

ETKİN TÜBERKÜLOZ TANISI İÇİN NEREDE, NE ZAMAN, HANGİ İNCELEME ?

Tanı1 KOCAGÖZ

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayışdağı, İSTANBUL
tk05-k@tr.net

ÖZET

Tüberkülozun etkin kontrolü için bugün en geçerli yöntem balgamında tüberküloz basili bulunan akciğer tüberkülozlu hastaların erken saptanması ve sağlıklı kişilere etkeni bulaştırmadan tedavi edilmeleridir. Türkiye’de tüberküloz tanısı ile uğraşan kuruluşların koşulları dikkate alınarak etkin bir tüberküloz tanısı için şu önerilerde bulunulabilir: Verem Savaş Dispanserleri iki haftadan uzun öksürüğü olan kişilerden tarama için balgam örnekleri toplamalıdır. Bölge tüberküloz laboratuvarları bu örnekleri Kubica yöntemine uygun işledikten sonra mikroskopi ve kültür yapmalı, aside dirençli basil saptanan örnekleri doğrudan antibiyograma almalı, kültür ile tüberküloz ve tüberküloz dışı mikobakteri ayrımı yapmalıdır. Üretilen tüm mikobakteriler tüberküloz referans laboratuvarlarına gönderilmelidir. Tüberküloz dışı mikobakterilerin türleri burada moleküler tanı yöntemleri ile saptanmalı, epidemiyolojik çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar sözcükler: kontrol, tanı, tüberküloz

SUMMARY

When, Where and Which Test for Efficient Diagnosis of Tuberculosis ?

Currently, the most efficient way to control tuberculosis, is to find out as soon as possible pulmonary tuberculosis patients having tuberculosis bacilli in their sputum and treat them before they transmit the agent to healthy people. Taking into account the conditions of centers dealing with tuberculosis diagnosis in Turkey, following suggestions can be made for an efficient tuberculosis diagnosis: Tuberculosis Control Dispensaries should collect sputum samples from people who have cough lasting more than two weeks. Regional laboratories should process these using Kubica method, apply microscopy, culture, direct susceptibility testing to samples containing acid fast bacilli, differentiate by culture Mycobacterium tuberculosis complex and mycobacteria other than tuberculosis (MOTT). All mycobacterial isolates should be sent to tuberculosis reference laboratories. In these laboratories, the species of MOTT should be identified using molecular methods and epidemiological studies should be performed.

Keywords: control, diagnosis, tuberculosis

Tüberküloz özellikle gelişmekte olan ülkelerde en önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Bu ülkelerde tüberküloza bağlı ölümler önlenemez ölümlerin % 25’ini oluşturmaktadır. Dünya’da hergün yaklaşık 5000 kişi tüberkülozdan ölmektedir⁽³⁾.

Tüberküloz kontrolündeki en önemli etken

BCG aşısının koruyuculuğu, tüberkülozu kontrol altına alacak düzeyin altında kalmıştır. Koruyuculuğu yüksek, uygulaması kolay yeni aşılarda geliştirilmesi için yoğun çaba harcanmasına karşın bu tür bir aşının uygulamaya girmesi daha uzun yıllar alabilir. Tüberküloz basili-

linin kaynağı balgamında bu bakteriyi taşıyan akciğer tüberkülozu hastaları olduğuna göre bugün için toplumu tüberkülozdan korumanın en etkili yolu bu hastaları erken saptamak ve etkili bir tedavi ile iyileştirmektir^(5,13).

Tüberküloz hastalığına yakalanmış bir kişinin tedavi maliyeti, iş gücü kaybı ve en önemlisi tanı konana kadar sağlıklı kişilere hastalığı bulaştırması nedeni ile topluma maliyeti, tanı koymak amacı ile harcanacak para ve emek ile kıyaslandığında öylesine yüksektir ki, erken ve gerçekten işe yarayan etkin tanı için yapılacak hiçbir harcama ve emek, pahalı ve zaman kaybettirici olamaz.

Mikroskop ile inceleme hâlâ en etkin yöntem

Mycobacterium tuberculosis'in tüberküloz etkeni olarak belirlenmesinden beri 125 yılı aşkın süre geçmesine karşın mikroskop ile inceleme tüberküloz tanısında hâlâ en yararlı yöntemdir. Çünkü mikroskop ile inceleme, bulaştırıcı hastaların saptanmasında en hızlı yöntemdir. Mikroskopik incelemenin en zayıf kaldığı nokta ise, özellikle balgam yoğunlaştırılmadan incelendiğinde, duyarlılığının düşük olmasıdır. Uygun bir dekontaminasyon ve yoğunlaştırma yöntemi kullanıldığında hem mikroskopla inceleme, hem de kültür ile saptama başarısının en az 10 kat arttığı saptanmıştır^(5,13).

Uygun bir dekontaminasyon ve yoğunlaştırma duyarlılığı en az on kat artırır

Ülkemiz dahil, laboratuvar koşulları iyi olmayan ülkelerde dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi ya hiç uygulanmamakta ya da diğer yöntemlere göre uygulanması en kolay ancak etkinliği en düşük Petroff yöntemi kullanılmaktadır. Petroff yönteminde örnek işlemek için genellikle kullanılan, vidalı kapağı bulunmayan 15 ml hacmindeki cam deney tüpleri bu işlem için kesinlikle uygun değildir. Öncelikle bu tüplerde, hem örneği koymak, hem dekontaminasyon için sodyum hidroksit çözeltisi eklemek, hem nötralizasyon için hidroklorik asit eklemek, hem de homojenizasyon için etkili bir şekilde çalkalayabilmek için yeterli hacim bulunmamaktadır. Bu tüplerden örnek işleme sırasında dışarıya sıçramalar ve tüplerin sık sık kırılması da işlemi tamamen güvensiz hale getirmektedir. Nötralizasyon için tampon çözelti yerine güçlü bir asit kullanılması, örneğin pH'sının uygun ayarlanmamasına yol açmakta, bu da kültürde hem mikobakteri üretme şansını azaltmakta hem de üreme süresini uzatmaktadır. İyi homojenize edilemeyen örnekteki mikobakteriler, santrifüj ile iyi çöktürülemediğinden, hem mikroskop hem de kültür ile saptama olasılığı azalmaktadır. Kubica yöntemi Petroff yönteminin tüm olumsuzluklarını ortadan kaldırır niteliktedir. Bu yöntemde örnek işlemek için 50 ml'lik vidalı kapaklı plastik tüpler kullanılır. Sodyum hidroksite ek olarak N-asetil-L-sistein (NALC) kullanılıyor olması balgamın sıvılaştır-

masını daha etkin kılar. Geniş hacim, iyi sıvılaştırma, iyi bir homojenizasyon ve santrifüj ile iyi bir yoğunlaştırma sağlar. Böylece mikroskopla incelemede mikobakterilerin görülme şansı yükselir. Buna, kullanılan fosfat tamponunun iyi bir pH ayarlaması da eklenince, kültürde mikobakteri üretme olasılığı da artar. Petroff yöntemi için kullanılan çözeltilerin hazırlanması daha kolay ve ucuz olduğu için genellikle Kubica yöntemine tercih edilmektedir. Ancak son yıllarda Kubica yönteminin hem kolayca uygulanmasını sağlayan hem de maliyetini önemli ölçüde düşüren dekontaminasyon ve yoğunlaştırma kitleri geliştirilmiştir. Bu kitlerin kullanımı ile Kubica yönteminin kullanılması Petroff yönteminden daha kolay hale gelmiştir⁽²⁾.

Tüberkülozun kesin tanısı örneklerden kültürde *M.tuberculosis* üreterek konur

Klinik örneklerden *M.tuberculosis*'in üretilmesi hem kesin tanı konmasını hem de antitüberküloz ilaçlara duyarlılık bakılmasını sağlar. Ancak *M.tuberculosis* yavaş çoğalan bir organizma olduğu için Löwenstein-Jensen gibi klasik kültür besiyerlerinde kolonilerin görünür hale gelmesi haftalar alır. Doğal olarak kültür ile antitüberküloz ilaçlara duyarlılık saptamak da uzun sürer. Besiyerlerinde üremenin erken saptanmasını sağlayabilmek için birçok sistem geliştirilmiştir. Mikrokoloni yönteminde, ince Middlebrook 7H11 agar üzerinde üreyen koloniler mikroskop ile incelenerek erken saptanır⁽⁶⁾. Hızlı kültür sistemlerinde mikobakterileri hızlı üretmek olanaklı değil ancak üremeyi erken saptamak olanaklıdır. Hızlı mikobakteri kültür sistemlerinin birisi hariç hepsi sıvı Middlebrook besiyeri kullanır. Bunların her birisinin sadece üremeyi saptama sistemleri birbirinden farklıdır^(9,12). Middlebrook besiyerinin kullanıma hazır olmaması, kullanım öncesi OADC (oleik asit, albümin, dekstroz, katalaz) ve seçici antimikrobiyallerin eklenmesini gerektirmesi ve en önemlisi Löwenstein Jensen besiyerine göre çok pahalı olmaları bunların yaygın kullanımını engellemiştir. Son yıllarda bizim geliştirmiş olduğumuz TK besiyeri (Salubris) içeriği Middlebrook besiyerinden tamamen farklı orijinal bir besiyeridir. Mikobakteri üremesini

rengi kırmızıdan sarıya dönerek gösterir. Katı bir besiyeri olduğu için renk değişikliğinden sonra kolonilerin oluşması ve gözlenmesini sağlar. Diğer kültür besiyerlerine göre önemli bir üstünlüğü kontaminasyonu gerçek mikobakteri üremesinden ayırt edebilme yeteneğidir. Mantar, Gram negatif bakteriler gibi sıkça görülen kontaminantlar ürettiği zaman besiyerinin rengi yeşile dönerek mikroskop ile inceleme öncesinde bunun anlaşılmasını sağlar. Diğer hızlı kültür sistemlerinde olduğu gibi TK kültür sistemi ile antitüberküloz ilaçlara duyarlılık bakılabilmekte, *M.tuberculosis* kompleks grubu bakteriler diğer mikobakterilerden ayırt edilebilmektedir. TK kültür sisteminin bir başka üstünlüğü kültür tüplerinin göz ile rahatça değerlendirilebilmesi, herhangi bir okuyucu sisteme gereksinim duymamasıdır. Buna karşın iş yoğunluğu fazla olan merkezler için tüplerin otomatik olarak inkübe edilip izlendiği "MyColor TK (Salubris Technica)" adı verilen çok gelişmiş bir okuyucusu bulunmaktadır. TK besiyerinin her türünün kullanıma hazır olması nedeni ile uygulama kolaylığı, fiyatının diğer hızlı kültür sistemlerinden ucuz olması nedeniyle TK kültür sisteminin önümüzdeki yıllarda hızla yaygınlaşmasını beklemekteyiz^(5,13).

Doğrudan duyarlılık testi önemli zaman kazandırır

Kubica yöntemi gibi uygun bir dekontaminasyon ve yoğunlaştırma işlemi ile hazırlanmış örneklerde mikroskop ile inceleme sonucunda aside dirençli basil saptanmışsa bunların hemen hemen tamamından mikobakteri üretmek olanaklıdır. Bu tür örneklerin kültürde üreme beklenmeden doğrudan antitüberküloz ilaç içeren besiyerlerine ekilerek duyarlılık testi yapılması, kültür için geçen önemli bir süreyi kazandırır. Bu tür bir uygulamanın yaygınlaştırılması tedavinin doğru yönlendirilmesini önemli ölçüde hızlandırabilir.

Faj çoğaltma biyolojik deneyi, günlük kullanıma girebilmek için fazla karmaşıktır

Faj çoğaltma biyolojik deneyinde (Phage Amplified Biologically -Pha B- Assay) mikobakteriler hem *M.tuberculosis* hem de hızlı üreyen

mikobakterileri infekte eden bir faj aracılığı ile saptanır. Önce fajlar klinik örneğe eklenir. Örnekte mikobakteri varsa faj bunların içerisine girer ve ortama eklenen virüs öldürücü kimyasaldan korunur. Ortamdaki serbest fajlar öldürüldükten sonra mikobakteri içerisinde korunmuş fajlar hızlı üreyen bir mikobakteri kültüründe çoğaltılarak faj plaklarının oluşması sağlanır. Faj plaklarının varlığı başta örnekte mikobakteri olduğunu gösterir. Uygulama ve sonuçların yorumlanmasındaki zorluklar nedeni ile yaygın kullanıma girmesi pek olası görünmemektedir.

Moleküler tanı yöntemleri mikobakteri türlerinin belirlenmesinde klasik yöntemlere göre daha avantajlı hale gelmiştir

Birçok nükleik asit çoğaltma yöntemi arasında halen polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) ve transkripsiyona bağlı çoğaltma (transcription mediated amplification -TMA-) *M.tuberculosis*'in klinik örneklerde saptanması için en yaygın olarak kullanılan moleküler tanı yöntemleridir⁽⁴⁾. Uygun koşullar sağlanacak olursa bu yöntemlerin özgüllüğü ve duyarlılığı mikroskop ile incelemekten daha iyidir. Ancak hâlâ karmaşık ve pahalı yöntemler oldukları ve deneyimli çalışanlar gerektirdikleri için mikroskop ile incelemenin yerini alacak durumda değildirler. Çoğaltmanın çoğaltma sırasında izlenemediği PCR sistemleri (real time PCR) elektroforez gereksinimini ortadan kaldırdığı için bu hedefe doğru atılmış önemli bir adımdır. Ancak uygulama için gerekli aygıtlar çok pahalı olduğu için daha uzun süre yaygın kullanıma girmesi zor görünmektedir.

Mikobakteri türlerinin belirlenmesi klasik olarak üreme hızı, pigment oluşturma ve biyokimyasal testlere dayandığından zaman alıcıdır ve yoğun emek gerektirir. Elde edilen sonuçlar da çoğu kez kesin değil, yoruma açıktır. Bu nedenle çok daha çabuk ve kesin sonuç veren moleküler incelemeler mikobakteri türlerinin saptanmasında klasik yöntemlerin yerini almaktadır^(7,9). Mikobakteri türleri özgül DNA dizileri hibridizasyon propları, restriksiyon enzim incelemesi ve DNA dizi incelemesi ile belirlenebilmektedir. Bu sistemlerin yaygın olarak birçok

merkeze kurulması büyük bir ekonomik yük getirebilir. Ancak tüberküloz hastalarından üretilen mikobakterilerin büyük bir çoğunluğu *M.tuberculosis*'tir ve bu zaten kültüre dayalı yöntemlerle ayırt edilebilmektedir. Tüberküloz dışı mikobakterilerin tiplendirmesi moleküler yöntemlerle, bu konuda özelleşmiş birkaç merkeze gönderilerek yapılabilir.

Hızlı mikobakteri kültür sistemleri antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık saptama süresini klasik kültür besiyerlerine göre yarıya indirmiştir. Ancak ilaç direncine neden olan mutasyonlar tanımlandıkça daha hızlı sonuç veren moleküler yöntemler daha avantajlı hale gelmiştir. Bu amaçla kullanılacak en pratik yöntemin çoğaltmayı gerçek zamanlı izleyebilen (Real Time) PCR sistemi olması beklenebilir. Tüm bunlara karşın yöntemin pahalı aygıtlar ve deneyimli çalışan gerektirmesi, günlük kullanıma girmesine uzunca bir süre engelleyecek niteliktedir^(1,11).

İmmünolojik testler hâlâ gereken duyarlılık ve özgüllüğe erişememiştir

Mikobakterilere ait antijen ve bunlara karşı oluşan antikörlerin saptanmasına dayalı testlerin özgüllük ve duyarlılıkları genelde düşüktür. Yıllardır bu alanda yapılan çalışmalar ile önemli bir ilerleme sağlanamamıştır. *M.tuberculosis*'e özgül antijenlerin saflaştırılması sorunu çözer gibi olsa da bu testlerin duyarlılıkları hâlâ nükleik asit çoğaltma yöntemlerine göre düşük kalmaktadır.

Tüberkülozu tanıyan T-lenfositlerin saptanması, özellikle mikroskopla inceleme ve kültür ile tanı konamayan olgularda önemli tanı değeri taşır

"Gamma interferon salınım deneyi" adı verilen bu yöntem vücutta *M.tuberculosis* ile karşılaşmış T-lenfositlerin saptanması için kullanılmaktadır. Bu testte hasta kanından ayrıştırılan beyaz küreler arasında yer alan T-lenfositler ESAT-6 gibi *M.tuberculosis*'e özgül antijenler ile uyarılırlar. Eğer T-lenfositler daha önce *M.tuberculosis* ile karşılaşmışlar ise γ interferon yapmaya başlarlar. Sonra γ interferon yapımı bunu tanıyan enzim ile işaretli antikörler kullanılarak, enzim bağlı immün nokta (Enzyme linked immunospot -ELISPOT-) veya ELISA ile (Quanti-

feron-Tb Gold) saptanır. Testin PPD ile yapılan deri testinden daha özgül olduğu belirtilmektedir. BCG aşısı olan kişilerde test pozitifleşmediği için tanı değeri daha yüksektir. Sadece aktif infeksiyon geçirmekte olan hastalarda dolaşımdaki kanda yeterli sayıda özgül antijenleri tanıyan T-lenfositler bulunduğu için testin taşıyıcı olguları aktif infeksiyon geçirenlerden de ayırt edebildiği düşünülmektedir. Özellikle mikroskop ile inceleme ve kültür ile tüberküloz basiliinin saptanamadığı durumlarda gama interferon salınım deneyi çok yararlıdır⁽⁸⁾.

Tüberküloz tanısı için Türkiye koşullarına uygun en başarılı model ne olabilir ?

Türkiye'de tüberküloz ile savaş temel olarak T.C. Sağlık Bakanlığı, Verem Savaşı Daire Başkanlığı (VSDB) tarafından yürütülmektedir. Verem Savaş Derneklerinin de bu konuya önemli katkısı bulunmaktadır. VSDB bünyesinde 256 dispanser 21 bölge laboratuvarı vardır. Dispanserlerin bir kısmında örnekler yoğunlaştırma yapılmaksızın mikroskop ile inceleme yapılmaktadır. Bölge laboratuvarlarında yoğunlaştırma sonrasında mikroskop ile inceleme ve kültür, bazılarında duyarlılık testi yapılabilir. Bazı göğüs hastalıkları hastaneleri ve Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığında tüberküloz referans laboratuvarları yer almaktadır. Bu olanaklar düşünüldüğünde yukarıda anlattığımız tüberküloz tanısı için kullanılan yöntemlerin özelliklerini de göz önünde bulundurarak Türkiye'de tüberküloz tanısını etkin kılmak için şu önerilerde bulunabiliriz:

1. Örnekler yoğunlaştırmadan yapılan doğrudan mikroskopla incelemenin duyarlılığı düşüktür. Verem Savaş Dispanserleri mikroskop ile inceleme ile uğraşmamalıdır. Bütün güçlerini aktif akciğer tüberkülozu olgularını bulmaya yönlendirmelidirler. Bu amaçla görev bölgelerinde 15 günden fazla süren öksürüğü olan ve balgam çıkaran herkesten balgam örneği alarak bölge laboratuvarına göndermelidirler. Ülkemizde kargo sistemi oldukça gelişmiştir. Türkiye'nin birbirine en uzak köşeleri arasında dahi ulaşım 3 günü geçmemektedir. Tüberküloz basili balgamda, oda sıcaklığında canlılığını gün-

- lerce korumaktadır.
2. Bölge tüberküloz laboratuvarlarında örnek- lere mutlaka dekontaminasyon ve konsan- trasyon işlemi uygulanmalıdır. Bu amaçla Petroff yöntemi değil Kubica yöntemi kulla- nılmalıdır. Bu şekilde hazırlanmış örnekler- den mikroskopla inceleme ve kültür yapıl-malıdır. Kubica yöntemini uygulamak için hazır dekontaminasyon ve yoğunlaştırma kitleri kullanılmalıdır.
 3. Mikroskop ile aside dirençli basil saptanan örnekler doğrudan antitüberküloz ilaç du- yarlılık testi ve *M.tuberculosis* kompleks, tü- berküloz dışı mikobakteri ayrımı yapılmalı- dır. Bunlar için hazır, standart duyarlılık ve tiplendirme kitleri kullanılmalıdır. Olanak- lar elverdiği ölçüde hızlı kültür sistemlerin- den yararlanılabilir.
 4. Kültürde üretilen tüm mikobakteri suşları re- ferans laboratuvarına gönderilmelidir. *M.tu-erculosis* kompleks dışındaki mikobakterile- rin türleri burada moleküler tanı yöntemleri ile saptanmalıdır. Tüm mikobakteri suşları üzerinde epidemiyolojik çalışma yapılmalıdır.

Gelecekte mikrosıra ve biyoalgılayıcılar ("microarray" ve "biosensor") hızlı tanı için umut kaynağı olabilir

Mikrosıra sistemleri çok sayıda DNA dizisi- ni aynı anda saptayabilmek için küçük bir ala- na çok sayıda probun bağlanması ile elde edilir- ler. Bunlar aynı anda hem tanı konmasını, hem tür hem de antitüberküloz ilaçlara duyarlılık sap- tanmasını sağlayabilirler. Bu sistemler henüz ge- liştirilmektedir ve pahalı cihazlar gerektirmektedir. Bu tür cihazlar gerektirmeyen biyoalgılayıcı- lar bu olumsuzluğu ortadan kaldırabilir⁽¹⁴⁾.

KAYNAKLAR

1. Çavuşoğlu C: Mycobacterium tuberculosis'de moleküler antibiyotik duyarlılık test yöntemleri, 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu, Sempozyum kitabında s.369-87, Otak Form-Ofset Basım San.Tic A.Ş., Samsun (2003).
2. Doğan İ, Partal M, Mozioglu E, Sezen Y, Kocagöz T: Tü- berküloz ön tanısı almış hastalardan alınan klinik örne- klerin işlenmesinde, dekontaminasyon ve konsan- trasyon kiti Mycoprosafe'in etkinliği, 5. Ulusal Miko-

3. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC: Consensus statement. Global burden of tuberculosis: es- timated incidence, prevalence, and mortality by co- untry. WHO Global Surveillance and Monitoring Pro- ject, JAMA 1999;282(7):677-86.
4. Eisenach KD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT: Polyme- rase chain reaction amplification of a repetitive DNA se- quence specific for Mycobacterium tuberculosis. J Infect Dis 1990;161:977-81.
5. Guillerm M, Ustin M, Arkininstall J: Tuberculosis diagn- osis and drug sensitivity testing. Medecins Sans Frontie- res, October (2006). [http://www.access- medmsf.org/documents/Diagnostics%20Pipe- line%20Report.pdf](http://www.access- medmsf.org/documents/Diagnostics%20Pipeline%20Report.pdf)
6. Mejia GI, Castrillon L, Trujillo H, Robledo JA: Microco- lony detection in 7H11 thin layer culture is an alternati- ve for rapid diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection, Int J Tuberc Lung Dis 1999;3(2):138-42.
7. Musial CE, Tice LS, Stockman L, Roberts GD: Identifica- tion of mycobacteria from culture by using the Gen-pro- be Rapid Diagnostic System for Mycobacterium avium complex and Mycobacterium tuberculosis complex, J Clin Microbiol 1998;26(10):2120-3.
8. Pai M, Menzies D: Interferon-gamma release assays: what is their role in the diagnosis of active tuberculosis? Clin Infect Dis 2007;44(1):74-7.
9. Piersimoni C, Scarparo C, Callegaro A et al: Comparison of MB/Bact alert 3D system with radiometric BACTEC system and Lowenstein-Jensen medium for recovery and identification of mycobacteria from clinical speci- mens: a multicenter study, J Clin Microbiol 2001;39(2):651-7.
10. Rossau R, Traore H, De Beenhouwer H et al: Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of Mycobacterium tuberculosis complex and its resistance to rifampin, Anti- microb Agents Chemother 1997;41(10):2093-8.
11. Torres MJ, Criado A, Palomares JC, Aznar J: Use of real- time PCR and fluorimetry for rapid detection of rifam- pin and isoniazid resistance-associated mutations in Mycobacterium tuberculosis, J Clin Microbiol 2000;38(9):3194-9.
12. Tortoli E, Mandler F, Tronci M et al: Multicenter evalua- tion of mycobacteria growth indicator tube (MGIT) compared with the BACTEC radiometric method, BBL biphasic growth medium and Lowenstein-Jensen medi- um, Clin Microbiol Infect 1997;3(4):468-73.
13. World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Di- seases: Diagnostics for tuberculosis, global demand and market potential, WHO, Geneva (2006). <http://www.who.int/tdr/publications/publications/pdf/tbdi/tbdi.pdf>
14. Yue J, Shi W, Xie J et al: Detection of rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by using a speciali- zed oligonucleotide microarray, Diagn Microbiol Infect Dis 2004;48(1):47-54.