

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ İZONİAZİD, RİFAMPİSİN, STREPTOMİSİN VE ETAMBUTOL DUYARLILIKLARININ BACTEC YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ

**Gönül ASLAN*, Nuran DELİALİOĞLU*, Gürol EMEKDAŞ*, Feza OTAĞ*, Çilem YILDIZ*,
Mukadder ÇALI KOĞLU**, Özdemir ÖZDEMİR*****

- * Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MERSİN
** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN
*** Mersin Merkez Verem Savaş Dispanseri, MERSİN

ÖZET

Bir yıl içinde Mersin ve çevre bölgelerden gönderilen 1444 örnekten BACTEC 12B ve Löwenstein-Jensen besiyerlerinde yapılan kültürlerden 127 (% 8.8) mikobakteri suşu üretilmiş, bunların 99'unun BACTEC 460TB sistemi ile 4 majör antitüberküloz ilaca duyarlılıkları belirlenmiştir.

Suşların 80'i bütün ilaçlara duyarlı bulunmuştur. Bir ilaca dirençli 10 suştan 5'i izoniazide (INH), 4'ü rifampisine (RİF), 1'i streptomisine (STR) dirençli bulunmuş, yalnız etambutole (ETB) dirençli olan suşa rastlanmamıştır. İki ilaca dirençli 3 suşa birerinde INH+RİF'e, RİF+ETB'e, INH+STR'e direnç saptanmıştır. Üç ilaca dirençli 4 suştan 1'i INH+RİF+STR'e, 2'si INH+RİF+ETB'e, 1'i RİF+STR+ETB'e; 2 suş ise 4 ilaca da dirençli bulunmuştur. INH+RİF direnci birlikteliğine 6 suşa rastlanmıştır.

Tüberküloz tedavisinde başarıyı engelleyen en önemli faktör olarak kabul edilen RİF direncine 99 suştan 12'sinde rastlanması, bunların 6'sında INH direncinin de bulunması bölgemizde tüberkülozun çok önemli bir halk sağlığı problemi olduğunu göstermekte, acil önlemler alınması gerektiğine işaret etmektedir.

Anahtar sözcükler: antitüberküloz ilaç duyarlılığı, *Mycobacterium tuberculosis*, tüberküloz

SUMMARY

Determination of Sensitivity of Mycobacterium tuberculosis Strains to Isoniazid, Rifampin, Streptomycin and Ethambutol by BACTEC System

The sensitivity to 4 major antituberculous drugs of 99 out of 127 mycobacterial strains isolated in BACTEC 12B and Löwenstein-Jensen media from 1444 specimens collected in Mersin and vicinity in a one year period was determined by BACTEC 460TB system.

Eighty strains were found susceptible to all drugs. Ten strains were resistant to only one of the drugs [5 for isoniazid (INH), 4 for rifampin (RIF), 1 for streptomycin (STR), none for ethambutol (ETB)]. The strains resistant to two drugs were 3 (1 for each pair of INH+RIF, RIF+ETB and INH+STR). One of the strains resistant to 3 drugs was resistant to INH+RIF+STR, 2 strains to INH+RIF+ETB and 1 strain to RIF+STR+ETB. Two strains were found resistant to all of 4 drugs.

RIF resistance is accepted as the most important factor in unsuccessful antituberculous therapy, and we found it in 12 of the 99 strains with accompanied INH resistance in 6 strains. This shows that tuberculosis has a great importance for public health in our region and urgent actions should be taken for this problem.

Keywords: antituberculous drug susceptibility, *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis

Yazışma adresi: Gönül Aslan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MERSİN

Tel.: (0324) 337 43 00

e-posta: gaslantr@yahoo.com

Alındığı tarih: 24.11.2004, revizyon kabulü: 15.02.2005

GİRİŞ

Tüberkülozda ilaç direncinin kemoterapi uygulamalarından sonra ortaya çıkan bir sorun olduğu 1950'lerde kombine tedavi prensiplerinin anlaşılmasıyla fark edilmiştir. Günümüze kadar gelen kemoterapi sürecinde direnç paterninde 3 evre tanımlanmıştır. İlk evre streptomisin (STR) kullanıma girmesi ve sonrasında iatrojenik STR direncinin ortaya çıkışıdır. STR dönemi, direnç gelişimi konusunda önemli bilgilerin oluşmasına yol açmıştır. Bunu paraaminosalisilik asit ve izoniazid (İNH)'in tedaviye girmesiyle STR direncinin üstesinden geline, ancak tüm uyarılara ve öz eleştirilere rağmen dünyanın birçok yerinde yaygın İNH direncinin büyük bir problem haline geldiği ve neyse ki rifampisin (RİF) ve pirazinamid içeren rejimlerle yine başarılı bir kemoterapi sağlanan evre izler. Bugün kötü kontrol programı, özellikle RİF'in denetimsiz kullanımı İNH ve RİF'e karşı birlikte direnç oluşumuna neden olarak sorunu çözümü çok zor bir noktaya taşımıştır. En az İNH ve RİF'e karşı dirençli basillerin neden olduğu tüberküloz "Çok İlaça Dirençli (ÇİD)" tüberküloz olarak adlandırılmıştır (9,17).

ÇİD *Mycobacterium tuberculosis*'e bağlı olguların görülme sıklığındaki artış dünyanın en büyük sağlık sorunlarından biri haline geldiğinden, dünyada tüberküloz kontrol önlemleri için her yıl önemli bütçeler ayrılmaktadır (2,10,16). Çoğul ilaç dirençli suşlarla infekte hastaların bakımı ve tedavisinin oldukça güç ve pahalı olması yanı sıra mortalitesinin % 40-60 arasında olduğu kaydedilmektedir (4,7). Yeterli tüberküloz kontrol programı uygulanmayan, tüberküloz oranı ve tedavi uyumsuzluğu yüksek oranda bulunan az gelişmiş yoksul toplumlarda yüksek oranda ilaç direnci bulunduğu bilinmektedir. Ancak bu toplumlarda eksik ya da hatalı bildirimler, düzensiz kayıtlar ve standardize olmayan laboratuvar sonuçları gibi nedenlerle direnç prevalansları gerçeği yansıtmamaktadır. Aslında ilaç direnci verilerine en çok gereksinim duyulan, direnç verilerinin en az olduğu bu topluluklardır.

İlimizde tüberkülozun durumu, yıllık yeni olgu sayıları ve direnç oranları ile ilgili verileri içeren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın Mersin ilinde mikobakteri kültürü, tiplendirilmesi ve antimikrobiyal duyarlılık testi yapılabilen tek laboratuvar olması nedeniyle, ilimizdeki Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi, Devlet Hastanesi, Verem Savaş Dispanseri ve özel laboratuvarlar gibi tüm sağlık kuruluşlarının örnekleri laboratuvarımızda toplanmaktadır. Çalışmamızda bir yıllık süre içerisinde çeşitli sağlık kuruluşlarından gönderilen çeşitli klinik materyalden izole ettiğimiz mikobakterilerin identifikasyonu, antibakteriyel duyarlılık oranlarının belirlenmesi; bunun sonucunda da bölgemizde tüberkülozun öneminin vurgulanması ve direnç oranlarının diğer bölgelerimizle karşılaştırmalı olarak irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ağustos 2003 ile Ağustos 2004 arasında 838 hastaya ait 1444 örnek işlendikten sonra, Löwenstein-Jensen (LJ) ve BACTEC 12B besiyerlerine inoküle edilmiş ve hazırlanan preparatlar Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi ile boyanarak değerlendirilmiştir. Steril vücut sıvısı örneklerinde homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemi yapılmadan LJ ve BACTEC 7H12B besiyerine ekilmiş ve preparatlar EZN yöntemi ile boyanmıştır.

Steril vücut sıvıları dışındaki tüm örnekler, ABD.'deki Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) tarafından tanımlanan N-asetil-L-sistein-NaOH yöntemiyle homojenize ve dekontamine edilmiştir (23). Her örnek fosfat tamponu (pH=6.8) ilave edilerek 15-20 dakika 3000 g'de santrifüj edildikten sonra elde edilen sedimentten 100 µl Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği şekilde klasik LJ ve radyometrik BACTEC 7H12B besiyerlerine (PANTA antibiyotik karışımı: 2000 U/ml polimiksin B, 200 µg/ml amfoterisin B, 800 µg/ml nalidiksik asit, 200 µg/ml trimetoprim, 200 µg/ml azlosilin ilavesiyle) inoküle edilmiş, 35-37°C'de 6 hafta süresince inkübasyona bırakılmıştır. BACTEC şişeleri ilk üç haftada üçer kez, daha sonraki haftalarda ise birer kez BACTEC 460TB cihazında okutularak üreme indeksleri değerlendirilmiştir. Üreme indeksi ≥ 10 olan örnekler pozitif, altı hafta sonunda üreme indeksi <10 olan örnekler ise negatif olarak kabul edilmiştir. *M.tuberculosis* kompleks (MTC) ve tüberküloz dışı mikobakterilerin (MOTT) ayrımı NAP testi ile yapılmıştır (15).

Ekim yapılan LJ besiyerleri 35-37°C'de inkübasyona bırakılmış, tüm kültürlerde inokülasyonun 3'üncü veya 5'inci gününde, daha sonra ise haftada 2-3 kez üreme kontrolleri yapılmıştır. Altı hafta sonunda üreme görülmeyen besiyerleri, kültür sonucu negatif olarak değerlendirilmiştir.

Ekim için hazırlanan örneklerden ve pozitif bulunan BACTEC şişelerinden mikroskopik inceleme için preparat hazırlanarak EZN yöntemi ile boyanmıştır.

Üreme indeksi 500'e ulaşan BACTEC 12B şişelerinden aside dirençli basil varlığı boya ile doğrulanan izolatlara antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Primer antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık testi; BACTEC 460TB kültür sistemi ile, son konsantrasyonları İNH için 0.1 µg/ml, STR için 2.0 µg/ml, RİF için 2.0 µg/ml ve ETB için 2.5 µg/ml olacak şekilde hazırlanarak uygulanmış ve 37±1°C'de inkübe edilmiştir.

Üreme indeksi 30 ve üstü olduğunda sonuçlar değerlendirilmiştir (3). NAP ve antibakteriyel duyarlılık testlerinin kalite kontrol işlemleri için standart *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada, Ağustos 2003 ile Ağustos 2004 arasında 838 hastaya ait 1444 örnekten 127 (% 8.8) mikobakteri suşu izole edilmiştir. Bu suşların 28'i çeşitli nedenlerle kaybedilmiş, 99'u çalışma kapsamına alınarak identifikasyon ve BACTEC 460TB sistemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. İzole edilen 99 suşun materyal türüne göre dağılımı tablo 1'de gösterilmektedir. Yüzdelere sayılara çok yakın olduğundan ayrıca oran verilmemiştir. Bu materyallerin 48'i Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nden, 30'u Merkez Verem Savaş Dispanseri'nden, 14'ü Silifke Verem Savaş Dispanseri'nden, 3'ü Mersin Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi'nden, 2'si özel laboratuvarlardan ve 2'si Tarsus Verem Savaş Dispanseri'nden gönderilmiştir.

Tablo 1: 99 *M.tuberculosis* suşunun materyal türüne göre dağılımı.

Materyal	Sayı
Balgam	72
Bronkoalveolar lavaj sıvısı	4
Plevra sıvısı	6
Açlık mide sıvısı	8
Beyin-omurilik sıvısı	1
Abse	2
Perikard sıvısı	1
Dışkı	1
Lenf dokusu	1
İdrar	3
Toplam	99

NAP testi ile 99 suştan 97'si *M. tuberculosis*, 2'si MOTT olarak belirlenmiştir.

Antibakteriyel duyarlılık testi yapılan 99 suşun 80'i birinci seçenek antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı bulunmuştur. Tek ilaca direnç 10 suşta, iki ilaca direnç 3 suşta, üç ilaca direnç 4 suşta ve dört ilaca direnç 2 suşta saptanmıştır. MOTT olarak belirlenen suşlarda hiçbir ilaca direnç gözlenmemiştir.

Tek ilaca dirençli suşlarda direnç en çok İNH (5 suşta) ve RİF'e (4 suşta) karşı gözlenmiştir. Sadece STR'e direnç 1 suşta gözlenmiştir. Tek başına ETB'e karşı direnç saptanmamıştır. İki ilaca direnç 1 suşta İNH+RİF direnci, 1 suşta RİF+ETB direnci ve 1 suşta İNH+STR direnci olarak saptanmıştır. Üç ilaca direnç 1 suşta İNH+RİF+STR, 2 suşta İNH+RİF+ETB ve 1 suşta RİF+STR+ETB olarak belirlenmiştir. İki suşta primer ilaçların tümüne direnç saptanmıştır. İNH ve RİF direnci bereberliği 6 suşta belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: 99 *M.tuberculosis* suşunda antitüberküloz ilaçlara direnç.

Antitüberküloz ilaç direnci	Sayı
Tümüne duyarlı	80
Tek başına İNH direnci	5
Tek başına RİF direnci	4
Tek başına STR direnci	1
Toplam tek ilaca direnç	10
İNH+RİF	1
RİF+ETB	1
İNH+STR	1
Toplam iki ilaca direnç	3
İNH+ RİF +STR	1
İNH+RİF+ETB	2
RİF+STR+ ETB	1
Toplam üç ilaca direnç	4
Tüm ilaçlara direnç	2
Herhangi bir İNH direnci	12
Herhangi bir RİF direnci	12
Herhangi bir STR direnci	6
Herhangi bir ETB direnci	6
İNH+RİF direnci birlikteliği	6

TARTIŞMA

Gelişmiş ülkelerde tüberkülozun eradikasyonu amacıyla 20. yüzyıla kadar yapılan çalışmalara rağmen, Human Immunodeficiency Virus (HIV) epidemileri yüzünden bu halâ başarılamamıştır. Tüberküloz tedavisi uzun süre çoğul ilaç kullanımını gerektirmektedir. Tüberkülozun tanısındaki gecikme, yetersiz ve/veya yanlış tedavi uygulamaları antitüberküloz ilaçlara karşı dirençli *M.tuberculosis* suşlarının giderek artış göstermesine sebep olmaktadır⁽⁶⁾. Dünya genelinde yapılmış pek çok çalışmada en sık direncin İNH'e karşı olduğu bildirilmektedir. Ancak bazı ülkelerde RİF, STR ve ETB de ilk sırayı alabilmektedir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda İNH ve STR ilk sırada olarak bildirilmiştir⁽¹¹⁾. Çalışmamızda ise İNH ve RİF'in ilk sırayı aldığı belirlenmiştir. İNH ve RİF direnci varlığının tedavi başarısı ile ters orantılı olduğu bilinmektedir. Primer RİF direncinin tedavi başarısını engelleyen en önemli faktör olduğu göz önüne alındığında, ilimiz için tüberküloz tedavisinin ciddi boyutlarda sorun oluşturduğu görülmektedir.

Çok ilaca direnç için İtalya Floransa'da % 0, Tayvan'da % 7.5, Filipinler'de % 54 gibi çeşitli ülkelerde değişen oranlar bildirilmektedir^(12,13,22). Bu farklılıkların hastaların demografik özellikleri, ülkelerin genel ilaç kullanım özellikleri, ilaç duyarlılık testlerinde kullanılan yöntemler (BACTEC, LJ vb), ya da ilaç konsantrasyon oranlarındaki değişikliklerden kaynaklanabileceği bildirilmektedir⁽¹¹⁾.

Mikobakterilerde antitüberküloz ilaçlara karşı direnç primer veya sekonder olabilir. Primer ilaç direnci, daha önce

antimikobakteriyel tedavi görmemiş kişilerde ortaya çıkarken, sekonder ilaç direnci geçmişte tüberküloz tedavisi uygulanan hastalarda ortaya çıkan dirençtir. Materyaller çeşitli merkezlerden geldiğinden çalışmamızda bunu belirlemek mümkün olmamıştır. İlaçlara dirençli tüberkülozlu hastayla temas, dirençli olguların yüksek olduğu toplumda yaşamak, düzensiz ilaç kullanımı gibi faktörler primer ilaç direnci için risk faktörleri olarak belirlenmektedir⁽⁸⁾.

Daha önce en az bir ay tüberküloz tedavisi gören, dirençli tüberküloz olgusu ile temas öyküsü bulunan, üç aylık tedaviden sonra yayma ve kültür pozitifliği devam eden, yüksek ilaç direnci bulunan (primer İNH direnci % 4'den fazla) bölgede yaşayan, HIV ile infekte olup kaviter lezyonları bulunan, düşük sosyoekonomik koşullarda yaşayan tüberküloz hastalarının kesinlikle direnç varlığı yönünden irdelenmesi önerilmektedir^(2,3).

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişimi genellikle ilacın hedef bölgesini kodlayan genlerde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Mikobakteriler çoğu ilaç molekülüne karşı geçirgenliği azaltan özel hücre duvarı yapısına sahiptir. Ayrıca ilaçların etkisini azaltan veya önleyen enzimleri de üretebilmektedirler⁽¹⁹⁾.

Balcı ve ark.⁽¹⁾'nin BACTEC 460 sistemi kullanarak antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık belirledikleri araştırmada suşların % 54.8'inin birinci seçenek ilaçlara duyarlı olduğu bildirilmiştir. Bir veya birden fazla ilaca direncin % 45.2, sadece bir ilaca direncin % 17.6, iki ilaca direncin % 15.6, üç ilaca direncin ise % 12 olduğu belirtilmiştir. İlaçların tümüne dirençli olgu belirtilmemiştir.

Durmaz ve ark.⁽⁴⁾'nin Türkiye genelinde yaptıkları çok merkezli çalışmada 88 tüberküloz suşunda primer antitüberküloz ilaçlardan en az birine karşı olan direnç oranı % 32.95, birden fazla ilaca karşı direnç oranı % 10.23 olarak bildirilmektedir. Tek ilaca karşı direnç oranları STR için % 7.95, İNH için % 10.22, etiyonamid (ETM) için % 4.54 ve RİF için % 0 olarak saptanırken, 2 suşta çoklu ilaç direnci belirlendiği bildirilmiştir.

Tansel ve ark.⁽¹⁸⁾, *M.tuberculosis* kompleks suşlarının STR, İNH, RİF ve ETM'e direnç oranlarını sırasıyla % 2.2, % 9, % 4.5, % 1.5 olarak, en az bir ilaca direnç oranını % 6, İNH ve RİF'e birlikte direnç oranını % 3 olarak belirlemişlerdir.

Çalışmamızda 99 suşun 80'i dört major ilaca da duyarlı bulunmuş, 10 suşta bu ilaçlardan birine, 3 suşta ikisine, 4 suşta üçüne, 2 suşta tümüne direnç saptanmıştır. İNH ve RİF'e direnç beraberliğine 6 suşta rastlanmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün tüberküloz kontrolü ve direnç gelişimini önlemek için önerdiği doğrudan gözetim altında tedavi stratejisidir (DGTS). DGTS ile zamanla ilaç direnç oranlarının düşmesi beklenir. Ancak DGTS'ye rağmen ÇİD tüberküloz insidansının kontrol altına alınamaması üzerine

DGTS uygulanan toplumlar için DOTS-Plus projeleri ve ÇİD-tüberküloz tedavi rehberi yayınlanmıştır^(5,24).

Dünyada DGTS'nin yetersiz bulunup DOTS-Plus çalışmaları başlatılırken ülkemizde henüz DGTS bile uygulanmamaktadır. İçinde RİF'in de bulunduğu tüm tüberküloz ilaçları serbest satılmakta ve gözetimsiz kullanılmaktadır. Dahası ikinci seçenek tüberküloz ilaçları da aynı şekilde tüketilmektedir. Kültür ve duyarlılık testlerinin büyük bölümü LJ besiyeri kullanılarak yapılmakta ve sonuçlar 2-3 ay sonra raporlanmaktadır. Laboratuvarlarda farklı standartlar kullanıldığından sonuçların güvenilirliği de tartışmalıdır. İstanbul'da iki laboratuvar da çalışılan aynı suşlar için sadece % 30'unda aynı duyarlılık paterni belirlenmesi sorunun ciddiyetini ortaya koymaktadır⁽²⁰⁾.

DGTS gibi tedavi rejimlerin uygulanmadığı Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde direnç sorununun giderek büyümekte olduğu, majör ilaçlar yanı sıra minör ilaçlara da direnç gelişimi görülmektedir. Süreyya Paşa Göğüs ve Kalp Damar Hastalıkları Eğitim Hastanesinde sekonder İNH+RİF dirençli 32 suşun % 65.6'sında ETM direnci de bildirilmektedir⁽¹⁴⁾.

Tüberküloz ile savaşın başlıca hedefleri; hastalığın bulaşmasını önlemek, hasta kişilerin tümüyle iyileşmesini sağlamak, morbidite ve mortaliteyi azaltmaktır. 1953-59 yılları arasında ülke nüfusunun % 56'sı, 1980-82'de ise % 25'inin tüberküloz ile infekte olması ülkemizde halen infeksiyon havuzunun büyük olduğunu göstermektedir. 1982 yılından sonra prevalans çalışması yapılmamış olması bu konuya yeterli ilginin gösterilmemesinin bir sonucudur⁽²¹⁾.

Bölgemiz izolatlarında antitüberküloz ilaçlara duyarlılığın belirlendiği bu ilk çalışmada; tüberkülozda tedavi başarısını etkileyen en önemli faktör olan RİF direncinin yüksek oluşu ve ÇİD oranlarının yüksekliği bölgemizde tüberkülozun ciddi boyutta önemli bir sağlık problemi olduğunu, gerekli acil önlemlerin bir an önce belirlenerek uygulanması gerekliliğini göstermektedir. ÇİD suşlarla infekte hastaların tedavisinin güç, pahalı ve mortalitenin yüksek olması, ayrıca belki daha da önemlisi bu hastaların dirençli basilleri yayarak halk sağlığına tehdit oluşturması nedeniyle bölgesel ve ulusal sağlık otoritelerinin konuya ilgi ve dikkatlerini çekmek üzere projeler oluşturulmuş, DGTS uygulamasının ilimizde başlatılması için işbirliği önerileri sunulmuştur. Tüm bu olumsuzluklar yanında birinci seçenek tüberküloz ilaçlarının tümünün ücretsiz olarak sağlanması, Üniversiteler ve Sağlık Bakanlığı'nın DGTS uygulamalarının gerekliliği konusunda görüş birliğinde olması ve Dünya Sağlık Örgütü ile işbirliğinin başlatılması tüberküloz kontrolünde çabaların boşa çıkmayacağı konusunda umut vericidir.

KAYNAKLAR

1. Balcı İ, Bayram A, Filiz A: Mycobacterium tuberculosis’de birinci seçenek ilaçlara direnç, *İnfeksiyon Derg* 1999;13(4):512-25.
2. Bemer P, Palicova F, Rüsch-Gerdes S, Drugeon Henri B, Pyffer Gaby E: Multicenter evaluation of fully automated BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 System for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis, *J Clin Microbiol* 2002; 40(1):150-4.
3. Center for Disease Control: Initial therapy for tuberculosis era of multiagent resistance: recommendations of Advisory Council for the elimination of tuberculosis, *MMWR* 1993;42(R-7):1-3.
4. Durmaz R, Özerol İH, Durmaz B, Günel S, Şenoğlu A, Evliyaoglu E: Primary drug resistance and molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients in a population with high tuberculosis incidence in Turkey, *Microbial Drug Res* 2003;9(4):361-6.
5. Farmer P, Kim JY: Community based approaches to the control of multidrug resistant tuberculosis: introducing “DOTS-plus”, *Brit Med J* 1998; 317 (7159):671-4.
6. Freixo M, Ines M, Caldas PC et al: Antimicrobial susceptibility determined by the E test, Löwenstein-Jensen proportion, and DNA sequencing methods among Mycobacterium tuberculosis isolates discrepancies. Preliminary results, *Mem Inst Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)* 2004; 99(1):107-10.
7. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A et al: The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City, *N Engl J Med* 1993; 328(8):521-6.
8. Giellespie SH: Evolution of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis; Clinical and molecular perspective, *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(2):267-74.
9. Iseman MD: Tuberculosis therapy: past, present and future, *Eur Respir J* 2002;20(36):87-94.
10. Iseman M: Anti-tuberculosis drug resistance in the World. The WHO/ IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance, p 17-45, WHO, Geneva (1997).
11. Kartaloğlu Z, Bozkanat E, Öztürkeri H, Okutan O, İlvan A: BACTEC yöntemi kullanılarak primer antitüberküloz ilaçlara direnci saptanan 365 tüberküloz olgusu, *Solunum* 2002;4(4):443-8.
12. Mendoza MT, Gonzaga AJ, Roa C et al: Nature of drug resistance and predictors of multidrug-resistant tuberculosis among patients seen at the Philippine General Hospital, Manila, Philippines, *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1(1):59-63.
13. Nutini S, Tortoli E, Corrado A: Multidrug-resistant tuberculosis in the Florence Province from 1992 to 1995, *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2 (6):484-9.
14. Oğuz VA, Akbal H, Sarıbaş S, Karagöz T, Öztürk R: Edinsel çok ilaca dirençli Mycobacterium tuberculosis suşlarının major ve minör antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg* 2000;14(3):383-6.
15. Siddiqi SH: BACTEC 460 TB System Product and Procedure Manual, Becton Dickinson and Company, Sparks, Md (1995).
16. Syre H, Phyu S, Sandven P, Bjorvatn B, Grewal HMS: Rapid colorimetric method for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid and rifampin in liquid cultures, *J Clin Microbiol* 2003;41 (11): 5173-7.
17. Tahaoğlu K: Çok ilaca dirençli tüberküloz. Genel bakış, 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu, Kongre kitabı s:127-9, Abant (2002).
18. Tansel Ö, Yüksel P, Kuloğlu F, Akata F: Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloz ilaçlara direnci, *İnfeksiyon Derg* 2003;17(1):23-6.
19. Telenti A: Genetics of drug resistant tuberculosis, *Thorax* 1998;53(9): 793-7.
20. Törün T: Türkiye’de çok ilaca dirençli tüberküloz ve tedavi sonuçları, 4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu, Kongre kitabı s:145-53, Abant (2002).
21. T.C. Sağlık Bakanlığı: Türkiye’de tüberkülozun kontrolü için başvuru kitabı, T.C. Sağlık Bakanlığı, Verem Savaş Daire Başkanlığı, Ankara (2003).
22. Wang PD, Lin RS: Drug-resistant tuberculosis in Taipei, 1996-1999, *Am J Infect Control* 2001;29(1):41-7.
23. Woods GL: The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques, *Infect Dis Clin North Amer* 2002;16:127-44.
24. World Health Organization: Guidelines for establish DOTS-Plus pilot projects for management of multidrug resistance tuberculosis, WHO/ CDC/TB/2000.279, WHO, Geneva (2000).