

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS'İN BİRİNCİ SEÇENEK ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA KARŞI DUYARLILIĞININ BELİRLENMESİNDE DÖRT FARKLI YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF FOUR DIFFERENT METHODS USED IN DETERMINING THE SUSCEPTIBILITY OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TO PRIMARY DRUGS

Erdinç AKTAŞ¹, Nuri ÖZKÜTÜK¹, Süheyla SÜRÜCÜOĞLU¹, Hörü GAZİ¹, Rıza ÇAKMAK²
Beril ÖZBAKKALOĞLU¹

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

²Kahramanlar Verem Savaş Dispanseri ve Bölge Laboratuvarı, İzmir

Anahtar Sözcükler: *Mycobacterium tuberculosis*, antitüberküloz duyarlılık testleri, agar proporsiyon yöntemi, BACTEC 460TB, manual MGIT, Löwenstein-Jensen besiyeri

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, anti-tuberculosis susceptibility methods, agar proportion method, BACTEC 460TB, manual MGIT, Löwenstein-Jensen medium

Geliş: 05 Eylül 2007

Kabul: 07 Kasım 2007

ÖZET

Mycobacterium tuberculosis'in antibiyotik duyarlılık testlerinin zaman alıcı ve zahmetli olması nedeniyle, kolay uygulanabilen, kısa sürede sonuç veren ve daha ucuz yöntemlere gereksinim vardır. Bu çalışmada, 50 *M. tuberculosis* kökeninin streptomisin, izoniyazit, rifampisin ve etambutole karşı duyarlılıklarının dört farklı yöntem ile test edilip yöntemlerin değerlendirilmesi amaçlandı. BACTEC 460TB, manual MGIT ve Löwenstein-Jensen besiyerinde proporsiyon yöntemi ile alınan sonuçlar, standart referans yöntem olarak kabul edilen agar proporsiyon yöntemi ile alınan sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirildi. BACTEC 460TB yöntemi ile agar proporsiyon yöntemi arasındaki uyumluluk dört ilaç için de %100 olarak belirlendi. MGIT yöntemi ile agar proporsiyon yöntemi arasındaki uyumluluk streptomisin ve rifampisin için %100, izoniyazit ve etambutol için %98 olarak saptandı. Agar proporsiyon yöntemi ile izoniyazide dirençli saptanan bir köken ve etambutole dirençli saptanan bir köken MGIT yöntemi ile duyarlı bulundu. Löwenstein-Jensen proporsiyon yöntemi ile agar proporsiyon yöntemi arasındaki uyumluluk ise streptomisin, izoniyazit ve rifampisin için %90 ve etambutol için %94 olarak saptandı. Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yöntemi ile izoniyazide karşı üç, etambutole karşı bir, streptomisin ve rifampisine karşı iki major hata gözlemlendi. Agar proporsiyon yöntemi, BACTEC 460TB, manual MGIT ve Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yöntemleri ile testin ortalama sonuçlanma süresi sırasıyla 20.2, 5.8, 7.1 ve 28 gün olarak saptandı. Sonuç olarak; elde edilen duyarlılık test sonuçları bakımından BACTEC 460TB yöntemi, manual MGIT yöntemi ve Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yönteminin standart referans yöntem olarak kabul edilen agar proporsiyon yöntemi ile aralarında istatistiksel yönden anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bununla beraber, Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yönteminin diğer testlere göre daha uzun zamanda sonuçlanması ve major hatalara neden olması dikkat çekici bir sonuçtur. Manual MGIT yönteminin ise tam olarak standardize edildiğinde kolay ve hızlı yöntem olarak kullanılabilceği düşünülmüştür.

SUMMARY

Due to the fact that conventional available antituberculosis susceptibility tests are time consuming and laborious, new methods which are easy to use, give the results in a short time and cost-effective are needed. The aim of this comparative study was to evaluate different methods used in determining the susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to primary drugs. Totaly 50 *M. tuberculosis* isolates were tested for susceptibility to streptomycin, isoniazid, rifampicin and ethambutol using four different meth-

ods. The results of BACTEC 460TB method, manual MGIT method and proportion method in Löwenstein-Jensen media were compared with the results of agar proportion method which is accepted as standard reference method. Agreement between BACTEC 460 method and agar proportion method was 100% for all drugs. Agreement between MGIT method and agar proportion method was 100% for streptomycin and rifampicin and 98% for isoniasid and ethambutol. One isolate resistant to isoniasid and another isolate resistant to ethambutol in agar proportion method were found susceptible with MGIT method. Agreement between Löwenstein-Jensen proportion method and agar proportion method was 90% for streptomycin, isoniasid and rifampicin and 94% for ethambutol. In Löwenstein-Jensen proportion method, major errors were obtained for isoniasid in three isolates, for ethambutol in one isolate, for streptomycin in two isolates and for rifampicin in two isolates. The median duration of the tests were 20.2, 5.8, 7.1, and 28 days for agar proportion method, BACTEC 460TB method, manual MGIT method and Löwenstein-Jensen proportion method, respectively. In conclusion, there were no statistically significant differences in susceptibility test results between the reference agar proportion method and the other methods, namely BACTEC 40TB, manual MGIT and Löwenstein-Jensen proportion method. However, it is conspicuous that the duration of Löwenstein-Jensen proportion method is longer than those of other three methods and may cause major test errors. Manual MGIT method can also be used as a rapid and easy method if it is well standardized.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) tüm uğraşlara rağmen önemli bir toplum sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Tüberküloz ile savaşta en etkili yol TB hastalarının erken saptanması ve etkili sağaltımı ile bulaş zincirinin kırılmasıdır. Tüberkülozun etkin bir şekilde sağaltımı, uygun seçilmiş ilaç kombinasyonlarının yeterli sürede kullanımına bağlıdır. Uygun ilaçların seçimi ise standardize edilmiş, hızlı sonuç veren ve doğru yorumlama kriterlerine sahip *in vitro* duyarlılık test yöntemlerine dayanır. Çoklu ilaca dirençli (ÇİD) TB olgularındaki artış, *Mycobacterium tuberculosis*'in tanı ve antibiyotik duyarlılık testlerinin uzun sürmesi, hastalığın sağaltım ve kontrolünde başarı oranını azaltmaktadır (1, 2).

Mycobacterium tuberculosis'in geleneksel antibiyotik duyarlılık testlerinin zaman alıcı ve zahmetli olması nedeniyle, kolay uygulanabilen, kısa sürede sonuç veren, güvenilir ve ucuz yöntemlere gereksinim vardır (3). Günümüzde yaygın olarak kullanılan duyarlılık test yöntemleri arasında; standart referans yöntem olarak kabul edilen Middlebrook 7H10 agarda proporsiyon yöntemi (4); özellikle gelişmiş ülkelerde yaygın olarak kullanılan ticari bir yöntem olan radyometrik BACTEC 460TB yöntemi (4, 5); radyometrik olmayan, hızlı, ticari bir yöntem olan MGIT (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) yöntemi (6, 7) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından özellikle gelişmekte olan ülkeler için önerilen ucuz bir yöntem olan Löwenstein-Jensen besiyerinde (LJ) proporsiyon yöntemi sayılabilir (8, 9).

Bu çalışmada; TB sağaltımında kullanılan birinci seçenek ilaçlar olan streptomisin (SM), izoniyazit (İNH), rifampisin (RİF) ve etambutol (EMB)'e karşı *M. tuberculosis*'in duyarlılığının araştırılmasında dört farklı yöntemin karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kökenler: Çalışmaya 01.01.2000-31.12.2003 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na gelen ve farklı hastalardan soyutlanan 50 *M. tuberculosis* kompleks (MTBC) kökeni alınmıştır. Kökenlerin identifikasyonunda NAP testi (Becton Dickinson, Sparks, MD) ve gerektiğinde geleneksel biyokimyasal yöntemler kullanılmıştır. Çalışmada kontrol suşu olarak *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) kullanılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri: Çalışmada MTBC kökenlerinin SM, İNH, RİF ve EMB'ye duyarlılıkları dört farklı antibiyotik duyarlılık test yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Middlebrook 7H10 agarda proporsiyon yöntemi (APY) CLSI önerileri ve standart prosedür takip edilerek uygulanmıştır. Yöntemde Tablo 1'de belirtilen kritik konsantrasyonlar kullanılmıştır (4, 10, 11). BACTEC 460TB (Becton Dickinson, Sparks, MD) yöntemi ile duyarlılık testi, üretici firmanın önerilerine göre ve Tablo 1'de belirtilen kritik konsantrasyonlar kullanılarak uygulanmıştır (5, 10). Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yöntemi standart prosedür takip edilerek ve Tablo 1'de belirtilen kritik konsantrasyonlar kullanılarak uygulanmıştır (8, 10, 12, 13). MGIT yöntemi (Becton Dickinson, Sparks, MD) üretici firmanın önerilerine göre ve Tablo 1'de belirtilen kritik konsantrasyonlar kullanılarak uygulanmıştır. Bu yöntemde BBL-MGIT 4ml besiyeri kullanılmıştır (6, 7).

İstatiksel analiz: Çalışmada agar proporsiyon yöntemi altın standart test olarak kullanılmıştır. Diğer üç test yönteminin uyumluluk, duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değerleri Epiinfo programı ile hesaplanmıştır. Testlerin sonuçlanma sürelerinin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 1. Antitüberküloz duyarlılık testlerinde kullanılan kritik konsantrasyon değerleri (µg/mL)

	APY	BAC. 460TB	MGIT	LJ
SM	2.0	2.0	1.0	4.0 (KP %10)
İNH	0.2	0.1	0.1	0.2
RİF	1.0	2.0	1.0	40.0
EMB	5.0	2.5	5.0	2.0

APY: Agar proporsiyon yöntemi, BAC.460TB: BACTEC 460TB, MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube, LJ: Löwenstein-Jensen besiyerinde proporsiyon yöntemi, SM: Streptomisin, İNH: İzoniyazit, RİF: Rifampisin, EMB: Etambutol, KP: Kritik proporsiyon

BULGULAR

Çalışmada altın standart yöntem kabul edilen APY ile, 50 köken arasında SM'ye 15 (%30), İNH'a 24 (%48), RİF'e 14 (%28) ve EMB'ye 4 (%8) kökenin dirençli olduğu saptandı. APY ile alınan sonuçlara göre diğer üç yöntemin sonuçları değerlendirildiğinde; BACTEC 460TB yöntemi ile, tüm ilaçlar için %100 uyumlu sonuçlar alındı. Mycobacteria Growth Indicator Tube ve APY arasında ise yalnızca SM ve RİF için tam bir uyum olduğu gözlemlendi. Ancak APY ile İNH-dirençli bulunan bir izolat ve EMB-dirençli bulunan bir izolat MGIT yöntemi ile duyarlı olarak saptandı. Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yönteminde, APY ile İNH-dirençli üç, SM-dirençli iki, RİF-dirençli iki ve EMB-dirençli bulunan bir kökenin duyarlı olduğu gözlemlendi. Ayrıca APY ile SM-duyarlı üç, RİF-duyarlı üç, İNH-duyarlı iki ve EMB-duyarlı bulunan iki köken ise bu yöntemle dirençli olarak saptandı.

Agar proporsiyon yönteminde testin ortalama sonuçlanma süresi 20.2 (14-21) gün olarak saptanırken, bu süre

BACTEC 460TB yönteminde 5.8 (4-11), MGIT yönteminde 7.1 (5-10) ve LJ'de proporsiyon yönteminde ise 28 gün olarak bulundu.

Tablo 2'de BACTEC 460TB, MGIT ve LJ'de proporsiyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar APY ile elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.

TARTIŞMA

Başarılı bir TB sağaltım programında kökenlere antitüberküloz duyarlılık testlerinin yapılarak direnç durumunun araştırılması büyük önem taşımaktadır. Tüberküloz sağaltımında kullanılacak uygun ilaçların seçimi için standardize edilmiş, hızlı sonuç alınan, doğru yorumlama kriterlerine sahip ve pahalı olmayan duyarlılık yöntemlerine gereksinim vardır (1, 14).

Agar proporsiyon yöntemi 1960'lı yılların başlarında geliştirilmiş olup halen yaygın olarak kullanılan geleneksel bir duyarlılık test yöntemidir. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından "altın standart" yöntem olarak önerilen bu yöntemin güvenilir ve ticari sistemlere göre daha ucuz olması en önemli avantajlarıdır. Ancak bu yöntemle testin sonuçlanması için yaklaşık üç haftaya gereksinim duyulmaktadır (4, 14). Ayrıca primer izolasyon ile birlikte bu süre yaklaşık iki katına çıkmaktadır. Oysaki Centers for Disease Control and Prevention (CDC) duyarlılık test sonuçlarının örnek laboratuvara geldikten sonra 30 gün içinde bildirilmesini önermektedir. Bu amaçla CDC hızlı sonuç veren Food and Drug Administration (FDA) onaylı ticari sistemlerin duyarlılık testinde kullanılabileceğini kabul etmiştir (4, 14).

Tablo 2. Dört farklı yöntemle elde edilen duyarlılık test sonuçları

		SM						İNH						RİF						EMB					
		BACTEC		MGIT		LJ		BACTEC		MGIT		LJ		BACTEC		MGIT		LJ		BACTEC		MGIT		LJ	
		R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
APY	R	15	-	15	-	13	2	24	-	23	1	21	3	14	-	14	-	12	2	4	-	3	1	3	1
	S	-	35	-	35	3	32	-	26	-	26	2	24	-	36	-	36	3	33	-	46	-	46	2	44
	Duy.	%100		%100		%86.7		%100		%95.8		%87.5		%100		%100		%85.7		%100		%75		%75	
	Özg.	%100		%100		%91.4		%100		%100		%92.3		%100		%100		%91.7		%100		%100		%95.7	
	Uym.	%100		%100		%90		%100		%98		%90		%100		%100		%90		%100		%98		%94	
	PPD	%100		%100		%81.3		%100		%100		%91.3		%100		%100		%80		%100		%100		%60	
	NPD	%100		%100		%94.1		%100		%96.3		%88.9		%100		%100		%94.3		%100		%97.9		%97.8	

R: Dirençli suş sayısı, S: Duyarlı suş sayısı; APY: Agar proporsiyon yöntemi; Duy.: Duyarlılık; Özg.: Özgüllük; Uym.: Uyumluluk; PPD: Pozitif prediktif değer; NPD: Negatif prediktif değer

Bu çalışmada *M. tuberculosis*'in birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılığını saptamada kullanılan üç farklı yöntemin altın standart yöntemle karşılaştırılarak güvenilirliği ve kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

BACTEC 460TB yöntemi, tanı ve duyarlılık testi amacıyla kullanılan, yarı otomatize, radyometrik bir ticari sistemdir (15). Bu yöntem ile testin sonuçlanma süresinin APY'ne göre çok kısa olması ve kolay uygulanabilirliği en büyük avantajlarıdır. Ancak radyometrik olması ve maliyetinin daha yüksek olması bu yöntemin dezavantajları arasında sayılabilir. Çalışmamızda BACTEC 460TB ile APY arasındaki uyum dört ilaç için de %100 olarak saptanmıştır. Agarda proporsiyon ile BACTEC 460TB yöntemini karşılaştıran çeşitli çalışmalarda birinci seçenek antitüberküloz ilaçlar için duyarlılık sonuçları arasındaki uyum %95'in üzerinde bulunmuştur (15-17).

Manual MGIT yöntemi otomatize olmayan hızlı kültür sistemlerindedir. Çalışmamızda, MGIT ile APY arasındaki uyum değerlendirildiğinde; SM ve RIF için %100, İNH ve EMB için ise %98 olarak belirlenmiştir. Mycobacteria Growth Indicator Tube yönteminin duyarlılığı SM ve RIF için %100, İNH için %95.8 ve EMB için %75 olarak saptanmıştır. Macondo ve ark. (18) çalışmalarında MGIT ve APY arasındaki uyumu SM için %91.4, İNH için %97.1, RIF için %100, EMB için de %94.2 olarak saptamışlardır. Tortoli ve ark. (16) tarafından 133 köken ile yapılan bir çalışmada MGIT ve APY arasında büyük oranda uyum olduğu bildirilmiştir. Mycobacteria Growth Indicator Tube yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü ise SM için (%99.2, %100), İNH için (%96.6, %97.1), RIF için (%99.2, %100), EMB için ise (%98.3, %81.8) olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda MGIT yönteminin EMB direncini belirlemede duyarlılığının düşük saptanmasının çalışılan kökenler arasında EMB-dirençli olanların sayısının az sayıda olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak MGIT yönteminde diğer ilaçlara göre EMB direncini saptamada duyarlılığın daha düşük olduğunu bildiren çalışmalar da vardır. Tortoli ve ark.(16)'nın çalışmasında da EMB için MGIT yönteminin özgüllüğünün daha düşük olduğu belirtilmiş, yöntemin EMB açısından farklı konsantrasyonlarda test edilerek değerlendirilmesi önerilmiştir. Bergmann ve ark.(2)'nin 2000 yılında yaptığı bir çalışmada, MGIT ile agar proporsiyon yöntemi karşılaştırılmış, duyarlılık testleri için inokulum kaynağı olarak pozitif MGIT tüpü kullanıldığında iki yöntem arasındaki uyumluluk RIF için %100, SM için %96.8, EMB için ise %96.8, İNH için %87.1 olarak bildirilmiş, inokulum olarak McFarland No:1 standart bulanıklığına

göre ayarlanmış inokulum kullanıldığında ise İNH için uyumluluk %93.5'e yükselirken, diğer ilaçlar için uyumluluğun değişmediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada (2), MGIT yönteminin bir antitüberküloz duyarlılık testi olarak BACTEC 460TB'ye uygun bir alternatif olacağı belirtilmiştir. Bergmann ve ark.(19) tarafından 1997 yılında yapılan başka bir çalışmada ise İNH ve RIF duyarlılıkları MGIT ve BACTEC 460TB ile test edilmiş ve İNH için %95.5 RIF için %100 uyum olduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacıların yaptığı başka bir çalışmada da (17); SM ve EMB duyarlılıkları MGIT, BACTEC 460TB ve agar proporsiyon yöntemi ile test edilmiş, MGIT ile BACTEC 460TB arasındaki uyum SM için %94.6, EMB için %86.5, MGIT ile agar proporsiyon arasındaki uyum SM için %93.2, EMB için %90.5 olarak bildirilmiştir. Bemer ve ark. (20) tarafından yayınlanan bir çalışmada, ilaç duyarlılıkları MGIT 960 ve BACTEC 460TB ile karşılaştırılmış, MGIT 960 yönteminde RIF dışındaki ilaçlar farklı konsantrasyonlarda test edilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 yönteminde kritik konsantrasyonlar SM için 1.0 µg/mL ve 4.0µg/mL, İNH için 0.1 µg/mL ve 0.4 µg/mL, EMB için 5.0 µg/mL ve 7.5 µg/mL olarak çalışılmış ve BACTEC 460TB ile karşılaştırıldığında uyumun SM (1.0 µg/mL) için %91.8 ve SM (4.0 µg/mL) için %70.6, İNH (0.1 µg/mL) için %96.4 ve İNH (0.4 µg/mL) için %89.7, RIF (1.0 µg/mL) için %99.1, EMB (5.0 µg/mL) için %96.4 ve EMB (7.5 µg/mL) için %82.4 olarak bildirilmiştir. CLSI tarafından MGIT yöntemi için önerilen kritik konsantrasyonlar ise SM için 1.0 µg/mL, İNH için 0.1 µg/mL, RIF için 1.0 µg/mL ve EMB için 5.0 µg/mL'dir (4). Bizim çalışmamızda da bu önerilerin doğrultusunda aynı konsantrasyonlar kullanıldı. Bemer ve ark.(20)'nin yaptığı çalışma da yüksek konsantrasyonlarda elde edilen sonuçların SM ve EMB için referans yöntemlerle olan uyumu azalttığını göstermektedir. Adjers-Koskela ve ark. (21) tarafından yapılan çalışmada, otomatize MGIT (MGIT 960) ve manual MGIT yöntemleri ile farklı konsantrasyonlarda duyarlılık testleri yapılmış ve BACTEC 460 ile uyumu değerlendirilmiştir. Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 ve manual MGIT yönteminin BACTEC 460 ile uyumu sırasıyla SM için %78 ve %72, İNH için %94 ve %97, RIF için %100 ve %100, EMB (7.5 µg/mL) için %75 ve %78, EMB (3.5 µg/mL) için %67 ve %64 olarak bildirilmiştir. Walters ve ark. (7) tarafından 117 köken ile yapılan çalışmada MGIT ile agar proporsiyon yöntemi karşılaştırılmış, İNH ve RIF duyarlılık testi sonuçları arasındaki uyumun İNH için %98.3, RIF için %99.1 olarak bildirilmiştir. Zapata ve ark. (22) ise MGIT ile

BACTEC460TB arasındaki uyumu SM ve İNH için %90, RİF için %94, EMB için %100 olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda LJ'de proporsiyon yöntemi değerlendirildiğinde, APY ile arasındaki uyumluluk; İNH, RİF ve SM için %90, EMB için %94 olarak belirlenmiştir. Macondo ve ark. (18) çalışmalarında LJ'de proporsiyon ile APY arasındaki uyumu SM için %92.9, İNH ve RİF için %100, EMB için %95.7 olarak bildirmişler, ancak SM ve EMB için duyarlılığın düşük olduğunu (SM % 37.5, EMB %25) belirterek, bu iki ilaca dirençli kökenlerin sayısının fazla olduğu çalışmalarla duyarlılığın tekrar değerlendirilmesini önermişlerdir. Abe ve ark. (23) MGIT 960, MGIT, APY ve LJ'de proporsiyon yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmada, iki MGIT yöntemi arasında uyumun tam olduğunu, aynı zamanda APY ile %98.3 ve LJ ile %99 uyum olduğunu bildirmişlerdir. Palaci ve ark. (24) tarafından yapılan bir çalışmada 25 köken MGIT ve LJ besiyeri ile test edilmiş ve tüm ilaçlar için iki yöntem arasında %100 uyum olduğu bildirilmiştir. Palomino ve ark. (25) tarafından yapılan bir çalışmada, 101 köken MGIT ve LJ besiyeri ile test edilmiş ve aralarındaki uyum SM için %91, İNH için %100, RİF için %98 ve EMB için %99 olarak bildirilmiştir.

Duyarlılık test yöntemleri sonuçlanma sürelerine göre değerlendirildiğinde; çalışmamızda ortalama sonuçlanma süreleri APY için 20.2 (14-21) gün, BACTEC 460TB için 5.8 (4-11) gün ve MGIT için 7.1 (5-10) gün olarak saptanmıştır. Çalışmamızda LJ'de proporsiyon yöntemi ile test sonuçlarının tümü önce 28. gün değerlendirilmiş, duyarlı sonuçlar 42. gün tekrar değerlendirilmiştir. Yirmisekizinci. ve 42. gün sonuçları arasında fark olmadığı gözlemlendiğinden tüm kökenler için testin sonuçlanma süresi 28 gün olarak kabul edilmiştir. Tortoli ve ark.(16)'nın çalışmasında sonuçlar BACTEC 460TB yön-

temi ile ortalama 6.9 (5-16) günde, MGIT yöntemi ile 9.4 (5-14) günde alındığı, agar proporsiyon yönteminin ise 21 günde sonuçlandığı bildirilmektedir. Değişik çalışmalarda MGIT ve BACTEC 460TB yöntemleri için birbirine benzer şekilde, MGIT için 5.5 – 9.4 gün ve BACTEC 460TB için ise 6.9 – 9.1 gün arasında ortalama sonuçlanma süreleri bildirilmektedir (2, 7, 16-21). Agar proporsiyon yönteminde en erken 14. günde, LJ'de proporsiyon yönteminde ise en erken 28. günde sonuçların değerlendirilebileceği, fakat kökenin herhangi bir ilaca duyarlı olduğuna karar verebilmek için testin APY'de 21. ve LJ'de proporsiyon yönteminde ise 42. günde değerlendirilmesi önerilmektedir (4, 9, 26).

Sonuç olarak, çalışma sonunda referans yöntem olarak kabul edilen agar proporsiyon ve BACTEC 460TB arasında tam bir uyum olduğu görüldü. Agar proporsiyon yöntemine göre daha hızlı ve daha kolay olması BACTEC 460TB yönteminin en önemli üstünlüğü olmakla birlikte, radyometrik olması ve daha pahalı bir sistem olması yöntemin eksiklikleridir. Mycobacteria Growth Indicator Tube yöntemi ise BACTEC 460TB kadar hızlı ve nonradyometrik bir sistem olması, otomatize olmayan versiyonunun pahalı cihazlar gerektirmemesi yöntemin üstünlükleridir. Ayrıca çalışmamızda SM, İNH ve RİF için yöntemin oldukça güvenilir olduğu görüldü. Sadece EMB için duyarlılık sonuçları açısından sorun olduğu gözlenmiş, EMB-dirençli çok sayıda kökenle ve farklı EMB konsantrasyonlarında yapılacak çalışmalarla sorunun çözülebileceği kanısına varılmıştır. Löwenstein-Jensen'de proporsiyon yöntemi ise uzun zaman alması ve hatalı sonuçlara neden olması nedeni ile önerilmekle birlikte, ucuz maliyeti, uzun raf ömrü nedeniyle gelişmekte olan ülkeler için önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. WHO Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO Report 2007. Geneva: World Health Organization, 2007. WHO/HTM/TB/2007.376
2. Bergmann JS, Fish G, Woods GL. Evaluation of the BBL MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tube) AST SIRE system for antimycobacterial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to 4 primary antituberculous drugs. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 82-6.
3. Woods GL. Susceptibility testing for mycobacteria. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1209-15.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae, and other aerobic Actinomycetes; Approved Standard. NCCLS Document M24-A, Pennsylvania, 2003.
5. Siddiqi SH. 1995 Bactec TB system. Product and Procedure Manual. Revision B. Towson: Becton Dickinson Diagnostic Instruments System, 1995.
6. MGIT (Mycobacteria Growth indicator tube), Product and Procedure Manual. Becton Dickinson Diagnostic Instruments System, 1997
7. Walters SB, Hanna BA. Testing of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampin by Mycobacterium Growth Indicator Tube Method *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1565-7.

8. **Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al.** Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull World Health Organ* **1969**; 41: 21-43.
9. **World Health Organization.** Guidelines for drug susceptibility testing for second-line anti-tuberculosis drugs for DOTS-PLUS. WHO/CDC/TB/2001.288. **2001**.
10. **Isenberg HD** (Ed. in Chief). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington, DC: ASM Press, **1992**: 5.10.1-5.14.25.
11. **Kent PT, Kubica GP.** *Public Health Mycobacteriology, A Guide for the Level III Laboratory*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control, **1985**.
12. **Canetti G, Froman S, Grosset J, et al.** Mycobacteria: laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance. *Bull World Health Organ* **1963**; 29: 565-78.
13. **Gümüřlü F, Ceyhan İ, Kocagöz T, Sönmez N.** *Tüberküloz Laboratuvar Rehberi*. 1. Baskı. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, **1998**.
14. **Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, et al.** The resurgence of tuberculosis: is your laboratory ready? *J Clin Microbiol* **1993**; 31: 767-70.
15. **Siddiqi S, Hawkins JE, Laszlo A.** Interlaboratory drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by a radiometric procedure and two conventional methods. *J Clin Microbiol* **1985**; 22: 919-23.
16. **Tortoli E, Benedetti M, Fontanelli A, Simonetti MT.** Evaluation of automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to four major antituberculous drugs: comparison with the radiometric BACTEC 460TB method and the agar plate method of proportion. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 607-10.
17. **Bergmann JS, Woods GL.** Reliability of Mycobacteria Growth Indicator Tube for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to ethambutol and streptomycin. *J Clin Microbiol* **1997**; 35: 3325-7.
18. **Macondo EA, Ba F, Gaye-Diallo A, et al.** Rapid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by the Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT AST SIRE). *Clin Microbiol Infect* **2000**; 6: 361-5.
19. **Bergmann JS, Woods GL.** Mycobacterial Growth Indicator Tube for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampin. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1997**; 28:153-6.
20. **Bemer P, Palicova F, Rüşch-Gerdes S, Drugeon HB, Pfyffer GE.** Multicenter evaluation of fully automated BACTEC Mycobacterium Growth Indicator Tube 960 system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* **2002**; 40: 150-4.
21. **Adjers-Koskela K, Katila ML.** Susceptibility testing with the manual Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) and the MGIT 960 system provides rapid and reliable verification of multi-drug resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol* **2003**; 41: 1235-9.
22. **Zapata P, Arbeloa M, Aznar J.** Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from clinical specimens. *Clin Microbiol Infect* **1999**; 5: 227-30.
23. **Abe C, Aono A, Hirano K.** Evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates compared with the proportion method on solid media. *Kekkaku* **2001**; 76: 657-62.
24. **Palaci M, Ueki SYM, Sato DN, et al.** Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube for recovery and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from respiratory specimens. *J Clin Microbiol* **1996**; 34: 762-4.
25. **Palomino JC, Traore H, Fissette K, Portaels F.** Evaluation of Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* **1999**; 3: 344-8.
26. **Anandi M, Portaels F.** Drug resistance and drug resistance detection. In: Palomino JC, Leão SC, Ritacco V, eds. *Tuberculosis 2007, From Basic Science to Patient Care* [tuberculosis textbook.com]. **2007**: 635-61.

İLETİŐİM

Yrd. Doç. Dr. Nuri ÖZKÜTÜK
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
45030 Uncubozköy, MANİSA
e-posta: ozkutuk@gmail.com