

Klinik Örneklerden Soyutlanan ve DNA Dizi Analizi ile Tanımlanan Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Dağılımı*

Distribution of Nontuberculous Mycobacteria Isolated from Clinical Specimens and Identified with DNA Sequence Analysis

O. Olcay ÖZÇOLPAN¹, Süheyla SÜRÜCÜOĞLU², Nuri ÖZKÜTÜK², Cengiz ÇAVUŞOĞLU³

¹ Balıkesir Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Balıkesir.

¹ Balıkesir State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Balıkesir, Turkey.

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

² Manisa Celal Bayar University Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, Manisa, Turkey.

³ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

³ Ege University Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, İzmir, Turkey.

* Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (2011-052).

Geliş Tarihi (Received): 10.03.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 29.06.2015

ÖZ

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden soyutlanan tüberküloz dışı mikobakteri (TDM)'lerin dizi analizi ile tanımlanması ve elde edilen verilerin epidemiyolojik yönden değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Nisan 2007-Temmuz 2011 yılları arasında tüberküloz ön tanısı ile Celal Bayar Üniversitesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen 5122 klinik örneğin 225'inde (%4.39) *Mycobacterium tuberculosis* kompleks ve 126'sında (%2.46) TDM tanımlaması yapılmıştır. TDM'lerin 101'i Ege Üniversitesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarında hsp65 ve 16SrDNA genlerini hedef alan DNA dizi analizi ile incelenmiş ve veriler RIDOM ve GenBLAST veri tabanları kullanılarak değerlendirilmiştir. TDM suşları sıklık sırasıyla; 40 *M.porcinum* (%39.60), 36 *M.lentiflavum* (%35.64), altı *M.abscessus* (%5.64), beş *M.peregrinum* (%4.95), dört *M.gordonae* (%3.96), üç *M.fortuitum* (%2.97), iki *M.chelonae* (%1.98), birer *M.alvei* (%0.99), *M.scrofulaceum* (%0.99) ve *M.kansasii* (%0.99) olarak tanımlanmıştır. İki suş ise veri tabanlarındaki diğer mikobakterilerle %95-98 arasında uyumlu bulunmuş, ancak kesin tanımlama yapılamamıştır. TDM'ler içinde en sık (%75.24) izole edilen türler olan *M.lentiflavum* ve *M.porcinum* suşlarından 72'si (%94.73) bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısından elde edilmiştir. ATS/IDSA kriterlerine göre iki hastanın balgam örneklerinden izole edilen *M.abscessus* suşu (%2) hastalık etkeni kabul edilmiş, 99 suşun ise hastaların klinik bilgileri yetersiz olduğundan etken oldukları kanıtlanamamıştır. Araştırmada 2010 yılında diğer yıllara oranla daha fazla (%5.33) TDM izole edildiği görülmüştür. Bu yıla ait veriler değerlendirildiğinde,

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Süheyla Sürücüoğlu, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 45030, Manisa, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 236 233 1920, **E-posta (E-mail):** suheylasurucuoglu@yahoo.com

en sık izole edilen *M.porcinum* ve *M.lentiflavum* suşlarının tümünün BAL örneklerinden üretildiği görülmüştür. Bu durum, aynı yıl hastanemizde otomatize bronkoskop yıkama cihazının kullanılmaya başlaması ile paralellik göstermektedir. Sonuç olarak, tüberküloz ön tanısı ile incelenen klinik örneklerin %2.46'sından TDM izole edilmiş, DNA dizi analizi ile TDM suşlarının 10 farklı türe ait oldukları gösterilmiştir. En sık izole edilen TDM türleri antibiyotiklere dirençli ve insanlarda hastalık etkeni olabilmeleri ile tanınan *M.lentiflavum* ve *M.porcinum* olarak bulunmuştur. Bu suşların çoğunlukla BAL sıvısından izole edilmesi, hastane su sistemlerinin veya bronkoskop yıkama cihazlarının kontaminasyonunun araştırılması gerektiğini düşündürmektedir. TDM'lerin etken veya kontaminant olduklarının ayırt edilememesi çalışmada kısıtlayıcı olmakla birlikte, çevresel mikobakterilerin hastane enfeksiyonlarına yol açabildiği bilindiğinden, elde edilen verilerin bölgemizdeki TDM enfeksiyonlarının epidemiyolojisine ait bilgilere katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Tüberküloz dışı mikobakteri; tanımlama; DNA dizi analizi; epidemiyoloji; bronkoskopi; kontaminasyon.

ABSTRACT

The aims of the study were to perform the identification of nontuberculous mycobacteria (NTM) isolated from different clinical specimens in the Mycobacteriology Laboratory of Celal Bayar University, Manisa (located at Aegean region of Turkey), by DNA sequence analysis, and to discuss the epidemiological aspects of the data obtained. Out of 5122 clinical specimens sent to the laboratory with the initial diagnosis of tuberculosis in the period April 2007 to July 2011, *M.tuberculosis* complex and NTM were identified in 225 (4.39%) and 126 (2.46%) samples, respectively. DNA sequence analysis by targeting hsp65 and 16S rDNA gene regions was performed on 101 of the NTM strains in Mycobacteriology Laboratory of Ege University, Izmir. DNA sequence analysis data was evaluated using RIDOM and GenBLAST data bases. NTM strains were identified as 40 *M.porcinum* (39.60%), 36 *M.lentiflavum* (35.65%), six *M.abscessus* (5.64%), five *M.peregrinum* (4.95%), four *M.gordonae* (3.96%), three *M.fortuitum* (2.97%), two *M.chelonae* (1.98%), and one for each *M.alvei* (0.99%), *M.scrofulaceum* (0.99%), *M.kansasii* (0.99%) species. Two strains which were both 95-98% compatible with other mycobacteria in the data bases could not be identified with certainty. Seventy-two (94.73%) strains of *M.lentiflavum* and *M.porcinum*, which were the most frequent (75.24%) species in the study, were isolated from bronchoalveolar lavage (BAL) specimens. The remaining 99 strains examined could not be proven as the cause of the disease due to absence of patients' clinical data, whereas two *M.abscessus* strains isolated from the sputum were considered as the cause of the disease according to the ATS/IDSA criteria. The isolation rate of NTM in 2010 was found significantly higher (5.33%) than previous years. Review of the 2010 data showed that all strains of *M.porcinum* and *M.lentiflavum*, which were the most frequently identified strains were isolated from BAL specimens. This situation is in line with the start of using of an automatic bronchoscope washing machine in our hospital in the same year. In conclusion, NTM were isolated in 2.46% of the clinical specimens of the patients with the initial diagnosis of tuberculosis and these strains belonged to 10 different NTM species. The two NTM species most frequently isolated in our study were *M.lentiflavum* and *M.porcinum* which are known for their potential to cause human infections and antibiotic resistance. As these strains were mostly isolated in BAL specimens, it is concluded that automatic bronchoscope washing machines and water delivery system in the hospitals should be examined in terms of contamination by NTM. The isolated NTM strains could not be distinguished as the cause of the disease or a contaminant, which is the limiting factor in this study. However, knowing that the environmental mycobacteria can cause hospital infections, the data obtained in this study can contribute to epidemiology of NTM infections in Turkey.

Keywords: Non-tuberculous mycobacteria; identification; DNA sequence analysis; epidemiology; bronchoscopy; contamination.

GİRİŞ

Mycobacterium tuberculosis kompleks ve *Mycobacterium leprae* dışında kalan mikobakteriler, tüberküloz dışı mikobakteri (TDM)'ler olarak adlandırılırlar¹. Günümüzde 160'dan fazla mikobakteri türü tanımlanmıştır ve gün geçtikçe yeni türler taksonomideki yerini almaktadır (<http://www.bacterio.net/-generalinformation.html>). TDM'lerin çoğu doğada saprofit olarak bulunur ve topraktan, doğal sulardan, içme suyu sistemlerinden, toz ve aerosollerden izole edilebilir. TDM enfeksiyonlarının kaynağının, bu ortamlarda bulunan mikroorganizmalar olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyonun gelişmesinde konağa ait bazı faktörler de önemlidir. Kistik fibroz, bronşiyektazi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve pnömokonyoz gibi akciğer hastalığı olanlarda ve bağışık sistemi baskılanmış hastalarda TDM enfeksiyonları daha sık görülür². Son 30 yılda TDM'lere bağlı, akciğer ve diğer organları tutan enfeksiyonlarda küresel bir artış gözlenmiştir^{3,4}. Bununla birlikte tüberkülozdan farklı olarak TDM'lerin neden oldukları hastalıkların bildirimi zorunlu olmadığından, bu enfeksiyonlara ilişkin sürveyans verileri sınırlıdır. Ancak kistik fibrozlu hastalarda tam gen dizileme ve moleküler tiplendirme yöntemleri ile salgınların araştırıldığı iki çalışmada, *M. abscessus* subsp. *massiliense* ve *M. abscessus*'un insandan insana geçebildiğine dair bulgular elde edilmiştir^{5,6}. Ayrıca esnek (flexible) bronkoskopların ve bronkoskop yıkama cihazlarının *M. chelonae*, *M. gordonae*, *M. xenopi* ve *M. avium* kompleks kökenleri ile kontaminasyonuna bağlı yalancı salgınlar da bildirilmiştir^{7,8}. Bu nedenle, TDM'lerin tanımlanması ve epidemiyolojisine ilişkin bilgiler giderek önem kazanmaktadır.

TDM'lerin tanısında, geleneksel olarak kullanılan biyokimyasal yöntemler zaman alıcıdır ve tek başına kullanıldıklarında her zaman doğru sonuç vermezler. Ayrıca yeni türlerin tanısında yetersiz kalırlar. Bu nedenle günümüzde moleküler tanımlama yöntemleri ve referans yöntem olarak DNA dizi analizi kullanılmaktadır⁹. Ülkemizde hem çevresel hem de klinik örneklerde TDM türlerinin dağılımı üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır¹⁰⁻¹⁵. Bu araştırmaların büyük bir bölümünde *line probe assay* temeline dayalı ticari moleküler tanı kitleri kullanılmıştır. Doğada yaygın olarak bulunmalarına karşın, insan için potansiyel patojen olabilen TDM türleri, belirli coğrafi bölgelerde daha sık görülme eğilimindedirler^{13,14}. Bu çalışmanın amacı, Manisa bölgesinde çeşitli klinik örneklerden soyutlanan TDM'lerin altın standart yöntem olan DNA dizi analizi ile tanımlanması ve tür dağılımlarının epidemiyolojik yönden incelenmesidir. Bölgemizde konu ile ilgili önceden yapılmış, ulaşılabilen bir araştırmaya rastlanmadığından, elde edilecek bilgilerin bu enfeksiyonların epidemiyolojisine katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

GEREÇ ve YÖNTEM

TDM Suşları

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarında Nisan 2007-Temmuz 2011 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden soyutlanan ve NAP inhibisyon testi (Becton Dickinson, ABD) ve BD MGIT TBC Tanımlama Testi (Becton Dickinson, ABD) ile TDM olarak tanımlanan suşlar geriye dönük olarak incelendi. Bu süre içinde izole

edilen toplam 126 suştan 110'u saf kültür halinde elde edildi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve DNA dizi analizi aşamalarında ürün kayıpları nedeniyle 101'i çalışmaya dahil edildi. TDM kültür stoklarının her birinden bakteri süspansiyonları hazırlanarak DNA dizi analizi için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına uygun koşullarda iletildi.

DNA Dizi Analizi

TDM'lerin DNA eldesi; hsp65 ve 16S rRNA gen bölgelerine yönelik, otomatize dizi analizi cihaz üreticisinin rehberindeki önerilere göre yapıldı. Elde edilen DNA örneklerinden PCR ile çoğaltılan 441 baz çift(bç)'lik hsp65 geni ve 16S rRNA geninin 1027 bç ve 714 bç'lik parçaları agaroz jel elektroforezi ile gösterildi.

Dizi analizi için öncelikle hsp65 gen bölgesi hedef olarak seçildi, analiz sonucu farklı mikobakteri türleri olarak tanımlananlar ya da aynı tür içinde yer alıp farklı dizi varyantlarına sahip olanlar içinden randomize olarak seçilen suşlardan doğrulama için, 16S rRNA gen bölgesi hedef alınarak ikinci kez dizi analizi yapıldı^{16,17}.

DNA dizi analizi için, otomatize DNA dizileme cihazı (Applied Biosystems 3100 Genetic Analyzer, ABD) kullanıldı. Dizi analizi verileri Finch TV dizi analizi programı yardımıyla düzeltildi ve elde edilen diziler BLAST programı kullanılarak GenBank'taki referans dizilerle karşılaştırıldı. Referans dizilerle tam homoloji gösteren suşlar, referans dizinin elde edildiği tür olarak tanımlandı. Elde edilen 16S rDNA dizileri ayrıca RIDOM (<http://www.ridom-rdna.de>) veri tabanında yer alan referans dizilerle de karşılaştırıldı. Veri tabanında yer alan hiçbir referans diziyile tam homoloji göstermeyen suşlardan elde edilen diziler, kendileriyle en fazla dizi homolojisi gösteren türlerin dizileriyle birlikte Lasergene 6 (DNASar, Inc) Editseq programında düzeltildi, MegAlign programıyla hizalandı ve Clustal W yöntemiyle filogenetik ağaç oluşturuldu^{16,17}.

İstatistiksel analiz için, SPSS 15.0 for Windows paket programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde, tanımlayıcı olarak sayısal ve yüzdellik dağılımı ile Pearson ki kare testi uygulandı.

BULGULAR

Nisan 2007-Temmuz 2011 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarında toplam 5122 örneğin kültürü yapılmıştır. Bu örneklerin 351'inde (%6.85) kültür pozitif bulunmuştur. Örneklerin 126'sında (%2.46) TDM, 225'inde ise (%4.39) *M.tuberculosis* kompleks (MTB) üremiştir. Kültürde üreyen 126 TDM'nin 118'i (%93.65) solunum yolu, 8'i ise (%6.35) solunum yolu dışı örnekleredir. İzole edilen 225 MTB suşunun ise 157'si (%69.78) solunum yolu, 68'i (%30.22) ise solunum yolu dışı örneklerden üremiştir.

DNA dizi analizi ile tanımlanan toplam 101 TDM suşu sıklık sırasıyla; *M.porcinum* (%39.60), *M.lentiflavum* (%35.65), *M.abscessus* (%5.64), *M.peregrinum* (%4.95), *M.gordoniae* (%3.96), *M.fortuitum* (%2.97), *M.chelonae* (%1.98), *M.alvei* (%0.99), *M.scrofulaceum* (%0.99) ve *M.kansasii* (%0.99) olarak belirlenmiştir. İki suş ise veri tabanlarının

daki diğer mikobakterilerle %95-98 arasında uyumlu bulunmuş, kesin tanımlamaları yapılamamıştır.

TDM'ler içinde en sık (%75) izole edilen türler olan *M.lentiflavum* ve *M.porcinum* suşlarından 72'si (%95) bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısından soyutlanmıştır. TDM türlerinin izole edildikleri örnek türlerine göre dağılımları Tablo I'de verilmiştir.

Kültür sonuçlarının yıllara göre dağılımı Tablo II'de görülmektedir. TDM üreme sıklığı 2010 yılında, diğer yıllara oranla daha yüksek ($p < 0.05$) bulunmuştur. 2010 yılı verileri değerlendirildiğinde, bu yıl içinde izole edilen 61 TDM'den tanımlanabilen 52 izolatin tür dağılımı sırasıyla; 31 *M.porcinum* (%59.61), 14 *M.lentiflavum* (%26.92), 3 *M.gordonae* (%5.76), 2 (%3.84) *M.abscessus* ve birer (%1.92) *M.fortuitum* ve *M.chelonae* olarak saptanmıştır. Bu dönemde izole edilen *M.porcinum* ve *M.lentiflavum* suşlarının tümü BAL örneklerinden üretilmiştir. Çalışmada en sık izole edilen *M.porcinum* ve *M.lentiflavum* kökenlerinin ve diğer TDM türlerinin yıllara göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

Hastaların klinik bilgilerine ulaşamadığından ATS/IDSA kriterlerinde⁵ belirtilen; aynı hastaya ait en az iki ekspektore balgam örneğinde aynı mikobakteri türünün izole edilmesi ve enfeksiyon bulgularının olması kriterine dayanarak iki *M.abscessus* suşu (%2) etken olarak kabul edilmiştir. Bu suşlardan birisi hastanın ardışık iki balgam örneğinden, diğeri ise bir başka hastanın ardışık üç balgam örneğinden üretilmiştir.

TARTIŞMA

Son yıllarda, özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda TDM'lere bağlı enfeksiyonların giderek arttığı bildirilmektedir^{18,19}. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde TDM'lere

Tablo I. Tanımlanan Tüberküloz Dışı Mikobakterilerin Örnek Türüne Göre Dağılımı

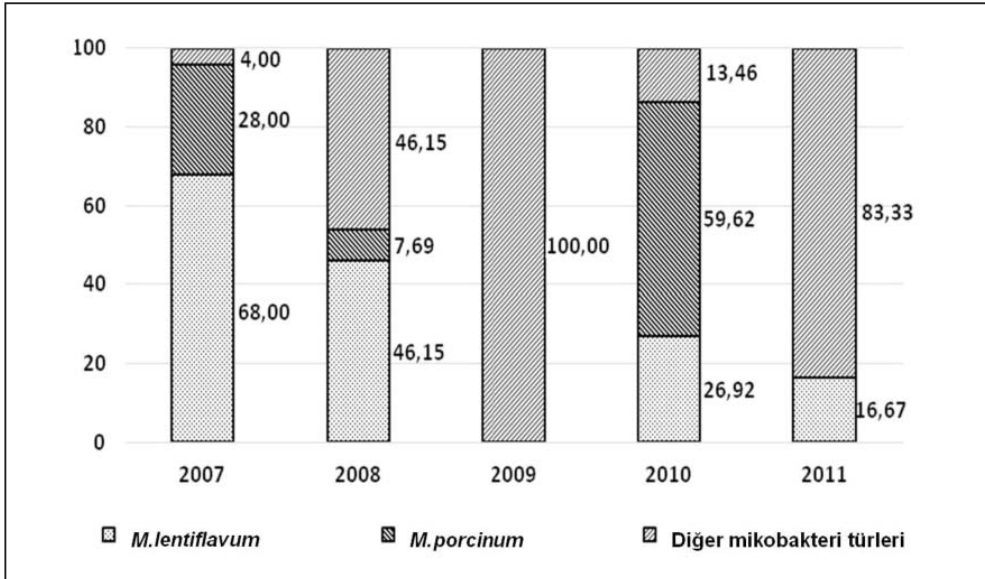
Tüberküloz dışı mikobakteri		Hasta örneği (Sayı)					
Tür	Sayı (%)*	BAL	Balgam	PS	AMS	Doku	İdrar
<i>M.porcinum</i>	40 (39.60)	37	1	1		1	
<i>M.lentiflavum</i>	36 (35.65)	35	1				
<i>M.abscessus</i>	6 (5.94)	1	5				
<i>M.peregrinum</i>	5 (4.95)	2	2		1		
<i>M.gordonae</i>	4 (3.96)	2	2				
<i>M.fortuitum</i>	3 (2.97)	1	1				1
<i>M.chelonae</i>	2 (1.98)	1	1				
<i>M.alvei</i>	1 (0.99)	1					
<i>M.scrofulaceum</i>	1 (0.99)	1					
<i>M.kansasii</i>	1 (0.99)	1					
Tanımlanamayan	2 (1.98)	2					
Toplam	101 (100)	84	13	1	1	1	1

* Sütun yüzdesidir. AMS: Açlık mide sıvısı; BAL: Bronkoalveoler lavaj sıvısı; PS: Plevral sıvı.

Tablo II. 2007-2011 Yılları Arasında İncelenen Örneklerin Kültür Sonuçları

Yıl	Kültür pozitif örnekler, n (%)*			Kültür yapılan örnek sayısı
	TDM	MTB	Toplam	
2007 (Nisan-Aralık)	30 (3.46)	42 (4.84)	72 (8.30)	867
2008	20 (2.01)	55 (5.53)	75 (7.54)	995
2009	9 (0.80)	35 (3.13)	44 (3.93)	1119
2010	61 (5.33)**	61 (5.33)	122 (10.66)	1144
2011 (Ocak-Temmuz)	6 (0.60)	32 (3.21)	38 (3.81)	997
Toplam	126 (2.46)	225 (4.39)	351 (6.85)	5122

* Satır yüzdesi verilmiştir. ** p< 0.05. TDM: Tüberküloz dışı mikobakteri; MTB: *M.tuberculosis* kompleksi.



Şekil 1. Tüberküloz dışı mikobakteri türlerinin yıllara göre dağılımı.

bağlı yıllık ortalama enfeksiyon prevalansının 100.000'de 1.4-6.6 arasında olduğu, 65 yaş üzerindeki hastalarda ise bu oranın 100.000'de 47'ye ulaştığı vurgulanmaktadır²⁰. Bu enfeksiyonların önem kazanmasına bağlı olarak, TDM'lerin epidemiyolojisine ait çalışmalar da artış göstermiştir. Bu araştırmada Celal Bayar Üniversitesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarında 2007-2011 yılları arasında tüberküloz ön tanısı ile gönderilen 5122 örneğin 126'sında (%2.46) TDM ürettiği gösterilmiştir. Ülkemizin değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda TDM izolasyon oranları; Konya'da %0.6, Gaziantep'te %0.1, İzmir'de %2.1, İstanbul'da %1.9 ve Ankara'da %7.1 olarak bildirilmiştir^{14,21-24}. Elde edilen sonuçlar benzerlik göstermekle birlikte, mikobakteriyoloji laboratuvarlarında kullanılan, örneklerin işlenmesi, kültür ve tanımlama yöntemlerindeki farklılıkların sonuçları etkileyebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda DNA dizi analizi yapılan 101 TDM suşunun 87'si BAL, 13'ü balgam olmak üzere %96'sı solunum yolu örneklerinden izole edilmiş olup, 10 farklı tür tanımlanmıştır (Tablo I). TDM'ler içinde en sık izole edilen *M.porcinum* (%39.60) ve *M.lentiflavum* (%35.65) türlerini, daha az sıklıkta; *M.abscessus* (%5.64), *M.peregrinum* (%4.95), *M.gordonae* (%3.96), *M.fortuitum* (%2.97), *M.chelonae* (%1.98) ve %0.99 oranlarında *M.alvei*, *M.scrofulaceum* ve *M.kansasii* izlemiştir. Ülkemizde dört ayrı merkezin katıldığı bir araştırmada, 90 TDM içinde DNA dizi analizi yöntemi ile 17 farklı tür tanımlanmıştır¹¹. En sık izole edilen türler *M.gordonae* (%23), *M.abscessus* (%14) ve *M.lentiflavum* (%10) olarak belirlenmiş, coğrafi olarak İstanbul ve Malatya'da *M.abscessus*, Ankara'da *M.kumamotoense* ve Samsun'da *M.gordonae* türlerinin daha sık izole edildiği bildirilmiştir¹¹. Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarında 2009-2010 yıllarında TDM'lerin dağılımlarının irdelendiği bir çalışmada ise, TDM suşları arasında *M.fortuitum* (%33) en sık izole edilen tür olmuş, bunu *M.abscessus* (%18), *M.gordonae* (%10) ve *M.avium* (%8) izlemiştir¹³. Ayrıca *M.chelonae*, *M.intracellulare*, *M.kansasii*, *M.peregrinum*, *M.scrofulaceum*, *M.szulgai*, *M.celatum*, *M.haemophilum*, *M.smegmatis* ve *M.xenopi* de tanımlanan diğer TDM türleri olmuştur¹³. Ülkemizin de içinde olduğu 14 farklı ülkeden 1976-1996 yılları arasında bildirilen 36.099 TDM enfeksiyonlu hastanın değerlendirildiği bir araştırmada; TDM enfeksiyon sıklığının giderek arttığı, coğrafi olarak izole edilen TDM türlerinin farklılık gösterdiği, ancak en sık izole edilen ilk beş türün *M.avium* kompleks, *M.gordonae*, *M.xenopi*, *M.kansasii* ve *M.fortuitum* olduğu belirtilmiştir²⁵.

Bu enfeksiyonların epidemiyolojisine ait çalışmalarda, karşılaşılan en önemli sorunlardan biri TDM'lerin hasta örneklerine çevreden bulaşabilmesi nedeniyle izole edilen kökenin enfeksiyon etkeni olabileceği gibi, kontaminasyonu veya geçici kolonizasyonu da yansıtabilmesidir. ATS/IDSA'nın 2007 yılında yayınlanmış olduğu tanı rehberine göre, enfeksiyon tanısı için kültür sonuçları hastaların klinik bilgileri ile birlikte değerlendirilmelidir²⁶. İzmir'de 2004-2009 yılları arasında yapılan bir çalışmada, tüberküloz ön tanısı ile mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen 10.041 kültür pozitif örneğin 206'sında (%2) TDM izole edilmiş, bunlardan sadece 31 suşun (%15) ATS kriterlerine göre enfeksiyon etkeni olduğu saptanmıştır¹⁴. Enfeksiyon etkeni olarak en sık *M.avium* kompleks, *M.abscessus* ve *M.kansasii*; kontaminant olarak ise en sık *M.gordonae*, *M.fortuitum-peregrinum* kompleks ve *M.chelonae* kompleks bildirilmiştir¹⁴. Çalışmamızda hastaların tümünün klinik verilerine ulaşılamaması, sonuçların yorumlanmasını kısıtlamaktadır. Sadece iki ayrı hastadan izole edilen *M.abscessus* suşu (%2) etken olarak kabul edilmiştir. Bu suşlardan biri akciğer enfeksiyonu belirtileri olan bir hastanın ardışık iki balgam örneğinden, diğeri ise bir başka hastanın ardışık üç balgam örneğinden üretilmiştir. ATS/IDSA kriterlerine göre klinik belirtiler ile birlikte tek bir BAL sıvısında TDM üremesi enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilmelidir²⁶. Ancak çalışmamızda, TDM'ler içinde en sık (%75.24) izole edilen türler olan *M.lentiflavum* ve *M.porcinum* suşlarından 72'si (%94.73) BAL sıvısından soyutlanmıştır (Tablo I). Bu durum hastane su sistemleri veya bronkoskopların olası kontaminasyonunu düşündürmektedir. Ayrıca 2010 yılında diğer yıllara oranla daha fazla TDM üremesi (Tablo II, Şekil 1), aynı yıl hastanemizde otomatize bronkoskop yıkama cihazının kullanılmaya başlaması ile paralellik göstermektedir. Bu dönemde izo-

le edilen *M.porcinum* ve *M.lentiflavum* suşlarının tümü BAL örneklerinden üretilmiştir. 2010 yılında laboratuvarımızda TDM üremesindeki artış nedeniyle, Göğüs Hastalıkları Kliniği ile temasa geçilerek bronkoskopların ve yıkama cihazında kullanılan solüsyonların dezenfeksiyon yönünden değerlendirilmesi önerilmiş ve yıkama solüsyonlarından ve bronkoskop örneklerinden kontrol kültürleri istenmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucu dezenfeksiyon yöntemi değiştirilmiştir.

TDM'lerin ve *M.tuberculosis*'in çapraz kontaminasyonunu önlemede, bronkoskopların yüksek düzeyde dezenfeksiyonu sağlanmalıdır⁸. Bronkoskop kaynaklı salgınların genellikle *M.chelonae*, *M.gordoniae*, *M.xenopi* ve *M.avium* komplekse bağlı olduğu bildirilmiştir⁸. Kontaminant TDM'lerin yaşam alanları içinde en önemlileri hastane su sistemleri, içme suyu dağıtım sistemleri ve ev boru tesisatlarıdır. Kore'de yapılan bir araştırmada, hastane musluk sularının yarısından TDM izole edilmiştir²⁷. İstanbul'da iki hastanenin farklı bölümlerinden alınan toplam 160 sıcak ve soğuk su örneğinin incelendiği bir araştırmada ise, örneklerin %20.6'sından TDM izole edilmiş, TDM'lerin %60'ı *M.lentiflavum*, %30'u *M.gordoniae* ve %10'u *M.peregrinum* olarak tanımlanmıştır¹². Bu çalışmada¹² en sık, bizim çalışmamızda ise ikinci sıklıkta saptanan tür olan *M.lentiflavum*, ilk kez 1996'da tanımlanmıştır²⁸. *M.lentiflavum*, antibiyotiklere çoklu direnç gösteren ve yavaş üreyen bir mikobakteridir. Ülkemizden bu türün etken olduğu herhangi bir enfeksiyon bildirilmemiştir. Ancak dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, su dağıtım sistemlerinden alınan su örneklerinde *M.lentiflavum*'un izole edildiği ve hastalık etkeni olabileceği bildirilmiştir^{28,29}. Çalışmamızda, diğer çalışmalardan farklı olarak, en sık izole edilen *M.porcinum* ise hızlı üreyen bir mikobakteridir. İlk kez 1973 yılında tüberküloz benzeri enfeksiyonu olan bir domuzun lenf nodlarından izole edilmiştir³⁰. *M.porcinum* yara enfeksiyonları, intravasküler kateter ilişkili enfeksiyonlar ve osteomyelit gibi tablolara yol açabilmektedir. ABD'nde yapılan bir araştırmada, hastane su sistemlerinin %63'ünden hızlı üreyen mikobakteri izole edildiği ve bunların yarısının *M.porcinum* türüne ait olduğu belirlenmiştir³⁰. Aynı çalışmada hastalık etkeni olan *M.porcinum* izolatlarının %92'sinin genetik yapılarının sulardan izole edilen kökenler ile benzer olduğu gösterilmiştir³⁰.

Sonuç olarak, laboratuvarımızda en sık tespit edilen TDM türlerinin dağılımı, ülkemizin değişik bölgelerinden bildirilen çalışmalara göre kısmen farklılık göstermektedir. Çalışmamızda en sık izole edilen iki tür olan *M.lentiflavum* ve *M.porcinum*'un antibiyotiklere direnç göstermesi ve insan enfeksiyonları ile ilişkili olduklarının bilinmesi nedeniyle dikkate alınmaları gerekmektedir. Hastalara ait klinik verilerin olmaması nedeniyle izole edilen TDM'lerin etken veya kontaminant olduklarının ayırt edilememesi kısıtlayıcı olmakla birlikte, çevresel mikobakterilerin çeşitli enfeksiyonlara yol açtığı bilindiğinden, elde edilen verilerin bölgemizdeki TDM enfeksiyonlarının epidemiyolojisine katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Aynı zamanda TDM izolasyon oranlarının ve tür dağılımının izlenmesi, hastane su sistemlerinin kontaminasyonu veya bronkoskop gibi cihazların yetersiz dezenfeksiyonu konusunda uyarıcı olmaktadır. Bu nedenle, mikobakteriyoloji laboratuvarlarında TDM'ler rutin olarak tanımlanmalı ve sonuçlar yorumlanarak izlenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Couto I, Machado D, Viveiros M, et al. Identification of nontuberculous mycobacteria in clinical samples using molecular methods: a 3-year study. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16(8): 1161-4.
2. Chan ED, Iseman MD. Underlying host risk factors for nontuberculous mycobacterial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34(1): 110-2.
3. Kendall BA, Winthrop KL. Update on the epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial infections. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34(1): 87-94.
4. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27(4): 727-52.
5. Aitken ML, Limaye A, Pottinger P, et al. Respiratory outbreak of *Mycobacterium abscessus* subspecies *massiliense* in a lung transplant and cystic fibrosis center. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185(2): 231-2.
6. Bryant JM, Grogono DM, Greaves D, et al. Whole-genome sequencing to identify transmission of *Mycobacterium abscessus* between patients with cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2013; 381(9877): 1551-6.
7. Gubler JGH, Salfinger M, von Graevenitz A. Pseudoepidemic of nontuberculous mycobacteria due to a contaminated bronchoscope cleaning machine. Report of an outbreak and review of the literature. *Chest* 1992; 101(5): 1245-9.
8. Kovaleva J, Peters FTM, van der Mei HC, Degener JE. Transmission of infection by flexible gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26(2): 231-54.
9. Wang H, Yue J, Han M, Yang J, Zhao Y. Rapid method for identification of six common species of mycobacteria based on multiplex SNP analysis. *J Clin Microbiol* 2010; 48(1): 247-50.
10. Satana D, Erköse GG, Tamay Z, Uzun M, Güler N, Erturan Z. Prevalence and drug resistance of mycobacteria in Turkish cystic fibrosis patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2014; 13: 28.
11. Gunaydin M, Yanik K, Eroglu C, et al. Distribution of nontuberculous mycobacteria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2013; 12: 33.
12. Genc GE, Richter E, Erturan Z. Isolation of nontuberculous mycobacteria from hospital waters in Turkey. *APMIS* 2013; 121(12): 1192-7.
13. Albayrak N, Simşek H, Sezen F, Arslantürk A, Tarhan G, Ceyhan I. Evaluation of the distribution of nontuberculous mycobacteria strains isolated in National Tuberculosis Reference Laboratory in 2009-2010, Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46(4): 560-7.
14. Bicmen C, Coskun M, Gunduz AT, Senol G, Cirak AK, Tibet G. Nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary specimens between 2004 and 2009: causative agent or not? *New Microbiol* 2010; 33(4): 399-403.
15. Cafri U, Aslan G, Direkel S, Tarhan G, Ceyhan I, Emekdaş G. Identification and isolation of non-tuberculous mycobacteria from environmental samples. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(3): 395-403.
16. Çavuşoğlu C, Tortoli E. Characterization of two new pigmented mycobacteria species. *Mikrobiyol Bul* 2006; 40(3): 185-94.
17. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger EC, Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. *J Clin Microbiol* 1993; 31(2): 175-8.
18. Prevots DR, Shaw PA, Strickland D, et al. Nontuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182(7): 970-6.
19. Mirsaeidi M, Farshidpour M, Allen MB, Ebrahimi G, Falkinham JO. Highlight on advances in nontuberculous mycobacterial disease in North America. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 919474.
20. Somoskovi A, Salfinger M. Nontuberculous mycobacteria in respiratory infections: advances in diagnosis and identification. *Clin Lab Med* 2014; 34(2): 271-95.

21. Kurtoğlu M, Özdemir M, Keşli R, Özkalp B, Baysal B. 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. Mikrobiyol Bul 2011; 45(2): 266-73.
22. Zer Y, Çiçek H, Mehli M, Bayıl S, Balcı I. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2006 yılları arasında tüberküloz hastalarından soyutlanan mikobakterilerin antitüberküloz ilaç direnci. Klimik Derg 2007; 20(1): 20-2.
23. Köksalan OK, Aydın MD, Eraslan S, Bekiroglu N. Reliability of cord formation in BACTEC 12B/13A media for presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex in laboratories with a high prevalence of *Mycobacterium tuberculosis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21(4): 314-7.
24. Baylan O, Kısa Ö, Albay A, Doğançlı L. Mikobakteriyoloji laboratuvarımızda 2002 yılında tüberküloz olgularından izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşları ve antitüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları. Güllhane Tıp Derg 2003; 45(3): 256-62.
25. Martin-Casabona N, Bahrmann AR, Bennedsen J, et al. Non-tuberculous mycobacteria: patterns of isolation. A multi-country retrospective survey. Int J Tuberc Lung Dis 2004; 8(10): 1186-93.
26. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA Statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175(4): 367-416.
27. Shin JH, Lee EJ, Lee HR, et al. Prevalence of non-tuberculosis mycobacteria in a hospital environment. J Hosp Infect 2007; 65(2): 143-8.
28. Tortoli E, Mattei R, Russo C, Scarparo C. *Mycobacterium lentiflavum*, an emerging pathogen? J Infect 2006; 52(6): 185-7.
29. Marshall HM, Carter R, Torbey MJ, et al. *Mycobacterium lentiflavum* in drinking water supplies, Australia. Emerg Infect Dis 2011; 17(3): 395-402.
30. Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr, Tichindelean C, et al. Five-year outbreak of community- and hospital-acquired *Mycobacterium porcinum* infections related to public water supplies. J Clin Microbiol 2011; 49(12): 4231-8.