

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS İZOLATLARININ BİRİNCİ SEÇENEK ANTI-TÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DUYARLILIĞININ YENİ BİR AGAR BESİYERİ İLE TEST EDİLEREK DEĞERLENDİRİLMESİ

Pooya SALEHI MOHARER¹, Kübra YILDIRIM^{2,3,4}, Ahmet Yılmaz ÇOBAN^{2,3,4}

P. Salehi Moharer: 0000-0003-4048-0195, K. Yıldırım: 0000-0003-0558-8619, A. Y. Çoban: 0000-0002-8815-6063

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANTALYA

²Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANTALYA

³Akdeniz Üniversitesi Tüberküloz Araştırma Merkezi, ANTALYA

⁴Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoteknoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

ÖZ

Tüberküloz (TB), dünya genelinde enfeksiyon kaynaklı hastalıklar arasında ölümün önde gelen nedenlerinden biri olan bulaşıcı bir hastalıktır. TB'nin epidemiyolojik dağılımına göre, yüksek oranda TB basili ile enfekte hastaların bulunduğu ülkelerin büyük bir bölümü orta ve düşük gelirli ülkelerdir. Bu nedenle çalışmada düşük gelirli ülkelerde ve laboratuvarlarda TB ve çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB izolatlarının ilaç duyarlılık testleri için kolayca kullanılacak yeni bir besiyeri olan AYC.2.2 agar besiyerinin klinik izolatlarla etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294 (H37Rv, tüm ilaçlara duyarlı), ATCC 35822 (isoniazid dirençli), ATCC 35838 (rifampisin dirençli), ATCC 35820 (streptomisin dirençli) ve ATCC 35837 (etambutol dirençli) referans suşlar ve 34 klinik izolat test edilmiştir. Çalışmadaki tüm anti-TB ilaçlar ve izolatlar için kullanılan referans yöntem ve AYC.2.2 agar kullanılarak yapılan agar proporsiyon metodu arasında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve uyum hesaplanmıştır. Isoniazid ve rifampisin için tüm değerler %100 bulunmuştur. Etambutol için duyarlılık %100, özgüllük %88.23, PPD %89.47, NPD %100, uyum %94 olarak hesaplanmıştır. Streptomisin için duyarlılık %100, özgüllük %77.77, PPD %80, NPD %100, uyum %88 bulunmuştur. M. tuberculosis ATCC suşları klinik izolatların değerlendirilmesine dahil edilmemiş ve bunlardaki uyum %100 bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, sıvı otomatize sistemlere oranla üreme süresi dezavantaj olmasına rağmen, AYC.2.2. agar duyarlılık sonuçlarının belirlenmesinde otomatik sistemler kadar etkili bir şekilde kullanılabilmiştir. Maliyetinin düşük olması ve hazırlanmasının kolay olması en büyük avantajlarından. Ancak, rutin kullanıma geçmeden önce çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: AYC.2.2 agar, besiyeri, birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlar, ÇİD-TB, ilaç duyarlılık testi, Mycobacterium tuberculosis

ABSTRACT

Evaluation of Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis Isolates Against First Line Antituberculosis Drugs With a New Agar Medium

Tuberculosis (TB) is an infectious disease that is one of the leading causes of death among infectious diseases worldwide. According to the epidemiologic distribution of TB, most countries with a high proportion of patients infected with TB bacilli are middle- and low-income countries. Therefore, the study aimed to evaluate the effectiveness of AYC.2.2 agar medium, a new medium that can be easily used for drug susceptibility testing of TB and multidrug-resistant TB isolates, with clinical isolates in low-income countries and laboratories. Mycobacterium tuberculosis ATCC 27294 (H37Rv, susceptible to all drugs), ATCC 35822 (isoniazid-resistant), ATCC 35838 (rifampicin resistant), ATCC 35820 (streptomycin resistant), and ATCC 35837 (ethambutol resistant) reference strains and 34 clinical isolates were tested. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and concordance were calculated between the reference method and the agar proportion method using AYC 2.2 agar for all anti-TB drugs and isolates in the study. For isoniazid and rifampicin, all values were 100%. For ethambutol, sensitivity was 100%, specificity 88.23%, PPV 89.47%, NPV 100%, and concordance %94. For streptomycin, sensitivity was 100%, specificity 77.77%, PPV 80%, NPV 100%, and concordance %88. M. tuberculosis ATCC

İletişim adresi: Ahmet Yılmaz Çoban. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, ANTALYA
GSM: (0505) 527 06 95

e-posta: cobanay2003@gmail.com

Received/Geliş: 01.11.2023 Accepted/Kabul: 05.12.2023 Published Online/Online Yayın: 31.12.2023

Atf/Cite as: Salehi Moharer P, Yıldırım K, Çoban AY. Mycobacterium tuberculosis izolatlarının birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığının yeni bir agar besiyeri ile test edilerek değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2023;37(3):82-88.

strains were not included in the evaluation of clinical isolates, and the agreement was 100%. According to the results obtained, AYC.2.2. agar could be used as effectively as automated systems in determining susceptibility results, despite the disadvantage of growth time compared to broth automated systems. Its low cost and easy preparation are among its biggest advantages. However, further multicenter studies are needed before routine use.

Keywords: AYC.2.2 agar, drug susceptibility test, first line anti-tuberculosis drugs, MDR-TB, medium, *Mycobacterium tuberculosis*

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), bulaşıcı tek bir ajan nedeniyle en sık görülen ölüm nedeni olup dünya nüfusunun yaklaşık dörtte biri TB basili ile enfektedir. 2020 yılında 9.9 milyon kişi *Mycobacterium tuberculosis*'in (MTB) etkeni olduğu solunum yoluyla bulaşan bu hastalığa yakalanırken, 1.3 milyon kişi ise bu hastalık yüzünden hayatını kaybetmiştir⁽¹²⁾. TB, devam eden yüksek insidans, prevalans ve mortalite nedeniyle hala önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. 2020 yılında akciğer TB tanısı konan bireylerin 132222'si çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB, 25681'i yaygın ilaca dirençli (YİD)-TB olup toplamda 157903 ilaca dirençli vaka tespit edilmiştir⁽¹²⁾. "End TB" stratejisi, herhangi bir TB türüne sahip her yaşta kişilerin erken tanısını ve hızlı tedavisini gerektirmektedir⁽⁹⁾. Bunun için, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen hızlı tanıya erişimin ve ilaca duyarlılık testlerine evrensel erişimin sağlanması esastır. Kültüre dayalı fenotipik ilaç duyarlılık testleri (İDT) şu anda ilaç direncinin tespiti için altın standarttır. MTB için fenotipik İDT, her bir anti-TB ajan ve test yöntemi için spesifik olan, tek bir kritik konsantrasyonun test edilmesine dayanmaktadır⁽¹⁰⁾.

Son on yılda MTB enfeksiyonu olan hastaların erken belirlenmesi, bu sorun için geriye kalan en etkili strateji olmuştur. Öte yandan, hastalar arasında ilaca dirençli suşların tespitinde artan bir oran bulunmaktadır. Bu durum, İDT' nin yanlış belirlenmesi ve hastaya uygun olmayan ilaç kullanımı ile ilgili olabilir. Yeni gelişmelerin yardımıyla primer ve latent TB enfeksiyonlu hastaların tespit edilmesi, bu durumu açıklamak için daha az olasıdır. İDT yaparak etkili tedavi uygulamak, ÇİD-TB suşlarının artmasını önlemenin temel stratejisidir. TB'nin son epidemiyolojik dağılımları incelendiğinde, yüksek oranda basil ile enfekte hastaların bulunduğu ülkelerin büyük bir bölümünün orta ve düşük gelirli ülkeler olduğu görülmektedir⁽¹¹⁾. TB için ticari olarak mevcut hızlı test sistemleri bulunsa da bu tür sistemlerin iyi bir altyapı ve iş gücü gerektirmesi ana dezavantajlarıdır. Ayrıca, ticari olarak mevcut sistemlerin pahalı olması önemli bir sorundur. Bu ülkelerin birçoğu sınırlı kaynaklarla yönetildiğinden, bu teknolojilerin uygulanabilirliği belirsizdir.

Coban⁽³⁾ tarafından MTB izolatlarının ilaç duyarlılığının belirlenmesi amacıyla geliştirilen AYC.2.2 agar besiyeri kolay kullanımı ve düşük maliyeti sebebiyle birçok laboratuvar için tercih sebebi olabilir.

Bu nedenle çalışmada düşük gelirli ülkelerde ve laboratuvarlarda TB ve ÇİD-TB izolatlarının İDT için kolayca kullanılacak yeni bir besiyeri olan AYC.2.2 agar besiyerinin klinik izolatlarla etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada yapılan tüm işlemler, Sınıf II-B biyogüvenlik kabini (DemAir, Ankara, Türkiye) içerisinde ve uygun kişisel koruyucu ekipmanlar (3M™ Versaflo™, TR-300+ ile TR3712N filtreler) kullanılarak biyogüvenlik seviyesi 3 olan laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bakteriyel İzolatlar

Çalışmada *M. tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv, tüm ilaçlara duyarlı), ATCC 35822 (izoniazid dirençli), ATCC 35838 (rifampisin dirençli), ATCC 35820 (streptomisin dirençli) ve ATCC 35837 (etambutol dirençli) suşlar ve daha önce fenotipik ve genotipik duyarlılık sonuçları referans yöntem olarak kabul edilen BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile belirlenmiş Akdeniz Üniversitesi Verem Çalışmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi (AKVUAM) kültür koleksiyonundan seçilen klinik MTB izolatları test edildi.

Anti-TB İlaçların Hazırlanması

Çalışmada test edilen birinci seçenек anti- TB ajanlar olan izoniazid (INH), rifampisin (RIF), streptomisin (STM) ve etambutol (EMB) ticari olarak toz formda satın alındı (Sigma- Aldrich, Almanya). Çözücü olarak INH, STM, ve EMB için steril distile su; RIF için metanol kullanılarak her bir ajanın 4096 µg/ml konsantrasyonda stok solüsyonları hazırlandı. Hazırlanan anti-TB ajanlar membran filtreden geçirilerek steril edildi ve kullanılacağı zamana kadar -80°C'de saklandı.

Besiyerinin Hazırlanması

AYC.2.2 agar (PCT/TR2018/0508849) daha önce Çoban⁽⁵⁾ tarafından belirtilen şekilde hazırlandı. Besiyeri 50°C'ye soğutulup ortama %5 inaktive edilmiş koyun serumu (Sigma-Aldrich, Almanya) eklendi. Birinci seçenек anti-TB ilaçlar, besiyeri içerisine son konsantrasyonları INH için 0.2µg/ml, RIF için 1 µg/ml, EMB için 4 µg/ml ve STR için 2 µg/ml olacak şekilde eklenerek vida kapaklı steril tüplere 5 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı⁽¹⁰⁾. Tüpler yatık pozisyonda ışık almayan ortamda oda sıcaklığında katılaşmaya bırakıldı. Benzer şekilde anti-TB ilaç içermeyen üreme kontrol tüpleri de hazırlanarak kullanılıncaya kadar +4°C'de saklandı. Antibiyotik etkinliğinin azalmasını engellemek için antibiyotikli besiyerlerinin kullanım süresinin 1 ayı geçmemesine özen gösterildi.

Bakteri İnokulumlarının Hazırlanması

Çalışmaya alınan izolatların Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde üremiş taze kültürlerinden inokulumlar hazırlandı. İçerisinde 8-10 adet steril cam boncuk ve 3-5 ml serum fizyolojik içeren tüplere taze kültürden koloniler aktarıldıktan sonra tüplerin ağzı sıkıca kapatılıp parafilm ile sarıldı. Tüm tüpler yaklaşık 1 dk 2500 rpm de vorteks (Onilab MX-S, Bio Laboratories Pte Ltd., ABD) ile karıştırılıp ardından aerosollerin ve büyük partiküllerin çökmesi için dik konumda yaklaşık 30-60 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra üstteki sıvı alınarak başka bir tüpe aktarıldı ve McFarland densitometresi ile (BIOSAN Medical-Biological Research & Technologies, Riga, Letonya) McFarland no 1 bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandı⁽¹⁰⁾.

AYC.2.2 Agarda Proporsiyon Yönteminin Uygulanması

McFarland no. 1 bulanıklığında hazırlanan bakteri inokulumları 1:100 oranında seyreltilerek 100 µl olacak şekilde test tüplerine ve etken madde içermeyen üreme kontrol tüplerine inoküle edildi. İnokülasyon sonrası tüm besiyerleri 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakıldı. Besiyerleri kontaminasyon kontrolü için ilk hafta her üç günde bir, daha sonrasında haftada bir incelendi. 21 günlük inkübasyon süresinin sonunda, üreme kontrol tüpünde yeterli üreme olan tüpler için çalışma sonuçlandırıldı (Tablo 1). İlaç duyarlılık sonuçları %1 orantı yöntemine göre değerlendirildi^(1,10).

İstatistiksel Analiz

AYC.2.2 agar ile yapılan ilaç duyarlılık yöntemi sonuçları referans yöntem olan BACTEC MGIT 960 sonuçları ile karşılaştırıldı. Her iki yöntem arasında duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) ve uyum hesaplandı⁽⁸⁾.

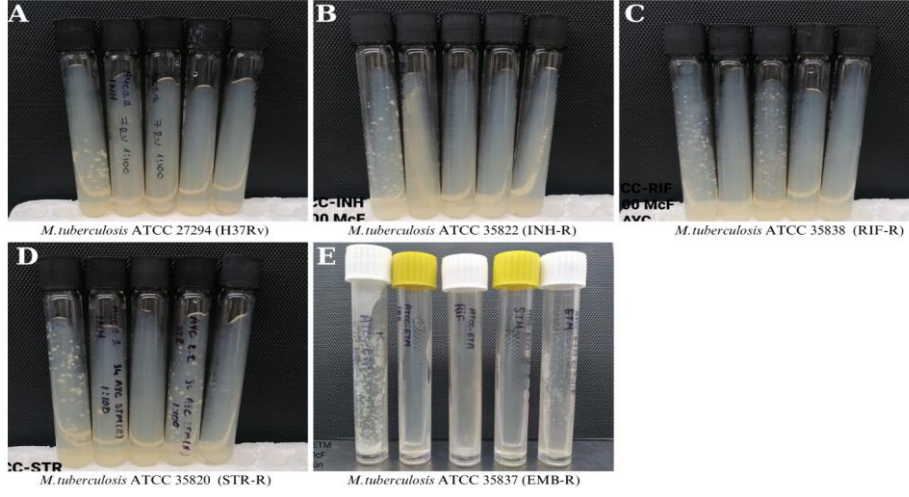
BULGULAR

Çalışmada beş *M. tuberculosis* ATCC suşu ve 34 klinik *M. tuberculosis* izolatının İDT AYC.2.2 agar besiyeri kullanılarak agar proporsiyon metodu ile yapıldı. Kültür koleksiyonundan seçilen izolatların 15'i birinci seçenек anti-TB ilaçlara duyarlı (INH^S/RIF^S/EMB^S/STM^S), 19 izolat ise dirençli (ÇİD-TB) idi.

M. tuberculosis ATCC suşları klinik izolatlardan ayrı olarak değerlendirildi ve uyum %100 olarak bulundu (Şekil 1). Proporsiyon metoduyla, çalışılan 34 klinik izolattan 19'u ÇİD-TB olarak bulundu. İki izolat, STM ve EMB için referans yöntemle duyarlı bulunurken proporsiyon metodunda dirençli bulundu. Farklı iki izolat ise proporsiyon yöntemiyle referans yöntem sonuçlarından farklı olarak STM dirençli olarak saptandı. Birinci seçenек anti-TB ilaçlara duyarlı olduğu bilinen 14 izolat her iki yönetime göre de ilaçlara duyarlı bulundu. Test edilen suşların duyarlılık profilleri fenotipik olarak karşılaştırılarak Tablo 1'de verildi.

Çalışmada, klinik izolatlarda INH ve RIF için duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD ve uyum %100 olarak hesaplandı. Duyarlılık, özgüllük, PPD, NPD ve uyum sırasıyla EMB için %100, %88.23, %89.47 ve %94; STM için ise %100, %77.77, %80, %88 olarak bulundu. Tüm sonuçlar Tablo 2'de gösterildi.

Şekil 1. *Mycobacterium tuberculosis* ATCC suşlarının AYC.2.2 agar besiyerinde üreme görüntüleri.



INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, STM: Streptomisin, EMB: Etambutol

Tablo 1. *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatlarında referans yöntem ve AYC.2.2 agar proporsiyon yöntemi ile elde edilen duyarlılık sonuçları.

İzolatlar	AYC 2.2				Referans Yöntem			
	STM	INH	RIF	EMB	STM	INH	RIF	EMB
1	S	S	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S	S	S
5	R	S	S	S	S	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S
9	S	S	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S
12	S	S	S	S	S	S	S	S
13	S	S	S	S	S	S	S	S
14	S	S	S	S	S	S	S	S
15	S	S	S	S	S	S	S	S
16	R	R	R	R	R	R	R	R
17	R	R	R	R	R	R	R	R
18	R	R	R	R	S	R	R	S
19	R	R	R	R	R	R	R	R
20	R	R	R	R	R	R	R	R
21	R	R	R	R	R	R	R	R
22	R	R	R	R	R	R	R	R
23	R	R	R	R	R	R	R	R
24	R	R	R	R	S	R	R	R
25	R	R	R	R	S	R	R	S
26	R	R	R	R	R	R	R	R
27	R	R	R	R	R	R	R	R
28	R	R	R	R	R	R	R	R
29	R	R	R	R	R	R	R	R
30	R	R	R	R	R	R	R	R
31	R	R	R	R	R	R	R	R
32	R	R	R	R	R	R	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R
34	R	R	R	R	R	R	R	R

INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, STM: Streptomisin, EMB: Etambutol
(Uyumsuz sonuçlar kırmızı ile işaretlenmiştir.)

Tablo 2. Klinik *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarında referans yöntem (MGIT) ve AYC2.2 agar proporsiyon yöntemiyle elde edilen duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması.

Birinci seçenek anti-TB ilaçlar	AYC.2.2. Agar proporsiyon	Referans metot		Duyarlılık %	Özgüllük %	PPD %	NPD %	Uyum %
		R	S					
STM	R	16	4	100	77.77	80	100	88
	S	0	14					
INH	R	19	0	100	100	100	100	100
	S	0	15					
RIF	R	19	0	100	100	100	100	100
	S	0	15					
EMB	R	17	2	100	88.23	89.47	100	94
	S	0	15					

PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer, STM: Streptomisin, INH: İsoniazid, RIF: Rifampisin, EMB: Etambutol

TARTIŞMA

TB basilinin en belirgin özelliklerinden biri, anti-TB ilaçlara hızla direnç geliştirmesidir. 1960'lı yıllardan bu yana DSÖ tarafından yayınlanan raporlar incelendiğinde birinci seçenek anti-TB ilaçlara artan direnç sorunu tedavi basamaklarını güçleştirmektedir⁽¹²⁾. Yeni ilaç stratejileri ve tanıda geliştirilen teknolojilere rağmen ilaç duyarlılık testlerinin uygulanması düşük ve orta gelirli ülkeler ile küçük laboratuvarlar için hala bir sorun teşkil etmektedir. Bununla beraber TB hastalığı daha çok gıda ve hijyen koşullarının yetersiz ve ekonomik imkanların kısıtlı olduğu bu ülkelerde yaygındır⁽⁷⁾.

TB tanısında sıvı besiyeri temelli otomatize sistemlerin kullanımı özellikle ekstra pulmoner örneklerde önem taşır. Bununla beraber rutin laboratuvarlar katı besiyeri ortamına da ekim yaparak tanıyı doğrular⁽⁶⁾. Sıvı otomatize sistemlerin katı besiyerinde üretilerek tespiti karşı en büyük avantajı süredir. Ancak, otomatize sistemler maliyet yüksekliği sebebiyle her laboratuvarın kullanımına uygun değildir.

TB basilinin üretilmesinde birçok laboratuvar tarafından kullanılan katı besiyerleri genellikle LJ besiyeridir. Ancak LJ besiyerinin yumurta bazlı olması ve pişirilerek katılaştırılması hazırlamadaki en temel sorunlardır.

Bununla beraber yapılan bazı çalışmalar mikrobiyolojide yaygın kullanıma sahip kanlı agar besiyerinin de mikobakterilerin üretilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir⁽²⁾. Kanlı agar besiyerinin renginin saydam olmaması sebebiyle basil görüntülerinin net olmaması tanısasal bir sorun olabilir. Bu sebeple Coban⁽³⁾ tarafından geliştirilen AYC 2.2 agar besiyeri içerdiği koyun serumuyla hem ortamı zenginleştirmiş hem de saydam görüntüsü ile basillerin görünürlüğünü artırmıştır (Şekil 1). Özellikle ÇİD-TB tanımlanmasında İDT'de büyük avantaj sağlamaktadır⁽⁴⁾. Rutin kullanımda önerilen Middlebrook 7H10 ve 11 agar saydam olmalarıyla avantaj sağlamakla beraber içeriğine zenginleştirici olarak %10 oleik asit, albümin, dekstroz, katalaz (OADC) eklenmesi gereklidir. OADC son derece pahalı bir zenginleştirici ortamdır. AYC 2.2 agar içerisinde ise zenginleştirici olarak çok daha ucuz olan koyun serumunun kullanılması bir başka avantajıdır.

AYC 2.2 agar besiyeri ile LJ besiyeri karşılaştırıldığında üreme sürelerinde farklılık olmadığı gösterilmiştir⁽²⁾. Bu nedenle hazırlanma kolaylığı sebebiyle LJ yerine tercih edilebilir.

AYC 2.2 agar besiyeri ile yapılan bir başka çalışma anti-TB ilaçların kritik konsantrasyonlarını belirlemeye yöneliktir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler 7H10 agar için CLSI tavsiyesine göre sınır değerlerinin AYC.2.2 agar ve AYC.2.1 sıvı besiyeri için de kullanılabileceği sonucuna varmıştır⁽⁵⁾.

Çalışmamızda birinci seçenek anti-TB ilaçların referans yöntem olarak önerilen, sıvı otomatize sistem olan BACTEC MGIT 960 ile çalışılan ilaç duyarlılık sonuçlarıyla AYC 2.2 agar kullanılarak yapılan proporsiyon metot ilaç duyarlılık sonuçları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar INH ve RIF için ilaç duyarlılık sonuçlarında %100 uyum göstermiştir. Buna rağmen STM duyarlılık sonuçlarında dört izolat için, EMB duyarlılık sonuçlarında iki izolat için referans yöntemden farklı olarak AYC 2.2 agar proporsiyon metodunda sonuçlar duyarlı yerine dirençli olarak bulunmuştur. Sıvı otomatize sistemler ve agar proporsiyon metodu gibi referans yöntemlerle yapılan çalışmalar incelendiğinde bakterinin doğası gereği farklı duyarlılık sonuçları elde edilebildiği görülmüştür⁽⁴⁾.

Sonuç olarak, çalışmamızda MTB ATCC suşları ve test edilen klinik izolatlarda referans yöntemle karşılaştırıldığında elde edilen yüksek uyum, AYC.2.2 agar'ın kültür ve İDT için umut vadeden bir ortam olduğunu göstermektedir. Çalışmamızdaki izolat sayısının düşük olması zayıf yönümüzdür. Bu sebeple AYC.2.2 agar'ın rutin kullanıma geçmeden önce daha fazla ilaç duyarlılık analizi için çok merkezli çalışmalarına ve daha fazla sayıda izolatla çalışmalarına ihtiyacı vardır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu çalışmanın bir kısmı, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından lisansüstü araştırma projelerini destekleme programı kapsamında finanse edilmiştir (No:1919B011903228).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial support: A part of this study was funded by the Scientific and Technological Research Council of Turkey within the scope of its graduate research projects support program (No:1919B011903228).

KAYNAKLAR

1. CLSI Standards. Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard-Second Edition. CLSI document M24-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2011).
2. Coban AY, Akgüneş A, Durupınar B. Mikobakterilerin Üretilmesinde Kanlı Agar Besiyerinin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):617-22.
3. Coban AY. A novel agar base medium for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis isolates. Future Microbiol. 2021;16:949-53. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0032>
4. Coban AY, Ceyhan I, Uzun M, et al. Multicenter evaluation of AYC.2.2 agar for the isolation of mycobacteria from clinical samples. Indian J Med Microbiol. 2022;40(1):127-131. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.12.002>
5. Coban AY. Validation of a novel medium for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis against first- and second-line drugs: AYC.2.2 Agar and AYC.2.1 broth. Int J Mycobacteriol. 2021;10(1):19-25. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_194_20
6. de Waard JH, Robledo J. Conventional diagnostic methods, pp: 401-24. In: Palomino JC, Leao SC, RitaccoV (eds), Tuberculosis (2007): From Basic Science to Patient Care. 2007, 1st ed. www.TuberculosisTextbook.com
7. Floyd K, Glaziou P, Zumla A, Raviglione M. The global tuberculosis epidemic and progress in care, prevention, and research: an overview in year 3 of the End TB era. Lancet Respir Med. 2018;6(4):299-314. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30057-2](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30057-2)
8. Food and Drug Administration. Guidance for industry and FDA. Class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems. Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services, Silver Spring, MD (2009)
9. World Health Organization. The End TB Strategy. World Health Organization. Geneva, Switzerland (2015).
10. World Health Organization. Technical Manual for Drug Susceptibility Testing of Medicines Used in the Treatment of Tuberculosis. World Health Organization. Geneva, Switzerland (2018).
11. World Health Organization. Global tuberculosis report. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2020).
12. World Health Organization. Global tuberculosis report. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2021).