

Tersiyer referans hastanesinde *Mycobacterium tuberculosis* izolasyon sıklığı ve dört major anti-tüberküloz ilaca karşı duyarlılık durumu

Isolation frequency of Mycobacterium tuberculosis in tertiary reference hospital and their susceptibility patterns against four major anti-tuberculosis drugs

Meral Saygun¹, J. Sedef Göçmen², Aytül Çakmak¹, Aydanur Ekici³, Altan Aksoy⁴, Tevfik Pınar¹,
Teoman Apan⁴, Latife İşeri Abut⁴

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD, Kırıkkale, Türkiye

² Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ankara, Türkiye

³ Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, Kırıkkale, Türkiye

⁴ Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Kırıkkale, Türkiye

ÖZET

Amaç: Tüberküloz hastalığında, basilin kısa sürede saptanması ve izolatın anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılığının belirlenmesi, tedavi için çok önemlidir. Bu amaçla şüpheli hasta örneklerinin farklı iki yöntemle kültürü yapılmış ve üreme saptanan örneklerde anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılık testi sonuçları irdelenmiştir.

Gereç ve yöntem: Çalışmada hasta örnekleri homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden sonra Zielh-Neelsen boyası ile boyandı. Her bir örnek Lowenstein-Jensen (LJ) ve Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) besiyerlerine inoküle edildi. İnkübasyon periyodunu takiben üreme saptanan örneklerdeki basillerin dört majör anti-tüberküloz ilaca karşı duyarlılıkları araştırıldı.

Bulgular: Çalışmada 2007-2010 yılları arasında 163 farklı hastadan alınan örnekler değerlendirildi. Tüm örneklerde; Aside Dirençli Basil (ARB) pozitifliğinin 7 (%4.0), MGIT pozitifliğinin 6 (%3.5), LJ pozitifliğinin 7 (%4.0) olduğu tespit edildi. MGIT yöntemi tüberküloz basillerini LJ yöntemine göre belirgin olarak daha kısa sürede saptadı. İzole edilen bütün suşların dört major anti-tüberküloz ilaca duyarlı olduğu bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda; MGIT yönteminin tüberküloz basiliğini belirlemede LJ kültürüne belirgin şekilde üstünlük sağladığı saptandı ve üreyen suşlarda anti-tüberküloz ilaçlara karşı direnç belirlenmedi.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, kültür teknikleri, ilaç direnci

ABSTRACT

Objectives: As soon as possible to detection of tuberculosis bacilli and to determination of their anti-tuberculosis drug susceptibilities are very important for an optimal anti-tuberculosis therapy. Therefore, two different culture methods in suspected patient samples were performed. The results of anti-tuberculosis drug susceptibility testing of culture positive samples were examined.

Materials and methods: Following the homogenization and decontamination processes, patient's samples were stained with Ziehl-Neelsen dye and each preparation were inoculated separately onto Lowenstein-Jensen (LJ) and into Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) media. After incubation period, drug susceptibilities of bacillus in culture positive samples against four major anti-tuberculosis drugs were investigated.

Results: The samples obtained from 163 different patients between 2007 and 2010 years were evaluated. In all samples, it was determined that positivity of Acid Resistant Bacillus (ARB), MGIT and LJ media were 7 (4.0%), 6 (3.5%) and 7 (4.0%), respectively. MGIT method was demonstrated significantly earlier growth than LJ method the tuberculosis bacillus. All isolates were found to be sensitive to four major anti-tuberculosis drugs.

Conclusion: In our study, MGIT method was found to be superior to LJ media because of its quick result and drug resistance was not determined in all isolates. *J Clin Exp Invest* 2012; 3(2): 240-244

Key words: Tuberculosis, culture techniques, drug resistance

Correspondence: Dr. Jülide Sedef Göçmen

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Bağlıca, Ankara Türkiye Email: jsedef@yahoo.com

Received: 29.04.2012, Accepted: 18.05.2012

Copyright © JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 2012, All rights reserved

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Tüberkülozun yıllık insidansı 100.000'de 25'den az olan ülkeleri düşük, 25-100 arası olanları orta ve 100'den fazla olan ülkeleri yüksek insidanslı olarak kabul etmektedir. Buna göre Türkiye orta riskli ülkeler grubundadır. Ülkemiz tüm Avrupa ülkeleri içerisinde Rusya Federasyonu, Ukrayna, Romanya ve Kazakistan'dan sonra beşinci sırada gelmektedir. Adı geçen bu ülkeler DSÖ verilerine göre yüksek riskli ülkeler grubunda yer almaktadır. Bu ülkelerde doğrudan gözlemlenilen tedavi (Directly Observed Treatment) [DGT] stratejisi uygulanmaktadır.^{1,2}

Tüberküloz hastalığı her ülke ve toplum için önemlidir. Türkiye'de 1950 sonrasında uygulamaya başlanan etkili tüberküloz kontrol programı, son yıllarda hızını kaybetmiştir. Ülkemizde tüberkülozla ilgili yeterli ve geniş epidemiyolojik çalışmalar yapılmadığından elde edilen veriler çok sınırlıdır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre Türkiye'de 12-15 milyon kişinin tüberkülozla enfekte olduğu ve her yıl 30-40 bin yeni hastanın ortaya çıktığı tahmin edilmektedir.^{3,4,5} Ayrıca mikroorganizmanın ilaçlara karşı direnci de dünya çapında dikkati çeken ve hastalığın tedavisini zorlaştıran bir durum olarak karşımıza çıkmıştır.^{6,7} Primer ve sekonder direnç yanı sıra çoklu ilaç dirençli tüberküloz olgularının varlığı tedaviyi daha da zorlaştırmaktadır.⁸ Bu nedenle bir toplumdaki tüberküloz görülme sıklığının ve direnç yüzdelerinin bilinmesi başlangıç tedavisinin ve ileri dönemdeki tedavi protokollerinin belirlenmesinde çok önemlidir.⁸

Tüberkülozun tanısında kullanılmakta olan konvansiyonel kültür yöntemlerinin uzun zaman alması, kısa sürede sonuç veren yöntemlerin ise yüksek maliyetli olması sorun teşkil etmektedir. Araştırmalar, tüberküloz sorununun etkin kontrolü için hızlı, ucuz, duyarlı ve güvenilir yeni tanı yöntemlerini geliştirmek amacıyla artarak devam etmektedir.⁹

Tüberkülozda tanı yöntemleri arasında giren *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT) yöntemi ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır.⁹⁻¹⁵ MGIT yönteminin izolasyon süresini kısaltması ve hemen hemen bütün önemli mikobakteri türlerinde doğru tanı koymayı sağlaması, onu değerli bir tanı yöntemi haline getirmiştir.^{16,17}

Çalışmamızda, hastalar ve semptomlu temaslılardan alınan örneklerde *Mycobacterium tuberculosis*'in iki farklı yöntemle saptanması ve iki farklı yöntemle dört majör anti-tüberküloz ilaca karşı direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Haziran 2007-Haziran 2010 tarihleri arasında, 163 farklı hastadan alınan örneklerden yapılan 173 kültür incelenmiştir. Araştırma için Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alınmıştır. Alınan örnekler N-asetil-L-sistein-sodyum hidroksit (NALC-NaOH) ile homojenize-dekontamine ve konsantre edildikten sonra konsantre (teksif) yayma preparatı ve besiyelerine ekim yapmaya hazır hale getirilmiştir. Örnekler mikroskopik inceleme için, homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden sonra yayma preparatı hazırlanarak Zielh-Neelsen boyası ile boyanmıştır. Daha sonra her örnekten LJ (100 µl) ve MGIT (500 µl) besiyelerine ikişer ekim yapılmıştır.

İnoküle edilen besiyeleri 37°C'de inkübasyona bırakılmış olup LJ besiyeleri inkübasyondan 7-10 gün sonra, MGIT tüpleri inkübasyondan 2 gün sonra başlayarak 8 hafta süre ile üreme açısından kontrol edilmiştir. LJ besiyesinde makroskopik olarak koloni oluşumu, MGIT tüpünde 365 nm dalga boyunda okuma (kalibrasyon tüpü ile ayarlanarak) ile üremenin pozitif olduğu tüplerden Zielh-Neelsen yöntemi ile boyalı preparat hazırlanmış, kontrol boyamasından sonra MGIT tüpünden LJ besiyesine kontrol amaçlı subkültürler yapılmıştır.

Zielh-Neelsen yöntemi ile boyama, besiyelerinde üreme hızları, koloni morfolojileri, pigment oluşturmaları, niasin, nitrat ve katalaz testlerinin sonuçlarına göre izolatlar tanımlanmış ve izoniya-zit (İNH), streptomisin, rifampisin, etambutol olmak üzere dört majör anti-tüberküloz ilaca karşı duyarlılıkları BACTEC MGIT 960 SIRE kitiyle ve proporsiyon yöntemi ile LJ besiyesinde belirlenmiştir.

Elde edilen veri, SPSS 10.0 istatistik programı ile değerlendirilmiş ve analizler sırasında, kültür yöntemlerindeki izolasyon yüzdelerinin karşılaştırılmasında McNemar testi, izolasyon sürelerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, örnek sayısı artışı ile kültür pozitifliğinin karşılaştırılmasında Fisher's exact testi kullanılmış ve ayrıca MGIT yönteminin duyarlılık ve seçicilik yüzdeleri hesaplanmıştır.

BULGULAR

Farklı 163 hastadan toplam 173 örnek (%75.1'i balgam, %8.1'i bronko-alveoler lavaj sıvısı, %4.6'sı plevra sıvısı) alınmıştır. Hastaların sevk edildikleri klinikleri incelediğimizde; %67.1'inin göğüs hastalıkları, %5.8'inin alerji, %3.5'inin enfeksiyon hastalıkları, %2.3'ünün göz hastalıkları, %2.3'ünün kadın hastalıkları ve doğum, %2.3'ünün dahiliye ve

%2.3'ünün fizik tedavi kliniklerinden sevk edildikleri belirlenmiştir.

Örneklerin kaç kez alındığını incelediğimizde, %60.1'inin bir kez, %16.8'inin iki kez, %16.8'inin üç kez, %3.5'inin beş kez, %2.9'unun altı kez alındığı görülmüştür. Örnek sayısı artışı ile kültür pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir. Tüm örneklerin; 7'sinde (%4.0) ARB pozitifliği, 6'sında (%3.5) MGIT pozitifliği ve 7'sinde (%4.0) LJ pozitifliği saptanmıştır. MGIT yöntemi ile kültür pozitif olan 6 kişinin tamamı LJ yöntemi ile de pozitif (Tablo 1). Aynı kişilerdeki ARB pozitifliği %50'di. LJ yöntemi ile kültür pozitif olan 7 kişinin 6'sı MGIT yöntemi ile de pozitif, aynı kişilerdeki ARB pozitifliği ise %57.1 olarak tespit edildi.

İki kültür yönteminin izolasyon yüzdeleri karşılaştırıldığında; LJ ve MGIT arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. ARB negatif örneklerde, LJ ve MGIT yöntemleri ile izolasyon yüzdesinin %1.8 (n=3) olduğu saptanmıştır. ARB pozitif örneklerde ise LJ izolasyon yüzdesi %57.1 (n=4) iken, MGIT izolasyon yüzdesi %42.9 (n=3) olarak belirlenmiş ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

MGIT yöntemi ile kültür pozitif olan 6 örneğin türü incelendiğinde; beşinin (%83.3) balgam ve birinin (%16.7) yara yeri sürüntüsü olduğu tespit edilmiştir. LJ yöntemi ile kültür pozitif olan 7 örneğin türü incelendiğinde; beşinin (%71.4) balgam, birinin (%14.3) yara yeri sürüntüsü ve birinin (%14.3) bronko-alveoler lavaj sıvısı olduğu belirlenmiştir.

MGIT yöntemi ile kültür pozitif olan 6 örneğin ve LJ yöntemi ile kültür pozitif olan 7 örneğin izoniazid, etambutol, rifampisin ve streptomisine karşı duyarlı oldukları saptanmıştır.

Çalışma sonucunda; 173 örnekten 7'si LJ besiyerinde pozitif, 166'sı negatif bulunmuştur. MGIT kültür ortamında ise 6 örnek pozitif 167 örnek negatif olarak saptanmıştır MGIT besiyerinde pozitif bulunan 6 örneğin tamamı LJ ortamında da pozitif. MGIT besiyerinde negatif bulunan 167 örneğin, 166'sı LJ kültüründe de negatif olarak saptanmıştır. Bir örnek ise MGIT besiyerinde negatif iken LJ kültüründe pozitif olarak saptanmış, 173 örneğin tümü göz önüne alındığında; sadece bir örnekte LJ besiyeri ile MGIT kültürü arasında farklılık belirlenmiştir. Bir testin gerçek olgular arasında olguları yakalayabilme gücü olan duyarlılık 0.857, bir testin gerçek sağlamlar arasında sağlamları yakalayabilme gücü olan seçicilik ise 1 olarak saptanmıştır.

MGIT ve LJ yöntemleri ile kültür pozitif olan 6 örnekteki üreme süreleri incelendiğinde; MGIT yöntemi ile üreme süresi ortalaması 13.00 ± 1.73 (12-

116) gün, LJ yöntemi ile üreme süresi ortalaması 30.16 ± 9.92 (18-42) gün olarak saptanmıştır (Tablo 2). Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılarak, iki besiyeri arasında mikobakteri üreme süreleri açısından fark olup olmadığı test edilmiş ve LJ besiyeri ile MGIT yöntemi arasında mikobakteri saptama süresi açısından istatistiksel olarak önemli fark olduğu sonucuna ulaşılmıştır ($z=-2.023$, $p=0.043$). ARB pozitif ve negatif örneklerin izolasyon süreleri ayrı kendi içlerinde kültür yöntemlerine göre karşılaştırıldığında, LJ besiyerinde izolasyon sürelerinin hem ARB pozitif hem de negatif örneklerde MGIT besiyerine göre daha uzun olduğu gözlenmiş ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

İzolatların tamamının; üreme zamanı, koloni morfolojisi, rengi, katalaz testi, nitrat redüksiyonu ve niasin testlerinin sonuçlarına göre M. tuberculosis olduğu tanımlanmıştır. İdentifiye edilen suşların olmak üzere dört major anti-tüberküloz ilaca (izoniazid (INH), streptomisin, rifampisin ve etambutol) karşı her iki yöntemle de duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Tablo 1. Hastaların ARB ve kültür sonuçları

Sonuç	ARB n (%)	LJ n (%)	MGIT n (%)
Pozitif	7 (4.0)	7 (4.0)	6 (3.5)
Negatif	166 (96.0)	166 (96.0)	167 (96.5)
Toplam	173 (100)	173 (100)	173 (100)

ARB: Aside dirençli basil; LJ: Lowenstein-Jensen besiyeri; MGIT: Mycobacterium Growth Indicator Tube

Tablo 2. Kültür çalışmalarında mikobakteri izolasyon süreleri (gün)

Yöntem	Toplam Ort ± SD (min-max)	ARB (+) Ort ± SD (min-max)	ARB (-) Ort ± SD (min-max)
LJ	30.16 ± 9.92 (18-42)	22.33 ± 5.85 (18-29)	38.00 ± 5.29 (32-42)
MGIT	13.00 ± 1.73 (12-116)	12.33 ± 0.57 (12-13)	14.00 ± 2.82 (12-16)

ARB: Aside dirençli basil; LJ: Lowenstein-Jensen besiyeri; MGIT: Mycobacterium Growth Indicator Tube

TARTIŞMA

Tüberküloz sahip olduğu ilerleyici ve yıkıcı kliniği, yol açtığı iş gücü kaybı, morbidite ve mortalite nedeni ile toplumların en önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. Tüberküloz yirmi birinci yüzyılda hala varlığını devam ettirmektedir.¹⁸ Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünya ülkelerini üç gruba ayırmış

ve Türkiye'yi %0.5-1.5 yıllık enfeksiyon risk oranı ve 100.000'de 25-100 tüberküloz insidansı olan 2. grup ülkeler arasına almıştır.¹⁹

Günümüzde tüberküloz tanısında kullanılmakta olan kültür ve diğer tanı yöntemleri bazı durumlarda yetersiz kalabilmektedir. Bazı yöntemlerin süresi uzun, bazılarının duyarlılığı ve özgüllüğü düşük, bazılarının ise maliyeti yüksektir. Gelişmiş ülkeler tüberkülozun etkin kontrolü için hızlı, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, ekonomik ve güvenilir yeni tanı yöntemleri geliştirmek amacıyla çalışmalarını hızlandırmışlardır.⁹⁻¹¹

Tüberküloz tanı yöntemleri arasında yer alan BACTEC 460 (B460), polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve MGIT yöntemlerinin kullanım ve sonuçlarının karşılaştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır.^{9,10,12-15} Öztürk ve ark. 118 balgam örneğini inceledikleri çalışmada B460, MGIT ve LJ yöntemlerini karşılaştırmışlar, sonuç olarak özellikle izolasyon süresindeki kısalık nedeni ile MGIT'nin pozitifliği kısa sürede belirleyen bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca cihaz ve ekipman gerektirmemesi, kolay uygulanabilir olması nedeni ile günümüzde tanı yöntemi ve direnç testi tespitinde kullanılabilirliğini de vurgulamışlardır.⁹ MGIT yönteminin izolasyon süresini kısaltması ve hemen hemen bütün önemli mikobakteri türlerinde doğru tanı koymayı sağlaması onu değerli hale getirmiştir.^{16,17} Konya ilinde 1621 hasta örneğinde yapılan bir çalışmada MGIT besiyerinde üreme zamanının kısaltıldığı, bu durumun umut verici olduğu fakat doğru sonuç verebilmek için MGIT ve LJ kültür ortamlarının birlikte değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir.²⁰

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaç sayısının kısıtlı olması ve tedavide kullanılmakta olan ilaçların bazılarında direnç gelişmesi önemli bir sorundur. Bu durum tüberkülozun tedavisini zorlaştırmaktadır.^{6,7} Tüberkülozun önemli bir halk sağlığı problemi olduğu gerçeğinden hareketle, primer, sekonder ve de çoklu ilaç direnci oranlarının bilinmesi tedavinin başlangıcında ve tedavi sürecinde, yeterli ve uygun tedavi protokollerinin belirlenmesinde yol gösterici nitelik taşımaktadır.⁸

Mycobacterium tuberculosis'in neden olduğu tüberkülozun tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı in vitro duyarlılık ve direnç oranlarının saptandığı çok sayıda araştırma mevcuttur.^{21,22} Türkiye'de yapılan çok merkezli verilerin irdelendiği bir çalışmada; tüberkülozda primer çoklu ilaç direnç (ÇİD) oranı %3.6, sekonder ÇİD oranı %17.3 olarak belirtilirken, farklı iki çalışmada primer streptomisin direnci %23 ve %10.2, sekonder streptomisin direnci ise %33.9 ve %24.4 olarak saptanmıştır.^{23,24,25}

Sonuç olarak konvansiyonel yöntem olan LJ kültürü ile MGIT yöntemi karşılaştırılmış ve MGIT yönteminin tüberküloz basiliyi belirlemede gün sayısı olarak belirgin şekilde üstünlük sağladığı saptanmıştır. Ayrıca çalışmamızda ilaçlara direnç saptanmamıştır. Bunun nedeni; KÜTF polikliniğine başvuran hastaların bir polikliniğe ilk defa başvuruyor olması, daha önce herhangi bir tedavi görmemiş olmaları ve dirençli suşlarla karşılaşmadıkları şeklinde açıklanabilir.

Not: Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2006/38.

KAYNAKLAR

1. Kılıçaslan Z. Dünyada ve Türkiye'de tüberküloz. *Ankem Derg* 2007;21(1):76-80.
2. www.euro.who.int/document/CSR/CD_news_30.pdf
3. Karagöz T, Arda H, Erboğan T, Kılıçaslan Z, Çağlar E, Erem R. İstanbul Dispanserleri Çalışmalarının Yeni Akciğer Tüberkülozlu Olguların Tanı-Tedavi ve Takip İşlemleri Açısından Değerlendirilmesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2000;48(2):128-35.
4. Bilgiç H. Tüberküloz epidemiyolojisi. Kocabaş A. Tüberküloz kliniği ve kontrolü. Ankara Emel Matbaası 1991:401-37.
5. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı, 2011 Raporu, Fersa Ofset, Ankara 2011:1-132.
6. The Global Plan to Stop TB: 2011-2015. Stop TB Partnership. October 2010. Global tuberculosis control: WHO report 2011. Geneva, World Health Organization, 2011 (WHO/HTM/TB/2011.16)
7. Koşar F, Ayereci C, Altın S. Tüberkülozda direnç sorunu. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1996;44(2):54-9.
8. Uçan ES. Türkiye'de anti-tüberküloz ilaçlara direnç sorunu. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1994;42(3):219-30.
9. Öztürk S, İlvan A, Öztürkeri H. Balgamdan *Mycobacterium tuberculosis* izolasyonunda Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) yönteminin değeri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2001;49(1):101-7.
10. Rivera AB, Tupasi TE, Grimaldo ER, Cardano RC, Co VM. Rapid and improved recovery rate of *Mycobacterium tuberculosis* in Mycobacteria Growth Indicator Tube combined with solid Lowenstein-Jensen medium. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1(3):454-9.
11. Muz MH, Turgut T, Muz A. Akciğer Tüberkülozunda Balgam Numunelerinden *Mycobacterium tuberculosis*'in direkt Mikroskopi, Kültür ve PCR ile Saptanması. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2000;48(1):5-11.
12. Hanna BA, Walters SB, Bonk SJ, Tick LJ. Recovery of Mycobacteria from blood in MGIT and L. Jensen slant after lysis centrifugation. *J Clin Microbiol* 1995;33(12):3315-6.

13. Palaci M, Ueki SYM, Nakamura S, Telles MA, Curcio M, Silva EM. Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube for Recovery and Drug Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Respiratory Specimens. *J Clin Microbiol* 1996;34(6):762-4.
14. Sanders CA, Nieda RR, Desmond EP. Validation of the use of Middlebrook 7H10 agar, BACTEC MGIT 960, and BACTEC 460 12B media for testing the susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to levofloxacin. *J Clin Microbiol* 2004;42(11):5225-8.
15. Abe C. Standardization of laboratory tests for tuberculosis and their proficiency testing. *Kekkaku* 2003;78(8):541-51.
16. Scarparo C, Ricordi P, Ruggiero G, Piccoli P. Evaluation of the fully automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide, streptomycin, isoniazid, rifampin, and ethambutol and comparison with the radiometric BACTEC 460TB method. *J Clin Microbiol* 2004;42(3):1109-14.
17. Cruciani M, Scarparo C, Malena M, Bosco O, Serpelloni G, Mengoli C. Meta-Analysis of BACTEC MGIT 960 and BACTEC 460 TB, with or without Solid Media, for dDetection of Mycobacteria. *J Clin Microbiol* 2004;42(5):2321-5.
18. Dannerberg A, Joseph E. Pathogenesis of pulmonary tuberculosis. In: Fishman A, Elias J, Fishman J et al (eds). *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. New York: Mc Graw-Hill Companies, 1998:2447-71.
19. Raviglione MC, Snider DE, Kochi A. Global epidemiology of Tuberculosis. *JAMA* 1995;273(2):220-6.
20. Kurtoğlu MG, Yüksekaya Ş, Özdemir M, Baysal B. Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Mikobakteriyoloji Laboratuvarında Direkt Preparat ve Kültür Sonuçlarının Karşılaştırılması. *Selçuk Üniv Tıp Derg* 2011;27(2):69-72.
21. İşitez M, Çetinkaya Z, Altındiş M, Çiftçi İH. Afyon bölgesinde Löwenstein-Jensen, Bactec ve TK Medium yöntemleri ile izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının dört major ilaca karşı dirençlerinin belirlenmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004;5:45-8.
22. Ökten F, Ertürk A, Mutlu A. *Mycobacterium Tuberculosis*'in Streptomisin, Kanamisin ve Amikasinine karşı in vitro duyarlılığı ve bu ilaçlar arasındaki çapraz direnç ilişkisi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2002;50(1):45-7.
23. Şipit YT, Çalışır HC. Tüberkülozda ilaç direnci ve Türkiye. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1998;46:4-11.
24. Sevim T, Ataç G, Hatipoğlu T. 1993-1995 yıllarında hastanemizde yatan 2161 akciğer tüberkülozlu olgunun primer ve sekonder ilaç direnci oranları. *Solunum Hastalıkları* 1999;10(2):231-7.
25. Oğul Ç, Gür A, Özdemir A. Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesinde 1995-1997 yılları arasında yatan tüberküloz olgularında primer ve sekonder direnç oranları. *Solunum Hastalıkları* 1999;10(2):238-44.