

# Tüberküloz'da Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri

Mustafa Samastı

## Bakteriyolojik çalışmalar

Tüberküloz teşhisi için başvuru alan bakteriyolojik çalışmalar sırasıyla hastada mikobakteri tespit ve izolasyonu, tür tayini, ilaç hassasiyeti ve tedavi sonucunun belirlenmesi konularını kapsamaktadır (20, 25).

Klinik bir örnekten aside dirençli bakterilerin elde edilmesi tüberküloz teşhisi için yeterli değildir. *Mycobacterium tuberculosis* dışında halen 50'yi aşkın mikobakteri türü bulunmakta ve bunların 30 kadarı çeşitli klinik hastalıklarla ilişkiler gösterebilmektedir (20, 25, 29). Tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonlarında genel bir artış dikkati çekmektedir (14, 16, 24). Bu durumun oluşmasında tüberküloz insidensinin azalması yanında immünoşüpressif tedavi, kanser kemoterapisi, transplantasyonlar, tecrübe ve teknik imkanların artmasının önemli rolü vardır. Sınırlı çalışmalar yurdumuzda da böyle bir artış olduğunu göstermektedir (5, 6, 10). Tüberküloz dışı mikobakteri infeksiyonları epidemiyoloji, patogenezi ve tedavi bakımından tüberkülozdan önemli farklar gösterirler. Bunlar klinik olarak tüberkülozdan ayrılamayan ve ancak kültürle etkenin identifikasyonu ile teşhis edilebilen infeksiyonlardır. Genel olarak majör anti-tüberküloz ilaçlara dirençlidirler ve bu durum türler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle uygun tedavi için tür tayininin büyük önemi vardır (22).

Klinik numunelerde *M. tuberculosis*'in bulunuşu patolojik bir bulgu olduğu halde diğerleri için durum her zaman böyle değildir. Bunlar tabiatla yaygın olduklarından numunelerde kontaminant veya saprofit olarak bulunabilmektedirler. Bu bakımdan böyle bir bakterinin izolasyonunda çabuk karar vermemek gerekir. Infeksiyona karar vermede bakteri sayısı, hastalık bulguları, aynı türün tekrar tekrar izolasyonu, kapalı bir lezyondan aseptik şartlarda alınan örnekten mikobakteri elde edilişi gibi kriterler ele alınmalıdır (4).

## Materyel alınışı

Materyellerde genellikle karışık bakteri florası bulunuşu mikobakteri elde etmedeki en önemli problemdir. Bu problemi kısmen azaltmak için steril kaplara uygun şekilde taze örnek alınmalı, hemen çalışılmayacaksa buzdolabında tutulmalıdır. Materyel alma metodları kontaminasyonu azaltacak şekilde olmalıdır. Teşhisin başarılı olması materyelin uygunluğuna bağlıdır.

Balgam örnekleri sabah erkenden 3 gün üst üste alınmalı veya 24 saatlik balgam kullanılmalıdır. Sabah balgamının daha az kontaminant bakteri ihtiva ettiği ve aynı zamanda mikobakterilerin daha erken ürediği bildirilmektedir (25). Bronştan yeni gelen, ağız ve burun sekresyonlarıyla karışmamış balgam tercih edilmelidir (19, 20). Spontan bal-

gam çıkaramayanlarda % 10 sıcak tuzlu su veya % 10 gliserin ve % 15 tuzlu su ile acerasyon yararlı olmaktadır (3). Çocuklarda ve balgam çıkaramayanlarda mide lavajı yapılır. Bunun sabah kahvaltudan önce yapılması uygundur. Numune çalışılmadan 1 saatten fazla bekleyecekse karbonat veya bir diğer alkali ilavesiyle nötralize edilmelidir (19, 20).

Üriner tüberküloz teşhisi için sabah erkenden alınan orta idrarlar tercih edilir. Genellikle 3-5 örnek alınır. 24 saatlik idrar pek tavsiye edilmemektedir (19, 20, 26).

Cerahat numuneleri aktif bakterilerin bulunma ihtimalinin fazla olduğu duvar kısımlarından aspirasyonla alınmalıdır (27). Mikobakterilerin fazla lipidli yapıları nedeniyle özgül ağırlıkları buldukları vücut sıvılarına yakındır. Bu nedenle cerahat, plevra sıvısı gibi materyellerin steril fizyolojik tuzlu su veya tamponla sulandırılmaları yoğunluğu azaltarak mikobakterilerin sedimentasyon oranını arttırmaktadır. Drene olan sinüslerden eküvyonla materyel alınabilir. Hidrofob özellikleri nedeniyle mikobakterileri eküvyondan besiyerine aktarmak zor olabilir. Eküvyonun besiyerine yerleştirilerek temas yüzeyinde üreme sağlanmasının iyi sonuç verdiği bildirilmektedir (19, 20).

Beyin-omurilik sıvısı (BOS) santrifüj edildikten sonra besiyerlerine ekilir. Sedimentten bir damla lama konur. Kuruduktan sonra üzerine ikinci damla konur ve kurutulur. Böylece birkaç tabaka materyel konması az sayıdaki basilin bulunuşunu kolaylaştırır (4). BOS'ta zar oluşmuşsa parçalara ayrılarak besiyerlerine ekilmeli ve bir parça mikroskop muayenesi için ayrılmalıdır. BOS delik çapı 0.45 mikrometre membran filtreden geçirilerek bakteriler toplanabilir ve filtre kesilerek besiyerlerine konabilir (20).

Biopsi ve otopsi sonucu alınan doku parçaları, küçük parçalara ayrıldıktan sonra steril kumla havanda ezilerek homojen hale getirilebilirler (19).

Dışkı, rutin olarak kullanılan bir örnek olmamakla birlikte AIDS'li hastalarda *M. avium-intracellulare* tespiti için oldukça yararlı olmaktadır. Bu hastaların dışkıında bol miktarda basil bulunmakta ve direkt yapılan preparatlarda kolayca görülebilmektedir. Yapılan yaymada aside dirençli bakteri görüldüğünde kültür yapılması tavsiye edilmektedir. Bunun için eküvyonla alınan materyelin 5 ml kadar Dubos albuminli besiyerinde süspansiyon yapılarak bir gece inkübasyondan sonra balgam gibi çalışılması önerilmektedir (11, 23, 28).

## Mikroskop muayenesi

Mikroskopta görülebilmek için balgamın ml'sinde 10 000 kadar bakteri bulunması gerektiği tahmin edilmektedir (19). Mikobakterilerin aside dirençliliği mikroskopik incelemeye primer önem kazandırmaktadır. Gerek klasik Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi, gerekse florokrom boyama aynı özelliği (asit alkolle muameleden sonra bakterilerin boyalı kalması) ortaya çıkarmaktadır. Mikroskopik inceleme yeni vakaların tespiti, tedavi sonucunun izlenmesi, kültürlerin aside direnç tayininde yardımcı olmaktadır. Ayrıca tedaviye başlandıktan sonra hastaneden

çıkarmanın bir kriteri olarak kullanılabilir. Tedaviye başlandıktan sonra yaymadan önce kültür negatifleşir. Tedavideki hastada boyanan bakterilerin hepsi canlı değildir. Sayıda azalma olmaması ilaç direncini düşündürür.

Preparat hazırlamada örneğin uygun kısımlarının (irinli, nekrozlu taneciklerin) dikkatle seçilmesi bazen konsantrasyondan iyi sonuç verebilir. Bakteri sayısının az olduğu halde kültürde bakteri ürediği halde yayma negatif kalabilir (20).

Hastada tüberküloz bulunduğu halde bakterilerin aside direnç özelliğinin bulunmaması nedeniyle bakteri tespit edilemez. Bilindiği gibi aside direnç mikobakterilerin duvar yapılarıyla ilgili bir özelliktir. Duvarsız L şekillerinde bu özellik bulunmamaktadır. Bazı genç bakterilerin aside dirençsiz olabildikleri bilinmektedir. Besiyerine konan bazı maddeler bakterilerin aside dirençli olmalarını bozabilir. 1907'de Much, verem mikroplarının aside dirençli olmayan şekillerinin bulunduğunu, veremli organlarda bazen yalnız bunlara rastlanabildiğini ve bunların virülanlı olduklarını bildirmiştir (23).

Bazen aside dirençli artefaktların basilden ayrılması zorluk gösterir. Bu nedenle çok az aside dirençli bakteri görülmesi şüpheli olarak bildirilmeli ve incelemenin tekrarlanması tavsiye edilmelidir. Kristaller, toz, elyaf gibi maddeler sık görülebilen aside dirençli artefaktlardır (25).

Mikobakterilerin lezyonlardan düzensiz salınımı nedeniyle aynı hastada değişik pozitif ve negatif yaymalar ortaya çıkabilmektedir. Bazen yayma preparatta bakteri görüldüğü halde kültürde üreme olmamaktadır. Bu durum bakterilerin ilaçlarla inaktivasyonu veya dekontaminasyon işlemlerinin etkisiyle oluşabilmektedir. Yanlış negatif ve yanlış pozitifliğe yol açacak hatalardan sakınmak gerekir. Yetersiz renk giderme olumsuz sonuç almanın en sık sebeplerinden biridir. Lamda rengi yeterli gitmemiş büyük sahalar bakterinin tanınmasını zorlaştırır. Preparat çok kalın olursa kolay renk giderilemez ve tabaka halinde kalkabilir. Zayıf kontrast, değerlendirmeyi zorlaştırır. Kullanılan zıt boya belirli kontrast oluşturmalı ve aynı zamanda basilleri saklayacak derecede kuvvetli olmamalıdır. Hafif renk körlüğü olanlar için parlak yeşil uygundur (20).

Genellikle 2 tip aside direnç boyası kullanılmaktadır:

(1) Fenollü füksin boyası: Sıcak boyama (EZN) ve soğuk boyama (Kinyoun) olmak üzere 2 değişik teknik kullanılabilir.

(2) Florokrom boyama: Auramin O veya Auraminrodamin kombinasyonu şeklinde kullanılmaktadır. Florokromla boyanan bakteriler potasyum permanganat zıt boyasıyla sağlanan koyu zeminde parlak yeşil refle verirler. Böylece hassasiyet kaybı olmaksızın küçük büyüme ile (25 x objektif) kolay, süratli ve geniş müşahade imkanı sağlanmaktadır. Kısa zamanda büyük bir sahayı inceleme imkanı yanında daha iyi kontrast, daha az göz yorgunluğu ve çalışanın renk keskinliğinin daha az önemsiz olması gibi avantajları bulunmaktadır (19, 20).

Fenollü füksin veya florokrom boyama tercihi laboratuvar imkanlarına göre değişmektedir. Genel olarak her ikisinin spesifikliği aynı bulunmuştur.

Direkt preparatta bakteri bulunamayınca homojenizasyon ve konsantrasyon yöntemleri uygulanır.

### Homojenizasyon ve Dekontaminasyon

Balgam ve diğer materyellerden mikobakteri izolasyonu önemli bir laboratuvar problemidir. Mikobakterilerin üreme

hızı yavaş olduğundan dolayı ortamda bulunan çabuk üreyen bakterilerin metabolik artıkları, ortamı mikobakteriler için uygunsuz hale getirirler. Bu yüzden kontamine bakterilerin selektif olarak inhibisyonu gereklidir.

Mikobakterilerin lipitli duvarı onları asit ve alkalilere karşı diğer bakterilere nazaran oldukça dirençli yapmıştır. Normalde kontamine bölgelerden alınan klinik örnekler önce kimyasal maddelerle muamele edilerek kontaminantlar etkisiz hale getirilir ve ayrıca konsantrasyon işlemi kolaylaştırmak için sıvılaştırılırlar. Mikobakteriler en iyi şekilde yumuşak işlemler kullanılarak elde edilirler. Materyeli eritici maddeler aynı zamanda kontaminantları kontrol edebilir veya etmeyebilir. NaOH en sık kullanılan dekontaminant olup aynı zamanda sıvılaştırıcı etki göstermektedir. Bununla beraber kuvvetli alkaliler uzun süre etki ettiğinde mikobakterileri de öldürebilmektedir. Dekontaminant sıvıların daha kısa süre muamelesi mikobakteri elde edilmesi imkanını arttırmakta, fakat kültürlerin kontaminant oranı da yükselmektedir. Kuvvetli dekontaminantlar (% 4 NaOH, % 5 okzalik asit, % 3 NaOH gibi) bakterinin zarar görmemesi için 15 dakikadan daha uzun süre uygulanmamalıdır (19). İdrarın dekontaminasyonu için % 4 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> daha iyi sonuç vermektedir (26). *Pseudomonas aeruginosa* ihtiva eden numunelerde % 5 okzalik asit oldukça kullanışlıdır (19, 20). Ayrıca sedimente muayyen antibiyotikler katılarak da kontaminantlar kontrol edilebilir (3).

N-asetil-L-sistein, ditiotritol ve çeşitli diğer enzimler balgamı etkili şekilde eritmekle beraber kontaminantları etkilemezler. Ancak bunlar daha hafif alkali kullanımı imkanı verdiklerinden mikobakteri elde edilmesini iyileştirmektedirler. Trisodyum fosfat balgamı çabuk sıvılaştırır. Fakat tek başına kullanıldığında dekontaminasyon için uzun süre gereklidir. Bu maddenin benzalkonium klorür ile birlikte kullanımı kısa zamanda kontaminantları öldürüp balgamı sıvılaştırabilmektedir. Bu şekilde muamele edilmiş numuneler benzalkonium klorür'ün inhibisyon etkisini nötralize etmek için yumurta bazlı besiyerine ekilmelidir. Agar baz vasatına ekilecek olursa lesitin ilavesi yine benzalkonium klorür'ü nötralize edebilmektedir (3, 4, 19, 20).

Kontaminasyon tipine ve miktarına göre dekontaminant maddelerin seçilmesi gerekir. Bir örneğin tazeliği ve soğukta saklanması dekontaminasyon ihtiyacında önemli faktörlerdir.

Bazı örneklerin dekontaminasyon ihtiyacı yoktur. Aseptik alınan idrar örnekleri, vücut iç sıvıları (BOS, sinovya sıvısı, vb.) karaciğer, akciğer, böbrek biopsi numunelerinde genellikle dekontaminasyon yapılmaz.

Bir numunede kontaminasyon şüphesi varsa bir kısmı besiyerlerine ekilir, geri kalan buzdolabında saklanır. Üreme olmazsa dekontaminasyon işlemine tabi tutulmadan tüberküloz besiyerlerine ekilir.

Kültür yapılmayan küçük laboratuvarlarda numuneler eşit hacimde % 5 sodyum hipoklorit ile muamele edilerek tehlikesiz hale getirilir. Bu madde uzun süre etki ettiğinde basilleri bozabilir, bu nedenle yaymalar çabuk hazırlanmalıdır. Sodyum hipoklorit'le muamele edilen balgamın 0.45 mikrometre çaplı filtreden geçirilmesinin çok hassas bir yöntem olduğu bildirilmiştir. Fakat her laboratuvar için kullanışlı bir yöntem değildir (19, 20).

### Santrifügasyonla bakterilerin konsantrasyonu

Santrifügasyonla mikobakterilerin konsantrasyonu numunenin sulandırılması (yoğunluğu düşürmek için), süspan-

siyon sıvısına göre mikobakterilerin nisbi özgül ağırlığı, nisbi santrifügasyon gücü ve süresiyle orantılıdır. Bütün bu faktörler değişik derecelerde kontrol edilebilirler. Tüberküloz bakterilerinin yoğunluğu sıvılaştırılmış balgamdan ancak çok az yüksek olduğundan yüksek bir nisbi santrifüj gücü ve uzun süre gereklidir. Nisbi santrifüj gücünün artışıyla birlikte yayma ve kültür arasındaki müspet ilişki de artmaktadır (19, 20).

Nisbi santrifüj gücü	Pozitif yayma (%)	Pozitif kültür (%)	Pozitif yayma / Pozitif kültür (%)
1260	1.8	7.1	25
3000	4.5	11.2	40
3800	9.6	11.6	82

Yüksek santrifüj hızında ısı oluşarak mikobakterilere zarar verebilir. Bu nedenle yüksek bir nisbi santrifüj gücü kullanıldığında soğutucu santrifüjler tavsiye edilir (20).

Kültür için nötralize edilen çöküntüden steril 0.5 ml miktarlarında besiyerlerine ekilir.

#### Kültür besiyerleri

Mikobakteriler inorganik tuzlar, gliserin ve asparajin ihtiva eden basit sentetik besiyerlerinde üreyebilmektedir. Pratikte daha çok kompleks besiyerleri kullanılmaktadır. Bunlar arasında sıvı besiyerleri (Sauton, Hermann'ın değiştirdiği Kirchner 30, Besredka, Sula, Dubos besiyerleri), yumurta bazlı (Löwentin-Jensen, Petreggani, Trudeau, American Thoracic Society besiyerleri) ve agar bazlı (Middlebrook 7H 10, Middlebrook 7H 11, Dubos'un oleik asitli albuminli agarı) besiyerleri sayılabilir (12, 19, 20, 23).

Ayrıca çeşitli antimikrobik maddeler içeren selektif besiyerleri bulunmaktadır. Bunlar kontamine materyelleri kuvvetli dekontaminasyon işlemlerine gerek kalmadan direkt olarak besiyerine ekebilme imkanı sağlamaktadır (19, 20).

Avrupa ve gelişmekte olan ülkelerde yumurtalı besiyerleri (bilhassa Löwentin-Jensen), buna karşılık Amerika'da agar bazlı besiyerleri öncelikle kullanılmaktadır (13). Kontaminant bakteriler vasata anilin boyaları ilavesiyle (malaşit yeşili, kristal viyole) kısmen kontrol edilir. Boya yoğunluğu önemlidir. Belirli miktarı hafif bir aşma mikobakteriler üzerinde önemli inhibisyon yapabilmektedir (19, 20). Uzun zincirli yağ asitleri çok az miktarda olduğunda üremeye arttırdığı halde, biraz fazlası toksik etki yapabilmektedir. Besiyerine serum albumini ilavesi bu zehirli etkiyi kaldırmaktadır (23). Middlebrook 7H 10 ve 7H 11 vasatlarının hazırlama ve saklanması zordur. Fazla ısı ve ışık formaldehid oluşumuna yol açarak mikobakterileri inhibe edebilmektedir. Bu vasatlarda mikobakterilerin üremesi için % 5-10 CO<sub>2</sub>'ye ihtiyaç vardır. Middlebrook 7H 11 vasatında INH'a dirençli bakterilerin üremesi daha iyi olmaktadır (20).

#### Üremenin incelenmesi

Besiyerleri ekildikten sonra materyelin yayılmasını sağlamak için bir gün kadar yatık durumda bırakılır. Daha sonra kurumayı önleyecek tarzda tüplerin ağzı kapatılır. Kültürlerin % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda yapılması üremeyi kolaylaştırır. Tüberküloz mikroplarının en iyi üreme ısısı 37°C'dir. Kültürlerin en az 6 hafta haftalık muayenesi yapılmalıdır. Bu sürenin sonunda üreme görülüyorsa be-

siyerinin üzeri kazınarak veya şüpheli koloniler varsa bunlardan preparat hazırlanarak aside dirençli bakteri olup olmadığına bakılır. Olumsuz kültürlerin 8 hafta sonunda atılması tavsiye edilir. Löwentin-Jensen besiyerinde tüberküloz bakterilerinin kolonileri ortalama 2-3 haftada gelişir. Koloniler sarımsı beyaz renkte, pürüklü, kabarcık ve düzensiz kenarlıdır (23). Niasin testinin pozitif olması yanında katalaz aktivitesinin olmayışı *M. tuberculosis*'i diğer mikobakterilerden ayırmaktadır. Diğer mikobakterilerin teşhisinde üreme hızı, üreme ısısı, pigment özelliği, niasin, katalaz, ureaz, nitrat, Tween 80 hidrolizi, pirazinamidaz, nikotinamidaz, arilsülfataz deneyleri, % 5 NaCl'ü ortamda üreme özelliklerinden istifade edilir. *M. bovis* T<sub>2</sub>H (tiofen-2-karboksilik asit hidrazit) ile inhibe olmasıyla diğer türlerden ayrılmaktadır (18).

#### Hayvan deneyi

Günümüzde çeşitli biyoşimik testlerle birlikte yapılan kültür yöntemleri mikobakterilerin teşhisinde yeterli olmaktadır. Bu nedenle uzun zaman alıcı ve tehlikeli hayvan deneyleri artık rutin olarak kullanılmamaktadır. İnsanda hastalık yapan bazı mikobakteriler, INH'a dirençli suşlar hayvanda hastalık yapmayabilmektedir (19, 20).

#### Serolojik testler

Mikobakterilerde ortak grup antijenleri ve ayrıca türe özgü bazı antijenler bulunmaktadır. ELISA gibi yöntemlerle ve bilhassa monoklonal antikorlar kullanılarak klinik numunelerdeki mikobakterilerin teşhisine gidilebilmektedir (1, 7, 9, 15, 21, 30, 31). Bununla beraber henüz pratik alanda kullanılabilirce güvenilir standart serolojik testler bulunmamaktadır (20).

#### Tüberkülin cilt testi

Standart tüberkülin (PPD-S) ve ayrıca çeşitli mikobakterilerden hazırlanan tüberkülinler (PPD-B, PPD-G, PPD-Y gibi) mikobakteri infeksiyonlarının teşhisinde kullanılabilir. Bunlar düşük dozda türe özgü reaksiyon, yüksek dozlarda ise belirli çapraz reaksiyonlar gösterirler (8, 17, 29). Bu nedenle diğer tüberkülinlerin ancak özel hallerde ve standart tüberkülinle karşılıklı kullanılması gerekir. Olumsuz bir cilt testi teşhisten uzaklaştırıcı olduğu halde pozitif reaksiyon sadece hastalık ihtimalini gösterir (17). Genellikle infeksiyondan 4-6 hafta sonra test pozitifleşmeye başlamaktadır. Milier tüberküloz, kızamık, Hodgkin hastalığı, sarkoidoz, steroid tedavisi ve bağışıklığın baskılandığı hallerde test negatif kalabilir. BCG aşılmasından sonra pozitif dönüşürdüğünden infeksiyon riskine maruz kişilerde testin büyük önemi vardır. Tüberkülin testi bilhassa çocuklardaki erken primer tüberküloz teşhisinde kullanılmaktadır (4, 17).

İnfeksiyon geçtikten sonra tüberkülin reaksiyonu hayat boyu pozitif kalabilir veya negatifleşebilir. Tüberkülin reaksiyonunun pozitif oluşu hastalık veya bağışıklık anlamına gelmez. Vücutta canlı basil bulunduğu sürece (aktif hastalık olsun veya olmasın) reaksiyon pozitif kalır. Bazı kişilerde BCG aşılmasından sonra ve hatta tabii bir infeksiyondan sonra tüberkülin reaksiyonu gelişmeye-bilmektedir. Tüberkülin hassasiyeti ile infeksiyon şiddeti arasında güvenilir bir ilişki olmamakla beraber reaksiyonun şiddeti önemsiz değildir. Genel olarak yeni infeksiyon

geçirenlerde, akciğer dışı kazeöz tüberkülozlularda duyarlık nispeten fazla olmaktadır (17).

### Çabuk teşhis metodları

İnce tabakalı kromatografi ve gaz-likit kromatografisi yöntemleri ile mikobakterilerin türe özgü duvar lipidleri tespit edilebilmektedir. Bu yöntemlerle tür tayini konusunda önemli gelişmeler sağlandığı bildirilmektedir (2, 19). Halen bu gibi çalışmalar sadece araştırma merkezlerine sınırlıdır.

Mikobakteri üremesinin çabuk tespitinde en fazla ümit veren yöntemlerden biri  $C^{14}$  işaretli palmitik asid ihtiva eden bir besiyerinde (Middlebrook 7H 12) bu maddenin metabolizması sonucu işaretli  $^{14}CO_2$  oluşumunun ölçülmesidir. Sıvı kültür vasatı üzerinde serbest  $^{14}CO_2$  bulunuşu üreme ve maddenin aktif metabolizmasını gösterir. Buna karşılık  $^{14}CO_2$  bulunmaması ilaçla üremenin inhibisyonunu gösterebilmektedir. Böylece bu yöntem çabuk hassasiyet testi için de kullanılabilir. Kültür sonucunun 2 haftada, hassasiyet sonuçlarının ise 1 hafta içinde alınabildiği bildirilmektedir (19, 20).

### Kaynaklar

- 1- Benjamin R G, Daniel T M: Serodiagnosis of tuberculosis using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5. *Am Rev Respir Dis* 126: 1013, 1982
- 2- Brennan P J, Heifets M, Ullom B P: Thin-layer chromatography of lipid antigens as a means of identifying nontuberculous mycobacteria. *J Clin Microbiol* 15: 447, 1982.
- 3- Finegold S M, Baron E J: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. C V Mosby, St Louis, 1986, s. 594
- 4- Fuerst R: Frobisher and Fuerst's Microbiology in Health and Disease. WB Saunders, Philadelphia 1983, s. 482
- 5- Gürsel A: Türkiyede izole edilen ve atipik AAR Tüberküloz mykobakterisi adını alan suşların bakteriyolojik, sitolojik ve biyokimik karakterleri ile laboratuvar tecrübe hayvanlarında patojeniteleri. *Türk İj Tecr Biyol Derg* 20: 367, 1960
- 6- Gürsel A: Türkiyede tarafımızdan izole edilen mikobakterilerin bio ve sitoşimik olarak klasifikasyonu üzerine bir etüd. *Tüberk Toraks* 10: 117, 1962
- 7- Hernandez R, Munoz O, Guiscafre H: Sensitive enzyme immunoassay for early diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol* 20: 533, 1984
- 8- Jawetz E, Melnick J L, Adelberg E A: *Review of Medical Microbiology*, 17th ed. Appleton and Lange, Norwalk, 1987 s. 285
- 9- Kalish S B, Radin RC, Phair JP, Levitz D, Zeiss CR, Metzger E: Use of an enzyme-linked immunosorbent assay technique in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis in humans. *J Infect Dis* 147: 523, 1983.
- 10- Kasımoğlu Ö, Töreci K, Ang Ö: Muayene maddelerinden izole ettiğimiz fotokromojen ve skotokromojen atipik aside dirençli bakteriler. *İst Tıp Fak Mecm* 36: 199, 1973
- 11- Kiehn T E, Edwards FF, Brannon P, et al.: Infections caused by *Mycobacterium avium* complex in immunocompromised patients. Diagnosis by blood culture and fecal examination, antimicrobial susceptibility tests, and morphological and seroagglutination characteristics. *J Clin Microbiol* 21: 168, 1985
- 12- Krasnow I, Wayne L G: Comparison of methods for tuberculosis bacteriology. *Appl Microbiol* 18: 915, 1969
- 13- Lefford M J: Mycobacteria, Eds. Rose N R, Barron A L: *Microbiology. Basic Principles and Clinical Applications*. Macmillan, New York, 1983
- 14- Lincoln E M, Gilbert L A: Disease in children due to mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis*. *Am Rev Respir Dis* 105: 683, 1972
- 15- Morris J A, Ivanji I: Immunoassay of field isolates of *Mycobacterium bovis* and other mycobacteria by use of monoclonal antibodies. *J Med Microbiol* 19: 367, 1985
- 16- du Moulin G C, Sherman IH, Hoaglin D C, Stottmeier KD: *Mycobacterium avium* complex. An emerging pathogen in Massachusetts. *J Clin Microbiol* 22: 9, 1985
- 17- Myrvik Q N, Weiser R S: *Fundamentals of Medical Bacteriology and Mycology*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1988, s. 391
- 18- Samasu M: Atipik mikobakterilerin sınıflandırılması, yaptığı hastalıklar, yurdumuzdaki durumu Ed. Saygı G: *Tüberküloz (XXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 24-26 Haziran 1986, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas) Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını* No. 8, İstanbul, 1986, s. 57.
- 19- Sommers H M: Mycobacterial diseases, Ed. Henry J B: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 7th ed. WB Saunders, Philadelphia, 1984 's. 1122
- 20- Sommers H M, Good R C: *Mycobacterium*, Eds. Lennette E H, Balows A, Hausler WJ Jr, Shadany HJ: *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, 1985, s. 216
- 21- Tasaka H, Matsuo Y: Specificity and distribution of alpha antigens of *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum*. *Am Rev Respir Dis* 130: 647, 1984
- 22- Tellis C J: Pulmonary disease caused by nontuberculous mycobacteria. *Med Clin North Am* 64: 433, 1980
- 23- Unat E K: *Tip Bakteriyolojisi ve Virolojisi*. 2. Baskı. Dergah Yayınları, 1986, s. 321
- 24- Wallace J M, Hannan J: *Mycobacterium avium-intracellulare* infection found at autopsy in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) [Abstract]. *Am Rev Respir Dis* 131 (Suppl): A 224, 1985
- 25- Warren N G: Actinomycetales from respiratory specimens. *Mycobacterium* species, Eds. Dalton H P, Nottbart H C: *Interpretive and Medical Microbiology*. Churchill Livingstone, New York, 1986, s. 366
- 26- Warren N G: Mycobacteria from urinary tract specimens, Eds. Dalton H P, Nottbart H C: *Interpretive Medical Microbiology*. Churchill Livingstone, New York, 1986, s. 579
- 27- Warren N G: Mycobacteria from wound and skin specimens, Eds. Dalton H P, Nottbart H C: *Interpretive Medical Microbiology*. Churchill Livingstone, New York, 1986, s. 698.
- 28- Wihmbey E, Kiehn T E, Armstrong D: Disseminated *Mycobacterium avium-intracellulare* disease. Diagnosis and therapy. Eds. Remington J S, Swartz M N: *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*. Vol. 7. McGraw-Hill, New York, 1986, s. 112.
- 29- Wolinsky E: Nontuberculous mycobacteria and associated diseases. *Am Rev Respir Dis* 119: 107, 1979
- 30- Yanagihara D L, Barr VL, Knisley CV, Tsang AY, McClatchy JK, Brennan PJ: Enzyme-linked immunosorbent assay of glycolipid antigens for identification of mycobacteria. *J Clin Microbiol* 21: 569, 1985
- 31- Yanez M A, Russo DA, Coppola M, et al.: Mycobacterial antigens. Determination in respiratory secretions by immunosorbent assay [Abstract]. *Am Rev Respir Dis* 131 (Suppl): A 224, 1985