda, tüberküloz şüpheli hastalara ait klinik örneklerin %3.7 (63/1670)'ünde Löwenstein-Jensen ve/veya MGIT-960 ile kültür pozitifliği saptanmış; örneklerde ARB pozitifliği ise %1.6 (28/1670) olarak bulunmuştur. Mikobakteri üremesi saptanan 63 örneğin 53 (%84)'ü BACTEC NAP testi ile; 61 (%97)'i ise TB MPT64 testi ile MTC olarak tanımlanmıştır. BACTEC NAP testi referans kabul edildiğinde, TB MPT64 testinin tüm MTC izolatlarını doğru olarak tanımladığı (duyarlılık %100), buna karşın yalancı pozitiflik oranının %12.7 olduğu (özelliklik %87) görülmüştür. MTC üremesi saptanan 53 örneğin 36'sı balgam, dördü bronkoalveoler lavaj, dördü idrar, üçü açlık mide suyu, üçü plevral sıvı ve birer adedi olmak üzere apse, periton sıvısı ve beyin omurilik sıvısı örneğidir. Kültürlerinde MTC üreyen örneklerde ARB pozitifliğinin ise %41.5 (22/53) olduğu saptanmıştır. MTC suşlarının izole edildiği hastalar incelendiğinde; %72 (38/53)'sinin erkek ve %98 (52/53)'inin erişkin (yaş aralığı: 20-85 yıl) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, bölgemizde TB şüpheli hastalarda saptanan MTC pozitiflik oranı %3.1 (53/1670) olarak bulunmuş ve bu oranın ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olduğu izlenmiştir. İmmünokromatografik TB MPT64 testinin ise, aynı günde sonuç vermesi nedeniyle hızlı, uygulaması kolay ve duyarlı bir yöntem olarak katı ve/veya sıvı besiyerinde üretilen mikobakterilerin tanımlanmasında kullanılabileceği, ancak bulgularımızın, ülkemizde yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Tüberküloz; kültür; *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi; BACTEC™ NAP testi; TB Ag MPT64 testi; Türkiye.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) which is still one of the important infectious diseases in the world as well as Turkey, results in high morbidity and mortality. Clinical mycobacteriology laboratories have crucial roles in the identification, typing and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. The aims of this study were the investigation of the isolation rate of *M. tuberculosis* complex (MTC) from the clinical specimens of TB-suspected patients and to compare identification of mycobacteria isolated from solid and/or liquid media by using BACTEC NAP and immunochromatographic TB Ag MPT64 rapid test. A total of 1670 patients who were admitted to outpatients clinics of our hospital and prediagnosed as TB, have been included in the study. All the patients were anti-HIV seronegative. NALC-NaOH method were used for decontamination/homogenization, and preparations from samples were stained with Erlich-Ziehl-Neelsen method to detect acid-resistant bacilli (ARB) in direct microscopy. All of the samples were inoculated into BACTEC™ MGIT-960 (Becton Dickinson, USA) and Löwenstein-Jensen (LJ) media for cultivation and incubated at 37°C for 6-8 weeks. Mycobacteria that were grown in the media have been identified by BACTEC™ NAP (Becton Dickinson, USA) and TB Ag MPT64 rapid test (SD Bioline Ag MPT64 Rapid™; Standard Diagnostics, Korea). The culture positivity in the samples of TB-suspected patients was found to be 3.7% (63/1670) with LJ and/or MGIT-960 methods, whereas ARB positivity rate was 1.6% (28/1670). Fifty-three (84%) out of culture positive 63 samples have been identified as MTC by BACTEC NAP test, while 61 (97%) were found as MTC by TB MPT64 test. Considering BACTEC NAP test as the reference method, TB MPT64 test identified all the MTC strains correctly (sensitivity: 100%), however the false positivity rate was estimated as 12.7% (specificity: 87%). Of 53 MTC positive samples, 36 were sputum, four were bronchoalveolar lavage, four were urine, three were gastric fluid, three were pleural fluid, and one of each were abscess, peritoneal fluid and cerebrospinal fluid samples. ARB positivity rate was detected as 41.5% (22/53) among MTC culture positive samples. Of the patients who were infected with MTC, 72% (38/53) were male and 98% (52/53) were adults (age range: 20-85 years). Our data indicating 3.1% (53/1670) isolation rate of MTC from TB-suspected patients in our region were in concordance with the other results reported from Turkey. In conclusion, immunochromatographic TB Ag MPT64 test which seemed to be useful for the rapid identification of mycobacteria grown on solid and/or liquid, was practical to perform and had high sensitivity, however further larger-scaled studies are needed to support our data in our country.

Key words: Tuberculosis; culture; *Mycobacterium tuberculosis* complex; BACTEC™ NAP test; TB Ag MPT64 test; Turkey.

GİRİŞ

Etkenin 1882 yılında tanımlanmasına ve uygun tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine rağmen tüberküloz, halen önemini koruyan ve yüksek mortalite ile seyreden bir enfeksiyon hastalığıdır¹⁻³. 2008 yılı raporunda Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), dünyada, yılda iki milyonu ölümle sonuçlanan yaklaşık sekiz milyon yeni olgu bildirildiğini; Türkiye’de ise 2005-2006 yıllarında tüberküloz artış oranının %1.7 ve ölen hasta sayısının 3475 civarında olduğunu vurgulamaktadır^{4,5}. Ülkemizde Verem Savaş Dairesi Başkanlığının 2006 yılı raporunda mevcut hasta sayısı 20.526, yeni hasta sayısı 18.544 olarak bildirilmekte, 2007 raporunda ise insidansın 26/100.000 olduğu belirtilmektedir⁶.

Mikobakterilerin tanımlanmasında kullanılan geleneksel yöntemler; direkt mikroskopik olarak aside dirençli basil (ARB) saptama, katı veya sıvı besiyerinde üreme ve biyokimyasal testleri içermektedir¹. Klasik tanı yöntemleri halen önemini korumakla birlikte, etkenin üretilmesi, tanımlanması ve ilaç duyarlılığının belirlenmesinin geç ve güç olması nedeniyle daha duyarlı ve hızlı yöntemlere gereksinim vardır^{1,7}. Bu amaçla geliştirilen immünokromatografik yöntemler de hızlı tanı seçenekleri arasında yer almaktadır^{8,9}. İmmünokromatografik bir yöntem olan TB Ag MPT64 Rapid Testi, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTC) suşlarına özgül MPT64 proteininin, monoklonal MPT64 antikorları kullanılarak saptanmasına dayanır. MPT64, *M.tuberculosis*, *Mycobacterium africanum* ve *Mycobacterium bovis*’i içine alan MTC üyelerine ait 23 kDa ağırlığında bir membran proteini olup, kültür filtratları ve biyopsi materyallerinde yüksek düzeyde bulunmaktadır^{10,11}. Yapılan çalışmalar, TB Ag MPT64 testinin, MTC ve tüberküloz dışı mikobakteriler (NTM)’in ayırımında kullanılabilecek başarılı ve hızlı bir yöntem olduğunu göstermektedir^{8,9,12,13}. Dolayısıyla bu yöntem, kültürde üretilen MTC suşlarının erken tanımlanmasına ve tedavinin gecikmemesine olanak sağlamaktadır.

Bu çalışmada, tüberküloz şüpheli hastaların klinik örneklerinden MTC izolasyon oranının araştırılması ve katı ve/veya sıvı besiyerinde üretilen mikobakterilerin BACTEC NAP ve TB Ag MPT64 hızlı testi ile karşılaştırmalı olarak tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, hastanemizin çeşitli servislerine başvuran ve tüberküloz ön tanısıyla izlenen anti-HIV seronegatif 1670 hastaya ait klinik örnek dahil edildi. Mikobakteri yönünden incelenmek amacıyla laboratuvara gönderilen balgam, bronkoalveoler lavaj (BAL), açlık mide suyu, idrar ve apse materyalleri homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden sonra; beyin omurilik sıvısı (BOS), periton ve plevra sıvısı gibi steril vücut sıvıları ise dekontamine edilmeden işleme alındı. Örneklerin dekontaminasyon ve homojenizasyonu için NALC-NaOH (N-asetil-L-sistein-%4 NaOH-%2.9 sodyum sitrat) yöntemi kullanıldı.

Örneklerden hazırlanan preparatlar Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemiyle boyanarak direkt mikroskopik olarak incelendi. Kültür için tüm örneklerden 0.5’er ml BACTEC™ MGIT-960 (*Mycobacteria Growth Indicator Tube-960*; Becton Dickinson, ABD) ve Löwenstein-Jensen (LJ; Becton Dickinson, ABD) besiyerlerine ekildi. MGIT tüpleri BACTEC MGIT-960™ cihazında 37°C’de 6-8 hafta, LJ besiyerleri ise aynı ısı ve sürede normal etüvde bekletildi. Bu süre sonunda üreme olmayan örnekler için sonuç negatif olarak bildirildi.

Üreyen mikobakterilerin tanımlanmasında BACTEC NAP ve TB Ag MPT64 testleri kullanıldı.

BACTEC NAP Testi

BACTEC MGIT-960 cihazında üreme sinyali alındığında, üreyen tüpten %5 koyun kanı içeren Colombia agar besiyerine (Becton Dickinson, Almanya) pasaj yapılarak kontaminasyon varlığı araştırıldı. Ayrıca, üreme olan tüplerden EZN boyalı preparat hazırlanarak, ARB varlığı ve kord faktör oluşturma özelliği açısından incelendi. Üreme olan besiyerlerinde, izolatların MTC veya NTM olarak ayırt edilmesi için NAP (r-nitro- α -acetylamino- β -hydroxypropionophenone) testi, ticari kit (BACTEC™ NAP TB Differentiation Test Kit, Becton Dickinson, ABD) kullanılarak yapıldı. Buna göre; 4-6 gün içinde kontrol şişesinde üreme indeksinin (Growth Index; GI) artmasına rağmen, NAP testi şişesinin üreme indeksi azalıyor veya değişmiyorsa, basiller MTC, artış gösteriyorsa NTM olarak değerlendirildi.

TB Ag MPT64 Hızlı Testi

İmmünokromatografik bir yöntem olan SD Bioline Ag MPT64 Rapid™ ticari kiti (Standard Diagnostics, Kore), katı (LJ) veya sıvı (MGIT-960) besiyerlerinde üreyen MTC'nin tanımlanması amacıyla kullanıldı. Test için, MGIT besiyerinden alınan 100 µl örnek doğrudan kullanılırken; LJ besiyerinden alınan 3-4 adet koloni 300 µl ekstraksiyon solüsyonu içerisinde süspansiyon edilerek bu süspansiyondan 100 µl'lik örnek kullanıldı. Test sonuçları 15 dakika sonra değerlendirildi. Tek başına kontrol bandı oluşması negatif, kontrol ile beraber test bandının da aynı zamanda oluşması pozitif sonuç olarak kabul edildi. Kontrol bandının hiç oluşmaması halinde test geçersiz kabul edilerek çalışma tekrarlandı.

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 15.0 paket programı kullanılarak ki-kare testi uygulandı; $p < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, tüberküloz şüpheli hastalara ait klinik örneklerde ARB pozitifliği %1.6 (28/1670), kültür pozitifliği (LJ ve/veya MGIT-960) ise %3.7 (63/1670) olarak saptanmıştır. Kültürlerde kontaminasyon oranının LJ için %4 (67/1670), MGIT-960 için %3 (50/1670) olduğu gözlenmiştir.

Mikobakteri saptanan 63 hastanın 28 (%44.4)'inde ARB, 55 (%87.3)'inde LJ ve 55 (%87.3)'inde MGIT-960 yöntemleriyle pozitif sonuç alınmıştır. İki farklı kültür yöntemi ile alınan sonuçlar karşılaştırmalı olarak Tablo I'de; mikobakteri pozitifliğinin örneklerle ve yöntemlere göre dağılımı ise Tablo II'de verilmiştir.

Mikobakteri üremesi saptanan 63 örneğin 53 (%84)'ü BACTEC NAP testi ile; 61 (%97)'i ise TB MPT64 testi ile MTC olarak tanımlanmıştır. BACTEC NAP testi ile karşılaştırıldığında, TB MPT64 testinin tüm MTC izolatlarını (n= 53) doğru olarak tanımladığı, buna karşın BACTEC NAP testi ile NTM olarak tanımlanan sekiz izolatı da (8/63; %12.7) MTC olarak tanımladığı görülmüştür.

Tablo I. Mikobakteri İzolatlarının Üretildikleri Besiyerine Göre Dağılımı (n= 63)

		MGIT-960		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Löwenstein-Jensen	Pozitif	47	8 ^a	55
	Negatif	8 ^b	0	8
Toplam		55	8	63

a: Örneklerin altısı balgam, ikisi bronkoalveoler lavajdır. b: Örneklerin altısı balgam, biri açlık mide suyu ve biri idrardır.

Tablo II. Mikobakteri Pozitifliğinin Örnekler ve Yöntemlere Göre Dağılımı

Örnek (n)	ARB pozitif Sayı (%)	LJ (+) Sayı (%)	MGIT (+) Sayı (%)	Kültür Pozitif (LJ ve/veya MGIT +) Sayı (%)
Balgam (44)	21	38	38	44 (69.8)
BAL (6)	3	6	4	6 (9.5)
İdrar (4)	2	3	4	4 (6.3)
Açlık mide suyu (3)	0	2	3	3 (4.8)
Plevra sıvısı (3)	1	3	3	3 (4.8)
Periton sıvısı (1)	0	1	1	1 (1.6)
Apse (1)	1	1	1	1 (1.6)
BOS (1)	0	1	1	1 (1.6)
Toplam (63)	28 (44.4)	55 (87.3)	55 (87.3)	63 (100)

BAL: Bronkoalveoler lavaj, BOS: Beyin omurilik sıvısı, ARB: Aside dirençli basil.

BACTEC MGIT sisteminde üretilen ve NAP testi ile MTC olarak tanımlanan 53 suşun 36'sı balgam, dördü BAL, dördü idrar, üçü açlık mide suyu, üçü plevral sıvı ve birer ade-di olmak üzere periton sıvısı, apse ve BOS örneğinden izole edilmiştir. MTC üremesi sap-tanan örneklerde ARB pozitifliğinin %41.5 (22/53) olduğu belirlenmiştir. MTC suşlarının izole edildiği hastalar incelendiğinde; 38 (%71.6)'inin erkek, 15 (%28.4)'inin kadın ol-duğu; 52'sinin erişkin (yaş aralığı: 20-85 yıl; yaş ortalaması 53.9 ± 18.4 yıl), birisinin ise çocuk yaş grubunda yer aldığı görülmüştür.

İstatistiksel değerlendirmede, ARB ile LJ, ARB ile MGIT ve MGIT ile LJ sonuçları arasın-da anlamlı bir ilişki saptanmamış ($p > 0.05$); ancak TB MPT64 ile BACTEC NAP ile alınan sonuçların karşılaştırmasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir ($p = 0.028 < 0.05$).

TARTIŞMA

Tüberküloz yayılımının önlenmesi açısından, etkenin kısa sürede tespiti ve tanımlan-ması önem taşımaktadır. Bu nedenle klinik mikobakteriyoloji laboratuvarları, tüberküloz kontrol programının en önemli aşaması olan aktif olguların tespiti için *M.tuberculosis*'in izolasyonu, tiplendirilmesi ve ilaç direncinin saptanmasında büyük role sahiptir. Çalışma-mızda, tüberküloz şüpheli hastaların %1.6 (28/1670)'sında direkt mikroskopide ARB po-

zitifliği saptanırken, %3.7 (63/1670)'sinin kültüründe mikobakteri üremesi olmuştur. Katı ve/veya sıvı besiyerinden izole edilen mikobakterilerin tanımlanmasında BACTEC NAP testi ve TB MPT64 hızlı testi kullanılmış, BACTEC NAP testi referans olarak kabul edildiğinde, hastalarda MTC saptama oranı %3.1 (53/1670) olarak bulunmuştur. Bu oran, ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda %2.1 ile %13.9 arasında bildirilen oranlarla uyumludur¹⁴⁻¹⁷.

Mikobakterilerin saptanmasında kullanılan boyalı preparatların direkt mikroskopik incelenmesi, kolay, hızlı ve ekonomik bir yöntem olmasına rağmen duyarlılığı düşüktür¹⁸. Çalışmamızda, kültür pozitif tüm örneklerin sadece %44.4 (28/63)'ünde, kültür pozitif balgam örneklerinin ise %47.7 (21/44)'sinde mikroskopi sonucunun pozitif olarak saptanması bu veriyi desteklemektedir. Nitekim altın standart olan kültür yöntemi, klinik örneklerde bulunan basil sayısı az olsa da (10 basil/ml) saptanabilmesini mümkün kılmaktadır¹⁸.

M.tuberculosis kültürü için DSÖ, sıvı besiyeri kullanılmasını önermektedir⁷. Yapılan çalışmalarda, mikobakterileri üretme yönünden sıvı besiyerinin katı besiyerine göre daha duyarlı olduğu bildirilmiştir¹⁹⁻²¹. Bizim çalışmamızda, LJ besiyerinde üreme gözlenen 55 örneğin sekizi MGIT besiyerinde ürememiş; MGIT besiyerinde üreme gözlenen 55 örneğin ise sekizi LJ besiyerinde negatif sonuç vermiştir (Tablo I). Buna göre, LJ ile MGIT besiyerleri arasında mikobakterileri üretme yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Çalışmamızla uyumlu olarak Günel ve arkadaşları²² da, LJ besiyerinde üreme gözlenen 39 örneğin sadece birinde MGIT sisteminde üreme olmadığını bildirmiştir.

Test metodlarının karmaşıklığı nedeniyle, birçok küçük hastane laboratuvarında *M.tuberculosis* ve NTM ayırımı yapılamamaktadır²³⁻²⁵. Bu durum, uygun olmayan antitüberküloz ilaç kullanımı nedeniyle ilaç direncinin artışına ve hastalık prognozunun kötüye gitmesine yol açmaktadır²⁶. Özellikle endemik bölgelerde, hasta örneklerde *M.tuberculosis*'ün basit, duyarlı ve özgül yöntemlerle hızlı ve doğru olarak saptanabilmesi arzu edilmektedir. Üreyen bakteri kolonilerinin direkt olarak boyanması basit ve hızlı bir yöntemdir, ancak MTC ve NTM suşlarını birbirinden ayırt edemez. Geleneksel biyokimyasal testler, uzun zaman almakta ve sonuçlar çoğu zaman yoruma dayanmaktadır¹⁸. Kemilüminesans DNA problemleri, nükleik asit amplifikasyonu ve 16S rRNA genlerinin dizi analizi gibi ileri düzey yöntemler, gerekli ancak pahalı yöntemlerdir¹⁸. Bu yöntemlere alternatif olarak, MTC'ye özgül MPT64 antijeninin saptanmasına olanak sağlayan immünokromatografik yöntemler son 10 yıldır kullanılmakta ve başarılı performansı ile umut vadetmektedir^{8,9,27-30}. İlk kez *M.tuberculosis* H37Rv ve bazı *M. bovis* BCG suşlarının kültür filtratlarında gösterilen MPT64 proteininin, immünojenik özelliğe sahip olduğu ve kuvvetli geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturduğu saptanmış; ancak bu reaksiyonun *Mycobacterium kansasii* ya da *Mycobacterium intracellulare* ile oluşmadığı gözlenmiştir^{8,10}. Dolayısıyla MPT64 proteinini, MTC suşları için özgül bir antijen olarak kabul edilmektedir.

Konu ile ilgili olarak, 1999 yılında Abe ve arkadaşlarının⁸ yaptığı çalışmada, 20 referans mikobakteri suşu ile 111 klinik izolat (53 *M.tuberculosis*, 55 NTM, üç karışık MTC + NTM

kültürü) değerlendirilmiş ve araştırmacılar, uyguladıkları “in house” immünokromatografik yöntemin, tüm *M.tuberculosis* suşlarını doğru olarak tanımladığını bildirmişlerdir. Hasegawa ve arkadaşları⁹ da, sıvı ve katı besiyerlerinde ürettikleri 171’i MTC, 133’ü NTM olmak üzere 304 mikobakteri izolatında yaptıkları çalışmada, immünokromatografik yöntemin yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda da, sıvı (MGIT-960) ve katı (LJ) besiyerlerinde üreyen ve BACTEC NAP testi ile MTC olarak tanımlanan suşların tümü (n= 53), TB MPT64 ile de aynı şekilde tanımlanmış; yöntemler arasındaki bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p= 0.028 < 0.05$). BACTEC NAP testi referans olarak alındığında, TB MPT64 testinin tüm suşları doğru olarak tanımladığı görülmüş (duyarlılık %100); buna göre kültürde üretilen MTC suşlarının tanımlanmasında yüksek performans gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak, BACTEC NAP testi 4-6 günde sonuçlanmakta iken, TB MPT64 testi ile aynı gün sonuç alınabilmektedir. Çalışmalarında, bizim kullandığımız ticari kiti (SD Bioline Ag MPT64 Rapid™) kullanan diğer araştırmacılar, bu yöntemin duyarlılığını %97-99 arasında verirken, özgüllüğünü %100 olarak bildirmektedirler^{12,27-30}. Buna karşın bizim çalışmamızda, TB MPT64 testinin yalancı pozitiflik oranının %12.7 (özgüllük %87) olarak bulunması, MTC izolatlarının saptanmasında bu yöntemin tek başına kullanılmasının doğru olmadığını düşündürmüştür. Sonuç olarak, klinik örneklerden katı ve/veya sıvı besiyerlerinde üretilen *M.tuberculosis* kompleks suşlarının tanımlanmasında, immünokromatografik TB MPT64 testinin hızlı, pratik ve duyarlı bir yöntem olduğu, ancak bu bulguların, ülkemizde yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Katkılarından dolayı Ahmet Kizirgil, Numan Duran ve Yüksel Terzi hocalarımıza teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Kiliç A, Drake W. Advance in the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* and detection of drug resistance, pp: 387-410. In: Tang YW, Stratton C (eds), Advance Techniques in Diagnostic Microbiology. 2006, Springer/Kluwer Press, New York.
2. Laughon, BE. New tuberculosis drugs in development. Curr Top Med Chem 2007; 7(5): 463-73.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis-United States, 1993-2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2007; 57(11): 281-5.
4. World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO Report 2008, Geneva. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/pdf/fullreport.pdf
5. European Centre for Disease Prevention and Control. European Tuberculosis Surveillance Network. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/european_tuberculosis_surveillance_network
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı. Türkiye’de Verem Savaşı 2008 Raporu. http://www.verem.org.tr/pdf/TB_raporu_2008_slayt.ppt
7. World Health Organization. The use of liquid medium for culture and DST. Available from: <http://www.who.int/tb/dots/laboratory/policy/en/index3.html>
8. Abe C, Hirano K, Tomiyama T. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. J Clin Microbiol 1999; 37(11): 3693-7.

9. Hasegawa N, Miura T, Ishii K, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. J Clin Microbiol 2002; 40(3): 908-12.
10. Nagai S, Wiker HG, Harboe M, Kinomoto M. Isolation and partial characterization of major protein antigens in the culture fluid of *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun 1991; 59(1): 372-82.
11. Purohit MR, Mustafa T, Wiker HG, Morkve O, Sviland L. Immunohistochemical diagnosis of abdominal and lymph node tuberculosis by detecting *Mycobacterium tuberculosis* complex specific antigen MPT64. Diagn Pathol 2007; 2: 36.
12. Park MY, Kim YJ, Hwang SH, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay kit for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical isolates. J Clin Microbiol 2009; 47(2): 481-4.
13. Marzouk M, Kahla IB, Hannachi N, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 69(4): 396-9.
14. Balci I, Bayram A, Filiz A. *Mycobacterium tuberculosis*'de birinci seçenek ilaçlara direnç. Enfeksiyon Derg 1999; 13(4): 521-5.
15. Orhan G, Zer Y, Balci I, Bayram A, Korkmaz G. Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 32(3-4): 225-9.
16. Baylan O, Kısa Ö, Albay A, Doğancı L. Mikobakteriyoloji laboratuvarımızda 2002 yılında tüberküloz olgularından izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTC) suşları ve antitüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları. Gülhane Tıp Derg 2003; 45(3): 256-62.
17. Dündar D, Sönmez Tamer G. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Klimik Dergisi 2009; 22(2): 52-4.
18. Washington WJ, Alen S, Janda W, et al. Mycobacteria, pp: 1064-124. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
19. Brunello F, Favari F, Fontana R. Comparison of the MB/BacT and BACTEC 460 TB systems for recovery of mycobacteria from various clinical specimens. J Clin Microbiol 1999; 37(4): 1206-9.
20. Samra Z, Kaufman L, Bechor J, Bahar J. Comparative study of three culture systems for optimal recovery of mycobacteria from different clinical specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19(10): 750-4.
21. Mirovic V, Lepsanovic Z. Evaluation of the MB/BacT system for recovery of mycobacteria from clinical specimens in comparison to Lowenstein-Jensen medium. Clin Microbiol Infect 2002; 8(11): 709-14.
22. Günel S, Durmaz R, Oltu B. Bir üniversite hastanesi mikobakteriyoloji laboratuvarında yapılan geleneksel tanı yöntemlerinin değerlendirilmesi. 6. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu. 23-25 Kasım 2006, Ankara. Sempozyum Kitabı, s: 234.
23. Kim MN, Lee SH, Yang SE, Pai CH. Mycobacterial testing in hospital laboratories in Korea: results of a survey of 40 university or tertiary-care hospitals. Korean J Clin Pathol 1999; 19(1): 86-91.
24. Chang CL, Park TS, Kim MN, Lee NY, Lee HJ, Suh JT. Survey on changes in mycobacterial testing practices in Korean laboratories. Korean J Clin Microbiol 2001; 4(2): 108-14.
25. Koh WJ, Kwon OJ. Treatment of tuberculosis patients in the private sector in Korea. Tuberc Respir Dis 2004; 56(5): 443-9.
26. Yim JJ, Han SK. Diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary diseases. J Korean Med Assoc 2005; 48(6): 563-70.
27. Ismail NA, Baba K, Pombo D, Hoosen AA. Use of an immunochromatographic kit for the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* from broth cultures. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13(8): 1045-7.
28. Marzouk M, Kahla IB, Hannachi N, et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 69(4): 396-9.
29. Fabre M, Vong R, Gaillard T, et al. Evaluation of the SD BIOLINE TB Ag MPT64 Rapid® for the diagnosis of tuberculosis. Pathol Biol (Paris) 2011; 59(1): 26-8.
30. Gaillard T, Fabre M, Martinaud C, Vong R, Brisou P, Soler C. Assessment of the SD Bioline Ag MPT64 Rapid™ and the MGIT™ TBc identification tests for the diagnosis of tuberculosis. Diagn Microbiol Infect Dis 2011. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.011