
Çoğul Dirençli *Mycobacterium tuberculosis* Kökenlerinde E-Testi ile FAST Plaque TB-RIF Duyarlılık Yöntemlerinin Karşılaştırılması

F. Nur ERİŞ*, Can BİÇMEN**

* İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü,

** İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Hastanesi, İZMİR

ÖZET

Tüberküloz (TB) tanısında mevcut konvansiyonel yöntemler genellikle yetersiz kalmakta ve uzun süre almaktadır. Bu durum TB için daha hızlı ancak duyarlı ve spesifik testler için araştırmaları doğurmuştur. Bu araştırmaların çoğu pahalı teknik, aygıt ve özel eğitim gerektirdiği için yaygın kullanım alanı bulamamıştır. Bu çalışmanın amacı, söz konusu engelleri aşmaya yönelik yeni ve hızlı tekniklerden E-testi ve FAST Plaque TB-RIF yöntemlerini ve bunların çoğul dirençli olgularda yerini incelemeye yöneliktir. Yirmidört çoğul dirençli akciğer TB'li ile 12 duyarlı toplam 36 olgudan besiyeri bazlı duyarlılık yöntemi ile izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının majör anti-TB ilaçlardan rifampisin ve izoniazide duyarlılıkları agar proporsiyon ile hızlı yöntemler (*M. tuberculosis* için E-testi ve FAST Plaque TB-RIF rifampisin duyarlılık testi) arasında karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Çalışmamızda, genel olarak E-testi ile agar proporsiyon metodu arasında, çoğul ilaca dirençli (ÇİD) olgularda ciddi bir farklılık görülmemiştir. Bu olgularda, E-testi ile agar proporsiyon yöntemleri arasında duyarlılık ve özgüllük, izoniazid için sırasıyla %95.4, %91.7; rifampisin için %95.8, %100 olarak saptanmıştır. FAST Plaque yöntemi ile rifampisin duyarlılığı, standart metod olarak kabul edilen agar proporsiyon testi ile karşılaştırdığımızda %88.2 sensitif bulunmuştur. E-testi ve FAST Plaque TB-RIF yöntemlerinin rutin çalışmada çoğul dirençli suş tanısını koymak için hızlı ve kolay uygulanabilir özellikleri nedeniyle destekleyici yöntemler olarak kullanılabilceği izlenimine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, Çoğul-direnç, Duyarlılık testleri

SUMMARY

Comparison of the E-Test and FAST Plaque Rifampicin Susceptibility of Tubercle Bacilli in Multidrug Resistant Strains

The conventional diagnostic tests for tuberculosis are usually unyielding and time-consuming. This is why the necessity to find new methods for early diagnosis with a high sensitivity and specificity emerges. Since many of these new technologies require expensive equipment and specialist training, it is unlikely that they will become widely established as routine techniques. The aim of this study is to investigate new technologies such as E-test and FAST Plaque TB-RIF in multidrug resistant cases which are promising to overcome

these shortcomings. Twenty four *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from sputum of multi-resistant pulmonary tuberculosis patients and 12 sensitive strains, were studied by both agar proportion as standard method and new rapid (E-test for *M. tuberculosis* and FAST Plaque TB-RIF) methods to be compared in many aspects. In general, there were no significant differences between E-test and agar proportion method among multidrug resistant (MDR) cases in our study. Between agar proportion and E-test method, the sensitivity and specificity of E-test method for INH were 95.4% and 91.7% whereas for RIF 95.8% and 100% respectively. Rifampicin sensitivity in FAST Plaque method was found 88.2%. It is concluded that both methods may be suitable and supportive for resistant mycobacterial strains in routine practice due to their fast and easy applications.

Key Words: Tuberculosis, Multidrug-resistant, Sensitivity tests

Tüberküloz (TB) tanısında konvansiyonel yöntemler bazen yetersiz kalmakta ve uzun süre almaktadır^[1,2]. İlaç direncinin zamanında tespiti, TB'li hastaların etkin tedavisinde önemli bir faktördür. Taniya gecikerek ulaşma, kliniğin daha kötüleşmesine, çevreye bulaşma ve dirençli basillerin yayılmasına yol açmaktadır. Sık karşılaşılan bir başka sorun da majör ilaçların hemen terkedilip, minör ilaçlara kolayca geçilmesidir. Bu karar noktasında hızlı duyarlılık testlerine gereksinim artmaktadır^[3,4]. Ancak *Mycobacterium tuberculosis* ile ilgili hazır testlerin hızlı ve pratik olmasından daha önemlisi güvenilirlikleridir.

Yeni saptanan akciğer TB'li hastalarda, basiller duyarlı olduğu sürece, günümüzde önerilen tedavi rejimi ilk iki ay rifampisin (RIF), izoniazid (INH), piazinamid ve etambutolün (veya streptomisin) günlük olarak verildiği, daha sonra dört aylık günlük veya aralıklı olarak RIF ve INH kullanıldığı altı aylık kısa süreli tedavi rejimidir^[1,2,5]. INH ve RIF TB tedavisinin başlıca vazgeçilmez ilaçları olup, çok ilaca direnç (ÇİD) söz konusu olduğunda esasen bu iki ilaca dirençten bahsedilmektedir^[6,7].

Günümüzde *M. tuberculosis* duyarlılık testlerinde "National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)" tarafından sadece agar proporsiyon ve BACTEC yöntemi önerilmektedir^[2,3,8,9]. Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri ise koagülasyon ile potens kaybı nedeninden duyarlılık testlerinde önerilmemektedir. Yumurta bazlı besiyerleri bugün hala çoğul dirençli TB'li hastaların takip edildiği hastane laboratuvarlarında kullanılmakta olup, uzun süreli ve ilaç etkileşimi nedeni ile beklenilenden daha fazla dirençli sonuç verebilmektedir. Ülkemizde duyarlılık testlerinin en çok çalışıldığı büyük merkezler arasında gerek besiyeri seçimi gerekse teknik konusunda ortak karar yoktur. Bunun sonucu olarak dirençli ve çoğul dirençli olgularda karmaşa yaşanabilmektedir. Çoklu direnç gösteren TB'li (ÇİD) olgu sayısında giderek artış gözlenmektedir^[9-11]. Buna bağlı olarak

da her hastane kendi koşullarına içinde çözümler aramakta, ancak genel olarak standardizasyon sorunları çözülememektedir.

TB'de primer ve sekonder ilaç direncinin artması, hastalığın kontrol çabalarını sonuçsuz bırakmaktadır. Günümüzde çoklu antibiyotik dirençli suşlar ile büyük problem oluşturan hastalığın etkili tedavisinde hızlı ve doğru duyarlılık testlerinin önemi bilinmektedir^[3,9].

E-testi, daha çok hızlı üreyen mikobakteriler için kullanılmakta ise de sonraları *M. tuberculosis* ve *Mycobacterium avium-intracellulare* için de kullanılabilirliği gösterilmiştir^[12-20]. Uygulaması kolay, nispeten ucuz ve ümit verici bir yöntemdir. RIF duyarlı ve dirençli *M. tuberculosis* izolatları ile yapılan çalışmalarda iyi bir paralellik saptandığı bildirilmektedir^[20]. Ancak bazı çalışmalarda rutin kullanımı önerilmemiştir^[17]. Bu yöntemde, üzerine bakteri süspansiyonu yayılmış agar plağına E-testi şeritleri konur. E-testi şeridinin kesildiği, üremenin inhibe olduğu nokta minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerini verir^[13].

RIF direnci, ÇİD-TB'nin iyi bir göstergesidir. *M. tuberculosis* için FAST Plaque TB (FPTB) ile RIF duyarlılığı (BIOTEC) bakteriyofaj bazlı *Mycobacterium* kültürlerinden 48 saatte RIF duyarlılığını saptamak amaçlı hızlı duyarlılık yöntemidir. Bu yöntemde özgün mikobakteriyofaj (aktifaj) canlı TB basillerini ilaçlı ve ilaçsız ortamlarda saptamakta ve çok sayıda plak görünümü direnci belirlemektedir^[21-23].

FPTB ile RIF duyarlılığının çalışılması ülkemize son zamanlarda girmiş olup, uzun zamandır beklenen lusiferaz yönteminin modifikasyonudur. Bu teknik hızlı tanı ve ayrıca sadece RIF'a yönelik hızlı bir duyarlılık yöntemidir^[24-27]. Test edilen ilaca dirençli mikobakteri canlılığını devam ettireceği için bakteriyofajlara bağlı lizis sonucu gelişen plakların gözlenmesi esas alınmıştır. Ortamda RIF yoksa ya da söz

konusu suş RIF'a dirençli ise faj nesli hızla büyüyen hücrelerin yığınları içinde seçilebilen açık alanlarda (plaklar) infeksiyon, replikasyon, lizis sikluslarına uğramaktadır. Bu nedenle meydana gelen plakların sayısı canlı *M. tuberculosis* hücreleri ile doğru orantılıdır^[21,22,26].

FPTB iki aşamalı olarak hazırlanmış bir ticari kitir. Birinci basamakta tanıya yönelik işlemler vardır. İkinci basamak ise RIF direnci ile ilgili işlemleri taşımaktadır. Biz bu çalışmamızda FPTB-RIF duyarlılık testini tanıya yönelik değil, sadece RIF duyarlılığı ile ilgili olarak kullandık.

Sunulan bu çalışmada, ÇİD olguların izolatları yanında majör ilaçlara duyarlı olguların da izolatları kontrol grubu olarak alındı. Standart yöntem olan agar proporsiyon yöntemine göre E-testi ve FPTB tekniklerinin duyarlılık, özgüllük ve uyumları ayrıca her iki tekniğin güvenilirlik, zaman, pratiklik ve ekonomik açıdan karşılaştırılması yapılmıştır. Bu testlerin dirençli TB'li olguların en yoğun bulunduğu laboratuvarlarda rutinde uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

İzmir Göğüs Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda, 1999 yılında, akciğer TB'li olguların örneklerinden izole edilen, LJ besiyerinde absölu konsantrasyon yöntemi ile INH ve RIF'a aynı anda dirençli *M. tuberculosis* kökenleri ile duyarlı olanlar Middlebrook 7H10 + %10 oleik asit albumin dekstroz katalaz (OADC) besiyerinde agar proporsiyon yöntemi ile doğrulandı. Doğrulananan 24 ÇİD ve 12 duyarlı olmak üzere toplam 36 izolat ile çalışmaya başlandı. Toplam dirençli olguların 24'ü agar proporsiyon, 23'ü E-testi, bunlardan 17'si ayrıca FPTB-RIF ile çalışmaya alınırken, elimizdeki 12 duyarlı izolat da sadece agar proporsiyon ve E-testi ile çalışılarak araştırma kapsamına alındı.

Hastanemizde kullanılan mevcut sistemden FPTB ve E-testi yöntemlerinin gerektirdiği koşullara geçiş sağlandı. Şöyle ki; rutinde LJ besiyerinde absölu konsantrasyon yöntemi ile tespit edilen ÇİD olgular tekrar Middlebrook 7H10 + %10 OADC besiyerinde agar proporsiyon yöntemi ile çalışıldı. Agar proporsiyon yöntemiyle bir kere daha seçilen örnekler FPTB-RIF ve E-testi ile çalışmaya alındı. Her iki yöntemde de pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Tüm işlemler ticari kit kullanım bilgilerine bağlı kalınarak gerçekleştirildi. E-testi ile *M. tuberculosis* direnci çalışılmasında gereken H37Rv (ATCC 27294) standart suşu Merkez Hıfızısıhha Enstitüsü Tüberküloz Bölümü'nden sağlandı ve araştırmamızda kontrol

suş olarak kullanıldı. Taze kültürden McFarland 3 standardına göre bakteri süspansiyonu hazırlandı ve steril eküvyonla homojen bir şekilde inoküle edildi. Plaklara E-testi stripleri (AB BIODISK) yerleştirilmeden önce 37°C'de %7 CO₂'li ortamda 24 saat ön inkübasyon yapıldı^[13]. Daha sonra test stripleri steril pens yerleştirilip 10 gün inkübasyona devam edildi. İnhibisyon göstergesi olan eliptik kenarın kesilebilir halde olduğu dönemde ışık arkasında cetvel ve mercekle okundu^[13-15].

LJ besiyerinde proporsiyon yöntemi ve E-testi ile çalışılan 24 adet ÇİD *M. tuberculosis* kökenlerinden 17'si FPTB yöntemi ile RIF direnci yönünden çalışıldı. Test edilen ilaca hassas olan mikobakteri canlılığını devam ettiremeyeceği için plaklar oluşamazken, dirençli olanlarda çok sayıda plak oluşumu sürmektedir. 15 cm çaplı petrielerde oluşan plaklar sayıldı^[26].

Çalışmanın bu basamağında LJ besiyerinde üreyen kolonilerden bir öze dolusu FPTB hazır kit vaseti içine alınıp çözüldü. 0.1 mL aktif faj eklendi ve süspansiyonlar bir saatlik inkübasyona alındı. Ardından 0.1 mL virüs eklenip, ortamdan hücreleri infekte etmemiş bakteriyofajların çekilmesi sağlandı. Ardından 90 dakikalık inkübasyon tekrarlandı, 5 mL FPTB vasat eklendi. Son olarak her tüpe sensör hücreler 1'er mL eklendi. Her numune için 5 mL olmak üzere erimiş FPTB agar 55°C su banyosundan alınıp, boş bir petri kabına döküldü. Ardından reaksiyon tüpünün tüm içeriği petri kabına dökülüp içeriğin iyice karışması sağlandı. Petri kapları ters çevrilerek 48 saat 37°C inkübatörde bekletildikten sonra sonuçlar okundu. Pozitif ve negatif kontroller çalışmaya dahil edildi^[21,22].

Çalışmada kullandığımız *M. tuberculosis*'e duyarlı ve dirençli izolat sayısı 30'dan az olduğu ve normal dağılım göstermediği için istatistiksel değerlendirmede Wilcoxon (iki eş arasında farkın önemlilik testi) test yöntemi uygulandı.

BULGULAR

Agar proporsiyon yöntemi ile tüm çoğul dirençli suşlarda, E-testi çalışmasında; INH için 0.064 µg/mL ve RIF için 0.25 µg/mL değerlerinin üstünde zon gözlenmiştir. Duyarlı suşlarda E-testi MİK noktasının kesim yerinde hafif bulanıklık ve üç-beş kadar koloni dikkate alınmamıştır. ÇİD olgularda E-testi ile duyarlı suşlarda gözlenen eliptik kenar ve tam parabol izlenimi çoğul dirençli olgularda sıklıkla zayıf gözlemlenmiş, total direnç (256 µg/mL ve üstü) görülmüştür (Tablo 1). Şüpheli üç olgu E-testi ile ikinci kez çalışmaya alınmış, MİK noktası okunamayan olgular çalışma dışı bırakılmıştır.

Tablo 1. Üç ayrı yöntemle çalışma kapsamına alınan duyarlı ve çoğul dirençli suşlar

Testler	İlaç					
	RIF	S	R	INH	S	R
• Agar proporsiyon	1 µg/mL	12	24	0.2-1 µg/mL	12	23
• E-testi	0.25-256 µg/mL	12	23	0.064-256 µg/mL	12	21
• FPTB	50 plak ve üstü	-	17	-	-	-

RIF: Rifampisin, INH: İzoniazid, S: Duyarlı, R: Dirençli.

E-testi ile agar proporsiyon yöntemleri arasında, dirençli suşlarda, duyarlılık ve özgüllük; INH için sırasıyla %95.4, %91.7; RIF için %95.8 ve %100 olarak bulunmuştur (Tablo 2,3).

RIF'in E-testi yöntemi ile proporsiyon yöntemine göre pozitif prediktif değeri %100 iken, negatif prediktif değeri %92.3 olarak saptanmıştır (Kappa istatistiği 0.94 $p < 0.001$).

INH için E-testi yöntemi ile proporsiyon yöntemine göre pozitif prediktif değeri %95.4 iken, negatif prediktif değeri %91.7 olarak bulunmuştur (Kappa istatistiği 0.87 $p < 0.001$).

FPTB-RIF yöntemi ile 17 olguda dirençle uyumlu olarak 50-100 ve üstü sayılarda plak okunmuştur. Bir olgu çalışma dışı bırakılmıştır (Tablo 4).

Agar proporsiyon yöntemine göre FPTB-RIF yönteminin duyarlılığı %88.2, pozitif prediktif değeri ise %100 olarak bulunmuştur. E-testi ile okunan

Tablo 2. RIF için agar proporsiyon ve E-testi sonuçları

E-testi	Agar proporsiyon		
	Duyarlı	Dirençli	Toplam
• Duyarlı	11	1	12
• Dirençli	1	23	24
• Toplam	12	24	36

Tablo 3. INH için agar proporsiyon ve E-testi sonuçları

E-testi	Agar proporsiyon		
	Duyarlı	Dirençli	Toplam
• Duyarlı	11	1	12
• Dirençli	1	21	22
• Toplam	12	22	34

Tablo 4. RIF için agar proporsiyon ve FPTB-RIF sonuçları

FPTB-RIF	Agar Proporsiyon		
	Duyarlı	Dirençli	Toplam
• Duyarlı	0	2	2
• Dirençli	0	15	15
• Toplam	0	17	17

MİK zon değerleri ile FPTB-RIF yöntemi ile gözlenen plak sayısı arasında korelasyon kurulamamıştır.

TARTIŞMA

Bakteriyolojide genel olarak antibiyotik duyarlılık testi yapılmasının amacı kullanılacak antibiyotigin etken mikroorganizma ile olan etkileşimini ortaya çıkarmaktır. Mikobakteriyolojide ise ana fikir aynı olmakla birlikte teknikte ve uygulamada farklar vardır. Burada popülasyon içinde bulunabilen dirençli bakteri adedini ortaya çıkarmanın ve beklenen dirençli öngörmenin büyük önemi vardır. Çünkü bir mikobakteri popülasyonu içinde herhangi bir ilaca karşı, ilaç ile hiç karşılaşmadığı halde, doğal dirençli (mutant) bakteriler bulunabilir^[2,5,6]. Bu yaklaşımla agar proporsiyon yöntemi geliştirilmiş ve referans yöntem olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle çalışmamız, hızlı testlerin hiçbiri diğerine referans kabul edilmeksizin sadece indirekt proporsiyon yöntemi nirengi noktası kabul edilerek gerçekleştirilmiştir.

FPTB-RIF yönteminin ucuz, pratik ve pek çok sahada kullanılabilir olma avantajlarına rağmen sınırlayan bazı etmenler söz konusudur. Yöntemin başarısı son aşamada bakteriyofaj DNA'sının bakteriye aktarılması sırasındaki verimliliğe bağlıdır^[23,25-27]. Ayrıca, faj tipleri ile ilgili bölgesel farklılıkların da öneminden bahsedilmektedir^[28]. Bu yöntem ile RIF direncinin ÇİD-TB olgularında duyarlılığının %100 olduğu bildirilmektedir^[21,23]. BIOTEC Laboratuvarları tarafından, tek başına bu teknikle 48 sa-

atte balgam materyalinden RIF direncini belirlemeye yönelik çalışmalar bildirilse de biz bu aşamada tüm örneklerde besiyeri bazlı çalışmayı esas alarak araştırmamızı gerçekleştirdik. Bu nedenle de indirekt proporsiyon sonuçları ile karşılaştırdık. Tüm duyarlılık testlerini karşılaştırmalı çalışabilmek için LJ besiyerinde üremiş zengin kolonileri olan suşlara gereksinim olmuştur.

Dirençli suşlarda her zaman çok fazla koloni bulma şansı olmamaktadır. E-testi yönteminde McFarland 3 ile çalışılırken FPTB-RIF yönteminde bir öze dolusu inokulum yeterli olabilmekte, fazla koloni ihtiyacı daha fazla aerasyona yol açabileceğinden bu anlamda FPTB-RIF yöntemi avantajlıdır. Ancak E-testi MİK değeri vermesi açısından daha hassas olarak ele alınmalıdır. Ayrıca, FPTB-RIF yönteminde inkübasyon sürelerindeki küçük değişiklikler bile test sonucunu çok değiştirmekte ve tekniğin bu açıdan da biraz daha standardize edilmesi gerektiğini düşündürmektedir. E-testi ve FPTB-RIF yöntemlerinin her ikisi de bu araştırmada kültürden çalışıldığı için "smear" pozitif olgularda direkt proporsiyon yöntemi süre yönünden daha avantajlı gözükmekte olup, bunun örnekten RIF direncini belirleyen FPTB yöntemi ile karşılaştırılması uygundur^[29-31]. Her iki test de çok sayıda klinik örnekte çalışmaya uygun olmayıp konvansiyonel yöntemin yanında, BACTEC gibi otomatize sistemin olmadığı ortamlarda, dirençli suşlarda karar verme aşamasında iş görebileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, FPTB-RIF yönteminde numuneden, doğrudan direnç çalışılması için daha çok sayıda suş ile ve yine referans yöntemler kullanılarak bir kere daha standardizasyona gidilmesi düşüncesindeyiz. Yine FPTB-RIF ile oluşan plak sayısı ile E-testi MİK değerleri arasında tam bir korelasyon kurulabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bizim bulduğumuz; E-testi ile agar proporsiyon yöntemleri arasında, dirençli suşlarda, duyarlılık ve özgüllük, INH için sırasıyla %95.4, %91.7; RIF için %95.8 ve %100 ayrıca FPTB-RIF'in agar proporsiyon testine göre RIF duyarlılığının %88.2 olması diğer çalışmalardan daha düşüktür^[20,21].

ÇİD-TB olgularının hem laboratuvarca hem de klinik tarafından takibinin diğer olgulardan ayrı yapılması gereği bilinmektedir. Bu TB'nin yoğun olduğu büyük hastanelerde hala mümkün olamamaktadır. Laboratuvar ve klinik tarafından olgunun gerçek bir dirençli olgu olup olmadığı gecikmeden anlaşılmalıdır. TB laboratuvarında, şimdiye kadar geliştirilen hiçbir yöntem konvansiyonel yöntemin yerini alamamıştır.

Kültürde agar proporsiyonla duyarlılık yöntemi henüz daha yerini hiçbir yeni tekniğe bırakmayacak gibi korumaktadır. Mikobakteriyolojide, yoğun çalışan laboratuvarlarda, şimdilik her yeni hızlı teknik konvansiyonel sistemin yerini almaktan çok, öncelikle kendini mevcut sisteme dayamaktadır. Mevcut sistem ne kadar iyi çalışır halde ise yeni teknolojilerin de o denli faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır. Esasen ülkemizde, yoğun çalışan merkezlerde, otomatize sistemlerin pratikte zaman avantajı dışındaki üstünlüğü biraz da konvansiyonel sistemle ortak olan dekontaminasyon ve dehomojenizasyon işlemlerinin yeniden standardize edilmesinden kaynaklanmaktadır. Söz konusu olan bu hızlı yöntemler ise iyi çalışan mevcut konvansiyonel sistemin yanında yardımcı, destekleyici ve özellikle dirençli olgularda, minör ilaçlarla tedaviye başlama kararının verildiği, kavşak noktasında yol gösterici olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Çünkü ülkemize giren bu tip hazır kitler hasta sayısının yoğun olduğu büyük merkezlerin laboratuvarlarına çözüm olarak sunulmakta, halbuki konvansiyonel yöntemlerin gerektiği gibi standardize edilemediği bu merkezlerde ikinci bir karışıklığa neden olmaktadır.

FPTB-RIF yöntemi her laboratuvarında bulunabilecek temel mikrobiyolojik ekipmana gereksinim duyarken, E-testi için biyolojik güvenlik kabini, standart suş, CO₂'li etüv gerekmektedir. FPTB-RIF yöntemi üç gün, buna karşılık E-testi yedi-on gün sürmektedir. Öte yandan agar proporsiyon testi direkt yani hasta materyalinden doğrudan direnç çalışılmak kaydıyla 21 günlük zamanda sonuç verebilir. FPTB-RIF'in direnç pozitiflik kriteri çok geniş bir aralıkta (20-300 plak) iken, E-testi daha hassas olup MİK değeri vermektedir. Her iki yöntem de uygun şartlar sağlanmadığında kontaminasyona açık, besiyeri bazlı yöntemlere göre de pahalıdır.

Sonuçlar, dirençli olguların takibinde de E-testinin ve FPTB-RIF yönteminin ancak ikincil bir duyarlılık testi olarak pratik yöntemler olduğunu düşündürmektedir. Yeterli değerlendirmeyi yapabilmek için daha çok sayıda dirençli suşlarla çalışmak gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Iunuma Y. Tuberculosis. Rinsho Byori 2000;48:1029-35.
2. Petrini B, Hoffner S. Drug resistant and multidrug-resistant tubercle bacilli. Int J Antimicrob Agents 1999;13:93-7.
3. Yüce A. *Mycobacterium tuberculosis*'te antibiyotik direnç mekanizmaları. ANKEM Dergisi 1994;8:203-6.
4. Akcan Y, Tuncer S. Tüberküloz tanısında yeni laboratuvar yöntemleri. Flora 1997;2:262-6.

5. Ortaköylü G, Karalar S, Berkman E ve ark. Akciğer tüberkülozlu olgularda primer direnç. Solunum 1994;19:257-60.
6. Abate G, Miörner H, Ahmed O, Hoffner SE. 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;2:580-4.
7. Goble M, Iseman MD, Madson, et al. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. N Engl J Med 1993;328:423-30.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Antimycobacterial Susceptibility Testing for *M. tuberculosis*, Tentative standards M24-T, NCCLS; Villanova, 1994.
9. Çavuşoğlu C, Saydam C, Badak Z. *Mycobacterium tuberculosis* ilaçlarının major ve minor ilaçlara duyarlılığı. ANKEM Dergisi 1999;13:50.
10. Öztürkleri H, Emektaş G, Kocabeyoğlu Ö, Gözüaçık A. Tüberküloz basillerinin major antitüberkülo ilaçlara duyarlılığının saptanmasında E-test ile BACTEC yönteminin karşılaştırılması. ANKEM Dergisi 2000;14:1-4.
11. Antituberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis drug resistance surveillance. World Health Organisation, 1997.
12. Wanger A, Millis K. E-test for susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium intracellulare*. Diagn Microbiol Infect Dis 1994;19:179-81.
13. AB BIODISK Susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* by using E-test technical guide 6. AB BIODISK NA Inc, Piscataway NJ. 1997.
14. Göksel S, Sertöz RY, Badak FZ, Ermertcan Ş, Bilgiç A. E-test yöntemi ile *Mycobacterium tuberculosis* kökenlerinin birinci kuşak antitüberkülo ilaçlara duyarlılığının saptanması. XIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Belek Antalya, 1998.
15. Saniç A, Günaydın M, Çoban AY, Çetin M. A comparison of the E-test and proportion methods for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Chemother 2000;12:434-7.
16. Biehle JR, Cavalieri SJ, Saubolle MA, Getsinger LJ. Evaluation of E-test susceptibility testing of rapidly growing mycobacteria. J Clin Microbiol 1995; 33:1760-4.
17. Hausdorfer J, Sompek E, Allerberger F, Dierich MP, Rusch-Gerdes S. E-test for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis 1998;2:751-5.
18. Kakkar N, Sharma M, Ray P, Sethi S, Kumar S. Evaluation of E-test for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to primary antitubercular drugs. Indian J Med Res 2000;111:168-71.
19. Fabry W, Schmid EN, Ansorg R. Comparison of the E-test and a proportion dilution method for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Zentralb Bakteriolog 1995;282:394-401.
20. Wanger A, Mills K. Testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility to ethambutol, isoniazid, rifampin, and streptomycin by using E-test. J Clin Microbiol 1996; 34:1672-6.
21. Albert H, Heydenrych A, Mole RJ, Trollip A, Blumberg L. Evaluation of FASTPlaqueTB-RIF™, a rapid, manual test for the determination of rifampicin resistance from *Mycobacterium tuberculosis* cultures. Int J Tuberc Lung Dis 2001;5:906-11.
22. Albert H, Trollip A, 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;6:523-8.
23. Trollip A, Albert H, Mashell T. Bacteriophage-based technologies for the rapid diagnosis and drug susceptibility testing of tuberculosis. Am Clin Lab 2001;20:39-42.
24. Wilson SM, Al-Suwaidi Z, McNerney R, Porter J, Drobniowski. Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Nature Medicine 1997;3:465-8.
25. Phage Display Teknolojisi- Eğitim Kursu Kitabı, 14-18 Aralık Tübitak-MAM, Gebze, Kocaeli, 1998.
26. Stuppel M. A new mixing method for FASTPlaqueTB phage amplification. Internal communication, Biotec Laboratories Ltd., 1999.
27. Goode D. Bacteriophage typing of strains of *Mycobacterium tuberculosis* from Nepal. Tubercle 1983;64:15-21.
28. Clavel-Seres S, Clement F. Distribution of lysotypes of *Mycobacterium tuberculosis* in relation to the country origin of the patient. Ann Microbiol 1984;135:35-44.
29. Mathew S, Paramasivan CN, Rehman F, Balambal R, Rajaram K, Prabhakar R. A direct rifampicin sensitivity test for tubercle bacilli. Indian J Med Res 1995;102:99-103.
30. Mathew S, Nair NG, Radhakrishna S, Gangadharam PR. Direct drug susceptibility test for tubercle bacilli by the sputum swab culture method. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4:168-73.
31. Eltringham IJ, Wilson SM, Drobniowski FA. Evaluation of bacteriophage-based assay (phage amplified biologically assay) as a rapid screen for resistance to isoniazid, ethambutol, streptomycin, pyrazinamide, and ciprofloxacin among clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1999;37:3528-32.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. F. Nur ERİŞ

İzmir Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü

Klinik Viroloji Laboratuvarı

İZMİR

e-mail: fner@superonline.com

Makalenin Geliş Tarihi: 05.04.2001

Kabul Tarihi: 15.05.2003