



doi • 10.5578/tt.28058
Tuberk Toraks 2016;64(3):211-216
Geliş Tarihi/Received: 26.02.2016 • Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 20.09.2016

KLİNİK ÇALIŞMA
RESEARCH ARTICLE

Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikobakteri mikroskopi ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesi: Üç yıllık analiz

Elçin AKDUMAN ALAŞEHİR¹
Ahmet BALIKÇI²
Mualla PARTAL²
Gülay ÇATMABACAK²
Görkem YAMAN¹

¹ Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

¹ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Maltepe University, Istanbul, Turkey

² Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

² Süreyyapaşa Chest Diseases and Chest Surgery Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey

ÖZET

Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikobakteri mikroskopi ve kültür sonuçlarının değerlendirilmesi: Üç yıllık analiz

Giriş: Tüberkülozun etkin tanısı, enfeksiyonun yayılımının kontrolü ve tedavi başarısı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, değişik hasta örneklerinde Ehrlich-Ziehl Neelsen (EZN) ve Auramin-Rodamin boyama ile mikobakteri mikroskopik inceleme sonuçları ile otomatize BACTEC MGIT 960™ sistemi ve Löwenstein-Jensen (L-J) besiyeri kullanılarak yapılan mikobakteri kültür sonuçlarının dünya ve Türkiye güncel verileri ışığında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Ocak 2012 ile Ocak 2015 tarihleri arasında Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Toplam 62.456 örneğin; 60.923 (%97.5)'ünün akciğer örneği, 1533 (%2.5)'ünün ise başta plevra olmak üzere akciğer dışı örnek olduğu görülmüştür. Örneklerin; 2853 (%4.6) tanesinde aside rezistan basil (ARB) pozitifliği tespit edilmiş, mikobakteri kültür pozitifliği toplam 7611 (%12.2) olarak saptanmıştır.

Bulgular: Toplam 62.456 örnekte; 7076 MTBC (%93), 535 (%7) tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) izole edilmiştir. Toplam 356 örnekte ARB pozitif saptanmasına rağmen kültür negatif bulunmuştur. Mikobakteri kültürü altın standart kabul edildiğinde; laboratuvarımızda ARB mikroskopisinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla; %32.8, %99.4, %87.5 ve %91.4 olarak saptanmıştır. Kontaminasyon oranları ise toplamda L-J için %2.7, MGIT için %3.8 olarak kabul edilebilir sınırlarda bulunmuştur.

Sonuç: Verilerimiz incelendiğinde mikroskopinin duyarlılığının düşük olduğu ve tüberküloz enfeksiyonunu ekarte etmek için mutlaka mikobakteri kültürüyle birlikte değerlendirilmesi gerektiği görülmektedir. Örneklerimizin 2013 yılından itibaren floresan boyama ile incelenmeye başlanması, ayrıca 2013 yılından itibaren L-J ile birlikte MGIT sıvı besiyerinin de rutin kültürde kullanılmasıyla birlikte ARB yalancı negatiflik oranının yıllara göre %74.1'den %51.7'e düştüğü gözlenmiştir. Mikroskopi duyarlılığı, kültür pozitifliği, yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranları ile kontaminasyon değerleri gibi verilerin takibi laboratuvar kalite standartlarına uygunluğu değerlendirmek ve surveyans çalışmalarına katkı sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, Ehrlich-Ziehl-Neelsen, auramin-rodamin, Löwenstein-Jensen, BACTEC MGIT 960

Yazışma Adresi (Address for Correspondence)

Dr. Elçin AKDUMAN ALAŞEHİR
Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İSTANBUL - TÜRKİYE
e-mail: drelcin@yahoo.com

SUMMARY

Evaluation of mycobacterial microscopy and culture results of Süreyyapaşa Chest Diseases and Chest Surgery Training and Research Hospital: A 3-year analysis

Introduction: Effective diagnosis of tuberculosis is of great importance for transmission control and treatment success. The purpose of this study is to evaluate microscopic examination results of Ehrlich-Ziehl Neelsen (EZN) and Auramine-Rhodamine staining methods and automated BACTEC MGIT 960™ system and Löwenstein-Jensen (L-J) culture results of various clinical samples in the light of recent data from the world and Turkey.

Materials and Methods: Specimens that were sent from various clinics to Süreyyapaşa Chest Diseases and Chest Surgery Training and Research Hospital Microbiology Laboratory from January 2012 to December 2015 were evaluated retrospectively.

Results: From a total of 62456 samples; 60923 (97.5%) were pulmonary and 1533 (2.5%) were non-pulmonary samples, especially pleura. 2853 (4.6%) Acid-resistant bacilli (ARB) positivity was detected and mycobacterial culture positivity was in total 12.2%. 7076 (93%) and 535 (7%) mycobacteria other than tuberculosis (MOTT) strains were isolated. In 356 specimens the cultures were negative in despite the positive ARB results. Considering mycobacterial culture as the gold standard; the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of ARB microscopy were 32.8%, 99.4%, 87.5% and 91.4%, respectively. The contamination rates in total were within acceptable limits being 2.7% for L-J and 3.8% for MGIT.

Conclusion: Analysis of our data indicated that the sensitivity of microscopy is low and it should be evaluated together with the mycobacterial culture to rule out tuberculosis infection. With the use of fluorescent staining and also L-J and MGIT broth together for routine culture since 2013; ARB false negativity rate was observed to fall to 51.7% from 74.1% compared to the years. The follow-up of data such as the sensitivity of microscopy, culture positivity, false-positivity and false-negativity rates and contamination values is of great importance in terms of assessing compliance with laboratory quality standards and contributing to the surveillance studies.

Key words: Tuberculosis, Ehrlich-Ziehl-Neelsen, auramin-rodamin, Löwenstein-Jensen, BACTEC MGIT 960

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), her yıl yaklaşık dokuz milyon yeni olgu, iki milyona yakın ölüm ve 0.5 milyon civarı çoklu ilaca dirençli tüberküloz-TB (MDR-TB) oranı ile tedavi edilebilir bir hastalık olmasına rağmen toplumları etkileyen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Küresel Tüberküloz 2015 Raporuna göre; dünyada tüberküloz insidansı her 100.000 nüfusa 133'tür (2). Türkiye'de 2014 yılında tüberküloz prevalans hızı 100.000'de 22, insidans hızı ise 100.000'de 18 olarak bildirilmiştir. Türkiye'deki toplam olgu sayısı 13.378 olup, 4725'i ekstrapulmoner tüberküloz olgusudur. Mortalite hızı, insan immünyetmezlik virüsü (HIV) ile birlikte olan tüberküloz olguları ayrı tutulduğunda 100.000'de 0.61 olarak bildirilmiştir (3).

Tüberküloz tanısında Ehrlich-Ziehl Neelsen (EZN) boyama ile mikroskopik inceleme en yaygın kullanılan metoddur. Auramin-rodamin yöntemi ise özellikle örnek sayısı fazla olan merkezlerde kısa sürede daha fazla alanın incelenmesine olanak tanınması ve duyarlılığının daha yüksek olması nedeniyle tercih edilmektedir. Basilin kültürde üretilebilmesi için 10-100 basil/mL yeteriyken, mikroskopide görülebilmesi için 5000-10000 basil/mL olması gerekmektedir. İnfeksiyonun kesin tanısında kültür altın standart olarak kabul edilmekte, aynı zamanda mikroorganizmanın türünün belirlenmesine ve antibiyotik duyarlılık testinin yapılabilmesine olanak tanımaktadır (4). Hastalıkları Kontrol

ve Önleme Merkezi (CDC) mikobakteri izolasyonunda geleneksel katı besiyerlerinin yanında sıvı besiyerlerinin de birlikte kullanılmasını önermektedir. Mikobakteri kültürü için çoğunlukla Löwenstein-Jensen (L-J) ve Middlebrook sıvı besiyerleri birlikte kullanılmaktadır (5). Sıvı bazlı otomatize sistemler ile daha hızlı, standart ve otomasyona dayalı sonuçlar alınabilmektedir (6). Yakın dönemde hızlı moleküler teknikler, tüberküloz ve MDR-TB saptamada kullanılmaya başlanmıştır fakat yüksek maliyetleri, gelişmiş laboratuvar imkanlarına ve eğitilmiş personele ihtiyaç duymaları özellikle düşük kaynaklı ülkelerde rutin uygulamaya girmelerine engel olmaktadır (4).

Bu çalışmada Süreyyapaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Laboratuvarına üç yıllık süre boyunca gönderilen çeşitli klinik örneklerde aside rezistan basil (ARB) pozitiflik oranlarının belirlenmesi, katı ve sıvı mikobakteri kültürlerinde kullanılan besiyerine göre üreme oranları ve farkların incelenmesi ve kontaminasyon oranlarının belirlenerek dünya ve Türkiye güncel verileri ışığında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmada, Ocak 2012 ila Ocak 2015 tarihleri arasındaki üç yıllık dönemde Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen toplam 62.456 klinik örnek (balgam, bronkoalveoler

lavaj, derin trakeal aspirasyon, steril vücut sıvısı, doku, gaita vb.) çalışmaya alındı. Bölge tüberküloz hastanesi konumunda olan ve yeni başvuran şüpheli hastalarla birlikte, takip edilen hastalardan alınan örneklerle de rutin olarak dekontaminasyon konsantrasyon yöntemiyle mikroskopik olarak aside dirençli basil arama ve katı-sıvı besiyerlerine paralel ekim ile mikobakteri kültürü yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

Mikroskop

Farklı bakteriler içerebilecek balgam, bronkoalveoler lavaj, apse, idrar, gaita gibi klinik örneklerle; ticari olarak sağlanan dekontaminasyon konsantrasyon kiti (Mycoprosafe, Salubris AŞ, Türkiye) ile sodyum hidroksit-N-asetil-L-sistein (NAOH-NALC) yöntemiyle homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemi uygulandı. Tüm örnekler 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj ile konsantre edilerek, mikroskopi için yayma preparat hazırlandı.

2012 Ocak ila 2013 Nisan tarihleri arasında mikroskopik inceleme için sadece EZN boyama kullanılırken, Nisan 2013 sonrasında preparatlar Auramin-Rodamin ile boyanarak floresan mikroskopta değerlendirildikten sonra şüpheli bulunanlar EZN boyama ile doğrulandı.

Mavi zeminde kırmızı basillerin görülmesiyle pozitif olarak değerlendirilen preparatlar CDC kriterlerine göre 100 alanda 1-9 arası basil görülmesiyle (1+), 10 alanda 1-9 arası basil görülmesiyle (2+), her alanda 1-9 basil görülmesiyle (3+) ve her alanda 9'un üzerinde basil görülmesiyle (4+) olarak sınıflandırıldı (7).

Kültür

Mayıs 2013'ten önce örnekler sadece katı Löwenstein-Jensen (Becton, Dickinson Co, ABD) besiyerine, özellikle şüpheli olanlar ise L-J ve bir sıvı (BACTEC MGIT 960, Becton Dickinson) besiyerine ekildi. 2013 Mayıs tarihinden itibaren ise tüm örnekler L-J ve MGIT besiyerine birlikte ekim yapıldı. L-J besiyerleri haftada iki gün ve 7 hafta boyunca üreme yönünden değerlendirildi. BACTEC MGIT'de pozitif sinyal veren veya L-J'de üreme saptanan örneklerden preparat hazırlanıp EZN boyama yöntemi ile boyanarak mikobakteri veya kontaminasyon varlığı açısından değerlendirildi.

L-J besiyerinde üreyen mikobakteriler; geleneksel yöntemler kullanılarak; koloni morfolojisi, kord faktör pozitifliği ve ayrıca katalaz pozitifliği, nitrat reduksiyonu, niasin ve üreaz testleri ile *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) olarak tanımlandı.

MGIT-960 sisteminde üreyenlerde ise BD MGIT-TBC identifikasyon testi (TBC ID) ile immünokromatografik olarak MTBC ve tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) ayrımı yapıldı. MGIT-TBC testinde reaksiyon vermeyen, aside dirençli boyanan mikobakteriler TDM olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Nitel veriler "yüzde" olarak tanımlandı. Duyarlılık ve özgüllük hesaplamaları yapıldı.

BULGULAR

Çalışmada, 62.456 klinik örnek (balgam, bronkoalveoler lavaj, derin trakeal aspirasyon, steril vücut sıvısı, doku, gaita vb.) incelenmiştir. Toplam 62.456 örneğin 60.923 (%97.5)'ü akciğer örneği, 1533 (%2.5)'ünün ise başta plevra olmak üzere akciğer dışı örnek olduğu saptandı. Yıllara göre örnek dağılımına bakıldığında; 2012 yılında 25.050 örneğin 24.505'i akciğer örneği, 453'ü plevra, 47'si idrar, 6'sı perikard, 9'u periton, 13'ü apse, 7'si biyopsi, 8'i gaita örneğidir. 2013 yılında 19.989 örneğin 19.448'i akciğer örneği, 426'sı plevra, 62'si idrar, 16'sı apse, 9'u perikard, 4'ü periton, 5'i gaita, 3'ü mide sıvısı, 11'i biyopsi, 5'i beyin omurilik sıvısı (BOS) örneğidir. 2014 yılında 17.417 örneğin 16.970'i akciğer örneği, 368'i plevra, 14'ü apse, 9'u biyopsi, 44'ü idrar, 7'si periton ve 5'i perikard örneğidir (Tablo 1).

Üç yıllık dönemde toplam 2853 (%4.6) örnekte ARB pozitifliği; 7611 (%12.2) örnekte kültürde üreme saptanmıştır. Toplam 535 (%7) tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) izole edilmiştir. 2012 yılında 295, 2013'te 21 ve 2014'te 40 olmak üzere ARB pozitifliği saptanan 356 örnekte kültürde üreme olmamıştır. Yayma negatif olduğu halde; 2012'de 2730 (%74.1), 2013'te 1482 (%67.9), 2014'te ise 902 (%51.7) örnekte olmak üzere toplam 5114 (%8.2) örnekte kültürde üreme olmuştur (Tablo 2). 2012 yılında işleme alınan 25.050 örnekten 3.682 (%14.7)'sinde, 2013 yılında 19.989 örnekten 2184 (%10.9)'ünde, 2014'te ise 17417 örnekten 1745 (%10)'ünde kültürde üreme olmuştur. L-J ve MGIT kültür üreme oranları Tablo-3'te belirtilmiştir.

Kontaminasyon oranları 2012'de L-J'de 685 (%2.7), MGIT'te 213 (%2.8); 2013'te L-J'de 467 (%2.7), MGIT'te 484 (%2.8); 2014'te L-J'de 459 (%2.6), MGIT'te 1013 (%5.8) olarak saptanmıştır.

Çalışmada kültür referans yöntem olarak alındığında, ARB boyama tekniklerinin duyarlılık, özgüllük, pozitif

ve negatif prediktif değerleri sırasıyla; 2012'te %25.8, %98.6, %76.3, %88.5; 2013'te %32.1, %99.9, %97.1, %92.3; 2014'de %48.3, %99.7, %95.5, %94.5 olmak üzere toplam 3 yıllık dönemde %32.8, %99.4, %87.5 ve %91.4 olarak bulunmuştur (Tablo 1-3).

TARTIŞMA

Tüberküloz insan sağlığını tehdit eden en eski hastalıklardan biridir. Erken tanı koyabilmek, aktif tüberküloz olguları tarafından hastalığın yayılımının engellenmesinde çok önemlidir.

Genel olarak tüberküloz tanısı için alınan örnekler başta balgam ve bronkoalveoler lavaj olmak üzere akciğer örnekleridir. Bunun yanında akciğer dışı örneklerden plevra sıvısı en sık alınan örnektir (8). Çalışmamızda örnekler incelendiğinde; 62.456 örneğin 60.923 (%97.5)'ünün akciğer örneği, 1533 (%2.5)'ünün ise başta plevra olmak üzere akciğer dışı örnek olduğu saptandı.

Tanı için; birçok yeni yöntem geliştirilmekle birlikte mikroskopik inceleme özellikle kısıtlı kaynaklara sahip ülkelerde tanıda değerini korumaktadır. Balgamın direkt bakışı kolay, hızlı ve ucuz bir teknik olmasına rağmen duyarlılığı düşüktür ve basil tespit

edebilme oranı %50-80 arasında değişmektedir (9). Duyarlılığı örneğin tipi, mikobakterinin türü, dekontaminasyon işleminin etkisi, boyama yöntemi, yaymanın kalınlığı ve preparatı inceleyen kişinin deneyimi etkilemektedir (10). Kültürün altın standart yöntem olarak alındığı çalışmamızda; ARB boyama tekniklerinin toplam duyarlılığı %32.8, özgüllüğü %99.4, pozitif prediktif değeri %87.5 ve negatif prediktif değeri %91.4 olarak bulunmuştur. Yıllara göre incelendiğinde ise 2012 yılında %25.8, 2013 yılında %32.1 ve 2014 yılında %48.3 olduğu görülmüştür. Annam ve arkadaşları yaptıkları çalışmada EZN ile ARB saptama oranını %44.11, floresan boyama ile ise %81 oranında bulmuşlardır (11). Özkütük ve arkadaşları çalışmalarında; mikroskopik incelemenin duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla tüm örnekler için %56.7 ve %98.7; akciğer örnekleri için %63.2 ve %98.6; akciğer dışı örnekler için ise %41.8 ve %99 olarak bulmuştur (12). Alışkan ve arkadaşları; ARB yönteminin duyarlılığını %50, özgüllüğünü %99.7 olarak saptamıştır (13). Duyarlılığın düşük olması yalancı negatiflik sebepleri olan; yetersiz kalite veya hacimde örnek alınması, yetersiz homojenizasyon sonucu yayma alanına basil düşmemesi, örneğin niteliksiz kısımdan yayma hazırlanması, çok ince

Tablo 1 . Örneklerin yıllara göre dağılımı

	2012	2013	2014
Akciğer örneği	24.505	19.448	16.970
Plevra	453	426	368
İdrar	47	62	44
Perikard	6	9	5
Periton	9	4	7
Apse	13	16	14
Biyopsi	7	11	9
Gaita	8	5	-
Beyin-omurilik sıvısı	-	5	-
Mide sıvısı	-	3	-
Toplam	25.050	19.989	17.417

Tablo 2. ARB boyama yöntemiyle kültür sonuçlarının karşılaştırılması

	Kültür		
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam n (%)
ARB boyama			
Pozitif n (%)	2497 (%4)	356 (%0.6)	2853 (%4.6)
Negatif n (%)	5114 (%8.2)	54.489 (%87.2)	59.603 (%95.4)
Toplam n (%)	7611 (%12.2)	54.845 (%87.8)	62.456 (%100)

ARB: Aside rezistan basil.

Tablo 3. Kültür üreme oranları

	TOPLAM kültür sayıları	Pozitif kültür sayısı (%)
2012		
L-J	24.979	2539 (%10.2)
MGIT	7569	1143 (%15.10)
L-J + MGIT	25.050	3682 (%14.7)
2013		
L-J	16.930	1956 (%11.6)
MGIT	13.926	1719 (%12.3)
L-J + MGIT	19.989	2184 (%10.9)
2014		
L-J	17.417	1745 (%10)
MGIT	17.411	1700 (%9.8)
L-J + MGIT	17.417	1745 (%10)

veya çok kalın yayma hazırlanması, boyaların uygun-suz oluşu, tespit süresi ve sıcaklığın uygun olmaması, uygunsuz boyama veya yanlış okuma ile ilişkilidir. Dolayısıyla sadece mikroskopik incelemenin yalnız başına yapılmasının yanlış sonuçlara sebep olabileceği, mutlaka kültür ile birlikte istenmesi gerektiği muhakkaktır (14). Çalışmamızda; örnekler 2013 yılından itibaren floresan boyama ile incelenmeye başlanmış, şüpheli bulunanlar EZN ile de boyanarak sonuç doğrulanmıştır. Floresan boyamanın daha duyarlı ve hızlı olması, ayrıca 2012 yılından sonra MGIT sıvı besiyeri kullanımının da artmasıyla yayma negatif olduğu halde üreme pozitif olan, ARB yalancı negatiflik oranının yıllara göre %74.1'den %51.7'e düştüğü gözlenmiştir.

Tüberkülozun klinik özelliklerinin ve epidemiyolojisinin değerlendirilmesinde; etkenin izolasyonu, tanımlanması ve ilaç duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için katı ve sıvı besiyerleri kullanılarak mikobakteri kültürü yapılması gerekmektedir (15). Mikobakterilerin klasik yöntemlerle üretilmesi, tür düzeyinde tanımlanması ve duyarlılık testlerinin sonuçlanması için ortalama 45-60 günlük süreye gereksinim duyulur (16). Pfyffer ve arkadaşları L-J ve MGIT yöntemlerinin ortalama mikobakteri saptama sürelerini MGIT için 15.3 gün, L-J için 23.9 gün olarak saptamışlar ve düşük insidanslı bölgelerde dahi MGIT ile dört haftalık bir inkübasyon süresinin bile negatif sonuç rapor edebilmek için yeterli olabileceğini belirtmişlerdir (17). Alışkan ve arkadaşları 6 yıllık sonuçlarını sundukları 6814 örnekle yaptıkları çalışmalarında kültür pozitifliğini L-J için %4.6, BACTEC 460TB için %5.4 olarak bulmuşlardır (13). Özbey ve

arkadaşları 2.5 yıllık verilerini sundukları çalışmalarında BACTEC MGIT 960 sistemi ile %7.44; L-J besiyeri ile %6.49 üreme saptanmıştır (18). Çalışmamızda mikobakteri kültür pozitifliği L-J için %10.5 ve MGIT için %11.6 olmak üzere toplam %12.2 olarak saptanmıştır.

Sıvı besiyeri bazlı otomatize sistemler ve L-J besiyerinde MTBC izolasyon oranları %74-98 arasında değişmektedir (19). MGIT ile L-J'nin karşılaştırmalı çalışmalarında, MGIT'in daha yüksek bir izolasyon oranına sahip olduğu gösterilmiştir (15). Rishi ve arkadaşları çalışmalarında MGIT ile %98.06 izolasyon oranına ulaşırken, L-J ile %63.95 pozitiflik saptamışlardır (20). 2012 yılında, sadece pozitif olma olasılığı yüksek olan, seçilmiş numunelerde MGIT sıvı besiyerinin kullanılması nedeniyle yüksek bir üreme oranı (%14.7) saptanmışken yıllar içerisinde MGIT'in aşamalı olarak her örnek için rutin kullanımı sonucunda üreme oranı 2013'de %12.3, 2014 yılında ise %9.8'e gerilediği görülmüştür.

Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi (UTTR)'inde kabul edilebilir kontaminasyon oranları katı besiyeri için %3-5, sıvı besiyeri için %5-10 olarak bildirilmiştir (14). Kontaminasyon oranları L-J için %2.7, MGIT için %3.8 olarak kabul edilebilir sınırlarda bulunmuştur. L-J besiyeri kontaminasyon oranları yıllar içinde değişkenlik göstermezken; MGIT için 2012 ve 2013'te %2.8 olan kontaminasyon oranının 2014'te %5.8 olduğu görülmüştür. Bunun üzerine çalışma yöntemleri baştan sona gözden geçirilmiş, üretici firma ile iletişime geçilerek kullanılan şişeler değiştirilmiştir. Kontaminasyon oranlarının her kurum tarafından dönemsel olarak takip edilmesi ve ani değişiklik saptandığında fark edilerek gerekli müdahalelerin yapılması mikobakteri laboratuvar kalitesinin sürdürülebilirliği açısından önemli bir parametredir.

Yayma pozitif olduğu halde 356 örnekte kültürde üreme olmamıştır. Yıllara göre değerlendirildiğinde; bu sayının 2012 yılında 295'ten 2013 yılında 21'e ve 2014'te 40'a düştüğü gözlenmiştir. 2013 yılının Nisan ayından sonra tüm örneklerin L-J ile birlikte MGIT besiyerine ekilerek mikobakteri izolasyon ihtimalinin artması, bu sayıdaki düşüşe sebep olarak değerlendirilebilir. UTTR'de belirtildiği üzere mikroskopi pozitifliğine göre kültürde üreme oranı %90'ın altında ise işlem basamakları mutlaka kontrol edilmelidir. Mikroskopide yalancı pozitifliğe; örneğin, çalışma ortamı ve donanımın veya boyaların kontaminasyonu, boyama işlemi sırasında çapraz bulaş olması, boya artıkları ve yetersiz renksizleştirme

işlemi neden olabileceği gibi değerlendirme sırasında ARB pozitif diğer yapıların görülmesi, immersiyon yağının çapraz bulaşı, mikroskop objektifinin kirlenmesi, yanlış okuma ve skorlama hataları da sebep olabilir. Dolayısıyla teknik personel eğitimi ve standart uygulama prosedürlerine uygunluğun kontrolü büyük önem taşımaktadır (14).

Sonuç olarak; üç yıllık döneme ait olan ve değişen uygulamaları da içeren verilerimiz incelendiğinde mikroskopinin duyarlılığının düşük olduğu ve tüberküloz enfeksiyonunu ekarte etmek için mutlaka mikobakteri kültürüyle birlikte değerlendirilmesi gerektiği görülmektedir. Örneklerimizin 2013 yılından itibaren floresan boyama ile incelenmeye başlanması, ayrıca 2013 yılından itibaren L-J ile birlikte MGIT sıvı besiyerinin de rutin kültürde kullanılmasıyla birlikte yayma negatif olduğu halde üreme pozitif olan, ARB yalancı negatiflik oranının yıllara göre %74.1'den %51.7'ye düştüğü gözlenmiştir. Toplam %12.2 olan yüksek mikobakteri kültür pozitifliği oranı, yeni başvuruların yanı sıra takip hastalarının sayısının da fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Tüberküloz laboratuvarlarının mikroskopi duyarlılığı, kültür pozitiflik oranları, yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik oranları ile kontaminasyon değerleri gibi verilerini takip etmeleri laboratuvar kalite standartlarına uygunluklarını değerlendirmek ve surveyans çalışmalarına katkı sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global Plan To Stop TB. 2011-2015 Available from: http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/tb_globalplantostoptb2011-2015.pdf
2. World Health organization. Global tuberculosis report, 2015. Erişim tarihi: 09 Ağustos 2016. Available from: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
3. World Health organization. Global tuberculosis report, 2015. Erişim Tarihi: 09 Ağustos 2016. Available from: https://extranet.who.int/sree/Reports?op=Replet&name=%2FWHO_HQ_Reports%2FG2%2FPROD%2FEXT%2FTB_CountryProfile&ISO2=TR&LAN=EN&outtype=html
4. Palomino JC. Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field. *Eur Respir J* 2005;26:339-50.
5. Baylan O. Tüberkülozun kültüre dayalı tanı yöntemleri. *Mikrobiyol Bul* 2005;39:107-24.
6. Kurtoğlu MG, Özdemir M, Keşli R, Özkalp B, Baysal B. Tüberküloz şüpheli hastalardan *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolasyon oranı ve suçların BACTEC TM NAP ve immünokromatografik TB Ag MPT64 RapidTM testleri ile tanımlanması. *Mikrobiyol Bul* 2011;45:266-73.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Erişim tarihi: 11 Mayıs 2016. Available from: http://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/corecurr_all.pdf
8. Fitzgerald DW, Sterling TR, Haas DW. *Mycobacterium tuberculosis*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 2010, 7th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia. pp: 3129-316.
9. Öztürk S, İlvan A, Öztürkeri H, Kocabeyoğlu Ö, Bozkanat E, Kartaloğlu Z ve ark. Balgamdan *Mycobacterium tuberculosis* izolasyonunda *Mycobacteria Growth indicator tube* (MGIT) yönteminin değeri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2001;49:101-7.
10. Abdulmajed O, Koç AN, Gültekin A, Atalay MA, Kılıç H. Klinik örneklerden mikobakteri türlerinin izolasyonunda klasik tanı yöntemlerin karşılaştırılması ve primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının belirlenmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2012;21:127-35.
11. Annam V, Kulkarni MH, RB Puranik. Comparison of the modified florescent method and conventional Ziehl-Neelsen method in the detection of acid fast bacilli in lymphnodeaspirates. *Cytojournal* 2009;6:13.
12. Özkütük N, Sürücüoğlu S. Orta prevalanslı bölgede akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısında Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2014;48:223-32.
13. Alışkan HE, Bostanoğlu E, Turunç T, Çolakoğlu Ş, Demiroğlu YZ, Kurşun E ve ark. Retrospektif olarak tüberküloz laboratuvarının altı yıllık sonuçları ve antimikobakteriyel ilaçlara direnç oranları. *Türk Toraks Derg* 2013;14:53-8.
14. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi (UTTR). T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara-2014.
15. Kaur KP, Arora B. Enhanced diagnostic yield of Auramine-O staining and mycobacteria growth indicator tube over Ziehl-Neelsen staining and Lowenstein Jensen media in extra-pulmonary tuberculosis. *Journal of evolution of Medical and Dental Sciences* 2014;3:7787-91.
16. Sanıç A. Tüberküloz tanısında moleküler yöntemlerin yeri. *ANKEM Derg* 2007;21:81-5.
17. Pfyffer GE, Wittwer F. Incubation Time of Mycobacterial cultures: how long is long enough to issue a final negative report to the clinician? *J Clin Microbiol* 2012;50:4188-9.
18. Özbey N, Akçalı A, Tatman-Otkun M. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi 2009-2011 yılı tüberküloz laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2012;69:149-54.
19. Drobniowski FA, Caws M, Gibson A, Young D. Modern laboratory diagnosis of tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2003;3:141-7.
20. Rishi S, Sinha P, Malhotra B, Pal N. A comparative study for the detection of mycobacteria by bactec MGIT 960, lowenstein jensen media and direct AFB smear examination. *Indian J Med Microbiol* 2007;25:383-6.