

MİKOBAKTERİLERİN MAJÖR ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DUYARLILIĞININ OTOMATİZE BACTEC MGIT 960 SİSTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI VE RADYOMETRİK BACTEC 460 TB SİSTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

EVALUATION OF THE FULLY AUTOMATED BACTEC MGIT 960 SYSTEM FOR TESTING SUSCEPTIBILITY OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TO FRONT LINE ANTITUBERCULOSIS DRUGS AND COMPARISON WITH THE RADIOMETRIC BACTEC 460 TB METHOD

Melda SINIRTAŞ¹, Cüneyt ÖZAKIN¹, Suna GEDİKOĞLU¹

¹ Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa. (melda@uludag.edu.tr)

ÖZET

Bu çalışmada 100 adet *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatının, tüberküloz tedavisinde kullanılan 4 majör ilacın [streptomisin (STR), izoniazid (INH), rifampin (RIF) ve ethambutol (EMB)] kritik konsantrasyonlarındaki duyarlılık sonuçları tam otomatize BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, Cockeysville, Md.) sisteminde çalışılmış ve radyometrik BACTEC 460 TB (Becton Dickinson, Sparks, Md.) sisteminde elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. BACTEC 460 TB ile uyumlu olmayan BACTEC MGIT 960 sonuçları tekrar çalışılmıştır. İlaçların kritik konsantrasyonlarında her iki sistem arasında %2.25 uyumsuzluk saptanmıştır. Uyumsuz sonuçların tekrar çalışılmasından sonra 2 sistem arasındaki uyumsuzluğun %1.25'e indiği; uyumun %98.75'e yükseldiği gözlenmiştir. Çalışmamızda çok büyük hata saptanmazken; büyük hata oranı 1. çalışmada %2.25 (STR 2, INH 4, RIF 2 ve EMB 1), 2. çalışmada ise %1.25 (INH 3, RIF 2) olarak bulunmuştur. BACTEC MGIT 960 sistemi, BACTEC 460 TB ile karşılaştırıldığında; tüm ilaçlarda özgüllüğün %100, duyarlılığın ise 1. çalışmada %95.6-98.9, 2. çalışmada %96.7-100 oranlarında olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, antitüberküloz duyarlılık test sonuçlarında her iki sistem arasında görülen farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, BACTEC MGIT 960 sisteminin, BACTEC 460 TB'nin alternatifi olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Mycobacterium tuberculosis*, antitüberküloz ilaçlar, büyük hata, çok büyük hata.

ABSTRACT

The performance of the fully automated BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, Cockeysville, Md.) system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* to critical concentrations of 4 major antituberculosis drugs [streptomycin (STR), isoniazid (INH), rifampin (RIF) and ethambutol (EMB)] was

evaluated with 100 clinical isolates and compared to that of the radiometric BACTEC 460 TB (Becton Dickinson, Sparks, Md.) system. The results of BACTEC 960 MGIT, which are not compatible with BACTEC 460 TB, were re-evaluated according to the results obtained. The discordance was 2.25% at the critical concentrations of both systems. After the reproducibility testing, the discordance between 2 systems reduced to 1.25% and the concordance increased to 98.75%. In our study, no very major error was observed; major error was detected as 2.25% (STR 2, INH 4, RIF 2 and EMB 1) in the 1st trial, and 1.25% (INH 3, RIF 2) in the 2nd trial. When BACTEC 460 TB has been compared with BACTEC 960 MGIT, the overall specificity was 100% in all tests, the sensitivity was 95.6-98.9% in the initial testing, however, the sensitivity changed to 96.7-100% after the reproducibility testing. It was concluded that there was no statistically significant discordance between the two test systems. Thus BACTEC MGIT 960 might be an alternative to BACTEC 460 TB for susceptibility testing of antituberculosis agents.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, antituberculosis drugs, major error, very major error.

GİRİŞ

Tüberküloz, tanısı ve tedavisi konusunda yeterli bilimsel bilgi bulunmasına ve tedavi edilebilir bir hastalık olmasına karşın, tüm dünyada insan sağlığını tehdit eden enfeksiyon hastalıkları arasında önemini korumaktadır. Hastaların tedavisi ve sağlık çalışanları ile toplum için gerekli korunma önlemlerinin erken dönemde alınabilmesi için, mikobakterilerin tiplendirilmesi ve antitüberküloz ilaçlara direncinin en kısa sürede tanımlanması gerekmektedir. Duyarlılık testlerinde kullanılan agar proporsiyon yöntemi, altın standart olarak kabul edilmekle ancak sonuçların raporlanması 3-4 hafta gibi uzun bir süre almaktadır. Radyometrik BACTEC 460 TB (Becton Dickinson, Sparks, Md.) ise mikobakterilerin saptanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesinde yaklaşık 20 yıldır kullanılan, 3-15 gün gibi kısa sürede sonuç verebilen hızlı ve proporsiyon yöntemi kadar duyarlı bir sistemdir. Bu sistemin radyoaktif vasat içermesi ve bunların ortadan kaldırılmasında yaşanan sıkıntılar nedeniyle son yıllarda "Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)" 960 (Becton Dickinson, Cockeysville, Md.), BacT/ALERT 3D (bioMerieux, Durham, NC) ya da "ESP Culture Sistem II" (Trek Diagnostics, Inc., Westlake, Ohio) gibi radyoaktif olmayan yeni sıvı vasat içeren kültür sistemlerinin kullanımı yaygınlaşmıştır¹⁻⁵. BACTEC MGIT 960, radyoaktif madde içermemesine ek olarak, otomatize standart okuma prosedürü ve çalışmalarda iğne gibi personel için risk oluşturabilecek laboratuvar malzemesine ihtiyaç duyulmaması açısından avantajlı olup son yıllarda ön plana çıkan bir sistemdir.

Bu çalışmada, mikobakterilerin majör ilaçların kritik konsantrasyonlarındaki duyarlılıkları, BACTEC 960 MGIT sistemi ile çalışılarak BACTEC 460 TB sisteminin sonuçları ile karşılaştırılmış ve BACTEC 960 MGIT sisteminin duyarlılık ve özgüllüğü araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

İzolatlar

Çalışmada 65'i solunum, 35'i ise solunum dışı örneklerden izole edilen 100 *Mycobacterium tuberculosis* klinik izolatu test edildi. Mikobakterilerin tanımlanmasında BACTEC 460 TB NAP testi kullanıldı.

İnokulum Hazırlığı

BACTEC MGIT 960 cihazında inkübe edilen ve MGIT besiyerinde üreyen suşların duyarlılık testleri, cihaz pozitif sinyal verdikten sonraki 1-5 gün içerisinde yapıldı. İnokulum işlemi için mikobakteriyel süspansiyon, pozitifliği takip eden 1-2 günlerde sulandırılmadan; 3-5. günlerde ise steril serum fizyolojik ile 1/5 sulandırılarak hazırlandı. Pozitiflik veren ve 5 gün içinde çalışılmayan tüplerden yeni bir MGIT vasatına pasaj yapıldı.

MGIT Üreme Kontrol Süspansiyonu

Her izolat için, pozitif MGIT 960 tüpünden alınan 0.1 ml, 10 ml steril serum fizyolojik ile sulandırılarak üreme kontrolü (growth control; GC) tüpü hazırlandı.

İlaç Solüsyonları

Liyofilize halde bulunan streptomisin (STR), izoniazid (INH), rifampin (RIF) ve ethambutol (EMB), BACTEC 460 TB ve BACTEC MGIT 960 sistemlerinde firmanın önerileri doğrultusunda sulandırıldı. Çalışmada STR, INH, RIF ve EMB için BACTEC 460 TB sisteminde sırasıyla; 2.0, 0.1, 2.0 ve 2.5 µg/ml; BACTEC MGIT 960 sisteminde ise 1.0, 0.1, 1.0, 5.0 µg/ml ilaç konsantrasyonları kullanıldı.

BACTEC MGIT 960'ta Duyarlılık Testi

Duyarlılık çalışması üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Kontrol ve ilaçlı tüplerdeki üremeler bilgisayar programındaki algoritma doğrultusunda otomatik olarak takip edildi. BACTEC 460 TB ile uyumlu olmayan, BACTEC 960 MGIT sonuçları tekrar çalışıldı ve sonuçlardaki değişim değerlendirildi.

BACTEC 460 TB

Pozitif BACTEC MGIT 960 tüplerinden 0.5 ml 12B şişelerine inoküle edildi ve GI (growth index) ≥ 500 olana kadar inkübe edildi. İlaç duyarlılık testleri kullanım prosedürlerine uygun olarak çalışıldı (S. H. Siddiqi. Product and procedure manual, revision D, for BACTEC 460 TB system, Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md.).

İstatistiksel Değerlendirme

BACTEC MGIT 960 ve BACTEC 460 TB sistemlerinin karşılaştırılmasında McNemar Ki-kare testi kullanıldı. Çalışmada $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İlaçların kritik konsantrasyonlarında her iki sistem arasında %2.25 uyumsuzluk saptanmıştır. Çalışılan 100 izolatin 7'sinde; 400 ilacın 9 (STR 2, INH 4, RIF 2 ve EMB 1)'unda uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir (Tablo I). İlk çalışmada BACTEC 460 TB ile duyarlı, BACTEC 960 MGIT ile dirençli bulunan 9 ilaç tekrar çalışıldığında 4 ilaçta sonuçların değiştiği; 5 ilaçta (INH 3, RIF 2) ise değişmediği görülmüştür.

BACTEC 460 TB ile kıyaslandığında BACTEC MGIT 960 sisteminin özgüllüğünün %100, duyarlılığının ise ilk çalışmada %95.6-98.9; uyumsuz sonuçların tekrar çalışılmasından sonra ise %96.7-100 olduğu gözlenmiştir.

Tablo I. Çalışılan 100 İzolatın Antitüberküloz İlaç Duyarlılık Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

İlaç (µg/ml)	Her iki sistem ile duyarlı	460* duyarlı 960** dirençli	460 dirençli 960 duyarlı	Her iki sistem ile dirençli
STR (1.0)	84 (86)***	2 (0)***	0	14
INH (0.1)	86 (87)	4 (3)	0	10
RIF (1.0)	88 (88)	2 (2)	0	10
EMB (5.0)	95 (96)	1 (0)	0	4

* BACTEC 460 TB.
** BACTEC 960 MGIT.
*** İkinci çalışmanın sonuçları.

Tablo II. BACTEC 960 MGIT ve BACTEC 460 TB Sistemlerinin Karşılaştırılması

İlaç (µg/ml)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)	p*
STR (1.0)	97.7 (100)**	100	100	87.5 (100)**	> 0.05
INH (0.1)	95.6 (96.7)	100	100	71.4 (77)	> 0.05
RIF (1.0)	97.8 (97.8)	100	100	83.3 (83.7)	> 0.05
EMB (5.0)	98.9 (100)	100	100	80 (100)	> 0.05

* Ki-kare.
** İkinci çalışmanın sonuçları.
PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer.

Antitüberküloz duyarlılık test sonuçlarında her iki sistem arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Tablo II).

TARTIŞMA

Tüberküloz hastalarının tedavideki uyum oranlarının düşük olması ya da etkin olmayan ilaç kombinasyonlarının tedavide uygulanması, giderek artan oranlarda direnç sorununa neden olmaktadır¹. Klinisyenler için yayma ve kültür sonuçları önemli olmakla birlikte, tedavi yaklaşımlarını, mikobakterilerin tiplendirilmesi ve duyarlılık sonuçlarının en kısa sürede verilmesi belirlemektedir. Son yıllarda *M.tuberculosis* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı oluşan direncin moleküler mekanizmaları anlaşılmış ve bu amaca yönelik yeni moleküler uygulamalar geliştirilmiştir. Bu yöntemler ile günler, haftalar süren duyarlılık testleri 6 saat içinde tamamlanabilmektedir. Moleküler testlerin sonuçlanma sürelerindeki bu avantajlarına karşın, hedefledikleri gen bölgesi dışında kalan ve dirence yol açan mutasyonların saptanamaması, nadiren de dirence yol açmayan sessiz, nötral mutasyonlardan kaynaklanan yanlış pozitiflikler, bu yöntemlerin laboratuvar rutin uygulamalarında kullanımını kısıtlamaktadır⁶. Günümüzde fenotipik duyarlılık testleri olan agar proporsiyon yöntemi ve radyometrik BACTEC 460 TB altın standart olarak kullanılmaya devam edilmektedir. Agar proporsiyon yönteminde testlerin sonuçlanma süresinin uzun olması; son 20 yıldır tercih edilen BACTEC 460 TB’de ise radyoaktif atıklar oluşması, manuel işlemlerin fazla olması, bilgisayar programı ile otomatik olarak ta-

kip edilememesi ve çalışanların sağlığı için risk oluşturabilecek enjektörlerin çalışmalarda kullanılması BACTEC MGIT 960 gibi alternatif sistemlerin kullanımını yaygınlaştırmıştır.

Laboratuvarlarda yeni bir test yöntemine geçileceği zaman, duyarlı ya da dirençli olduğu önceden test edilmiş izolatlar ile yapılacak karşılaştırmalı çalışmalarla çok büyük hata [very major error (VME): yanlış duyarlı sonuçlar] ile büyük hata [major error (ME): yanlış dirençli sonuçlar] olup olmadığının kontrol edilmesi gereklidir⁷. Yanlış duyarlı sonuçlar, hastaların yetersiz tedavi edilmesi ve tedavide başarısızlığa neden olmaktadır⁸. Agar proporsiyon yöntemi ve BACTEC 460 TB sistemi, tüberküloz ile ilgili yapılacak duyarlılık çalışmalarında referans yöntem/sistem olarak kabul edilmekte ve kullanılmaktadır^{2,7-10}.

Bu çalışmada, *M.tuberculosis*'in tedavisinde kullanılan 4 majör ilacın kritik konsantrasyonlarındaki duyarlılık sonuçları BACTEC MGIT 960 sisteminde çalışılmış ve referans olarak kullanılan BACTEC 460 TB sisteminde elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Son yıllarda duyarlılık sonuçları agar proporsiyon ya da BACTEC 460 TB yöntemleriyle karşılaştırılan yeni sistemlerde değişik oranlarda (%3.7-6.5) uyumsuzluklara rastlandığı bildirilmektedir^{3-5,7,9-16}. Scarparo ve arkadaşları³, agar proporsiyon yöntemi ile karşılaştırıldığında, BACTEC 460 TB ve BACTEC MGIT 960 sistemlerindeki hata oranlarının istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını; her iki sistemde de VME ve ME saptadıklarını (BACTEC MGIT 960 sisteminde 8 VME, 10 ME; BACTEC 460 TB sisteminde ise 4 VME, 4 ME) bildirmişlerdir. Bu çalışmada BACTEC MGIT 960 da saptanan hatalar özellikle EMB ve STR ilaçlarının kritik konsantrasyonlarında daha fazla görülmüştür³. Bemer ve arkadaşlarının⁴ çalışmasında, BACTEC MGIT 960 ve BACTEC 460 TB sistemlerinde antitüberküloz ilaç duyarlılık sonuçlarının %93.5 uyumlu olduğu bulunmuştur. Çalışmada 33 ME (7 INH, 1 RIF, 6 EMB, 19 STR), 1 VME (1 EMB) saptanmış; uyumsuz sonuçların tekrar çalışılmasından sonra VME saptanmazken, 22 ilaçta (5 INH, 5 EMB, 12 STR) majör hatanın devam ettiği gözlenmiştir⁴.

Walters ve Hanna¹¹, manuel MGIT ve agar proporsiyonda elde edilen duyarlılık sonuçlarını karşılaştırmışlar; 117 izolatta 3 VME (2 INH, 1 RIF) saptamışlardır. Agar proporsiyon yöntemi kadar duyarlı kabul edilen BACTEC 460 TB sisteminde de değişik oranlarda ME bildirilmektedir^{3,12,13}. Rüşch-Gerdes ve arkadaşlarının¹² yaptıkları çok merkezli çalışmada, 441 *M.tuberculosis* izolatında BACTEC 960 MGIT ve BACTEC 460 TB sistemleri karşılaştırılmış, 20 VME (3 INH, 4 RIF, 11 EMB, 2 STR), 7 ME (5 EMB, 2 STR) saptanmıştır. Bu uyumsuz sonuçlar agar proporsiyon yöntemi ile kontrol edildiğinde, BACTEC 960 MGIT sisteminde 11 VME (1 INH, 3 RIF, 5 EMB, 2 STR), 4 ME (4 EMB); BACTEC 460 TB sisteminde ise 3 VME (1 EMB, 2 STR), 9 ME (2 INH, 1 RIF, 6 EMB) olduğu gözlenmiştir. Ardito ve arkadaşları¹³, 78 *M.tuberculosis* izolatında BACTEC MGIT 960 sisteminde elde edilen duyarlılık sonuçlarını BACTEC 460 ile karşılaştırmışlar; 9 ME (3 STR, 3 INH, 3 EMB) saptamışlardır. Agar proporsiyon yöntemi ile kontrol edildiğinde; BACTEC 460 TB ile uyumsuz bulunan BACTEC MGIT 960 sistemindeki 5 sonucun agar proporsiyon ile uyumlu olduğu, hatanın BACTEC 460 TB elde edilen sonuçlardan kaynaklandığı anlaşılmıştır.

Çalışmamızda BACTEC MGIT 960 ile dirençli, BACTEC 460 TB ile duyarlı saptanan 4 suştan 3'ünde INH direncinin, kontrol çalışmasında da devam ettiği gözlenmiş, ancak bu suşlarda agar porsiyon ya da moleküler yöntemler ile doğrulama yapılamamıştır. Araştırmamızda antitüberküloz ilaç duyarlılık testlerinde her iki sistemde majör ilaçların kritik konsantrasyonlarında %2.25 oranında uyumsuzluk saptanmıştır. Uyumsuz çıkan ilaçların tekrar çalışılmasından sonra 2 sistem arasındaki uyumun %98.75'e çıktığı görülmüştür. Çalışmamızda VME saptanmazken, 1. çalışmada %2.25, 2. çalışmada ise %1.25 ME bulunmuştur. Saptadığımız ME oranları literatürde belirtilen oranlar ile uyumlu olmakla birlikte, benzer çalışmalarda ME en sık EMB için, bizim çalışmamızda ise INH için belirlenmiştir^{3,12}.

Sonuç olarak, *M.tuberculosis* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan 4 majör ilacın (STR, INH, EMB, RIF) kritik konsantrasyonlarındaki duyarlılık sonuçlarının BACTEC 960 MGIT ve BACTEC 460 TB sistemleri ile karşılaştırıldığı bu çalışmada, antitüberküloz duyarlılık test sonuçlarında her iki sistem arasında görülen farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, BACTEC MGIT 960 sisteminin, BACTEC 460 TB'nin alternatifi olabileceği kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

İstatistiksel analizdeki katkılarından dolayı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalından Sayın Uzman Deniz Sığırlı'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Pablos-Méndez A, Raviglione MC, Laszlo A, et al. Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. N Engl J Med 1998; 338: 1641-9.
2. Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, Geiter LJ, Horsburgh CR, Good RC. The resurgence of tuberculosis. Is your laboratory ready? J Clin Microbiol 1993; 31: 767-70.
3. Scarparo C, Ricordi P, Ruggiero G, Piccoli P. Evaluation of the fully automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide, streptomycin, isoniazid, rifampin and ethambutol and comparison with the radiometric BACTEC 460 TB method. J Clin Microbiol 2004; 42: 1109-14.
4. Bemer P, Palicova F, Rüsç-Gerdes S, Drugeon HB, Pfyffer GE. Multicenter evaluation of fully automated BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2002; 40: 150-4.
5. Bemer P, Bodmer T, Munzinger J, Perrin M, Vincent V, Drugeon H. Multicenter evaluation of the MB/BACT system for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 2004; 42: 1030-4.
6. Tortoli E, Piersimoni C. Molecular mechanism of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Alpe Adria Microbiol J 1998; 7: 275-83.
7. Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C. Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated nonradiometric systems. J Clin Microbiol 2006; 44: 20-8.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Susceptibility Testing of Mycobacteria, *Nocardia* and other aerobic Actinomycetes. Approved Standard, CLSI/NCCLS Document M24-A, 2003, Wayne, PA.
9. Rüsç-Gerdes S, Pfyffer GE, Casal M, Chadwick M, Siddiqi S. Multicenter laboratory validation of the BACTEC MGIT 960 technique for testing susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to classical second-line drugs and newer antimicrobials. J Clin Microbiol 2006; 44: 688-92.

10. Tortoli E, Cichero P, Chirillo MG, et al. Multicenter comparison of ESP culture system II with BACTEC 460 TB and with Lowenstein-Jensen medium for recovery of mycobacteria from different clinical specimens including blood. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1378-81.
11. Walters SB, Hanna BA. Testing of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampin by mycobacterium growth indicator tube method. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1565-7.
12. Rüşch-Gerdes S, Domehl C, Nardi G, Gismondo MR, Welscher HM, Pfyffer GE. Multicenter evaluation of the Mycobacterium Growth Indicator Tube for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line drugs. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 45-8.
13. Ardito F, Posteraro B, Sanguinetti M, Zanetti S, Fadda G. Evaluation of BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT 960) automated system for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4440-4.
14. Tortoli E, Benedetti M, Fontanelli A, Simonetti MT. Evaluation of automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to four major antituberculous drugs: comparison with the radiometric BACTEC 460 TB method and the agar plate method of proportion. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 607-10.
15. Krüüner A, Yates MD, Drobniewski FA. Evaluation of MGIT 960-based antimicrobial testing and determination of critical concentrations of first and second line antimicrobial drugs with drug-resistant clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 811-8.
16. Adjers-Koskela K, Katila ML. Susceptibility testing with the manual mycobacteria growth indicator tube (MGIT) and the MGIT 960 system provides rapid and reliable verification of multidrug-resistant tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1235-9.