

Mikobakteriyoloji Laboratuvarları: Sorunlar ve Çözüm Önerileri

Vildan AVKAN OĞUZ(*), Nurbanu SEZAK(*), Ayşe YÜCE(*)

(*) Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

Dünyada global bir problem olan tüberküloz hastalığının kontrolü doğru tanının en kısa zamanda yapılması ile sağlanabilir. Tanıda rol oynayan en önemli faktörler laboratuvarın örgütlenmesi, standardizasyonu, idari ve teknik yeterliliğidir. Bugün gelişmiş ülkelerde bile tüberkülozun kesin tanısı, izlemi ve tedavisinde, laboratuvarın rolü çoğunlukla göz ardı edilmektedir. Ülkemizde bu sorunun daha büyük boyutlarda olması nedeniyle, bu derlemede dünyada ve ülkemizde tüberküloz laboratuvarlarının işleyişini ve tanı aşamasında yaşanan laboratuvar problemlerini irdelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mikobakteriyoloji laboratuvarları, standardizasyon, klinik-laboratuvar uyumu.

SUMMARY

Mycobacteriology Laboratories: Problems and Solutions

The control of tuberculosis, which is a global health-care problem all over the world, begins with the exact diagnosis made as soon as possible. In the stage of diagnosis, most important factors such as standardization, management and technical problems of the laboratory play critical role. But, the importance of the laboratories in the management of tuberculosis patients is generally neglected even in the developed countries. That this problem is even bigger in our country, in this review the aim of this review is to discuss both the process of the laboratories and the problems encountered during the stage of diagnosis of tuberculosis.

Key Words: Mycobacteriology laboratories, standardization, clinic-laboratory cooperation.

GİRİŞ

Son iki yüzyılda yapılan bilimsel araştırmaların bir kısmı, mikroorganizmaların erken saptanması, özelliklerinin tanımlanması ve neden oldukları hastalıkların patogenezinin anlaşılmasını amaçlamaktadır. Yapılan bu çalışmalar, öncelikle gelişmiş ülkelerde olmak üzere dünyanın pek çok yerinde infeksiyon hastalıklarının insidansının azalmasına katkıda bulunmaktadır (1). Ancak tüm çalışmalara karşın tüberküloz, sıtma ve AIDS gibi bazı infeksiyon hastalıkları hala dünyanın global bir sorunudur (2). Özellikle tüberkülozun kontrolünde yaşanan sorunlar, tüberküloz hastalığının insidansını arttırmaktadır. İnsidansın artmasında, tüberküloz laboratuvarının örgütlenme, standardizasyon, idari ve teknik problemleri en

önemli rolü oynamaktadır. Bugün gelişmiş ülkelerde bile tüberküloz hastalarının izlemi ve tedavisinde, laboratuvarın rolü çoğunlukla göz ardı edilmektedir (3). Bu makalede ülkemiz için bu sorunun çok daha büyük boyutlarda olması nedeniyle dünyada ve ülkemizde tüberküloz laboratuvarlarının işleyişini ve tanı koyma aşamasında yaşanan laboratuvar problemlerini irdelenmesi amaçlanmıştır.

Tüberküloz etkeni bakterilerin, kobay gibi bazı laboratuvar hayvanları ve kuşlarda gösterilmiş olmakla birlikte, halen tek doğal kaynağının insan olduğu kabul edilmektedir (4,5). Tek kaynağı insan olan ve bulaşma yolu bilinen hastalıklarda alınacak kontrol önlemlerinin en önemli kriteri, infekte kişilerin doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanarak, bulaşma zincirinin

kırılmasıdır. Ancak tüberkülozlu hastanın tanı ve tedavisinde yaşanan sorunlar, hastalığın insidansında artış ile birlikte, dirençli olguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Örneğin ABD’de hastalığın insidansı 1985’e kadar belirgin bir azalma gösterirken, 1985-1992 yılları arasında Center for Diseases Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, CDC)’e bildirilen tüberküloz olgularının sayısında % 20’lik bir artış gözlenmiştir (6). Bu dönemde tüberküloz olgularında artış ile birlikte çoğul ilaca dirençli tüberküloz (Multi-drug-resistant tuberculosis, MDR-TB) olguları ile küçük salgınların olduğu da belirlenmiştir (7-10). Salgınlarda karşılaşılan en önemli problemlerden birinin aside dirençli (ARB)’ bakterilerin saptanmasındaki gecikme olduğu gösterilmiştir (11). Tanıdaki gecikmenin önlenmesi için, Mycobacterium tuberculosis’in tanımlanması ve bildirim açısından, laboratuvarların hızlı sonuç bildirmesine yönelik çalışmalar başlamıştır. Bu amaçla 1991’de devlet halk sağlığı laboratuvarlarının (State Public Health Laboratories) M. tuberculosis’i tanımlamada kullandığı yöntemler ve en kısa sürede sonuç bildirme süreleri değerlendirilerek laboratuvarların durumu tespit edilmiştir (12). Takiben 1992’de CDC tarafından düzenlenen “Meeting the Challenge of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis” konferansındaki laboratuvar çalışma grubunun tanımlamaları temel alınarak bir eğitim programı düzenlenmiştir (13). Ulusal Laboratuvar Eğitim Ağı (National Laboratory Training Network, NLTN) içinde iki buçuk yılı kapsayan 46 adet seminer programı uygulanmıştır. Bu programa 1992 ve 1993’te özel (nonstate) laboratuvarlar da katılmıştır. Ek olarak ekonomik destek sağlanarak, laboratuvarların teknik donanımı güncelleştirilmiş ve uygulanan yöntemlerde değişiklikler yapılmıştır. Eğitim ve ek destekler sonrası 1994’te hazırlanan anket formları ile her iki laboratuvar grubunun durum tespiti tekrarlanmıştır. Sonuçta yeterli kaynak sağlanmasının ve yoğun bir eğitim programının sorunun çözümünde önemli olduğu belirlenmiştir (12).

Yapılan çalışmalarda CDC, klinik örneklerde M. tuberculosis’in saptanması, tanımlanması ve tüberküloz ilaçlarına karşı duyarlılığının belirlenmesinde, tüm mikobakteriyoloji laboratuvarlarının katılması gereken standart düzenlemeler önermiştir (13).

Önerilerin en önemlileri toplanan örneklerden hazırlanan preparatların aside dirençli bakteri yönünden sonuçlarının 24 saatte, bakterinin üretilmesi ve böylelikle tanımlanmasının 10-14 günde, bakteri duyarlılık test sonuçlarının ise toplam örneğin alınmasından itibaren 15-30 günde sonuçlandırılması ve laboratuvar tanımının en kısa sürede konmasıdır (13-16). Bu amaçla, mikobakteriyoloji laboratuvarlarının çalışmalarını anlamlı olarak etkilemiştir. Önerilen hedeflere ulaşmak için, mikobakteriyoloji laboratuvarlarında 24 saat hizmet verilebilmeli, deneyimli ve istekli, yeterli sayıda laboratuvar personeli olmalı hızlı, standart, güvenilir ve kesin tanıyı sağlayabilecek yüksek teknolojik özellikte araç-gereç her an kullanılabilir olmalıdır.

Başarılı bir tüberküloz kontrol programında en önemli rolü oynayan mikobakteriyoloji laboratuvarları teknik olarak farklı seviyelerde hizmet vermektedir. Bu laboratuvarların organizasyonu belli standartlar içinde bir laboratuvar ağı oluşturulması ve sürekli iletişimin sağlanması, başarıyı daha da artırmaktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), her ülkede uluslararası standartların göz önüne alınmasını ve ülke bazında hangi seviyede ne kadar laboratuvar olması gerektiği konusunda önerilerini bildirmektedir. Bu öneriler içinde teknik olarak üç farklı düzeyde hizmet veren laboratuvar ağının yapılması önerilmektedir (17,18):

Tip 1. Örneklerin toplanıp kültür ve tiplendirme için tip 2 ve tip 3 laboratuvarlarına gönderilmesinden sorumludur. Örneklerden direkt preparat hazırlayarak, aside dirençli boyama yöntemlerinden biri ile boyama uygular ve bakteri aranır. En periferdeki sağlık birimleri, örnek toplama ünitesi adı altında görev yaparak, alınan örneklerin tip 1 laboratuvarına ulaştırılmasını sağlayabilir.

Tip 2. Tip 1 laboratuvarlarından gönderilen örneklerden özellikle M. tuberculosis ve Mycobacterium avium kompleksi (MAC)’ne bağlı enfeksiyonların tanısı için hem aside dirençli boyama uygulayan hem de kültür yapan daha büyük, özel ya da kamusal laboratuvarlardır. Üreme olan bütün kültürlerin, sonraki testler için Tip 3 laboratuvarlarına ulaştırılmasında görevlidir. Ayrıca Tip 1 laboratuvarlarının eğitim ve izlemine sürdürür.

Tip 3. Mikobakterilerin tüm tanımlanma testlerinin ve ilaçlara duyarlılıklarının saptandığı, daha iyi teknik olanaklara sahip büyük referans laboratuvarlarıdır. Tip 3 laboratuvarlar, Tip1 ve Tip 2 laboratuvarlarından örneklerin gönderilmesinde, bu laboratuvarlarda kullanılacak referans yöntemler için yapılacak hazırlık ve gerekli şartlar ile, karşılaşılan sorunların çözümünde diğer laboratuvarlara destek olmalıdır. Yeni tüberküloz hastaları ve duyarlılık deneyleri sonuçlarının istatistiklerini toplamalıdır. Epidemiyolojik olarak izolatların tiplendirilmesi, hızlı tanı ve duyarlılık deneyleri için uygulanabilecek moleküler yöntemler gibi yeni test yöntemlerinin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi konusunda çalışmalar yapmalıdır. Ayrıca çevresel mikobakteri salgınlarının incelenmesi de, mikobakteri referans laboratuvarları tarafından en iyi şekilde koordine edilmelidir. Tüberküloz kontrol programlarının uygulanması ve izleminde ortaya çıkan yeni problemlerin çözümüne yönelik araştırmalar planlayarak bilgi birikimine ulaşmayı hedefler. Özellikle High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile mikolik asit analizi gibi nadir kullanılan özel bazı yöntemlerin uygulanabildiği bölgeler arası diğer mikobakteri referans laboratuvarları ile de iletişimi sürdürmelidir.

Laboratuvarların yapılanması konusunda DSÖ ideal olarak her ≥ 10 milyon nüfus için bir adet Tip 3 laboratuvarı, 500.000-1.000.000 nüfus için bir adet Tip 2, her 100 000 kişi için de bir adet Tip 1 laboratuvarı olmasını önermektedir. Genelde bir ülke için bir Ulusal Referans Laboratuvarı bulunması yeterlidir (17).

MİKOBAKTERİYOLOJİ LABORATUVAR AĞI ÖRNEKLERİ

Avustralya: Avustralya Mikrobiyoloji Cemiyeti Mikobakteri Çalışma Grubu herhangi bir seviyede hizmet veren mikobakteriyoloji laboratuvarlarının hizmetlerinin, National Accreditation and Testing Authorities (NATA/RCPA) kriterleri ile belli prosedürlere uymaları gerektiğini bildirmektedir. Basit seviyede hizmet veren bir laboratuvarda yapılabilen işlemleri ise, mikroskopi, kültür, identifikasyon ve duyarlılıkların saptanması olarak belirlemektedir. Ancak ülkedeki mikobakteriyoloji laboratuvar ağı içinde, DSÖ önerilerine benzer farklı düzeylerde hizmet

veren üç tip laboratuvar yapılanması önerilmektedir. Bu ülkede Tip 2 laboratuvarlarında radyometrik kültür ve DNA prob yöntemleri gibi yeni teknolojik yöntemler de kullanılabilir, ancak yine de tür tanımlanmasını yapmaz. Çünkü olası patojen non-tüberküloz mikobakterilerin aranması için iletilen örneklerden, bakterinin üremesi için özel sıcaklık ya da besiyeri gerektirenlerin, direkt olarak Tip 3 laboratuvarlarına ulaştırılmasının maliyeti daha düşüktür. Bu ülkede "Victorian Mycobacterium Reference Laboratory" Tip 3 düzeyinde hizmet veren tek laboratuvardır. Bu laboratuvarın çalışmaya başlamasından itibaren tüberküloz insidansı anlamlı olarak azalmıştır. İnsidans 1998'da 5.1 / 100 000 ile en düşük iken, 1999'da 7,0 / 100 000 ile en yüksek düzeye ulaşmış ve son 5 yılda ortalama 6.2 / 100 000 olarak saptanmıştır (19).

Diğer Avrupa ülkeleri: Malta, İrlanda ve eski Yugoslaya dışında Avrupa ülkelerinin tamamında referans laboratuvarı bulunmaktadır. Ancak birçok doğu Avrupa ülkesinde ve hatta bazı merkezi Avrupa ülkelerinde laboratuvar ağı ya hiç yoktur veya standartların çok uzağında bulunmaktadır. Laboratuvarların sayısı ve yerine getirdikleri fonksiyonlar çoğu zaman yetersizdir veya kalitesi ölçülememektedir (20).

Baltık ülkeleri: Litvanya, Estonya ve Latvia 1999 yılında DSÖ önerileriyle birlikte NO-TB-BALTIC projesi başlatmışlardır. Bu proje 2001'de tamamlanıp, amacı "Direkt Gözlem Altında Tedavi (DOTS)" ye yönelik olmakla birlikte, bu üç ülkenin laboratuvar ağı Baltık-Nordik Mikobakteriyoloji ağının bir parçasıdır. Bu ağ içinde yer alan supranasyonel referans laboratuvarı yılda iki kez değerlendirilen kalite kontrol programı içinde yer almaktadır. Laboratuvar hizmetleri yeterince iyi durumdadır. Litvanya Vilnius'ta bir referans laboratuvarı, 5 adet tip 2 (mikroskopi ve kültür yapabilen) ve 9 adet sadece mikroskopi yapan Tip 1 laboratuvarı bulunmaktadır. Periyodik olarak sürekli eğitim ve laboratuvar ziyaretleri yapılmakta, iletişim sağlanmaktadır (20).

Türkiye: Önerilen mikobakteriyoloji laboratuvarı örgütlenme modeli ülkemiz için biraz daha farklıdır. Ülkemizde ilk kez 1918 yılında tüberküloz ile ilgili bir sağlık kurumu "Veremle Mücadele Osmanlı Cemiyeti" kurulmuştur. Ancak 1920'de cemiyetin çalışmaları savaş nedeniyle durmuştur. Daha sonra

1923'te Dr Behçet Uz tarafından "İzmir Veremle Mücadele Cemiyeti" ve takiben 1927'de "İstanbul Veremle Mücadele Cemiyeti" kurulmuştur. Cumhuriyetin ilanından sonra sağlık alanındaki pek çok konuda olduğu gibi, tüberküloz hastalığının kontrolü için de ciddi çalışmalar yapılmış ve laboratuvar tanıya yönelik olarak, 1946 yılında Dr. Aral Gürsel tarafından, Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü içinde "Tüberküloz Bakterioloji Laboratuvarı" kurulmuştur. O dönemde 20 bölge tüberküloz laboratuvarı (BTL) (Adana, Ankara, Antalya, Bursa, Çorum, Denizli, Diyarbakır, Elazığ, Erzurum, Eskişehir, İstanbul, İzmir, Kastamonu, Kayseri, Kocaeli, Samsun, Sivas, Trabzon, Van, Zonguldak), göğüs hastalıkları hastanesi laboratuvarları ve 1950'den sonra da başta Ankara Üniversitesi olmak üzere diğer üniversite hastanesi laboratuvarları ve özel kuruluşlarda tüberküloz laboratuvarlarının kurulması devam etmiştir (21, 22).

Bugün Türkiye'de tüberküloz kontrolünün merkez birimi Sağlık Bakanlığı'na bağlı Verem Savaşı Daire Başkanlığı'dır (VSDB) ve uç birim olarak görev yapan 80 ilde dağılmış 265 adet yöresel Verem Savaş Dispanseri (VSD) hasta örneklerini toplamaktadır. (VSDB kendisi ile ilgili VSD dışında, yapılan tüberküloz tanı, tedavi ve takip etkinliklerini kayıt, denetim ve izlem altına alamamakta ve kurumlar arası iletişimi sağlayamamaktadır.) Toplanan örnekler BTL'na gönderilmektedir. Bazı yöresel VSD'nde balgamdan direkt preparat hazırlanarak değerlendirilmekle birlikte, BTL'na gönderilen örneklerin, preparatları hazırlanır ve genelde Löwenstein-Jensen (L-J) besiyeri kullanılarak kültürü yapılır, bazılarında ilaç duyarlılığı çalışılır. Ancak bu laboratuvarların hiçbiri kalite kontrolüne sahip değildir (23). Laboratuvarların çalışma verimi ve kalitesi; öncelikle çalışan elemanların niteliği olmak üzere, eğitim, laboratuvarda yeterli malzemenin her an bulunması, laboratuvarın biyogüvenlik açısından uyumluluğu ve kullanılan yöntemlerin standardizasyonu gibi pek çok faktör tarafından etkilenmektedir (24). Bu nedenle gerek dispanserlerde mikrobiyolojik tanı yapılabilmesi için gerekli alt yapı hizmetlerinin eksikliği, gerek BTL'na örnek gönderilmesinin organize olmaması ve eğitimdeki yetersizlikler, tüberküloz tanı ve tedavisinin bakteriyolojik muayeneye dayan-

dırıl-masında ciddi eksiklikler olduğunu göstermektedir. Ülkemizde son zamanlarda sürekli personel eğitimi şeklinde olmasa da zaman zaman VSD'lerindeki personele eğitim verilmeye çalışılmaktadır. Ulusal Tüberküloz Kontrol Programı çerçevesinde de oldukça aktif çalışmalar sürdüren ve merkez birim olarak görev yapan, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Tüberküloz Referans Laboratuvarı (TRL), 1998'de Japonya Uluslararası İşbirliği Ajansı [Japan International Cooperation Agency (JICA)] ile ortak yürütülen bir proje içinde biyogüvenlik seviye III standartlarında yeniden yapılandırılmıştır. Bu yapılandırma sonrası TRL'na gönderilen bakterilerin tiplendirilmesi, ilaç duyarlılığının çalışılması ve laboratuvarlar zinciri (Yöresel VSD →BTL →TRL) içinde gerekli iletişimin sağlanması, personel sağlığı, standart yöntemlerin uygulanması ve laboratuvarlar arası standardizasyonun kontrolü aşamasında büyük atılımlar gerçekleştirilmesi beklenmektedir. İlaç direnci, bakteri genetiği hakkında yeni moleküler yöntemlerin kullanılması ve ülke verilerinin elde edilmesi, TRL ve pek çok üniversite laboratuvarının olanakları ölçüsünde çalışmaya başlanmış, ancak henüz epidemiyolojik bir bilgi birikimi oluşturulamamıştır. Bunun yanı sıra sonuçların laboratuvarlar arasında yazılı rapor olarak bildirilmesi yerine, telefon, faks veya bilgisayar aracılığı ile bildirme şekline dönüştürülmesi, iletişimi kolaylaştıracaktır. Bu çalışmalar özellikle CDC, DSÖ ve International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) 'in önerileriyle laboratuvarlar arası iletişim ve standardizasyonun sağlanması, ülkemizdeki mikobakteriyoloji laboratuvar yığınınını, aktif çalışan laboratuvarlar zincirine dönüştürüp, epidemiyolojik verilerin elde edilmesini sağlayacak, hastalığın tedavisin kolaylaşacaktır.

MİKOBAKTERİYOLOJİ LABORATUVARLARININ BİYOGÜVENLİĞİ VE TANIDA KULLANILAN YÖNTEMLER

BİYOGÜVENLİK

Mikroorganizmalar, yaptıkları enfeksiyonun şiddeti, geçiş yolu, hastalık tipi, tedavisi ve korunmasına göre 1983'te DSÖ tarafından dört risk grubuna ayrılmıştır (25).

Risk grubu 1: Genellikle canlılar için risk oluşturmayan, laboratuvar çalışanları için minimum riske sahip mikroorganizmaları içerir. Bu etkenlerin bireysel ve toplumsal riski çok düşük ya da hiç yoktur.

Risk grubu 2: İnsanlarda veya hayvanlarda enfeksiyon oluşturabilirler ve oluşturdukları enfeksiyon tedavi edilebilir. Orta düzeyde bireysel ve sınırlı toplumsal risk içerirler. Pek çok bakteri ve parazit bu gruba girer.

Risk grubu 3: İnsanlarda ciddi ve öldürücü hastalık oluşturan etkenleri kapsar. Enfeksiyonları tedavi etmekle birlikte yüksek düzeyde toplumsal ve bireysel risk oluşturan etkenlerdir.

Risk grubu 4: İnsanlarda ciddi ve öldürücü hastalık oluşturan, bir kısmı tedavi edilemeyen kolayca bulaşabilen etkenleri içerir. Yüksek düzeyde toplumsal ve bireysel risk taşır. Bu gruba giren etkenlerin hepsi virustur.

Risk grupları temel alınarak her laboratuvar kendi biyogüvenlik seviyesini belirlemeli ve bu seviyeye göre çalışma koşullarını sağlamalıdır. Örneğin biyogüvenlik seviye III'ün, bakterinin direkt ve yoğun miktarlarda çalışıldığı referans ya da ilaç duyarlılık deneylerinin yapıldığı laboratuvarlar için geçerli olduğu, aside dirençli boyama uygulayan boyama ve kültür yapan laboratuvarlar için ise biyogüvenlik seviye II'nin yeterli olduğu bildirilmektedir. Teknik özellikleri farklı laboratuvarların biyogüvenlik seviyelerinin de farklı olması doğaldır. Biyogüvenlik seviye I ve II düzeyinde önlemler alınan laboratuvarlarda en önemli olay, örnek ve çalışma akışının temiz alandan kirli alana doğru yönlendirilmesi, yöntemlerin ve dekontaminasyon işlemlerinin doğru bir şekilde uygulanması, personelin kendisi ve çalışma arkadaşlarına zarar vermemesidir. Ülkemizde Gedikoğlu ve ark(26) 'nın 1998 yılında yapmış oldukları ve toplam 50 kurumun katıldığı (BTL, üniversite, devlet, göğüs hastalıkları hastaneleri ve özel kuruluşlar) bir anket sonucuna göre; biyolojik güvenlik kabini bulunan kurumların oranı % 44'tür. Dört kurumda seviye I, 22 kurumda seviye II ve bir kurumda da seviye III güvenlik kabini bulunduğu bildirilmiştir. Son yıllarda TRL ve bazı BTL'nda uygun düzeyde biyogüvenlik önlemleri alınmaya başlanmıştır (24). Sonuçta M.

tuberculosis ile çalışan tüm laboratuvarlarda biyogüvenlik önlemlerinin amacı, enfektif partiküllerin belirlenmesi, aerosol oluşumunun önlenmesi ve enfekte partiküllerin inhalasyonunun engellenmesi olmalıdır. Mikobakteriyoloji laboratuvarı personeline, bulaşma riski diğer laboratuvarlarda çalışan personele oranla üç kat daha fazladır (18).

TANIDA KULLANILAN YÖNTEMLER:

Son 20 yılda HIV epidemileri ile birlikte tüberküloz olgularında artış saptanması ve çok ilaca dirençli tüberküloz salgınlarının saptanması nedeniyle 1993'te CDC, tüberkülozun yayılımını önlemek amacıyla, mikobakteriyoloji laboratuvarlarında kullanılacak yöntemlerin standardizasyonuna yönelik öneriler bildirilmiştir (11, 13-16, 27, 28). Diğer taraftan incelenecek örneğin özelliklerinin belirlenerek uygun koşullarda gönderilmiş olmasının, yani yeterli ve kaliteli hasta örneğinin değerlendirilmesinin tanı olasılığını artırdığı belirtilmiştir (29). Örneğin, en az 5 ml balgam örneğinde işlendikten sonra ARB aranması ile, daha az miktarda balgamda ARB aranması arasında duyarlılık farkı olduğu, özgüllükte istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmaksızın duyarlılığın % 92'ye kadar artırılabilceği gösterilmiştir. Beş ml'den daha az balgam örneği ile çalışıldığında, tüberkülozun pozitif mikrobiyolojik tanısının gecikeceği ya da yalancı pozitifliğin destekleneceği saptanmıştır (30). Uygun miktarda ve uygun koşullarda gönderilen örnekte ARB aranması için, florokrom boyama yöntemi, kültür için hem sıvı hem katı besiyerlerin birlikte kullanımı, M. tuberculosis ve M. tuberculosis kompleks; (MTBC)'nin tanımlanması için, BACTEC TB yöntemi / NAP, high-performance liquid chromatography (HPLC), nükleik asit prop temelli yöntemler, MTBC suşlarının ilaç duyarlılığı için, BACTEC TB yönteminin kullanılması önerilmiştir.

Mikroskopi. Tüberküloz tanısında en hızlı, en basit ve en ucuz konvansiyonel yöntem, hastadan alınan örneğin aside dirençli boyama yöntemleriyle boyanarak incelenmesidir. CDC'nin önerisi, boyanmış örnek sonuçlarının örnek alındıktan sonraki ilk 24 saatte bildirilmesidir (11, 13-16, 27, 28). Kullanılan boyalar karbol fuksinli (Ehrlich-Ziehl-Neelsen-EZN-, kinyon) ve flurokromlu boyalardır. Rutinde

en sık EZN boyama yöntemi kullanılmaktadır. Bu boyama yönteminin duyarlılığı kültür ile karşılaştırıldığında % 22-78 arasında değişmektedir. Boyama yönteminin duyarlılığı, teknik şartlar, boyanın ve preparatın hazırlanma koşulları ve değerlendiren laboratuvar personelinin deneyimi başta olmak üzere pek çok faktörden etkilenmektedir (27). Diğer bir aside dirençli boyama yöntemi olan florokrom boyama ise EZN'den daha duyarlıdır. Florokrom boyama yöntemlerinde, daha küçük bir büyütme (x15, x45) ile daha geniş bir alanın incelenebilmesi preparatın değerlendirilmesi için gereken zamanı azaltmaktadır. Bu nedenle özellikle zaman problemi olan ve fazla sayıda hasta örneğinin incelendiği laboratuvarlarda, florokrom boyama yöntemi tercih edilebilir. Boyama yöntemlerinin değerlendirildiği ve 167 laboratuvarın katıldığı bir çalışmada hangi aside dirençli boyama yöntemi kullanılmış olursa olsun, dikkatli bir şekilde uygulanan işlemlerin devamlı olarak kalite kontrolünün yapılması gerektiği gösterilmiştir. İster ticari olarak satılan boyalar ile ister laboratuvarların kendilerinin hazırladığı boyalar ile çalışılsın, kullanılan yöntemin standardizasyonu ve sürekli uygun ortam koşullarının sağlanması şarttır (31). Standardizasyon sağlandığında, örneklerden hazırlanan preparatların sonuçlarının güvenilir olması klinisyen için tüberkülozlu hastanın tanı, takip ve tedavisini kolaylaştırır.

Kültür: Boyama yöntemleri ARB'in tür seviyesinde tanımlanmasına olanak sağlamadığı için, tanıda altın standart kültürdür. Kültür için hem katı [Lowenstein-Jensen (L-J), Petragnani, American Thoracic Society, Middlebrook 7H10, 7H11] hem sıvı (Middlebrook 7H9, Bactec 12B, vs.) besiyerleri kullanılır. Yapılan çalışmalarda mikobakterinin üremesi için, katı besiyerlerinin duyarlılığının sıvı besiyerlerinden daha düşük olduğu gösterilmiştir (27). Mikobakteri izolasyon oranını arttırmak amacıyla DSÖ ve CDC, ARB aranan her örnek için hem sıvı hem katı besiyerlerinin kullanılmasını önermiştir (11, 13-16, 27, 28). National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından kültür için, uygun şartlar, sıcaklık, değerlendirme süresi, üreyen bakterinin tanımlanması ve duyarlılık için gerekli standartlar belirlenmiştir (32).

Klinik laboratuvarlarda bakterinin üretilmesi için en sık kullanılan besiyeri L-J olmakla birlikte, besiyerinin opak görünümü nedeniyle, diğer besiyerlerine göre üremenin farkedilmesi daha zor ve inkübasyon zamanı daha uzundur. Agarlı besiyerlerine göre yumurtalı besiyerlerinin hazırlanması daha zahmetli olmakla birlikte ucuz ve koloni morfolojisi daha tipiktir. Bu nedenle Türkiye'nin de içinde bulunduğu prevalansı yüksek olan ülkelerde daha çok yumurtalı besiyerleri (L-J) kullanılmaktadır. Ülkemizde yapılmış bir ankette 50 kurumun 46 (% 92)'sında L-J besiyeri, 14 (%28)'ünde BACTEC 460 sistemi, ikisinde (% 4)'sinde agar bazlı besiyerlerinin kullanıldığı belirlenmiştir (26). KLİMİK Derneği Tüberküloz Çalışma grubunun 2000 yılında yapmış olduğu toplam 46 kurumun katıldığı ankette ise, ankete katılan tüm VSD'ni içeren 25 (%54) kurumun yumurtalı besiyeri, dört (% 9) üniversite hastanesinin sadece sıvı besiyeri ve 14 (%30) üniversite hastanesinin yumurtalı+sıvı besiyeri, iki (% 4) üniversite hastanesinin yumurtalı+sıvı besiyeri+agar bazlı besiyeri kullandığı saptanmıştır (henüz yayınlanmamış veri). Göçmen ve ark 'nın (33) ülkemizdeki tüm üniversite mikobakteri laboratuvarlarının durumunu değerlendirmeyi amaçladığı ancak sadece 19 üniversitenin yanıt verdiği anket sonucuna göre, 15 üniversitede kültür için klasik yöntemle birlikte otomatize sistemlerin de kullanıldığı, 13'ünde duyarlılık testlerinin çalışılabilirdiği, sekizinde moleküler yöntemlerle ileri tetkiklerin uygulanabildiği, dördünde laboratuvar sonuçlarının klinisyene ulaşımında sorun olduğu belirlenmiştir. Sadece dört üniversite hastanesinde tüberkülozun bildirimini sağlıklı yapılabildiği, diğer 15 hastanesinin bildirimini yapıp yapılmadığından haberdar olmadığı belirlenmiştir. Üniversite hastanelerinin temel eğitim, hizmet içi eğitim ve araştırma yapmak konusunda yeterli donanıma sahip olduğu ancak olgu bildirimini konusunda duyarlı davranmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, mikobakteri laboratuvarlarımızın çalışma koşulları ve kullandığı teknikler açısından zamanla daha iyi bir konuma geldiğini göstermekte birlikte, kurumlar arasında iletişim açısından önemli bir sorun olduğu görülmektedir.

Duyarlılık deneyleri: Duyarlılık deneyinin her hastadan izole edilen ilk *M. tuberculosis* suşuna uygulanması 1993'te CDC tarafından önerilmiştir (14). Has-

tanın yeterli-uygun tedavi almasına karşın üç ay sonra kültür pozitifliğinin devam etmesi durumunda da duyarlılık deneyinin tekrarlanması gerektiği belirtilmiştir. Artan ilaç direnci tedaviyi zorlaştırdığı için duyarlılık deneyinin yapılması gereklidir. Bu deneyler, ARB pozitif hasta örneğinden direkt yapılabildiği gibi örnekten süşun duyarlılığı da incelenebilir. Farklı yöntemler kullanılabilmesine karşın 1963 yılında Canetti tarafından tanımlanan proporsiyon yöntemi ortam koşullarından en az etkilendiği için sonuçları güvenilir kabul edilen ve en çok kullanılan yöntemdir (34,35). Bugün ABD’de NCCLS’in önerdiği ve kullanılmakta olan standart duyarlılık deneyleri sıvı (BACTEC sistemi) ve agarlı besiyerlerinde uygulanan proporsiyon yöntemleridir. Bütün ilaçlar için önerilen kritik proporsiyon oranı % 1’dir (35). Duyarlılık deneyleri için gerekli standartlar hem MTBC hem non-tüberküloz mikobakteriler için NCCLS tarafından belirlenmiştir (32). Klasik olarak en çok kullanılan besiyerlerinden biri olan ilaçlı L-J besiyeri ile duyarlılığın incelenmesi sırasında ; besiyerinin zor hazırlanması, farklı ilaç konsantrasyonlarının kullanılması, besiyerinin pişirilmesi sırasında ilaçların inaktivasyonuna bağlı olarak konsantrasyonun azalabilmesi dikkatli olunması gereken bazı problemlerdir (36).

Klasik kültür yöntemlerine dayalı deneyler uzun sürede sonuç verdiği için, hızlı kültür sistemleri ve ilaç direncine neden olan mutasyonları saptayan genetik yöntemler geliştirilmiştir. Radyometrik kültür sistemi BACTEC, bakteriyofaj temelli yöntemler, kolorimetrik boya, alamar mavisi yöntemi, kolorimetrik kültür sistemi (Dio-TK kültür sistemi), flow sitometri ile duyarlılık saptanması gibi hızlı duyarlılık yöntemleri; Inno-Lipa, DNA dizi analizi, heteroduplex analizi, vs gibi genetik yöntemler örnek olarak sayılabilir (36).

Moleküler yöntemler: Bu yöntemler bakterinin tanımlanması, erken tanı, reaktivasyonun reinfeksiyondan ayırt edilmesi, ilaç duyarlılığının en kısa sürede saptanması, salgın araştırmaları, ülke içinde epidemiyolojik surveyans ve kontrol yöntemlerinin değerlendirilmesi ya da laboratuvar kontaminasyonunun araştırılması amacıyla kullanılmaktadır (27, 37) . Kullanılan yöntemler arasında Polimeraz Zincir

Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR), Ligaz Zincir reaksiyonu (Ligase Chain Reaction-LCR), transkripsiyona bağlı çoğaltma (Transcription mediated amplification-TMA) gibi nükleik asit çoğaltma (nucleic acid amplification-based-NAA) yöntemleri ile Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), DNA chip analizi, DNA dizi analizi vs gibi yöntemler sayılabilir.

Klinik örneklerde M. tuberculosis DNA’ sını saptamak için NAA yöntemlerinin kullanılması çabuk tanıya ulaşmayı desteklemekle birlikte, laboratuvarlarda yaşanan standardizasyon güçlüğü, yanlış pozitif ya da negatif sonuçların alınmasına neden olmuştur. Rutin tanı için amplifikasyon testlerinin performansının değerlendirildiği, farklı miktarda bakteri içeren 20 balgam örneği, 18 ülkeden 30 laboratuvarın katıldığı bir çalışmada değerlendirilmiştir (38). Katılan laboratuvarlar arasında sadece beş laboratuvar, mikobakteri DNA’sının varlığını ve yokluğunu doğru olarak saptayabilmiştir. Bütün pozitif örneklerde mikobakteri DNA’sı ancak yedi laboratuvar tarafından saptanırken, bütün negatif örnekleri 13 laboratuvar doğru olarak bildirmiştir. Önerilen kimyasalların kullanılmaması, kontaminasyon riski, hastadan alınan örneğin standart işlenememesi, çalışma ortamında inhibitör maddelerin varlığı, internal ve eksternal kontrol kullanılmasının gerekliliği vs çalışma sırasında karşılaşılan sorunlardır. Özellikle % 10-20 balgam örneğinde karşılaşılan inhibisyon sorununu aşabilmek için mutlaka internal ve eksternal kontrol kullanılması, PCR’ın her aşamasının tekrar gözden geçirilmesi ve gerekirse farklı yöntemlerle (basit kloroform yöntemi, silica metodu, fenol-kloroform ekstraksiyon vs.) klinik örneklerden DNA izolasyonunun tekrarlanması gereklidir. Ancak aynı örnekten farklı yöntemlerle DNA elde edildikten sonra uygulanan PCR’da bile, sadece bazı örnekler için inhibisyonun önlenemediği gösterilmiştir (39). Bu nedenle rutin tanıda hızlı ve yeni yöntemlerin konvansiyonel yöntemlerin yerini alamayacağı vurgulanmıştır. Ancak en önemli iki konu, tüberküloz şüphesi olan hastanın balgam yayma pozitifliğinin en kısa sürede saptanması ve tedavi başlangıcında rifampisin direncinin olup olmadığının belirlenmesidir. (40). Çünkü rifampisin direnci MDR-TB’un en iyi göstergesidir ve sadece rifampisine karşı direncin saptanması,

bakterinin çok ilaca dirençli olabileceği duyarlılığı hakkında da bilgi verebilmektedir (41-43). Rifampisin direncini en kısa sürede saptamak için, mikobakterileri infekte eden fajların kullanıldığı bakteriyofaj temelli yöntemler ya da NAA teknikleri kullanılabilir (44-46). Florida'da hem hızlı tanı hem de rifampisin direncini saptamak için, Health's FAST TRACK Program çerçevesinde uygulanan hızlı bir laboratuvar çalışma modeli Tablo 1'de verilmiştir (40). Ülkemizde moleküler yöntemlerin ancak bir kısmı TRL, bazı üniversite laboratuvarları ve birkaç özel laboratuvar tarafından uygulanmaktadır..

Tüm önerilere karşın laboratuvarların işleyişi ve CDC önerileri arasındaki uyum, olanaklara göre değişiklik göstermektedir. (ABD)'nde 1993 yılında yapılan bir çalışmada CDC'nin kültür için önerdiği radyometrik yöntem ve tanımlanma için önerdiği

nükleik asit probe temelli yöntem ve kullanan 10 laboratuvarın sonuç verme süreleri değerlendirilmiş ve, sadece iki laboratuvarın 10-14 gün arasında sonuç vererek CDC önerilerine uyduğu saptanmıştır (15). Çalışmada bakterinin üreme süresinin 1-50 gün, tanımlanma süresinin ise 4-76 gün arasında değişebildiği belirlenmiştir. Bu süre farklılıkların ise, personelin deneyimi ve çalışma sürelerine, örneklerin işlenmesinde kullanılan yöntemin değişikliğine, pozitif kültür sayısına, nükleik asit probe temelli yöntemlerin direkt hasta örneğinden ya da kültürde üreme olduktan sonra yapılan pasajlardan uygulamasına bağlı olabileceği bildirilmiştir. (15). Çalışma, özellikle konvansiyonel yöntemlerle, belli sürelerde sonuca ulaşmanın mümkün olmadığını göstermiştir. Bu durumda laboratuvarların mali olanakları ve örnek yoğunluğunu da dikkate alarak, yarar-maliyet oranlarını gözden geçirmeleri ve hangi durumlarda

Tablo1. Florida'da uygulanan hızlı laboratuvar çalışma programı

Yapılan işlem	Sıklık	Yorum
Mikroskopi	Her gün	Florokrom boya ile pozitiflik saptandığında karbol füksinli boyama ile doğrulanır ve sonuç 24 saat içinde bildirilir. Özellikle ilk tanı ise telefon ile bildirilir.
NAA	Pazartesi-Cumartesi	ARB pozitif balgam örneğinin MTBC olup olmadığını 1 gün içinde saptamak için kullanılır.ARB negatif balgam örnekleri için sadece istenildiği zaman uygulanır.
Kültürde üremenin saptanması	Her gün	BACTEC 12B besiyeri, L-J, Middlebrook 7H10 veya selektif 7H11 6 hafta izlenir. Üreme saptandığı an hemen bildirilir.
PCR restriksiyon enzim analizi	Her gün	Kültürde tüberküloz dışı mikobakterileri ya da MTBC kısa sürede tanımlamak için kullanılır
DNA prob	Her gün	Kültürde MTBC ya da M. avium complex'i kısa sürede tanımlamak için kullanılır
HPLC	Haftada bir	Örneklere tüberküloz dışı mikobakterileri kısa sürede tanımlamak için kullanılır.
Duyarlılık testleri	Her gün	Antitüberküloz ilaçlar için duyarlılık BACTEC 12B sıvı besiyeri ile saptanır ve ilaç direnci proporsiyon metodu ile doğrulanır.
DNA dizi analizi	İstendiği zaman	Sadece MTBC türleri için uygulanır

hızlı (nükleik asit probe temelli yöntemler vs) ve yeni yöntemleri kullanabileceklerine karar vermeleri gerekmektedir. Standart öneriler dikkate alınarak her laboratuvarın fizik özellikleri ve kullanabilecekleri yöntemler belirlenirse, bu düzenleme o laboratuvarın tüberküloz laboratuvarları örgütlenme zinciri içerisinde kabulünde ve tüberküloz kontrol programlarının oluşturulmasında yardımcı olacaktır.

KLİNİK - LABORATUVAR UYUMU

Tüberkülozun tanısında, laboratuvar ve klinik bulguların uyumu esastır (40). Laboratuvar bulguları hastanın klinik bulguları ile her zaman uyumlu olmalıdır. Klinisyen hastanın durumu ile uygun olmayan bir sonuç aldığı anda, laboratuvar çalışanlarına durumu bildirmeli ya da laboratuvar çalışanı yeni bir hasta için pozitiflik saptadığında klinisyeni en kısa sürede bilgilendirmelidir. Amaç hem klinik hem laboratuvar olarak, doğru tanı ile hastayı korumaktır. Yapılan çalışmalar laboratuvar kaynaklı hataların gereksiz tedaviye neden olabileceğini göstermiştir (47, 48). Özellikle aktif tüberküloz hastası olmayan kişilerde, sadece bir kültür pozitifliği, preparat sonucu aside dirençli bakteri yönünden pozitif olsa bile, çok dikkatli değerlendirilmeli hastanın kültürü tekrar edilip izleme alınmalı, gereksiz tedavi başlanmamalı, ayırıcı tanıda diğer hastalıklar da düşünülmelidir. (48-50). Anahtar kelime olarak araç-gereç kontaminasyonu, tanısız hata, yanlış pozitif sonuçlar ve DNA parmak izi (fingerprinting)'nin girildiği ve 1966-1999 yıllarını kapsayan MEDLINE taramasında kültür sonuçlarının çapraz kontaminasyon oranı ortalama % 3,1 (% 2.2-10.5) saptanmıştır (50,51). Yanlış pozitif kültür sonucunun olası nedenleri, klinikte kullanılan aletlerin kontaminasyonu, örneğin kaydedilmesi sırasında yazım hatası ve en sık olarak örneğin işlenmesi aşamasında çapraz kontaminasyondur (52). Bakterinin, örneğin işlenmesinde kullanılan fosfat tamponlu tuz solüsyonu ve % 0,9'lük NaCl içinde 3 hafta yaşayabildiği gösterilmiştir (53). Normalde bir laboratuvar da belli bir sürede saptanması beklenen ortalama pozitif örnek sayısı tahmin edilebilir. Bu sayıda birden aşırı bir artış ya da gittikçe artan pozitiflik, çapraz kontaminasyon için uyarıcı olmalı ve moleküler yöntemler ile araştırılmalıdır. Ayrıca çapraz kontaminasyonun özellikleri arasında

ARB negatifliği+katı besiyerinde beş koloniden az üreme ile birlikte bazen sıvı besiyerinde de üreme olmasına karşın klinik bulguların yokluğu sayılabilir. Retrospektif bir analizle ayrı dönemde örnek alınan tüberkülozlu 54 hastanın kültür besiyerlerinde az sayıda koloni saptanmış ve üreyen bu bakterilerin özelliklerinin aynı olduğu gösterilmiştir (49). Hastaların çoğunda birden fazla kültürde üreme olmasına karşın, kültüründe az sayıda üreme olan yedi hastanın dördünde tüberküloz tanısı doğrulanmıştır. Bu nedenle az sayıda koloni üreyen tek kültür pozitifliğinde, çapraz kontaminasyonu göstermek için çalışmalar başlatılırken hastanın kliniği çok iyi sorgulanmalıdır (49). Mikobakteriyoloji laboratuvarlarında bakterinin üremesini arttırmak için kullanılan sıvı besiyeri ya da radyometrik yöntemlerin çapraz kontaminasyonu arttırabilme olasılığı da göz ardı edilmemeli, kontaminasyonu azaltmak için laboratuvar da kullanılan tekniklerde önerilen standartlara uygun yeni düzenlemeler düşünülmelidir. Mikobakteriyoloji laboratuvarlarının kalite kontrol programında, olası yanlış pozitif kültürlerin saptanması ve tanımlanması için bir plan yapılarak, tek kültür pozitifliği olan hastaların klinik bulguları da dikkate alınarak, en kısa zamanda sonuçların değerlendirilmesini sağlayan bir sistem oluşturulmalıdır (50).

İlaç duyarlılığının saptanmasında da klinik ve laboratuvar uyumsuzluğu gösterilmiştir. İlaç direncinin analiz edildiği bir çalışmada kültürlerin % 13'ünde hatalı sonuçlar gösterilmiştir (50,54). Farklı laboratuvarlarda farklı yöntemlerin kullanılması ya da aynı yöntem bile olsa duyarlılık deneylerinin önerilen standartlar içinde çalışılmaması, farklı sonuçların alınmasına neden olabilir. Bakteri nontüberküloz mikobakteri ya da M tuberculosis olarak tam tanımlanmadığında duyarlılık deneylerinde yanlış direnç paternleri saptanabilir. Bu durumda bakterinin tanımlanmasından sonra başka bir yöntem ile birlikte duyarlılık deneyi tekrarlanır (50). Aynı gün içinde işlenen balgam örnekleri arasındaki kontaminasyon ile de yalancı bir MDR-TB salgını bildirilmiştir (55).

Klinik izlemin laboratuvarlardaki kalite kontrolünün yerini dolduramayacağı gibi, klinik olarak iyi takip edilmeyen hastaların laboratuvar sonuçları da ne kadar iyi olursa olsun sonuçta hastalık kontrol edilemeyecektir. Klinik ve laboratuvarlardaki teknolojik ilerlemelerin eşdeğer düzeyde olması ise tüberküloz tanı-

sını kolaylaştırarak, hastalığın kontrolünü sağlayacaktır (56). Klinisyen ve laboratuvar çalışanları arasındaki iletişimin sürekliliği, laboratuvar sonuçlarının kliniğe daha çabuk ulaştırılmasını sağlayarak, uygun olmayan sonuçların irdelenmesini kolaylaştıracak, gereksiz tedavi ile birlikte gelişecek direnci de önleyecektir.

Mikobakteri laboratuvar ağı kurulmuş, iletişim sorunları çözümlenmiş, uygun ortam ve gerekli standardizasyonu sağlanmış mikobakteri laboratuvarları; hem tüberkülozlu hastanın en kısa zamanda tanınip izlenmesinde hem de klinik ve laboratuvarında karşılaşılabilecek pekçok sorunun çözümlenmesinde en önemli rolü oynayacaktır. Karşılaşılabilecek önemli sorunlar şu şekilde sıralanabilir (3):

1. HIV- tüberküloz birlikteliği olan olgularda pulmoner tutulumda balgamda bakteri sayısının nispeten az olması veya ekstra-pulmoner tutulum sıklığının yüksek olması nedeniyle mikrobiyolojik yöntemlerde yaşanan sorunlar
 2. Özellikle HIV-pozitif hastalarda klinik ilerlemenin hızlı olması nedeniyle hızlı duyarlılık testlerinin gereksinimi
 3. Yeni ilaçlar için duyarlılık deney tekniklerinin gerekliliği
 4. Klinisyene mümkün olan en kısa sürede sonuç verebilmek için, sıvı besiyerlerinde duyarlılık çalışmalarının yapılması
 5. Amplifikasyon tekniklerinin kullanılmasının gerekliliği
 6. Özellikle HIV-pozitif hastalarda, yeni mikobakteri türlerinin tanımlanması. 1975'te 30'a yakın mikobakteri türü tanımlanmışken, son 25 yılda bu sayı 100'ü bulmuştur. Son zamanlarda tanımlanan bu türlerin özel üreme koşulları gerektiren bazıları (*M. haemophilum*, *M. genavense* vs.) klinisyen ve laboratuvar arasında sıkı bir işbirliğini zorunlu kılmaktadır (40).
 7. MAC infeksiyonlarının ve miks infeksiyon oranlarının artmış olması
 8. HIV- pozitif hastaların kanında *M. avium* izolasyon ve kantitasyonu çalışılmasının gerekliliği
- Sonuçta, ülkeler arasında toplum özelliklerinin ve

hasta popülasyonunun dikkate alınması, ilgili bölümlerce iletişimin sağlanması, önerilen standart yöntemlerin ve düzenli bir kayıt sisteminin kullanılması ile dünya verileri oluşturulmaktadır. Standart yöntemlerin kullanılmadığı veriler farklı bir kategoride değerlendirilerek çalışmalar belli bir düzeyde kalmaktadır. Ancak laboratuvar ağını işletebilen ülkelerde, saklanan suşlardan alınan verilerin gerektiğinde uluslararası düzeyde kontrol edilmesi, moleküler düzeyde incelemelerin yapılmasıyla, olası laboratuvar hatalarının ortaya çıkarılması, hasta-mikroorganizma özelliklerinin belirlenmesi, sonuçların uyumu, tedavi kararının verilmesi, tedavi süresi ve tedavide seçilecek ilaçların belirlenmesi objektif verilere dayandırılabilir. Başarılı bir Ulusal Tüberküloz Kontrol Programı uygulamak isteyen ülkelerde ilk basamak, hem ulusal hem uluslararası düzeyde kalite kontrol programlarına katılabilen, standardizasyonu sağlanmış, her ülkenin kendi yapısına göre oluşturulmuş bir laboratuvar ağının kurulması, klinik ve laboratuvar iletişiminin sağlanmasıdır.

KAYNAKLAR

1. who.int/infectious-disease-report/pages/ch16text.html#Anchor6
2. who.int/infectious-disease-report/pages/ch6init.html
3. Leonid H. Mycobacteriology Laboratory. Clinics in Chest Medicine.18(1): 35 (1997).
4. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA: Medical Microbiology.p 368 4th Ed, Harcourt Health Sciences Company, St Louis (2002).
5. Washko RM, Hoefler H, Kiehn TE, Armstrong D, Dorsinville G, Frieden TH. M. tuberculosis Infection in a Green-Winged Macaw (*Ara chloroptera*): Report with Public Health Implications. J Clin Microbiol 36: 1101(1998).
6. Centers for Disease Control and Prevention. Tuberculosis control laws-United States, Recommendation of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. Morbid Mortal Weekly Rep. 42 (RR-15) :1 (1993).
7. Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, Crawford JT, Davis BJ, Dooley SW, Jarvis WR. Nosocomial transmission of multidrug resistant *M. tuberculosis*. Ann of Intern Med. 117: 191 (1992).
8. Edlin BR, Tokars JI, Griego MH, Crawford JT, Wil-

- liams J, Sordillo EM, Ong KR, Kılburn JO, Dooley SW, Castro KG, Jarvis WR, Holmberg SD. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 326: 1514 (1992).
9. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kılburn JO, Cauthen GM, Dooley SW. The Emergence of Drug-Resistant Tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 328: 521 (1993).
10. Goble M, Iseman MD, Madsen LA, Waite D, Ackerson L, Horsburgh R. Treatment of 171 Patients with Pulmonary Tuberculosis Resistant to Isoniazid and Rifampin. *N Engl J Med*. 328: 527 (1993).
11. Woods GL, Witebsky FG. Mycobacterial Testing in Clinical Laboratories That Participate in the College of American Pathologist' Mycobacteriology E Survey: Results of a 1993 Questionnaire. *J Clin Microbiol*. 33: 407 (1995).
12. Denniston MM, Bird BR, Kelley KA. Contrast of Survey Results between State and a Cohort of Nonstate Mycobacteriology Laboratories: Changes in Laboratory Practices. *J Clin Microbiol*. 35: 422 (1997).
13. Hinman AR, Hughes JM, Sneider E Jr, Cohen ML. Meeting the challenge of Multidrug-resistant tuberculosis: Summary of a Conference. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 41 (RR-11): 31 (1992).
14. Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, Geiter LJ, Horsburgh CR Jr, Good RC. The resurgence of tuberculosis: is your laboratory ready? *J Clin Microbiol*. 31: 2371 (1993).
15. Doern GV. Diagnostic Mycobacteriology: Where Are We Today? *J Clin Microbiol*.; 34: 1873 (1996).
16. Bird BR, Denniston MM, Huebner RE, Good RC. Changing Practices in Mycobacteriology: a Follow-up Survey of State and Territorial Public Health Laboratories. *J Clin Microbiol*. 34: 554 (1996).
17. WHO. Laboratory services in Tuberculosis Control Part 1. Organization and Management. WHO/TB/98.258 (1998).
18. Shinnick TM, Good RC. Diagnostic Mycobacteriology Laboratory Practices. *Clin Infect Dis*. 21: 291 (1994).
19. www.dhs.vic.gov.au/phd/tb/hcw.htm
20. Ceyhan İ. Ulusal Tüberküloz Programı kapsamında Mikobakteri Laboratuvar Ağı ve İkinci Doğu Avrupa TB Laboratuvar Yöneticileri Workshop Değerlendirmesi eşliğinde Mikobakteri Laboratuvar Ağındaki sorunlar. s.15
4. Ulusal Mikobakteri Simpozyum Kitabı 31 Ekim-2 Kasım Abant/ BOLU (2002).
21. Kocabaş A. Günümüzde Tüberküloz Sorunu. In Kocabaş A (ed) Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Emel matbaası, Adana. s. 3 (1991).
22. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü için Kılavuz-Tartışma İçin Taslak. s. 59 Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı Ankara (1999).
23. Kılıçaslan Z. Dünyada Tüberküloz Kontrolü; Türkiye'deki Durum. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyum Kitabı (2002).
24. Güneri S. Bölge ve Dispanser Laboratuvarları Cephesiyle Sorunlar. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyum Kitabı (2002).
25. Tarhan G. Biozarar-Bioemniyet. Mikobakteri Simpozyum Kitabı (2002).
26. Gedikoğlu S. Türkiye'de Mikobakteri Laboratuvarlarının Durumu. Güncel Durum Nasıldır? 2. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu (1998).
27. Woods GL. The Mycobacteriology Laboratory and New Diagnostic Techniques. "Moellering RC (ed) Infect Dis Clin North Am Saunders Company Pennsylvania 16: 127 (2002).
28. Tokars JL, Rudnick JR, Kroc K, Manangan L, Pugliese G, Huebner RE, Chan J, Jarvis WR. U.S. hospital Mycobacteriology Laboratories: Status and Comparison with State Public Health Department Laboratories. *Clin Microbiol*. 34: 680 (1996).
29. Nolte FS, Metchook B. Mycobacterium. "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology" 6th ed. ASM. Press Washington. s.400 (1995).
30. Warren JR, Bhattacharya M, De Almeida KN, Trakas K. A minimum 5.0 ml of Sputum Improves the Sensitivity of Acid-fast Smear for M. tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 1559 (2000).
31. Somonoskovi A, Hotaling JE, Fitzgerald M, O'Donnell D, Parsons L, Salfinger M. Lessons From a Proficiency Testing Event for Acid-Fast Microscopy. *Chest* 120: 250 (2001).
32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardia and Other Aerobic Actinomycetes; Tentative Standard-Second Edition. M24-T2. Pennsylvania (2000).
33. Göçmen S. Ulusal Kontrol Programı ve Üniversite Mi-

kobakteri Laboratuvarları İlişkisi s. 39 4.Ulusal Mikobakteri Sempozyum Kitabı (2002).

34. Canetti G, Froman S, Grosset J, Hauduroy P, Langerova M, Mahler HT, Meisner G, Mitchison DA, Sula L. Mycobacteria: Laboratory Methods for Testing Drug Sensitivity and Resistance. Bull Wld Hlth Org. 29:565 (1963).

35. Inderlied CB, Salfinger M. Antimicrobial Agents and Susceptibility Test: Mycobacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology 6th ed. ASM. Press Washington. s.1385 (1995).

36. Kocagöz T. M. tuberculosis için uygulanan fenotipik ve genotipik direnç testleri. 4.Ulusal Mikobakteri Sempozyum Kitabı (2002).

37. Durmaz R. Moleküler Yöntemlerin Epidemiyolojide Kullanımı. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı. (2001)

38. Noordhoek GT, Van Embden JDA, Kolk AHJ. Reliability of Nucleic Acid Amplification for Detection of M. tuberculosis: an International Collaborative Quality Control Study among 30 Laboratories. J Clin Microbiol 34 : 2522 (1996)

39. Vahaboğlu H, Avkan V, Dodanlı S, Uzun M, Yıldırım İ, Mülazımoğlu L. Comparison of two DNA extraction methods on inhibitory sputum samples. Clin Microbiol Infect 3: 144 (1997)

40. Yvonne MH, Pfyffer GE, Salfinger M. Laboratory Diagnosis of Mycobacterial Infections: New Tools and Lessons Learned. Clin Infect Dis. 33: 834 (2001)

41. Centers for Disease Control and Prevention. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. Am J Respir Crit Care Med 161: 1376 (2000)

42. Lambert-van Weezenbeek CSB. Drug-resistant tuberculosis. Eur Respir Mon. 4: 298 (1997)

43. Avkan Oğuz V, Akbal H, Sarıbaş S, Karagöz T, Öztürk R. Edinsel çok ilaca dirençli M. tuberculosis suşlarının major ve minor antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı. İnfeks Derg 14: 383 (2000).

44. Eltringham IJ, Drobniewski FA, Mangan JA, Butcher PD, Wilson SM. Evaluation of Reverse Transcription-PCR and a Bacteriophage-Based Assay for Rapid Phenotypic Detection of Rifampin Resistance in Clinical Isolates of M. tuberculosis. J Clin Microbiol 37: 3524 (1999).

45. Avkan Oğuz V. Güneri S, Erdenizmenli M, Yapar N,

Kuruüzüm Z, Çakmak R, Yüce A. M. tuberculosis'in rifampin direncinin iki farklı yöntemle araştırılması. Tor Derg 3: 173 (2002)

46. Ohno H, Koga H, Kohno S, Tashiro T, Hara K. Relationship between Rifampin MICs for and rpoB Mutations of M. tuberculosis Strains Isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 40: 1053 (1996).

47. Salfinger M, Morris AJ. The Role of the Microbiology Laboratory in Diagnosing Mycobacterial Diseases. Am J Clin Pathol 101 (Suppl): S6 (1994).

48. Maurer JR, Desmond EP, Lesser MD, Jones WD. False-Positive Cultures of M. tuberculosis. Chest 86: 439 (1984)

49. Bhattacharya M, Dietrich S, Mosher L, Siddiqui F, Reisberg BE, Paul WS, Warren JR. Cross-Contamination of specimens With M. tuberculosis Clinical Significance, Causes, and Prevention. Am J Clin Pathol 109: 324 (1998)

50. Burman WJ, Reves RR. Review of False-Positive Cultures for M. tuberculosis and Recommendations for Avoiding Unnecessary Treatment. Clin Infect Dis. 31: 1390 (2000).

51. Breese PE, Burman WJ, Hildred M, Stone B, Wilson ML, Yang Z, Cave D. The Effect of Changes in Laboratory Practices on the Rate of False-Positive Cultures for M. tuberculosis. Arch Pathol Lab Med 125: 1213 (2001)

52. Burman WJ, Stone BL, Reves RR, Wilson ML, Yang Z, El-Hajj H, Bates JH, Cave MD. The Incidence of False-positive Cultures for M. tuberculosis. Am Respir Crit Care Med 155: 321 (1997)

53. Ramos MC, Soim H, Roscanni GC, Jaques M, Villares MC, Musser JM. Extensive Cross-Contamination of Specimens with M. tuberculosis in a Reference Laboratory. J Clin Microbiol. 37: 916 (1999)

54. Nitta AT, Davidson PT, Koning ML, Kilman RJ. Misdiagnosis of Multidrug-resistant Tuberculosis Possibly Due to Laboratory-Related Errors. JAMA 276: 1980 (1996).

55. Wurtz R, Demarais P, Trainor W, McAuley J, Kocko F, Mosher L, Dietrich S. Specimen Contamination in Mycobacteriology Laboratory Detected by Pseudo-Outbreak of Multidrug-Resistant Tuberculosis: Analysis by Routine Epidemiology and Confirmation by Molecular Technique. J Clin Microbiol. 34: 1017 (1996)

56. Perkins MD. New Diagnostic Tools for Tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 4: 182 (2000)

