

# TÜBERKÜLOZ BASİLLERİNİN MAJOR ANTİTÜBERKÜLO İLAÇLARA DUYARLILIĞININ SAPTANMASINDA E TEST İLE BACTEC YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI\*

Hakan ÖZTÜRKERİ<sup>1</sup>, Gürol EMEKDAS<sup>2</sup>, Ömer KOCABEYOĞLU<sup>2</sup>,  
Aslı GÖZÜAÇIK<sup>1</sup>

## ÖZET

Akciğer tüberkülozlu hastaların balgamından izole edilen 25 *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşunun major antitüberkülo ilaçlardan rifampin, etambutol, izoniazid ve streptomisine duyarlıklarını E test ve BACTEC yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. E test ile BACTEC yöntemleri arasındaki uyumluluk rifampin, etambutol, izoniazid ve streptomisin için sırasıyla % 100, % 96, % 84 ve % 92 olarak bulunmuştur. Sonuçta, 25 *Mycobacterium tuberculosis* kompleks klinik izolatının dört farklı antibiyotiğe karşı test edilmesiyle toplam 100 adet karşılaştırmalı antibiyotik duyarlılık testi yapılmış olup, bunlardan 93'ü (% 93) E test ve BACTEC yöntemlerinde birbirile uyumlu bulunmaktadır. E test yöntemi, rutin olarak tüberküloz basili ile çakışmayan laboratuvarlarda seyrek olarak izole edilen mikobakteri suşlarında kullanmak için uygun bir yöntem olabilir.

## SUMMARY

*Comparison of E test and BACTEC methods for the evaluation of antimicrobial susceptibility of tubercle bacilli to major antituberculo agents.*

Twenty-five *Mycobacterium tuberculosis* complex strains, isolated from sputum of pulmonary tuberculosis patients, were studied for susceptibility to major anti-tuberculo agents -rifampin, ethambutol, isoniazid and streptomycin- with E test and BACTEC methods comparatively. Agreements between E test and BACTEC methods were 100, 96, 84 and 92 % for rifampin, ethambutol, isoniazid and streptomycin, respectively. Thus, 100 comparative antibiotic susceptibility tests, as sum of 25 *Mycobacterium tuberculosis* complex clinical isolates tested against four different antibiotics, were studied and 93 of them agreed with each other in E test and BACTEC methods. E test method can be suitable for mycobacterial strains isolated seldomly in laboratories that do not work with tubercle bacilli routinely.

## GİRİŞ

Uzun süreli ve çoklu antibiyotik tedavisi gerektiren tüberkülozun, tam konduktan sonra en kısa zamanda ve doğru antibiyotik kombinasyonlarıyla tedavisinin başlanması; günümüzde çoklu antibiyotik dirençli suşlarıyla büyük bir problem oluşturan bu hastalığın etkili bir şekilde tedavisinde önemlidir. Bundan dolayı duyarlılık testlerinin hızlı ve doğru bir

\*14. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (31 Mayıs - 4 Haziran 1999, Antalya).

Gülnane Askeri Tıp Akademisi, 1- Çamlıca Göğüs Hastahaneleri Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi,  
2- Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul.

şekilde sonuçlandırılması gerekmektedir. Agar ve yumurta bazlı besiyerleriyle, içlerine antibiyotik diskı veya belli konsantrasyonlarda antibiyotik eklenerken yapılan tüberküloz duyarlılık testleri süresinin uzun olması; BACTEC yöntemi ise kuruluş maliyetinin yüksekliği yönünden dezavantajlar taşımaktadır.

Disk difüzyon testi kolaylığıyla antimikrobiyal ajanların minimal inhibisyon konsantrasyonunu (MİK) ölçen yeni bir teknik olarak sunulan E test; üzerinde belli konsantrasyonlarda antibiyotik içeren plastik şeridin inoküle edilmiş agar plaqı yüzeyine konduğu ve inkübasyon sonrası oluşan eliptik inhibisyon zonunun şeritle kesiştiği yerdeki konsantrasyonun okunarak kantitatif sonuçların elde edildiği bir duyarlılık test yöntemidir (3).

Bu çalışmada, akciğer tüberkülozu hastaların balgamlarından izole edilen 25 *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşunun major antitüberkülo ilaçlara duyarlılıklarını E test ve BACTEC yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Akciğer tüberkülozu hastaların balgamından BACTEC yöntemi ile izole edilen ve NAP testi ile *M.tuberculosis* kompleks olarak idantifiye edilen 25 suşun; major antitüberkülo ilaçlardan rifampin, etambutol, izoniazid ve streptomisine duyarlılıklarını E test ve BACTEC yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır (5,6).

BACTEC yöntemiyle yapılan antibiyotik duyarlılık testinde; rifampin 2.0 µg/ml, etambutol 2.5 µg/ml, izoniazid 0.1 µg/ml, streptomisin 2.0 µg/ml konsantrasyonlarında, indirekt duyarlılık test yöntemiyle ve üreme indeksi (GI) değeri 999 veya daha büyük olan inokulum kullanılarak usulüne uygun olarak çalışılmıştır (7).

E test yöntemiyle yapılan antibiyotik duyarlılık testinde; GI değeri 999 veya daha büyük olan BACTEC 12B şışesinden 3.2 ml besiyeri alınarak, dört ayrı petrideki oleik asit-albumin-dekstroz-katalaz (OADC) ilaveli Middlebrook 7H11 agar yüzeyine yayılmış ve fazla gelen sıvı bir PPD enjektörü ile çekilmiştir. İnoküle edilen plaklar CO<sub>2</sub> geçirgen polietilen torbalara konarak, % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra her bir suş için kullanılan dört ayrı plaqın her birine rifampin, etambutol, izoniazid ve streptomisin (0.016-256 µg/ml) E test şeridi yerleştirilerek ve yine CO<sub>2</sub> geçirgen polietilen torbalara konarak, % 5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de 10 güne kadar inkübe edilmiştir. Sonuçlar üremenin inhibe olduğu elipsin E test şeridi ile kesiştiği noktadaki MİK değeri okunarak değerlendirilmiştir (1,2).

## BULGULAR

Yirmibeş *M.tuberculosis* kompleks suşunun E test ve BACTEC yöntemleri ile karşılaştırırmalı olarak yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, BACTEC konsantrasyonları kriter olarak alındığında, elde edilen sonuçlar tabloda gösterilmiştir.

Tablo. E test ve BACTEC yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak yapılan antibiyotik duyarlılık testinde elde edilen sonuçlar.

BACTEC	E TEST							
	<u>Rifampin</u>		<u>Etambutol</u>		<u>Izoniazid</u>		<u>Streptomisin</u>	
	Du(25)	Di(0)	Du(23)	Di(2)	Du(22)	Di(3)	Du(22)	Di(3)
<u>Rifampin</u>								
Di (25)	25	0						
Di (0)	0	0						
<u>Etambutol</u>								
Di (3)			22	0				
Di (2)			1	2				
<u>Izoniazid</u>								
Di (7)					18	0		
Di (18)					4	3		
<u>Streptomisin</u>								
Di (3)							1	2
Di (22)							21	1

## TARTIŞMA

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde rifampine BACTEC yöntemiyle 25 suşun hepsi duyarlı bulunmuş, E test yöntemiyle yapılan duyarlılık testi de aynı sonuçları vermiştir (% 100 uyumluluk). Etambutole BACTEC yöntemiyle suşların 22'si duyarlı, 3'ü dirençli bulunmuş, BACTEC ile dirençli bulunan 3 suştan biri E test yönteminde duyarlı görünmüştür (% 96 uyumluluk). İzoniazide BACTEC yöntemiyle suşların 18'i duyarlı, 7'si dirençli bulunmuş; BACTEC yöntemiyle dirençli bulunan 7 suştan 4'ü E test yönteminde duyarlı görünmüştür (% 84 uyumluluk). Streptomisine BACTEC yöntemiyle suşların 22'si duyarlı, 3'ü dirençli bulunmuş; BACTEC yöntemiyle duyarlı bulunan 22 suştan biri E test yönteminde dirençli, BACTEC yöntemiyle dirençli bulunan 3 suştan biri E test yönteminde duyarlı görünmüştür (% 92 uyumluluk).

Bir başka deyişle bu çalışmada, toplam 25 *M.tuberculosis* klinik izolatının dört farklı antibiyotiğe karşı test edilmesiyle 100 adet karşılaştırmalı antibiyotik duyarlılığı çalışılmış, 93 adet duyarlılık sonucu (% 93) E test ve BACTEC yöntemlerinde birbirile uyumlu bulunmuştur. Karşılaştırmalı test sonucu farklı olarak yorumlanan yedi duyarlılık testinden altısı BACTEC yönteminde dirençliken E test yönteminde duyarlı, biri ise BACTEC yönteminde duyarlı iken E test yönteminde dirençli görünmüştür. Uyumsuzluk bulunan yedi duyarlılık sonucunun tümünde MİK değerlerindeki farklılıklar, BACTEC konsantrasyonlarına göre duyarlı-dirençli sınıflamasını değiştirecek şekilde, en az üç katlı ( $\pm 3 \log_2$ ) sulandırımlardır.

Wanger ve Mills (8), E test yöntemini BACTEC ve agar proporsiyon yöntemleriyle karşılaştırdıkları çalışmalarında 71 *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatının 68'ini rifampine, 28'ini etambutole, 27'sini izoniazide ve 50'sini streptomisine karşı test etmişler ve BACTEC ile E test arasında rifampinde % 100, etambutolde % 97, izoniazidde % 100 ve streptomisinde % 98 uyumluluk saptamışlardır. Çalışmamızda ise aynı antibiyotiklerle her iki yöntem arasında sırasıyla % 100, % 96, % 84 ve % 92 uyumluluk saptanmıştır. Çalışmamızda rifampin ve etambutol için bulunan oranlar Wanger ve Mills'in bildirdiği oran-

larla benzerlik gösterirken, izoniazid ve streptomisin için saptadığımız uyumluluk oranları bu yazarların bildirdiği oranların altındadır.

*Mycobacterium tuberculosis*'in antimikobakteriyel ajanlara duyarlığını ölçümede NCCLS'in M24-T standartında (4) önerdiği agar proporsiyon ve BACTEC radyometrik yöntemleri tek bir kritik konsantrasyon ile çalışmakta, ayrıca sonuçların yorumlanmasında her iki yöntem de teknik deneyim gerektirmektedir. Agar proporsiyon yöntemi cihaz gerektirmezken, inkübasyonunun uzun olmasıyla dezavantajı bulunmaktadır. BACTEC yöntemi ise sonuçları hızlı olarak çıkarabilirken, pahalı cihaz ve ekipmanlar gerektirmesi dezavantaj oluşturmaktadır (8).

BACTEC yöntemiyle karşılaşıldığında her ne kadar E test yöntemi cihaz gerektirmemesi ve test edilen mikroorganizmanın MİK değerini göstermesi gibi avantajlara sahipse de, bu çalışmada gözlemediğimiz dezavantajlar şunlardır: E test çalışma prosedürüne regi *M.tuberculosis* yönünden çok yoğun olan inokulumun (McFarland 3 veya GI $\geq$ 999 olan inokulum) agar yüzeyine sürülmESİ esnasında bakterinin aerosyonuna neden olabileceği, az sayıda örnek çalışmak için iyi bir önem olsa da çok sayıda klinik örneğin çalışıldığı rutin bir tüberküloz laboratuvarı için uygun olamayacağı, ayrıca birim test maliyeti hesaplanırken serit ücretine OADC ilaveli Middlebrook 7H11 agar ve CO<sub>2</sub>'li inkübasyon ortamının maliyeti eklendiğinde, E testin göründüğü kadar ucuz olmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışmada E test ve BACTEC yöntemleri arasında bulunan % 93 oranındaki uyumluluk, E test yönteminin NCCLS standartlarında önerilen yöntemlere alternatif olabileceğini göstermiştir. Fakat E test yönteminin yukarıda sıraladığımız dezavantajları nedeniyle, bu yöntemin tüberküloz basiliyle rutin olarak çalışmayan laboratuvarlarda seyrek olarak izole edilen suçlarda kullanılmasını ve inokulumun yoğunluğu nedeniyle güvenlik tedbirlerine uyularak çalışılmasını önermekteyiz.

## KAYNAKLAR

- 1- Casal M: Laboratory approaches to mycobacterial susceptibility to antibiotics, *Rev Esp Quimioterap* 8:184 (1995).
- 2- E test technical guide: no 6, AB Biodisk (1998).
- 3- Jacobs MR, Bajaksouzian S, Appelbaum PC, Bolmstrom A: Evaluation of the E-test for susceptibility testing of pneumococci, *Diagn Microbiol Infect Dis* 15:473 (1992).
- 4- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Antimycobacterial Susceptibility Testing for Mycobacterium tuberculosis*, Tentative Standard M24-7, NCCLS, Villanova (1995).
- 5- Siddiqi SH: Primary isolation of Mycobacteria: Bactec method, "HD Isenberg (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*" kitabında s. 3.7.1, ASM Press, Washington (1992).
- 6- Siddiqi SH: Bactec NAP test, "HD Isenberg (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*" kitabında s. 3.13.1, ASM Press, Washington (1992).
- 7- Siddiqi SH: Radiometric (Bactec) tests for slowly growing Mycobacteria, "HD Isenberg (ed): *Clinical Microbiology Procedures Handbook*" kitabında s. 5.14.1, ASM Press, Washington (1992).
- 8- Wanger A, Mills K: Testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility of ethambutol, isoniazid, rifampin and streptomycin by using E test, *J Clin Microbiol* 34:1672 (1996).