

TÜBERKÜLOZ TANISINDA MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN YERİ

Ahmet SANIÇ

Qafqaz Üniversitesi, BAKÜ/AZERBAYCAN
asanic@qafqaz.edu.az

ÖZET

Tüberkülozun tanısı hastalığın semptomları, radyografisi, histopatolojisi, mikroskopisi ve altın standart olarak kabul edilen *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC)'in kültürü ile konur. MTBC yavaş üreyen bir bakteri olduğu için, izolasyonu, tanımlanması, ilaç duyarlılık testleri 3-6 hafta sürede tamamlanır. Klinik materyalin direk mikroskopik incelemesi zaman almaz, ancak metodun duyarlılık ve özgüllüğü düşüktür.

Moleküler biyoloji sahasındaki son gelişmeler ve MTBC'nin moleküler temelini anlaşıması ile birlikte tüberkülozun hızlı tanısı ve antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri için yeni seçenekler ortaya çıkmıştır. Nükleik asit amplifikasyon testleri (NAAT) tüberküloz tanısında oldukça özgüldür, ancak materyalin direk incelemelerinde, özellikle mikroskopi negatif olgularda, duyarlılığı düşüktür. Moleküler yöntemler ile başta rifampisin olmak üzere çeşitli antitüberküloz ilaçlara karşı direnç çok kısa sürede saptanabilmektedir.

Bununla birlikte bu tekniklerin maliyetinin yüksek oluşu, ileri teknolojiye sahip cihazlara ve eğitilmiş personele ihtiyaç duyulması nedeni ile gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak kullanılamamaktadır.

Anahtar sözcükler: duyarlılık testleri, moleküler tanı, MTBC, *Mycobacterium tuberculosis complex*

SUMMARY

The Position of Molecular Methods in the Diagnosis of Tuberculosis

Tuberculosis can be diagnosed by its symptoms, radiography, histopathology, smear microscopy, and by cultivation of *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) which is considered as the gold standard. Because of the slow growth rate of the causative agent MTBC, isolation, identification, and drug susceptibility testing of this organism can take 3-6 weeks. Direct staining and microscopic examination of clinical specimens can produce results more quickly, but these methods lack sensitivity and specificity.

Recent advances in molecular biology and molecular epidemiology, and a better understanding of the molecular basis of drug resistance in MTBC, have provided new tools for rapid diagnosis. The nucleic acid amplification tests (NAAT) provide a reliable way of increasing the specificity of diagnosis, but sensitivity is poor, especially in smear-negative disease where clinical diagnosis is equivocal. In addition to this, by the molecular methods, drug resistant mutants for drugs like rifampicin can be detected with reasonable certainty within hours.

However, the high cost of most of these techniques, and their requirements for sophisticated equipment and skilled personnel have precluded their implementation on a routine basis, especially in developing countries.

Keywords: molecular diagnosis, MTBC, *Mycobacterium tuberculosis complex*, susceptibility tests

Tüberkülozun tanısı hastalığın semptomları, balgamın direk mikroskopisi ve altın standart olarak kabul edilen *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC)'in kültürü ve radyolojik görüntülerine göre konur. MTBC'in bölünme zamanı uzundur ve genellikle 2-3 haftalık inkübasyondan sonra besiyerinde koloni görülebilir. Bu özellikleri nedeni ile mikobakterilerin klasik yöntemler ile üretilmesi, tür düzeyinde tanımlanması ve duyarlılık testlerinin sonuçlandırılması için 3-6 haftalık süreye gereksinim duyulur. Test süresini kısaltmak amacı ile hızlı kültür yöntemleri geliştirilmiş, ancak bu yeni yöntemler ile bu süre ancak yarıya indirilebilmiştir^(8,10,11).

Klasik laboratuvar tanı yöntemlerinden mikroskopinin özgüllük ve duyarlılığının düşük olması, kültür yöntemlerinin ise uzun

zaman alması nedeniyle yeni yöntemler geliştirilmiştir. Tüberküloz hastalarının erken tanu ve tedavisi bu hastalıktan toplumu korumada en etkili yoldur. Rutin uygulamalarda, kültür ve fenotipik özelliklere dayanan mikobakteri identifikasyon ve duyarlılık yöntemlerinin altın standart olduğu gözardı edilmeksizin, moleküler yöntemlerin kullanılması rutin uygulamalara girmiştir. Moleküler yöntemler klinik örneklerde bulunabilecek etkenin kısa sürede gösterilmesi, tanımlanması, alt tiplene ve ilaç direncinin saptanmasında kullanılmaktadır⁽³⁻⁷⁾.

Son yıllarda prob hibridizasyon metodlarının kullanımı yaygınlaşmıştır. Prob hibridizasyon yöntemleri dışında DNA dizi analizi, Polymerase Chain Reaction - Restriction Enzyme Analysis (PRA), Single-Stranded Conformation Polymorphism Analysis (SSCP) gibi yöntemler de kullanılmaktadır. Mikobakteri tanımlanmasında 16S rRNA veya DNA, *hsp65*, *rpoB*, 16S-23S interspace gibi gen bölgelerinden yararlanılmaktadır. Tüm bu moleküler yöntemler mikobakterilerin tanımlanması için gereken zamanı haftalardan güne indirmiştir. 16S rRNA (veya DNA) gen bölgesi ile diğer bakteriler de tanımlanabilir^(3-8,10,11).

Moleküler metodlarla MTBC tanısının konulması yanında, antitüberküloz ilaç duyarlılığında moleküler metodlar çoğu kez rifampisin (RIF), bazı ticari kitlerde izoniazid (INH) saptanması amacıyla kullanılmaktadır. RIF'in tercih nedeni olarak, RIF'in en önemli antitüberküloz ilaçlardan biri olma özelliği yanında, dirençli suşların hemen hemen tamamına yakın bir kısmında *rpoB* geninin 81 bp'lik bölgesindeki mutasyonların olması gösterilebilir. Ayrıca RIF'e dirençli izolatların yaklaşık % 90'ında INH direnci de bulunmakta olup, RIF direnci INH direncinin de bir göstergesidir. INH direncinin büyük çoğunluğundan *katG* mutasyonu mevcut olup, en sık 315. kodonda Ser315Thr mutasyonu gözlenmektedir^(7,9,12).

1. Klinik örneklerden direkt MTBC'in saptanması

Aside alkole rezistan basil (AARB) boyama teknikleri ile mikroskopik inceleme kültüre göre daha hızlı bir metot olarak kabul edilebilir.

Ancak mikroskopik incelemede AARB'in görülebilmesi için klinik örneğin mililitresinde yaklaşık 10,000 bakteri olması gerekir. Ayrıca mikroskopik inceleme sonucu saptanan basilin MTBC veya hangi tür mikobakteri olduğu konusunda karar verilemez. Bu amaçla in-vitro şartlarda türe özgü nükleik asid bölgesinin çoğaltılması ve tespitine olanak sağlayan nükleik asid amplifikasyon testleri (NAAT) geliştirilmiştir^(3-8,10,11).

Mikroskopta aside-alkole rezistan basil (AARB) görülen akciğer tüberkülozu olgularında, NAAT ile mikroskopta görülen basilin, bir gün içinde MTBC veya non-tüberküloz mikobakteri (NTM) olduğuna karar verilir. MTBC ile NTM infeksiyonlarının tedavileri farklı olup, bu ayrımın önemi büyüktür. Ayrıca, AARB pozitif olgularda direkt materyalden NAAT'ın çoklu ilaca dirençli tüberküloz (ÇİT) tayininde kullanılması da önerilmektedir. Tüberküloz salgınlarının çoğunluğunun ÇİT olgularından kaynaklandığı, olguların tedavisinin çok uzun sürdüğü, tedavi başarı oranlarının düşük olduğu ve sekonder ilaçlarla yapılan tüberküloz tedavisinin maliyetinin yüksek olduğu düşünülür ise; erken tanının halk sağlığı açısından ne kadar öneme sahip olduğu ortaya çıkar^(2,5,6,8,10,11).

AARB negatif ancak tüberküloz hastalığını yüksek düzeyde şüphelendiren klinik verilere sahip olgularda, NAAT ile MTBC pozitifliğinin saptanması tüberküloz tanısını kesinleştirir. Bu olgularda, negatif test sonucu tüberküloz hastalığı varlığını dışlamak için yeterli değildir.

AARB negatif ancak tüberküloz hastalığını orta düzeyde şüphelendiren klinik bulgulara sahip olgularda, pozitif bir NAAT tüberküloz tanısına yardımcı olur. Bu nedenle NAAT testleri klinik bulgulardan kaynaklanacak hatalı tüberküloz tanu ihtimalini azaltmakta olup, bu test sonuçlarını tek başına değerlendirmek anlamlı değildir. İmmun yetmezliği bulunan hastalarda klasik tüberküloz bulguları gözlenmeyebileceği hatırdan çıkarılmamalıdır. Bir örnek verilecek olursa HIV pozitif bireylerde, akciğer grafisi karakteristik olmayabilir. Balgam mikroskopisi negatif, ancak kültürü pozitif olabilir. Bu olgularda, negatif NAAT sonuçları tanıyı zorlaştırabilir⁽²⁾.

Ekstrapulmoner tüberküloz olgularında NAAT düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Kültür, histoloji, radyoloji ekstrapulmoner tüberküloz tanısında kullanılmaktadır. Plöral tüberkülozda adenozin deaminaz (ADA) ve interferon-sitokin testlerinin duyarlılıkları yüksek, ancak özgüllüğü düşüktür. NAAT, ADA ve interferon-sitokin testlerine göre daha özgündür. Bu nedenle tüm testler birlikte değerlendirilmelidir. Plörözide pozitif NAAT testleri tanıyı doğrularken, negatif test sonucu tüberkülozdan uzaklaştırılmaz. Bununla birlikte negatif ADA testi tüberküloz hastalığı ihtimalini 10 kat azaltır. ADA ve NAAT birlikte uygulandığında negatif sonuçlar elde edilmesi olgunun tüberküloz olmadığını doğrular. Her iki test pozitif ise, tüberküloz plörozi tanısı % 90'ın üzerinde olasılıkla konur. Tüberküloz menenjit tanısında da tüberküloz plörozisindeki gibi NAAT'a ilaveten ADA kullanılabilir. Her iki test pozitif ise % 99 olasılıkla tüberküloz tanısı konurken, negatif olduğunda yanlış olma olasılığı % 3'den daha düşüktür^(2,5,6,8,10,11).

Klinik örneklerden direkt MTBC tayini için farklı amplifikasyon metodlarının kullanıldığı pek çok ticari sistem bulunmaktadır. Günümüzde Food and Drug Administration (FDA) tarafından onay verilen iki ticari sistem mevcuttur: Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test (MTD), Gen-Probe ve AMPLICOR *Mycobacterium tuberculosis* Test (Roche Diagnostic System). Bu iki sistemde de FDA onayı solunum sistemi örnekleri için alınmıştır. Her iki sistem için AARB pozitif klinik örneklerde sonuçlar mükemmel (duyarlılık % 95-96, özgüllük % 100) iken, AARB negatif örneklerde duyarlılık ve özgüllükleri düşüktür (duyarlılık % 48-53, özgüllük % 96-99). Bu nedenle FDA bu iki ürün için 1996 yılında sadece AARB pozitif solunum yolu örneklerinde kullanıma onay vermiştir. 1999 yılında MTD AARB negatif örnekler için de FDA onayını almıştır. Bunun üzerine, National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) 2000 yılında yeni bir algoritma hazırlayarak rehberini yenilemiştir. Yeni rehber göre, EZN boyaması ve mikobakteri kültürü için farklı üç günde üç balgam örneği alınmasını önermiştir. İlk örnek EZN pozitif ve NAAT pozitif ise, has-

tanın tüberkülozlu olduğu kabul edilir, testin tekrarına gerek yoktur. Eğer ilk balgam AARB pozitif, ancak NAAT negatif ise, inhibitörlerin varlığı araştırılmalıdır. Herhangi bir inhibitör madde tesbit edilemez ise, ikinci bir balgam örneğinde test tekrarlanmalıdır. Eğer ikinci balgam AARB pozitif, NAAT negatif ve herhangi bir inhibitör madde saptanamaz ise, hastanın NTM ile enfekte olduğu kabul edilir. Eğer inhibitörün varlığı tespit edilmiş ise, NAAT'ın tanı değeri yoktur. Bu durumda ikinci bir balgam örneği ile test tekrarlanmalıdır (Test tekrarının üçten fazla yapılmasının yararı yoktur).

AMPLICOR sisteminin örnekte bulunan inhibisyonu saptayabilme yeteneği vardır. MTD testinde inhibisyonun belirlenmesi için ekstrakte edilmiş balgamın içine yaklaşık 10 MTBC basili konulması önerilir. Negatif sonuç inhibitör varlığını gösterir.

Eğer AARB negatif ve MTD pozitif ise, NICE hastanın ikinci bir balgam örneğinde testin bir kez daha tekrarlanmasını önermektedir. İkinci kez MTD pozitif bulunmuş ise, hastanın tüberkülozlu olduğu varsayılır. İkinci tekrarın nedeni, AARB negatif olgularda MTD testinin özgüllüğünün % 96-99 arasında olmasına bağlı konulabilecek yanlış tanıdan kaçınmaktır. Kros kontaminasyona bağlı gelişebilecek yanlış pozitif sonuçlar göz ardı edilmemeli, AARB negatif ve MTD pozitif olgularda hastanın kliniği ve radyolojisi ile uyumlu olduğu gözlenmelidir. Ayrıca yedi günden fazla veya son bir yıl içinde antitüberküloz ilaç alan hastaların solunum yolu örnekleri NAAT için kabul edilmez.

Solunum yolu dışındaki klinik örneklerde direkt MTBC aranması için ticari ürünlere FDA onayı bulunmamaktadır. Bu konuda kontrollü geniş çalışmalara ve yöntem modifikasyonlarına gereksinim duyulmaktadır. Örneğin plevral sıvıda bulunan inhibitörlerin MTD amplifikasyonunu önlediği saptanmış olup, bu tür klinik materyallerde bulunan inhibitörlerin yıkılarak uzaklaştırılmasından sonra çalışılması önerilmektedir⁽¹¹⁾.

FDA onayı olmamakla birlikte diğer kuruluşlardan onay almış ve satışa sunulmuş çeşitli ticari ürünler de bulunmaktadır. Strand Displacement Amplification (SDA) yönteminin kulla-

nıldığı BDProbeTec ET (BD Biosciences), Ligase Chain Reaction (LCR) yönteminin kullanıldığı LCx Anylişer (Abbott), Nucleic Acid Sequence Based Amplification (NASBA) yönteminin kullanıldığı QR System Anylişer (Organon Teknika) bu gruptadır. Klinik materyalden direkt MTBC arama işleminde laboratuvarında hazırlanmış (in-house) PCR yönteminin kullanılması durumunda standardizasyon problemleri ile karşılaşmaktadır⁽¹⁾.

NAAT testleri tüberküloz tedavisinin izlenmesinde kullanılmaz. Tüberküloz tedavisine bağlı kültür negatifleşmesinden hatta tedavinin tamamlanmasından sonra da, bu testlerin pozitifliği devam edebilmektedir. Ayrıca bir önceki hastadan alınan ve bronkoskopta kalan MTBC veya DNA kalıntılarının yanlış pozitifliğe yol açabileceği unutulmamalıdır⁽¹⁾.

2. Kültürde üretilen mikobakterilerin tür düzeyinde tanımlanması

NICE 1993 yılında MTBC nükleik asit propları, NAP testi, high-performance liquid chromatography (HPLC) gibi çabuk sonuçlanan test yöntemlerin kullanılmasını önermiştir. Bu yöntemlerin MTBC tanısında 2-3 hafta avantaj sağladığı bildirilmektedir⁽¹²⁾.

Mikobakterilerin kromozomal DNA veya ribozomal RNA'larının, bunlara özgül olarak bağlanabilen DNA veya RNA propları yardımı ile tür düzeyinde tanımlanması mümkün hale gelmiştir. Günümüzde prob teknolojisi olarak AccuProbe (Gen-Probe), BD ProbeTec ET (BD Biosciences) ve bir mikrodilüsyon plate hibridizasyon (DDH Mycobacteria, Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co) bulunmaktadır. Bu testler prob teknolojisine göre çalıştığı için örnekte en az 10^5 /ml basil bulunmalıdır. HPLC mikobakterilerin hücre duvarında bulunan mikolik asit yapı farklılıklarını ortaya koyarak tür seviyesinde tanımlar. HPLC cihazının pahalı olması ve iyi yetişmiş eleman gerektirmesi kullanımı sınırlar. Referans laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaktadır^(3-6,8,10,11).

1993'ten sonra mikobakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasında 16S rRNA, *hsp65*, *rpoB* ve diğer gen bölgeleri hedef olarak seçilip, PCR başta olmak üzere çeşitli amplifikasyon metod-

ları ile çoğaltılmasına dayanan yöntemler geliştirilmiştir. Amplifikasyondan sonra uygulanan prob hibridizasyon, restriction fragment length polymorphism (RFLP), DNA dizi ve DNA mikroarrays analizleri ile mikobakterilerin tür düzeyinde tanımlanması yapılabilmektedir. Mikobakterilerin identifikasyonunda DNA dizi analizi en yüksek seviyede doğru sonuç vermesine rağmen cihazın pahalı olması kullanımını sınırlar. MikroSeq 500 sistemi (Applied Biosystems) 16S rRNA geninin bir bölümünün DNA dizisinin belirlenmesine dayanır. Bu yöntemle *M.tuberculosis* diğer MTBC basillerinden ayrılabilen ve klinik örneklerden sık olarak izole edilen bazı mikobakteri türleri tanımlanabilmektedir. LIPA *Mycobacteria*, 16S-23S ribozomal RNA ara bölgesinin amplifikasyonu ve bu bölgenin PCR ürünlerinin revers-hibridizasyonu temelinde dayanır. Bu metodla klinik örneklerden sık olarak izole edilen mikobakteri türleri tanımlanabilmektedir. Klinik örneklerden izole edilen mikobakterilerin hemen hemen tamamını tanımlayabilen PCR tabanlı RFLP yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem, 65 kDa ağırlığındaki ısı şok proteinini kodlayan 439 bp uzunluğundaki *hsp65* gen bölgesinin çoğaltılması ve BstEII ve Hae III enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen DNA parçalarının jel elektroforezdeki paternlerinin yorumlanmasına dayanır. Laboratuvarında hazırlanmış olarak uygulanabildiği için ticari sistemlere göre daha ekonomiktir^(5,6,8,10,11).

3. Kültürde üreyen MTBC'nin duyarlılık testleri

MTBC yavaş üreyen bir mikroorganizma olduğu için klasik kültür besiyerleri ile yapılan duyarlılık test yöntemleri uzun zaman almaktadır. Moleküler tanı yöntemleri ilaç direncinden sorumlu mutasyonların belirlenmesini ve ilaç duyarlılığını hızlı bir şekilde belirleyebilmektedir. MTBC ilaç direncinin moleküler düzeyde tanımlanması ve uygun tedavi protokollerinin uygulanması bu açıdan önemlidir. Rutin uygulamalarda RIF için *rpoB* ve INH için *katG* gen mutasyonları ile ilgili olarak kitler mevcuttur. Pirazinamid için de çalışmalar devam etmektedir.

Tüberküloz tedavisinde 1970'li yıllardan

günümüze kadar kullanılan RIF, sterilizan etki- si nedeni ile tedavide anahtar rolü olan bir ilaç- tır. Rifampisine dirençli *M.tuberculosis* klinik izolatlarının % 95'inden fazlasında RNA poli- meraz enziminin, alt ünitesini kodlayan *rpoB* genin 507-533. kodonları arasındaki 81 baz çifti uzunluğundaki **rifampin resistance determi- ning region** (RRDR) veya **hot spot** adı verilen bölgede **missense** mutasyonların (nükleotid değişimi), küçük delesyon (nükleotid kaybı) ve ya insersiyonların (nükleotid ilavesi) olduğu gösterilmiştir.

Tüberküloz tedavisinde 2. önemli ilaç INH olup, özellikle mikolik asitlerin biosentezini inhibe ettiği düşünülmektedir. INH direnci ile ilgili olarak sıklıkla *katG*, *inhA* ve *ahpC* olmak üzere, en sık 315. kodonda Ser315Thr mutasyo- nu gözlenmektedir. Genetik çalışmalar ışığında INH ile katalaz-peroksidaz enzimi arasında sıkı bir ilişki olduğu anlaşılmıştır. INH'ın aktive olması için katalaz peroksidaz enzimi gerekli olup, bu enzim *katG* geni tarafından kodlan- maktadır. *katG* genindeki mutasyonlar katalaz peroksidaz sistemini etkilemekte ve dolayısı ile INH direncine neden olmaktadır⁽⁹⁾.

Pirazinamid duyarlılık testlerinin uygula- ma zorlukları, mutasyonların çoğunun *pncA* ge- ni üzerinde bulunması nedeni ile pirazinamid direncinin genetik temele bağlı belirlenmesinin rutin uygulamalara gireceği tahmin edilmekte- dir. Pirazinamide dirençli kökenlerin % 72- 94'ünde pirazinamidaz enzimini kodlayan *pncA* geninde çeşitli tipte mutasyonların olduğu bi- linmektedir. Mutasyonlarının çok fazla değiş- kenlik göstermesi ve gen boyunca dağılmış ol- ması *pncA* dışındaki direnç genlerinde görülme- yen bir durumdur. Buna karşın *pncA* geninin üç bölgesinde (3-17, 61-85 ve 132-142. kodonlar arasında) mutasyonlar belli bir kümeleşme gös- termektedir. Bu bölgede **missense** mutasyonla- rın yanısıra delesyon, insersiyon ve terminas- yon mutasyonlarının da olabileceği bilinmekte- dir^(1,7,9,12).

Moleküler biyoloji sahasındaki son geliş- meler ve *M.tuberculosis*'in moleküler temelini anlaşılmaması ile moleküler metodlarla hızlı tanı

ve antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri için ye- ni imkanlar oluşmuştur. Bununla birlikte, bu tekniklerin maliyetinin yüksek oluşu, ileri tek- nolojide cihazlara ve eğitilmiş personele ihtiyaç göstermesi gelişmekte olan ülkelerde sorun oluşturmaktadır⁽⁸⁾.

KAYNAKLAR

1. Çavusoglu C: Mycobacterium tuberculosis'de moleküler antibiyotik duyarlılık test yöntemleri, 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu, Sempozyum kitabı, s.369-87, Otak Form-Ofset Basım San. Tic A.Ş., Samsun (2003).
2. Dinnes J, Deeks J, Kunst H: A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infec- tion, Health Technol Assess 2007;11(3):1-196.
3. Durmaz R: Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinde sorunlar ve standardizasyon, "Durmaz R (ed): Uygula- malı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu" kitabı, s.45-56, Malatya (2001).
4. Kathleen DE: Molecular diagnosis, "Radledge C, Dale J (eds): Mycobacteria. Molecular Biology and Virulance" kitabında s.161-79, Blackwell Science, London, UK (2000).
5. Katoch VM: Newer diagnostic techniques for tuberculo- sis, Indian J Med Res 2004;120(4):418-28.
6. Kocagöz T: Tüberküloz tanısında kullanılan moleküler yöntemler, "Ağaçfidan A, Badur S, Türkoğlu S (eds): İn- feksiyon Hastalıkların Moleküler Tanısında Moleküler Yöntemler" kitabında s.189-95, MGG Matbaacılık, İstan- bul (2002).
7. Öztürk R: Mikobakteriyoloji laboratuvarında tür ve di- renç tayininde yenilikler, "Eraksoy H, Yenen OŞ (eds): İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji" kiti- bında s.35-43, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2000).
8. Palomino JC: Nonconventional and new methods in the diagnosis of tuberculosis: feasibility and applicability in the field, Eur Respir J 2005;26(2):339-50.
9. Saniç A: Antitüberküloz ilaçlar, "Leblebicioğlu H, Uslu- er G, Ulusoy S (eds): Güncel Bilgiler Işığında Antibiyoti- kler" kitabında s.509-24, Bilimsel Tıp Yayınevi, Anka- ra (2003).
10. Soini H, Musser JM: Molecular diagnosis of mycobacte- ria, Clin Chem 2001;47(5):809-14.
11. Woods GL: The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques, Infect Dis Clin North Am 2002;16(1):127-44.
12. Zhang Y, Telenti A: Genetics of drug resistance in Myco- bacterium tuberculosis, "Hatful GF, Jacobs WR Jr (eds): Molecular Genetics of Mycobacteria" kitabında s.235-54, ASM Press, Washington, DC (2000).