

## **MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KÖKENLERİNDE RİFAMPİSİN DİRENCİNİN SAPTANMASINDA HIZLI FAJ AMPLİFİKASYON TESTİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

EVALUATION OF A RAPID PHAGE AMPLIFICATION ASSAY FOR DETECTION OF RIFAMPICIN RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES

Can BİÇMEN Güneş ŞENOL Meral COŞKUN Nermin FLORAT

İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

**Anahtar Sözcükler:** *Mycobacterium tuberculosis*, rifampisin direnci, hızlı faj amplifikasyon testi, FastPlaqueTB-RIF

**Key Words:** *Mycobacterium tuberculosis*, rifampicin resistance, rapid phage amplification test, FastPlaqueTB-RIF

### **ÖZET**

*Bu çalışmanın amacı, Mycobacterium tuberculosis kökenlerinde rifampisin direncinin saptanmasında hızlı faj amplifikasyon yönteminin değerini saptamak idi. Aktif tüberkülozlu hastaların çeşitli örneklerinden soyutulan 25 en az rifampisine dirençli ve 25 dört majör ilaca (izoniyazit, rifampisin, etambutol ve streptomisin) duyarlı toplam 50 M. tuberculosis kökeni çalışmaya alınmıştır. Kökenlerin anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığı direnç oran ve BACTEC 460 TB sistemi ile analiz edilmiştir. Rifampisine duyarlı ve dirençli kökenler rifampisin direnci açısından, ticari olarak sağlanan bir hızlı faj amplifikasyon testi, FastPlaqueTB-RIF, ile incelenmiştir. Yirmibeş rifampisin-duyarlı suşun 22'si FastPlaque ile duyarlı ve üç suş orta duyarlı/ dirençli olarak bulunmuştur. Yirmibeş rifampisin-dirençli suşun 24'ü FastPlaque ile dirençli ve bir suş orta duyarlı/dirençli olarak bulunmuştur. Geleneksel yöntemler ile karşılaştırıldığında; FastPlaqueTB-RIF testi için duyarlılık, özgüllük ve geleneksel yöntemler ile uyumluluk, sırasıyla, %96, %88 ve %92 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, FastPlaqueTB-RIF testinin M. tuberculosis kültürlerinden rifampisin direncinin hızlı ve doğru bir şekilde araştırılması için kullanılabileceği düşünülmektedir.*

### **SUMMARY**

*The purpose of the study was to evaluate rapid phage amplification assay in the determination of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis. A total of 50 M. tuberculosis isolates from various samples of the patients with active tuberculosis (TB) out of which 25 isolates were resistant to at least rifampicin and 25 were susceptible to four major anti-TB drugs (isoniazid, rifampicin, ethambutol, streptomycin) were taken into the study. Susceptibilities of the isolates to anti-TB drugs were analyzed by resistance ratio and BACTEC 460 TB system. Rifampicin-resistant and rifampicin-susceptible isolates were analyzed by a commercially available rapid phage amplification test, FastPlaqueTB-RIF. Twenty-two isolates among 25 susceptible strains were found as susceptible by FastPlaque whereas three isolates were evaluated as intermediate. Twenty-four isolates out of 25 resistant strains were found as resistant by FastPlaque whereas one resistant isolate was evaluated as intermediate. When compared with conventional methods, sensitivity, specificity and overall accuracy of FastPlaqueTB-RIF were found as 96%, 88% and 92%, respectively. It is concluded that FastPlaqueTB-RIF test may be a useful tool for rapid and accurate detection of rifampicin resistance in M. tuberculosis*

### **GİRİŞ**

İlaç direncinin kısa zamanda ve doğru olarak saptanması, tüberkülozun kontrol altına alınmasında ve sağaltımında

önemli bir yer tutmaktadır (1). En az izoniyazit (INH) ve rifampisine (RIF) beraberce direnç gösteren tüberküloz olguları çoklu ilaç dirençli tüberküloz (ÇİD TB) olarak tanım-

lanmaktadır (2-4). İzonyazit ve RIF tüberküloza karşı sağaltımın en etkin ve başlıca uygulanmakta olan iki ilacıdır. Çoklu ilaca dirençli TB hastalarının sağaltımı tamamen duyarlı olan hastalara göre çok daha zor ve pahalıdır. Son yıllarda Ege Bölgesi'nden bildirilen bazı çalışmalara göre ÇİD oranları %6-10 arasında değişmektedir (5-7). Çoklu ilaca dirençli TB'un günümüzdeki durumunu ortaya çıkarmak, tüberküloz kontrolüne olan etkisi ve sorunu çözmek için stratejilerin çizilmesi yönünden önem taşımaktadır. Çoklu ilaç dirençli tüberküloz olguları arttıkça, geleneksel olarak kullanılan yöntemlere ek olarak, bu amaçla yeni yöntemler geliştirilmektedir. İlaç direncinin saptanması için geliştirilen bu yöntemlerden biri mikobakteriyofaj replikasyon teknolojisi (8-11). Mikobakteriyofajlar, mikobakterileri infekte eden virüslerdir. İlk kez 50 yıl önce keşfedilmişlerdir ve bugün günümüzde bilinen 250'nin üzerinde mikobakteriyofaj bulunmaktadır (12). Toprakta izole edilen D 29 mikobakteriyofajı deneylerde kullanılmaktadır. Fajlar sadece canlı bakteriler içerisinde replike olabilmektedir. Enfeksiyon ve replikasyon sonrasında, D 29 bakteriyel hücre duvarını parçalar (liziz) ve yeni bir faj jenerasyonu hücre dışına salınır. Fajlar, RIF gibi konakçı bakterilerin replikasyon mekanizmalarını bozan ilaçların varlığında replike olamamaktadırlar. Progenik fajların tanısını kolaylaştırmak için ortamda kalan ve bakteriyi infekte etmemiş fajların uzaklaştırılması için nötralizan antikorlarla absorpsiyon veya sulfirik asit ve demir bileşikler gibi reaktiflerle kimyasal inaktivasyon gibi basit, yüksek derecede duyarlı, mikobakteriyel ve içerisinde replike olan fajlara zarar vermeyen yöntemler tanımlanmıştır (13). Canlı hedef basil içerisinde fajlar hücre parçalanıp lize oluncaya ve progenik fajlar ortama salıncaya kadar replikasyona devam etmektedirler. Ortama patojen olmayan ve hızlı üreyen *Mycobacterium smegmatis* gibi bir konakçının eklenmesiyle amplifiye edilen progenik fajlar, enfeksiyon, replikasyon ve liziz döngüleri oluşturur. Faj amplifikasyonu ve liziz döngüsünün tamamlanması sonrasında basillerdeki RIF direnci hızlı üreyen hücre kültürü üzerinde kolaylıkla gözlenen saydam (litik) alanlar şeklinde saptanabilmektedir.

Rifampisin direnci, ÇİD TB için bir anahtar belirleyicidir (1, 14). Kısa bir süre içerisinde rifampisin direncinin ortaya çıkarılmasının, ÇİD TB sağaltım rejimlerinde değişikliklerin yapılmasında yararlı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, kültürde üreyen *M. tuberculosis* kökenlerinde 48 saat içerisinde RIF direncinin saptanmasında ticari olarak sağlanan bir mikobakteri hızlı faj amplifikasyon testinin değerlendirilmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Mikobakteri kültürleri

İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda soyutulan 25

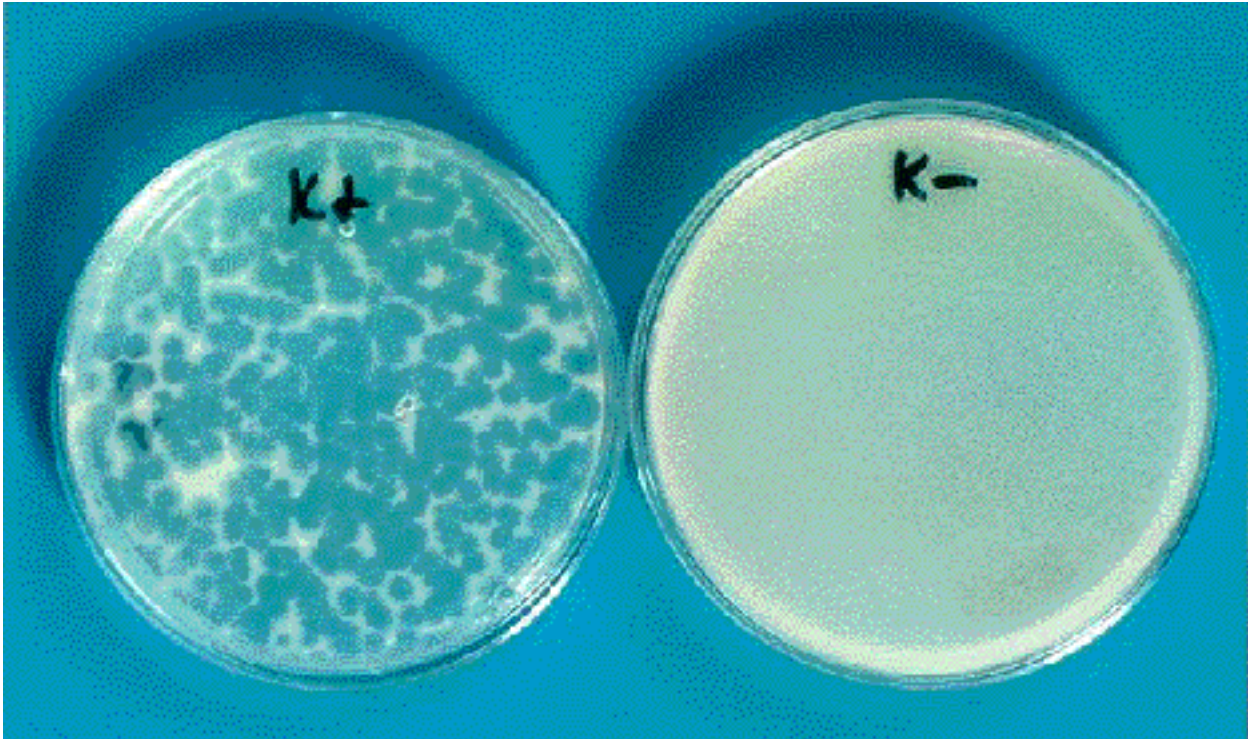
en az RIF dirençli (ÇİD; 19 köken) ve 25 RIF duyarlı toplam 50 *M. tuberculosis* suşu çalışmaya alındı.

### İlaç duyarlılık testleri

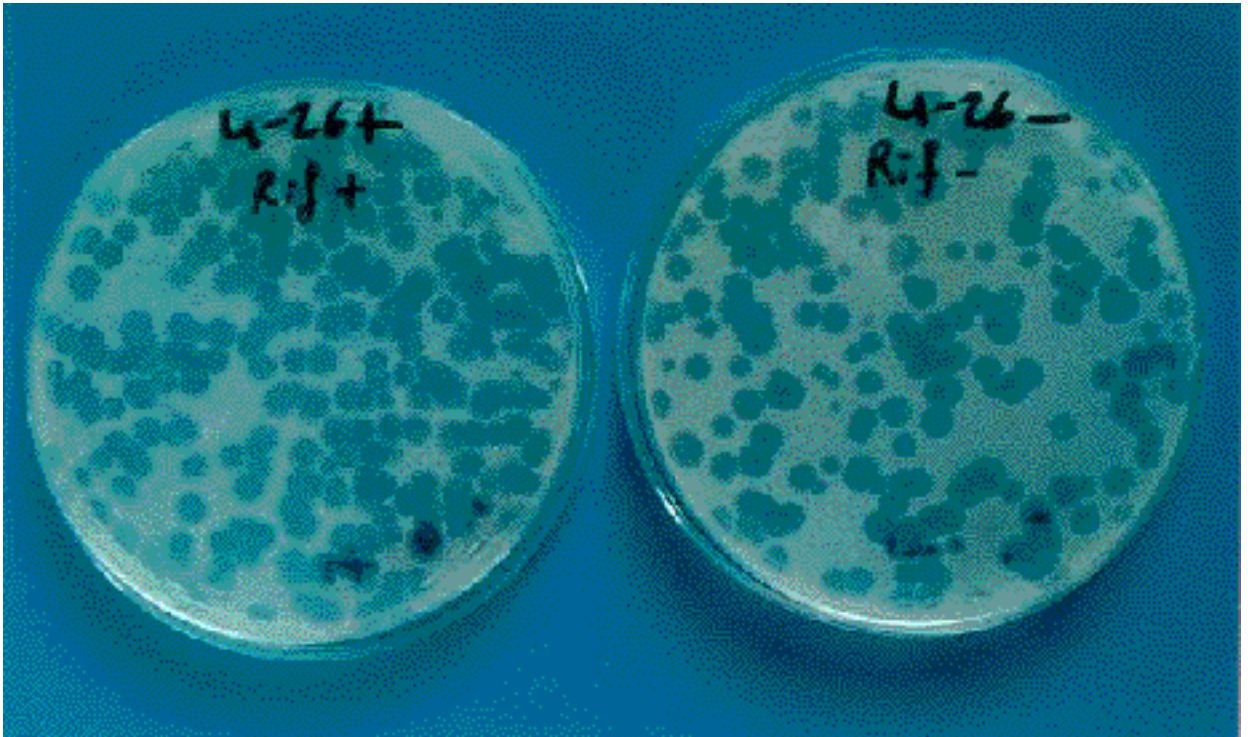
Duyarlılık paternleri CDC tarafından onaylanmış direnç oran yöntemi (15) ve BACTEC 460 TB sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile incelendi. Direnç oran yöntemi için *M. tuberculosis* H37Rv suşu standart suş olarak kullanıldı.

### Mikobakteriyofaj amplifikasyon testi

Bu iki grup için RIF direnci, ticari olarak sağlanan bir mikobakteriyofaj amplifikasyon kiti; FastPlaque TB-RIF (BIOTEC Lab. Ltd., İngiltere) ile üreticinin önerilerine göre prosedüre uygun olarak araştırıldı (16). Yöntem, *M. tuberculosis* kültürlerinde 48 saat içerisinde RIF direncini araştırarak bakteriyofaj replikasyon temeline dayanmaktadır. Löwenstein-Jensen (L-J) besiyerinde üreyen kolonilerden yaklaşık yarım öze (1 µl) dolusu *M. tuberculosis* kolonisi alındı. Üretici firma tarafından sağlanan zenginleştirilmiş 5 ml sıvı besiyeri (FPTB Medium Plus) içeri-sinde boncuklu tüplerde süspansiyon hazırlanarak vorteksledi ve homojenize edildi. Bakteri süspansiyonu iri partiküllerin çökeltilmesi amacıyla 10-15 dk. dinlendirildi. Her köken için üretici firma tarafından sağlanan özel kapaklı plastik şişelerden iki tane kullanılarak birine 0.5 ml. RIF solusyonu, diğerine FPTB Medium Plus eklendi. Rifampisin içeren (RIF+) ve RIF içermeyen (RIF-) şişelere daha önceden hazırlanmış bakteriyel süspansiyonunun süpernatant kısmından 0.5'er ml dağıtıldı. Yavaşça karıştırılarak 37° C'de 24 saat inkübe edildi. Ertesi gün, örnekler etüvden alınarak plastik kapaklı şişelerden birine 1 ml FPTB Medium Plus konuldu ve negatif kontrol olarak işaretlendi. Çözeltmiş sensör hücrelerin (*M. smegmatis*, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup>'lık dilüsyonları yapılarak, son dilüsyondan 1 ml alındı. Plastik diğer bir reaksiyon şişesine konularak pozitif kontrol olarak işaretlendi. Her bir örneğe ve kontrollere 100 µl bakteriyofaj (Actiphage) solusyonu, pipet uçlarının plastik reaksiyon şişelerine dokundurulmamasına dikkat edilerek eklendi. Yavaşça sallanarak içeriğin şişenin dibinde karışması sağlandıktan sonra 37° C'de 90 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 100 µl virüs solusyonu (Virusol) konakçı hücreleri infekte etmeyen tüm fajların uzaklaştırılması amacıyla her reaksiyon şişesine eklendi. Şişelerin kapakları sıkıca kapatılarak altüst edildi ve döndürülerek şişelerin tüm iç yüzeylerinin solüsyon ile temas etmesi sağlandı. Reaksiyon şişeleri 5 dk oda ısısında bırakıldı ve her birine 5 ml FPTB Medium Plus eklenerek bir kez daha altüst edilerek karıştırıldı. Her şişeye 1 ml sensör hücre solüsyonu eklendi. Daha önceden eritilip otoklavlanarak hazırlanmış katı agar (FPTB Agar) 55° C'lik su banyo-

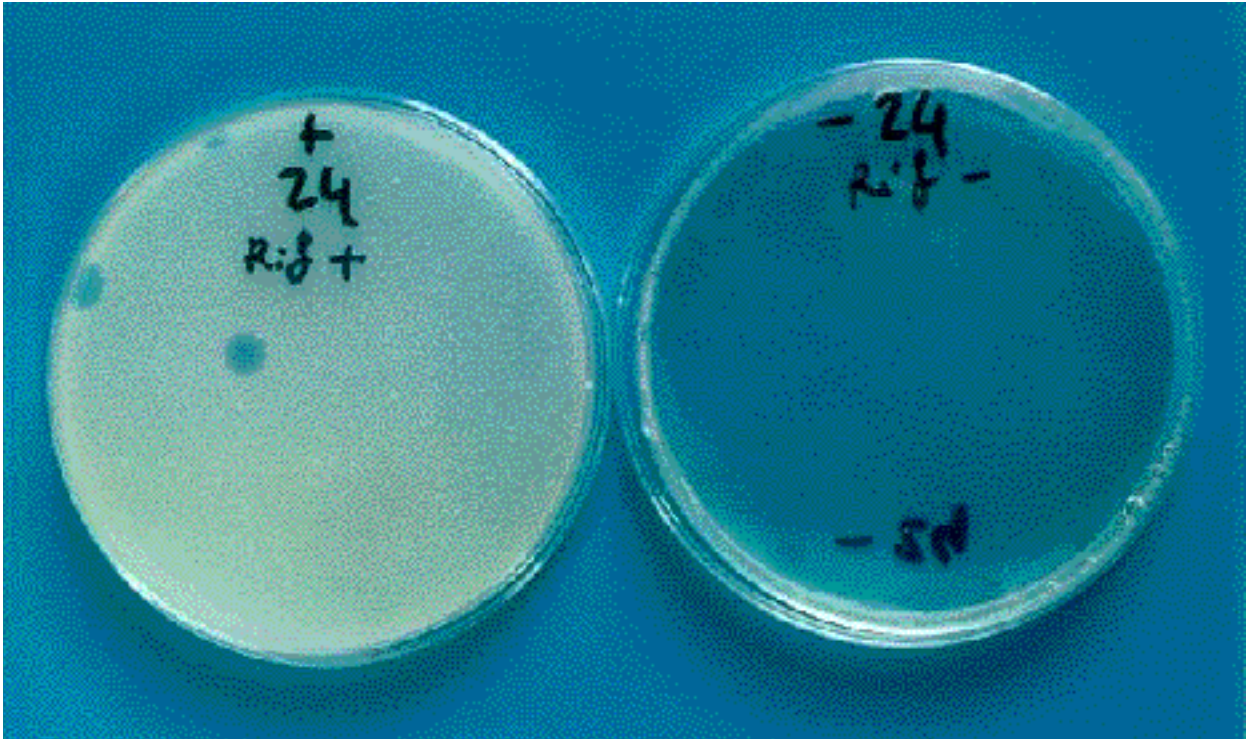


Şekil 1. FastPlaquesTB-RIF testinin olumlu ve olumsuz kontrol plakları.

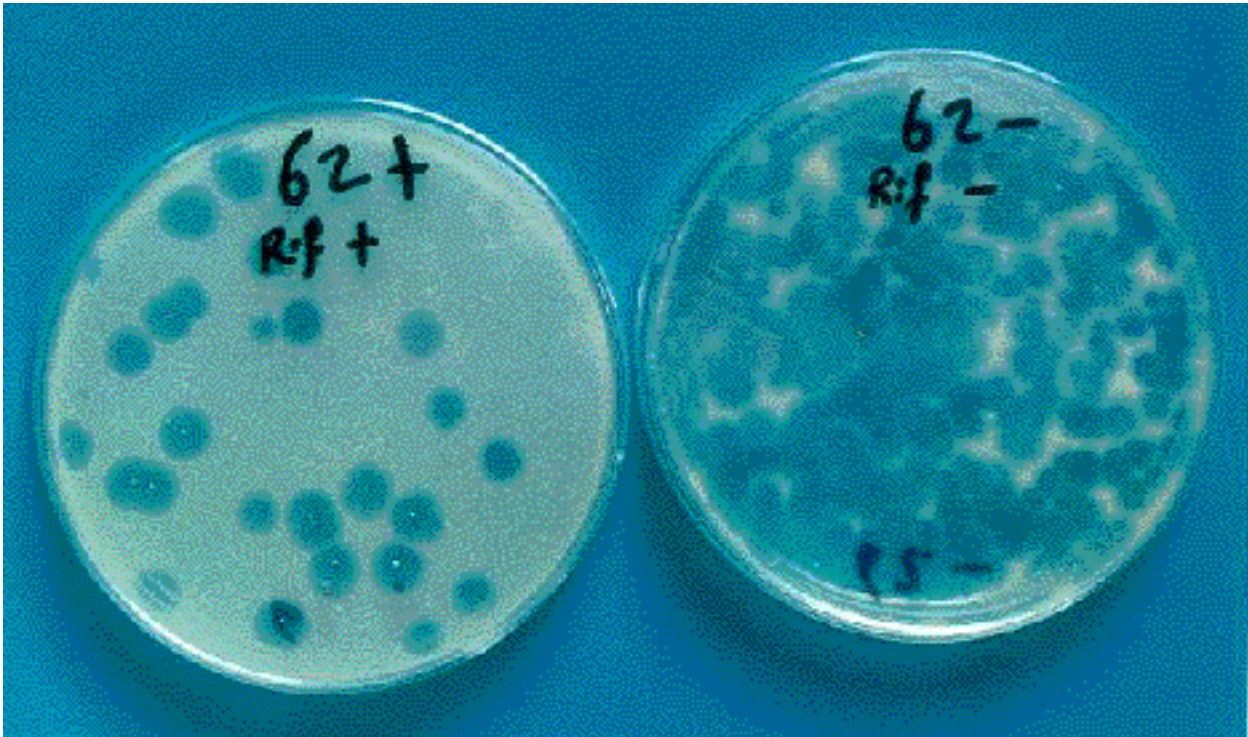


Şekil 2. Rifampisin-dirençli bir *M. tuberculosis* kökeninin FastPlaques RIF + ve RIF - plakları.





Şekil 3. Rifampisin-duyarlı bir *M. tuberculosis* kökeninin FastPlaque RIF + ve RIF- plakları (bu şekilde tam liziz görülmektedir).



Şekil 4. Orta derecede dirençli olarak değerlendirilen dirençli bir *M. tuberculosis* kökeninin FastPlaque RIF + ve RIF - plakları.

sundan alınarak 5 ml boş steril Petri plaklarına dağıtıldı. Hızlı bir şekilde plastik şişe içerikleri plaklara boşaltılarak kapakları kapatıldı ve plak içeriği, agarın plağın kapağına dokunmaması sağlanarak dairesel hareketlerle karıştırıldı. Agarın katılaşması için oda ısısında yaklaşık 30 dk beklendi. Petri plakları ters çevrilerek 37° C'de gecelik inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün plaklar etüvden çıkarılarak değerlendirildi.

### Değerlendirme

Negatif kontrolde 0-10 saydam alanın (litik bölgeler) ve pozitif kontrolde 20-300 saydam alanın bulunması testin geçerli olduğunu gösterdi. Her köken için RIF- ve RIF+ plaklar beraberce değerlendirildi. RIF- plakta, saydam alan <100 bulunan örnek değerlendirme dışı bırakıldı ve yinelenildi. RIF- plakta, saydam alan <100 ise ve bununla birlikte RIF+ plakta, saydam alan <50 bulunan kökenler dirençli, saydam alan <10 kökenler duyarlı ve 11-49 saydam alan bulunan plaklar orta duyarlı/dirençli kabul edildi. Orta duyarlı/dirençli örnekler için test yinelenildi. Aynı sonuç alınan suşlar orta duyarlı/dirençli kabul edildi.

### BULGULAR

Geleneksel yöntemlerle RIF dirençli bulunan 25 kökenin 24'ü FastPlaque ile dirençli olarak bulundu. Yirmi beş RIF duyarlı kökenin 22'si FastPlaque ile duyarlı olarak saptandı. Direnç oran yöntemi ve BACTEC ile sırasıyla dirençli bulunan bir ve duyarlı bulunan üç örnek iki kez yinelenen testlerde FastPlaque ile orta duyarlı/dirençli olarak değerlendirildi. Dirençli kökenlerin ilaç duyarlılık paternleri ve FastPlaque RIF dirençleri Tablo 1'de; olumlu, olumsuz kontrol plakları, dirençli ve duyarlı bir *M. tuberculosis* kökeninin görüntüleri Şekil 1, 2 ve 3'te görülmektedir. Çok fazla sayıda saydam alanın bulunması durumunda, plak yüzeyi tamamen saydam (tam liziz) olarak gözlenmiştir. RIF orta duyarlı/dirençli bir *M. tuberculosis* kökeninin görüntüsü Şekil 4'te görülmektedir. Geleneksel yöntemler ve FastPlaque yöntemi ile bulunan sonuçların karşılaştırılması Tablo 2'de gösterilmektedir.

FastPlaqueTB-RIF için duyarlılık, özgülük ve geleneksel yöntemlerle uyumluluk sırasıyla %96, %88 ve %92 olarak; pozitif ve negatif prediktif değerler %100 olarak bulunmuştur.

**Tablo 1.** Dirençli *M. tuberculosis* kökenlerinin ilaç duyarlılık paternleri ve FastPlaque RIF dirençleri

Suş No	Örnek	Direnç paterni*	FastPlaque RIF direnci
1	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
2	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
3	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
4	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
5	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
6	Balgam	INH, RIF	OD
7	Balgam	RIF, STR	+
8	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
9	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
10	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
11	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
12	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
13	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
14	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
15	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
16	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
17	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
18	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
19	Balgam	INH, STR	-
20	Balgam	INH, RIF	+
21	Balgam	INH, RIF, ETB, STR	+
22	Balgam	RIF	+
23	Balgam	RIF, ETB	+
24	Balgam	INH, STR	-
25	Balgam	RIF, STR	+
26	Balgam	INH	-
27	Balgam	RIF	+
28	Balgam	RIF	+

INH: İzoniyazit, RIF: Rifampisin, ETB: Etambutol, STR: Streptomisin, OD: Orta duyarlı/dirençli

+: Fastplaque ile RIF dirençli, -: FastPlaque ile RIF duyarlı

\* Dirençli kökenlerin 19'u ÇİD (INH ve RIF dirençli) olarak bulundu. Geriye kalan 22 kökenin hepsi dört ilaca da duyarlı idi. Bunlardan üçü OD olarak bulundu.

### TARTIŞMA

Faj amplifikasyon teknolojisi, son yıllarda, hem tüberkülozun erken tanısı hem de *M. tuberculosis* kültür kökenlerinde kısa sürede anti-tüberküloz ilaç direncinin saptanmasında kullanılmaktadır. Bu amaçla birçok çalışma bildirilmektedir (9, 10, 17-24). Bu çalışmalar arasında,

**Tablo 2.** Geleneksel yöntemler (direnç oran ve BACTEC 460 TB sistemi) ve FastPlaqueTB-RIF rifampisin direnç sonuçlarının karşılaştırılması

Yöntem	RIF duyarlı örnek sayısı (%)	RIF orta duyarlı/dirençli örnek sayısı (%)	RIF dirençli örnek sayısı (%)
Geleneksel yöntemler (Direnç oran + BACTEC 460 TB sistemi)	25 (100)	-	25 (100)
FastPlaqueTB-RIF	22 (88)	4 (3/1)	24 (96)

lusiferaz bildirici genli bakteriyofaj sistemleri bulunmaktadır (11, 21, 22). Bu sistem, ateş böceği lusiferaz genini eksprese eden spesifik bildirici fajlarla infekte edilen canlı mikobakterilerden foton salınımını ve bu ışık salınımının araştırılmasını temel alan bir yöntemdir (11, 21). Bir çalışmada, bu sistemin L5 lusiferaz mikobakteriyofajı kullanılarak, duyarlı ve dirençli *M. smegmatis* suşlarında ayırıcı bir araç olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (22). Bir başka çalışmada, D29 mikobakteriyofajı kullanılarak *M. tuberculosis* klinik izolatlarının INH, RIF ve streptomisin (STR) duyarlılıkları faj çoğaltma tekniği ile araştırılmıştır (17). Bu çalışmada, RIF, STR ve INH sonuçlarının BACTEC ile uyumluluk oranları sırasıyla %97.7, %93.2 ve %84.1 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, INH için yüksek minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) bulunan suşlar dirençli bulunmasına karşın düşük MİK değerli suşlar duyarlı olarak saptanmıştır. Faj-temelli testlerde RIF ve STR duyarlılıklarının BACTEC ile daha uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır (17). Albert ve ark. (18, 19) Güney Afrika'da iki referans laboratuvarında yapmış oldukları araştırmalarda, FastPlaqueTB-RIF testini geleneksel ilaç duyarlılık testleri ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmalardan birinde (18), katı faz kültür ortamında üretilen bakterilerde faj çoğaltma tekniği uygulanmıştır. Seksenbir RIF dirençli toplam 191 suşta yapılan çalışmada, birinci laboratuvarında FastPlaqueTB-RIF'nin duyarlılık, özgüllük ve uyumu sırasıyla %100, %97 ve %98 olarak ve ikinci laboratuvarında ise sırasıyla %100, %94 ve %97 olarak bulunmuştur. Diğer çalışmada ise (19), BACTEC 460 yarı otomatize sıvı kültür sisteminde üremeden sonra FastPlaqueTB-RIF sistemi denenmiştir. Bactec 460 sistemi ile 42'si RIF dirençli bulunan toplam 133 suş çalışmaya alınmış ve duyarlılık, özgüllük ve uyum sırasıyla %100, %98.8 ve %99.2 olarak bulunmuştur (19). Türkiye'de, Ankara'dan bildirilen bir çalışmada (23), BACTEC 460 TB sistemi ile karşılaştırmalı olarak 67 RIF duyarlı ve 21 RIF dirençli toplam 88 *M. tuberculosis* kökeni incelenmiş, dirençli kökenlerin hepsi dirençli, duyarlı kökenlerin 62'si duyarlı, ikisi orta duyarlı, üçü ise dirençli olarak saptanmıştır. FastPlaqueTB-RIF testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %95.4, uyumu ise %94.5 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada da, geleneksel yöntemler (direnç oran ve BACTEC 460) ile RIF dirençli ve duyarlı bulunan kökenler, ticari olarak sağlanan bir faj amplifikasyon testi olan FastPlaqueTB-RIF ile RIF duyarlılığı yönünden incelendi ve duyarlılık %96, özgüllük %88 ve geleneksel yöntemler ile uyum %92 olarak saptandı. Çoklu ilaç direnci bulunan 19 kökenin hepsinde FastPlaque ile RIF direnci saptandı, buna karşılık INH ve RIF direnci bulunan bir örnekte orta duyarlı/dirençli sonuç alındı.

Son yıllarda, çeşitli moleküler yöntemlerle faj çoğaltma yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalar bildirilmektedir (9, 25-27). Çok ilaca dirençli TB kuşku hastaların balgam örneklerinde genotipik Inno-Lipa RIF TB testi ve bu hastalardan soyutulan kökenlerde mikrokuyucuklu faj replikasyon testi (MPRA) karşılaştırılmış, MPRA'nın maliyet ucuz ve uygulanımı pratik bir test olarak kullanılabilmesi bildirilmiş, testin duyarlılığı %94.4 olarak bulunmuştur (9). Londra'da bir mikobakteri referans laboratuvarında, *M. tuberculosis* klinik kökenlerinde RIF direnci revers transkripsiyon polimeraz zincir tepkimesi (RT-PZT) ve bakteriyofaj bazlı hızlı test ile araştırılmış ve standart direnç oran yöntemi ile karşılaştırılmıştır (25). Bu çalışmada, İngiltere'de %90'nın üzerinde RIF dirençli izolatın aynı zamanda izoniyazide de dirençli olduğu ve bu nedenle ÇİD-TB için rifampisin direncinin duyarlı bir belirleyici olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir. Faj amplifikasyon testi, direnç oran metodu ile, duyarlı suşlarda %100, dirençli kökenlerde %100 uyumluluk göstermiş ve RT-PZT yönteminin ise duyarlılığı % 97, özgüllüğü % 96 olarak bildirilmiştir (25).

Aynı referans laboratuvarından bildirilen ve üç moleküler yöntemin *M. tuberculosis* izolatlarında RIF direncinin karşılaştırılmasını içeren bir çalışmada (26) ise, INNO-LIPA TB, Mismatch Detect II ve faj amplifikasyon yöntemleri ile birincil örnek ve kültürlerde RIF dirençleri araştırılmış ve sonuçlar direnç oran metodu ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, direnç oran yöntemi ile uyum LIPA, Mismatch ve faj amplifikasyon için sırasıyla %100, %93.8 ve %100 olarak bildirilmiştir.

Faj amplifikasyon yöntemi ile RIF direncinin araştırıldığı çalışmalarda, konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle karşılaştırıldığında yüksek duyarlılık ve özgüllük oranları bildirilmektedir (8, 9, 17-20, 23, 25, 26). Ancak aktif tüberküloz tanısında bu yöntemin etkin olmadığı ve geliştirilmeye gereksinim olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (24, 27). Çavuşoğlu ve ark. (27) tarafından yapılan bir çalışmada, direkt baki ve kültür pozitif hastalarda FastPlaqueTB'nin duyarlılığı %27, özgüllüğü %97 iken Gen-Probe MTD'nin duyarlılığı %91, özgüllüğü %93 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, *M. tuberculosis* klinik kökenlerinde ÇİD TB için bir belirleyici olabilecek RIF direncinin hızlı faj amplifikasyon testi; FastPlaqueTB-RIF ile, hızlı ve doğru bir şekilde araştırılabileceği düşünülmektedir. Ancak bu test için daha fazla sayıda, değişik laboratuvarlarda, gerek geleneksel gerekse moleküler yöntemlerle karşılaştırmalı olarak ve özellikle ÇİD TB olgularında hastanın klinik bulguları ve sağaltımı da göz önünde bulundurularak ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. **Anonymous.** Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Geneva: WHO, 1997.
2. **Loddenkemper R, Sagebiel D, Brendal A.** Strategies against multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J* 2002; 36 (Suppl): 566.
3. **Rider HL.** Drug-resistant tuberculosis: issues in epidemiology and challenges for public health. *Tuber Lung Dis* 1994; 75: 321.
4. **Iseman MD.** Tuberculosis therapy: past, present and future. *Eur Respir J* 2002; 20 (Suppl 36): S87.
5. **Eriş FN, Biçmen C, Şenol G, Florat N.** İzmir Göğüs Hastanesi Mikobakteriyoloji laboratuvarı verilerinin retrospektif değerlendirmesi. XXIX. Tür Mikrobiyoloji Kongresi (8-13 Ekim 2000, Antalya) kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2000: 352.
6. **Esen N, Gündüz AT.** 2000-2002 yılları arasında *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarında ilaç direnci. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant, Bolu) kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 195.
7. **Sürücüoğlu S, Özkütük N, Kurutepe S, Değerli K, Özbakkaloğlu B.** Manisa bölgesinde izole edilen tüberküloz basillerinin primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının incelenmesi. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant, Bolu) kitabında. İstanbul Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 196.
8. **David HL, Clavel S, Clement F, Monitz Pereira J.** Effects of anti-tuberculosis and anti-leprosy drugs on mycobacteriophage D29 growth *Antimicrob Agents Chemother* 1980; 18: 357.
9. **Wilson SM, Al-Suwaidi Z, McNerney R, Porter J, Drobniewski F.** Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Med* 1997; 3: 465.
10. **McNerney R, Kiepiela P, Bishop KS, Nye PM, Stoker NG.** Rapid screening of *Mycobacterium tuberculosis* for susceptibility to rifampicin and streptomycin. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4: 1.
11. **Riska PF, Jacobs WR, Jr, Bloom BR, Mc Kitrick J, Chan J.** Specific identification of *Mycobacterium tuberculosis* with the luciferase reporter mycobacteriophage: use of p-nitro-alpha-acetylamino-beta-hydroxy propiophenone. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3225.
12. **McNerney R.** TB: The Return of the phage. A review of fifty years of mycobacteriophage research. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 179.
13. **McNerney R, Wilson SM, Sidhu AM, et al.** Inactivation of mycobacteriophage D 29 using ferrous ammonium sulphate as a tool for the detection of viable *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Res Microbiol* 1998; 149: 487.
14. **Abate G, Miörner H, Ahmed O, Hoffner JE.** Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolated from re-treatment cases of pulmonary tuberculosis in Ethiopia: susceptibility to first line and alternative drugs. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 580.
15. **Kent PT, Kubica GP.** Public Health Mycobacteriology; A Guide for the Level III Laboratory. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, 1985.
16. Rifampicin susceptibility test. A mycobacteriophage assay for the rapid determination of rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex cultures. FastPlaqueTb-Rif Catalogue No. 5/150. BIOTEC Lab. Ltd., U.K., 2000.
17. **Gali N, Dominguez J, Blanco S, et al.** Detection of drug resistance using mycobacteriophages in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates *In: 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), (1-4 April 2001, İstanbul, Turkey).*
18. **Albert H, Heydenrych A, Mole R, Trollip A, Blumberg L.** Evaluation of FastPlaqueTB-RIF, a rapid, manual test for the determination rifampicin resistance from *Mycobacterium tuberculosis* cultures. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5 : 906.
19. **Albert H, Trollip AP, Mole RJ, Hatch SJ, Blumberg L.** Rapid indication of multidrug-resistant tuberculosis from liquid cultures using FASTPlaqueTB-RIF, a manual phage-based test. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6: 523.
20. **Heydenrych A, Brookes R, Albert H, et al.** Evaluation of a rapid TB diagnostic test, FastPlaqueTB, in South Africa. *In: 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), (1-4 April 2001, İstanbul, Turkey).*
21. **Jacobs WR Jr, Barletta RG, Udav R, et al.** Rapid assessment drug susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* by means of luciferase reporter phages. *Science* 1993; 7; 260: 750.
22. **Sarkis GJ, Jacobs WR Jr., Hatfull GF.** L5 luciferase reporter mycobacteriophages a sensitive tool for the detection and assay of live mycobacteria. *Mol Microbiol* 1995; 15 : 1055.
23. **Kısa Ö, Albay A, Bedir O, Baylan O, Doğançlı L.** *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, izolatlarının rifampisin direncinin saptanmasında FastPlaqueTB-RIF testinin değerlendirilmesi. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu, (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant, Bolu) kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 201.
24. **Alp A, Haşçelik G.** Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by using FastPlaque test. *2nd Molecular and Diagnostic Microbiology Congress (21-25 April 2002, Antalya)* kitabında, 2002: 99.
25. **Eltringham LJ, Drobniewski FA, Mayer JA, Butcher PD, Wilson SM.** Evaluation of reverse transcription-PCR and a bacteriophage-based assay for rapid phenotypic detection of rifampin resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3524.
26. **Wattersen SA, Wilson SM, Yates MD, Drobniewski FA.** Comparison of three molecular assays for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1969.
27. **Çavuşoğlu C, Güneri S, Suntur M, Bilgiç A.** Akciğer tüberkülozunun hızlı tanısında FastPlaque TB ve Gen Probe MTD'nin karşılaştırılması. 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant, Bolu) kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 187.