

Mycobacterium tuberculosis İzolatlarında Rifampisin ve Rifabutin Arasındaki Çapraz Direncin İnsidansı

Güneş Şenol¹, Ahmet Erbaycı², Ayşe Özsöz²

Özet: Rifabutin (RBU), rifamisin-S'den türetilmiş bir spiro-piperidil-rifamisinidir. Çok ilaca dirençli (ÇİD) tüberküloz (TB)'daki yeri hâlâ kesin olmamakla birlikte duyarlı tüberküloz tedavisinde etkili bulunmaktadır. Bu çalışmada, RBU ve rifampisin (RMP)'in elimizdeki 112 *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleksi kökeni için minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerlerinin saptanması ve bu iki ilaç arasındaki çapraz direncin araştırılması planlanmıştır. RBU ve RMP'nin MTB kökenleri için MIC değerlerinin saptanmasında agar dilüsyon metodu kullanılmıştır. Çalıştığımız izolatların 52'si RMP'ye dirençli, 11'i RMP'ye duyarlı; fakat en az izoniazid, etambutol veya streptomisinden birine dirençli ve 49'u tüm majör -birinci sıra- antimikobakteriyel ilaçlara duyarlıdır. Elli iki RMP'ye dirençli izolatın 14'ü (%26.9) RBU'ya duyarlı bulunmuştur. Bütün RMP'ye duyarlı izolatlar (60/60) RBU'ya duyarlı saptanmıştır. MTB kökenlerinden 38'i RBU ve RMP için dirençli saptanmıştır. RBU ve RMP arasındaki çapraz direnç %73.1 olarak tespit edilmiştir. RMP'ye dirençli suşların RMP için MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri, RBU'ya duyarlı ve/veya dirençli izolatların MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerlerinden üç veya dört kat yüksek bulunmuştur. RBU MIC değerleri RMP'ye duyarlı izolatlar için, bir izolat dışında 0.06 g/ml altında bulunmuştur. 52 RMP'ye dirençli suşun ise MIC₉₀ değeri RBU için 8-16 g/ml aralığındadır. Yaklaşık %73 çapraz direnç saptanmakla beraber ÇİD-TB olgularında, duyarlılık testleri yapıldığı şartlarda RBU'nun kombinasyon tedavisi içinde düşünülebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz, ilaç direnci, rifampisin, rifabutin.

Summary: Incidence of cross-resistance between rifampin and rifabutin against *Mycobacterium tuberculosis* isolates. Rifabutin (RBU) is a spiro-piperidyl-rifamycin derived from rifamycin-S. It was found to be efficacious in treatment of drug-susceptible tuberculosis, although its place in multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) is less certain. In this study, it was planned to determine the MIC levels of rifabutin and rifampin against 112 *Mycobacterium tuberculosis* strains and to investigate cross resistance between two drugs. Agar dilution method was performed for detection of MICs of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) strains. Fifty two strains were resistant to RMP, 11 were susceptible to RMP but resistant against at least one of the isoniazid (I), ethambutol (E) and streptomycin (S) and 49 were susceptible to all major -first line- antimycobacterial drugs. Fourteen (26.9%) out of 52 RMP-resistant strains were susceptible to RBU. All (60/60) of RMP-susceptible strains were also susceptible to RBU. Thirty eight of MTB strains were resistant both RBU and RMP. Cross resistance between RMP and RBU was detected 73.1% rate. MIC₅₀ and MIC₉₀ values of RMP resistant strains were three to four folds higher than RBU-susceptible and/or resistant strains. MIC values of RBU for RMP-susceptible strains of MTB were determined 0.06 µg/ml or less except one strain. MIC₉₀ values for 52 RMP-resistant strains were at 8-16 µg/ml interval. Beside approximately 73% cross-resistance with RMP in MTB isolates, it was concluded that RBU might be considered for inclusion in combination therapy in cases with MDR-TB under conditions that susceptibility tests could be performed.

Key Words: Tuberculosis, drug resistance, rifampin, rifabutin.

Giriş

Tüberküloz (TB) tüm dünyada yaygın bir halk sağlığı problemidir (1). TB hem yaygınlaşmakta hem de TB ilaçlarına karşı direnç problemi önem kazanmaktadır (2). RBU, rifamisin-S'den türetilmiş spiro-piperidil-rifamisinidir (3-5). RMP gibi, DNA'ya bağımlı RNA polimerazı ve transkripsiyonun başlamasını inhibe ederek etki gösterir (5-7). RBU'nun asıl etkisi *Mycobacterium avium* kompleksi (MAC) izolatları üzerinde-

dir (8-10). MAC infeksiyonlarının profilaksi ve tedavisinde kullanılmakla beraber bazı laboratuvar ve klinik çalışmalar RBU'nun *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) üzerindeki etkisini işaret etmektedir (6,9). RBU, bir rifamisin olarak, TB infeksiyonları üzerinde etkili bulunmakla beraber çok ilaca dirençli (ÇİD; "multidrug resistant", MDR) TB tedavisindeki yeri daha az kesindir (11).

Türkiye'de TB kemoterapisindeki gelişmelere rağmen, TB prevalansı ve mortalitesi hâlâ yüksektir. 2000 yılında, 27/100 000 insidans oranı ile 18 038 yeni hasta tanımlanmıştır (12). ÇİD-TB oranı da yükselmektedir. Yeni TB olgularında % 3-4.9 olarak rapor edilmiştir (13).

RBU son yıllarda Türkiye'de piyasaya sunulmuş ve ulusal MTB izolatları üzerindeki etkileri açısından çok az çalışma ya-

(1) Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

(2) Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği, İzmir

Tablo 1. RMP'ye Duyarlı Diğer Antimikobakteriyel İlaçlara Direnç Gösteren Kökenlerin Dirençli Olduğu İlaçlar ve Kombinasyonları

Antimikobakteriyel İlaç(lar)	Dirençli Köken Sayısı
İzoniazid	2
Streptomisin	1
İzoniazid + Etambutol	3
İzoniazid + Streptomisin	2
Etambutol + Streptomisin	1
İzoniazid + Streptomisin + Etambutol	2
Toplam	11

pılmıştır (6,14,15). İlaç duyarlılığı ile hastanın klinik cevabının korelasyonunun değerlendirilebilmesi için yeterli bilgi olmadığı durumlarda, ilacın MIC değerlerinin belirlenmesi izolatların duyarlılıkların kantitatif olarak belirlenmesinde uygun bir yoldur. Bu nedenle, bu çalışma, Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde MTB klinik izolatlarının RBU duyarlılık düzeylerini ve RMP ile RBU arasındaki çapraz direncin düzeyini saptamak amacıyla planlanmıştır.

Yöntemler

Hem yeni, hem de kronik hastalardan izole edilmiş 112 stok MTB kompleksi kökeni (ilaçlara duyarlı veya dirençli) RBU ve RMP duyarlılıklarının belirlenmesi ve aralarındaki çapraz direncin ortaya konulması amacı ile çalışılmıştır. Stok kültürler, Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde canlandırılmış ve pasajları yapılmıştır. Bulanıklıkları McFarland standardı no.1'e ayarlanmıştır. Dilüsyonlar 10^{-2} ve 10^{-4} olarak iki konsantrasyonda hazırlanmıştır. Her inokulum konsantrasyonu için ilaçsız kontrol plağı kullanılmıştır.

Antimikrobiyal ilaçlar olarak izoniazid (I), RMP, etambutol (E) ve streptomisin (S) (Koçak İlaç); RBU (Pharmacia & Upjohn) antibiyotik tozları kullanılmıştır. RMP ve RBU metanolde çözülerek, distile suda sulandırılmıştır. I, E ve S ise distile suda çözülerek sulandırılmıştır. İleri sulandırmalar da distile suda hazırlanmıştır.

Kültür ortamı olarak Löwenstein-Jensen hazır tüp besiyeri (Diomed, İstanbul) kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi ve kültür için ise Middlebrook 7H10 besiyeri (Difco, USA) kullanıldı. *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294; tüm ilaçlara duyarlı) kontrol suşu olarak çalışılmıştır.

Elimizdeki kökenlerin antimikrobiyal ilaçlara (I, RMP, E, S) duyarlılıklarını doğrulamak için antibiyotik duyarlılık testi (ADT) yapılmıştır. ADT için konvansiyonel agar plak proporsiyon yöntemi kullanılmıştır. ADT'de eşik değer, test edilen TB basil popülasyonunun %1 altında üremesine izin veren ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır (16).

MIC, bakteri popülasyonunun %99'unun üremesini baskılayan en düşük ilaç konsantrasyonu olarak belirtilmektedir. MIC₅₀ değeri bakteri popülasyonunun %50'sinin; MIC₉₀ ise %90'ının üremesini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada, MIC düzeylerinin saptanması için agar dilüsyon metodu kullanılmıştır. Besiyerinin ilaç konsantrasyonları hem RMP hem de RBU için 0.03 µg/ml-256 µg/ml arasında seri dilüsyonlar şeklinde hazırlanmıştır. Her izolat için iki set besiyeri kullanılmıştır. Sınır konsantrasyon RBU ve RMP için 1 µg/ml kabul edilmiştir. Bu değerler üzerindeki MIC değerine sahip suşlar dirençli kabul edilmişlerdir (2,3,8,17). ADT ve MIC sonuçları 21. günde değerlendirilmiştir.

Sonuçlar

Elli iki RMP'ye dirençli, 11 RMP'ye duyarlı, fakat en az I, E ve S'ye dirençli (Tablo 1) ve 49 tüm ilaçlara duyarlı, toplam 112 köken çalışılmıştır. RMP'ye dirençli kökenlerin dördü RMP'ye monorezistan patern göstermiştir.

Elli iki RMP'ye dirençli kökenin 14'ü (%26.9) RBU'ya duyarlı bulundu. RMP'ye monorezistan olan iki köken (%50) RBU'ya duyarlı bulunmuştur. RMP'ye dirençli olan 52 kökenin 47'si (%90.3) ÇİD kökenlerdir. Kırk yedi ÇİD kökenin 11'i, RBU'ya duyarlı; 36'sı, RBU'ya dirençli bulunmuştur. ÇİD kökenlerde, RBU duyarlılığı %23.4 olarak hesaplanmıştır. RMP ve RBU arasındaki çapraz direnç %73.1 bulunmuştur. Tüm RMP'ye duyarlı kökenler RBU'ya da duyarlı olarak sap-

Tablo 2. Kökenlerin RMP'ye ve RBU'ya Duyarlılık Oranları

Kökenler	RMP Dirençli (n=52)	RMP Duyarlı ve I, E, S'den En Az Birine Dirençli (n= 11)	Bütün İlaçlara Duyarlı (n= 49)
RBU'ya dirençli	38 (%73.1)	0	0
RBU'ya duyarlı	14 (%26.9)	11 (%100)	49 (%100)

Tablo 3. MTB Kökenlerinin MIC₅₀ ve MIC₉₀ Değerleri

Kökenler	MIC ₅₀ (µg/ml)		MIC ₉₀ (µg/ml)	
	Rifampisin	Rifabutin	Rifampisin	Rifabutin
RMP'ye dirençli (n=52)	32-64	2-4	64-128	8-16
RMP'ye duyarlı (n=60)	0.06-0.12	< 0.03	0.25-0.5	< 0.03
RBU'ya dirençli (n=38)	64-128	4-8	128-256	8-16
RBU'ya duyarlı- RMP'ye dirençli (n=14)	16-32	0.25-0.5	64-128	0.5-1

Tablo 4. Değişik Çalışmalarda Bildirilen Çapraz Direnç Oranları

Araştırmacılar	RMP'ye Dirençli Köken Sayısı	Çapraz Direnç (%)
Erkan <i>et al.</i> (14)	22	(95.5)
Frieden <i>et al.</i> (21)	108	(65)
Dickinson ve Mitchison (22)	35	(69)
Chien <i>et al.</i> (24)	23	(87)
Uzun <i>et al.</i> (6)	25	(88)
Yuen <i>et al.</i> (1)	33	(81)
Ridzon <i>et al.</i> * (23)	77	(73)
Sarıbaş <i>et al.</i> (15)	97	(58)
Sintchenko <i>et al.</i> (18)	20	(82)
Bu çalışma	52	(73.1)

*Bu çalışmada kabul edilen eşik değeri: MIC < 2 µg/ml

tanmıştır. Duyarlılık sonuçları Tablo 2'de toplu olarak izlenmektedir.

Tablo 3'te çalışılan kökenlerin MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri birlikte görülmektedir. RMP'ye dirençli kökenlerin RMP'ye karşı MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri, RBU'ya karşı olan değerlerden 3-4 misli yüksek bulunmuştur. RMP'ye duyarlı kökenlerde de RMP ve RBU arasında en az iki veya daha fazla dilüsyon fark bulunmuştur. RMP'ye dirençli suşlar, RBU için geniş bir MIC aralığı göstermişlerdir. RMP'ye duyarlı suşların MIC'leri RMP için 0.06-0.12 µg/ml arasında (bir suş hariç), RMP'ye dirençli suşların MIC'leri RMP için > 16 µg/ml bulunmuştur.

Sonuçlar Mc Nemar test ile tutarlılık açısından değerlendirildiğinde, RBU ve RMP direnç/duyarlılığının istatistiksel olarak tutarlı olmadığı görülmüştür (p < 0.05).

İrdeleme

Tüberküloz kontrol programları, ÇİD-TB infeksiyonlarının yayılması ve bu infeksiyonların çok sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle tehdit altındadır (18). Mikobakteri türlerine karşı ilaç direncinin varlığı, tedaviye karşı klinik ve bakteriyolojik yanıtı kötüleştirir (19). İlaç direnci olan hastada temel prensip, in vitro duyarlı, daha önce hastanın kullanmadığı en az iki, tercihan üç yeni ilacın seçilmesidir. Bu da hastanede kalışı ve maliyeti artırır. Mikobakteriyel infeksiyonlarla mücadele için etkili yeni ilaç ve tedavi kombinasyonlarına gereksinim vardır (20). Yeni bir ilacın kullanıma girebilmesi için hem mikrobiyolojik olarak in vitro deneylerin, hem de klinik çalışmaların yapılması gereklidir. İn vitro ilaç duyarlılık testleri, her hastanın kişisel tedavisi için ve o hastalığın tedavi stratejilerinin belirlenmesi için önemli bilgi verirler (13).

RBU, RMP'ye dirençli MTB kökenlerine karşı aktivitesi olabileceği bildirilen rifamisin grubu bir antibiyotiktir. Dirençli TB vakalarında da zaman zaman kullanılmaktadır. RBU ve RMP, benzer direnç mekanizmalarına sahiptir. Bu da ortak bir direnç oranı oluşturmaktadır (1).

Literatürde bu konu ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışma sonuçlarımız, Tablo 4'te yer alan çalışmalarda rapor edilen RBU çapraz direnci oranları ile bazı çalışmalar dışında, oldukça uyumlu çıkmıştır. Birçok çalışmada benzer çap-

raz direnç oranları bildirmiştir (1,21-23). Bazı araştırmacılar daha yüksek direnç oranlarından bahsetmişlerdir (6,14,24). Farklı sonuçların, RBU'ya dirençli suşların coğrafi yayılım farklılıklarına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte tüm araştırmacılar RBU'nun RMP'ye benzer ve/veya daha iyi in vitro aktivitesi olduğunu kabul etmektedirler. Luna-Herrera ve arkadaşları (10), RBU'nun RMP'ye dirençli ÇİD-TB kökenlerinde etkili olduğunu işaret etmektedir. Pfyffer ve arkadaşları (2), çalışmalarında 242 MTB kökeninin %35'ini RBU'ya dirençli olarak bulmuşlardır. Yang ve arkadaşları (25), RMP'ye yüksek MIC düzeyleri ile dirençli olan bazı kökenlerin RBU'ya duyarlı bulduklarını bildirmiştir. Sarıbaş ve arkadaşları (15) ise sadece %52 çapraz direnç tespit etmişlerdir. Çalışmamızda RMP'ye dirençli kökenlerde RBU duyarlılığı %26.9 olarak bulunmuştur. Kendi çalışmamızda ve Tablo 4'te izlenen diğer tüm çalışmalarda RMP'ye duyarlı tüm kökenler RBU'ya duyarlı olarak saptanmışlardır.

Değişik klinik çalışmalar da kombine veya tek başına RBU'nun koruyucu veya tedavi edici olarak iyi bir aday olabileceğini işaret etmektedirler (26,27). Bergmann ve Woods (28), çalışmasında RBU içeren kombinasyonların sinerjistik etki gösterdiğini ancak, bunun pozitif prediktif değerinin henüz tam bilinmediğini ifade etmektedir. Grassi ve Peona (29), balgamda basil konversiyonunda RBU ve RMP arasında benzer etki saptamıştır. Dünyanın değişik bölgelerinde tüberküloz kombine tedavi rejimlerinde RBU'nun RMP kadar etkili olduğu gösterilmiştir. RBU, RMP ve/veya I içeren standard tedavilere dirençli hastaların %30'unda etkin bulunmuştur (30).

Ülkemizde, ÇİD-TB tedavisinde, hasta için ilaç kombinasyonu oluşturulurken kullanılan ilaçlar genellikle duyarlılık testleri yapılamadan, ampirik olarak seçilmektedir. Sonuçlarımız göz önüne alınırsa, RBU, ikinci sıra antitüberküloz ilaçlarla üçlü veya dördü yeni kombinasyonlarla tedavi edilmeye çalışılan, ÇİD-TB tedavisinde akıldaki tutulması gereken bir ilaç gibi durmaktadır. İleride yapılacak çalışmalar bulgularımızı destekleyecek olursa, ÇİD-TB olgularında kombinasyon tedavilerine RBU dahil edilmesi düşünülebilir. Elde ettiğimiz sonuçlar Batı Anadolu'daki dirençli suşların şu andaki RBU direnci üzerinde genel bir fikir verebilir. Ayrıca bu bilgi, ileride yapılacak ilaç rezistans çalışmaları için epidemiyolojik veri oluşturabilir.

Sonuç olarak, RBU'nun tedavi rejimlerine dahil edilme kararı verilmeden önce, bölgesel ve ulusal kökenlerle yapılan in vitro çalışmaların ve klinik deneylerin yapılması gerekmektedir. Ayrıca, kullanılması düşünülen durumlarda, uygun laboratuvar koşullarının olduğu birimlerde duyarlılık testleri yapılması yerinde olacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Yuen LK, Leslie D, Coloe PJ. Bacteriological and molecular analysis of rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains isolated in Australia. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3844-50
2. Pfyffer GE, Bonato D A, Ebrahimzadeh A, Gross W, Hotaling J, Kornblum J, *et al.* Multicenter laboratory validation of testing of Mycobacterium tuberculosis against classical second-line and newer antimicrobial drugs by using the radiometric BACTEC 460 technique and the proportion method with solid media. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3179-86

3. Heifets LB, Linholm-Levy PJ, Iseman MD. Rifabutin: minimal inhibitory and bactericidal concentrations for *Mycobacterium tuberculosis*. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:719-21
4. Della Bruna C, Olliaro P. Setting breakpoints for assessing the sensitivity of mycobacteria to rifabutin in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 184-6
5. Farr BM. Rifamycins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 318-25
6. Uzun M, Erturan Z, Ang Ö. Investigation of cross-resistance between rifampin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Int J Tuberc Lung Dis* 2002; 6(2): 164-5
7. Cunin CM. Antimicrobial activity of rifabutin. *Clin Infect Dis* 1996; 22(Suppl 1): 3-14
8. Heifets LB, Iseman MD. Determination of in vitro susceptibility of mycobacteria to ansamycin. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 710-1
9. Hershfield EB. Tuberculosis: treatment. *Can Med Assoc J* 1999; 161(4): 405-11
10. Luna-Herrera J, Reddy MV, Gandgadharam PR. In-vitro and intracellular activity of rifabutin on drug-susceptible and multiple drug-resistant (MDR) tubercle bacilli. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36(2): 355-63
11. Yew WW, Chau CH. New antimycobacterial agents. *Monaldi Arch Chest Dis* 1996; 51(5): 394-404
12. World Health Organization. *Global Tuberculosis Control*. WHO Report 2002. Geneva:WHO, 2001 [http://www/int/gtb/publications/globrep02](http://www.int/gtb/publications/globrep02)
13. Loddenkemper R, Sagebiel A, Brendel A. Strategies against multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J* 2002; 20(Suppl 36): 66-77
14. Erkan L, Sipit T, Akkalyoncu B, Gözü A, Ernam D. Cross resistance between rifampin and rifabutin. *Respir Dis* 2000; 11: 396-400
15. Sarbaş Z, Kocagöz T, Alp A, Günalp A. Rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates by heteroduplex analysis and determination of rifamycin cross resistance in rifampin-resistant isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41(2): 816-8
16. Kent PT, Kubica G. P. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control, 1985
17. Heifets LB. Qualitative and quantitative drug-susceptibility tests in mycobacteriology. *Am Rev Respir Dis* 1985; 137: 1217-28
18. Sintchenko V, Chew WK, Jelfs PJ, Gilbert GL. Mutations in *rpoB* gene and rifabutin susceptibility of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Australia. *Pathology* 1999; 31(3): 257-60
19. Pubhlik BM. Problem of drug-resistant tuberculosis and the way of its solution. *Probl Tuberk* 1999; 6: 17-20
20. De Cian W, Sassella D, Wynne BA. Clinical experience with rifabutin in the treatment of mycobacterial infections. *Scand J Infect Dis* 1995; 98: 22-6
21. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn JO, Couthen GM, Dooley SW. The emergence of drug-resistance tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1993; 328: 521-6
22. Dickinson JM, Mitchison DA. In vitro activity of new rifamycins against rifampicin-resistant *M. tuberculosis* and MAIS-complex mycobacteria. *Tubercle* 1987; 68(3): 177-82
23. Ridzon R, Whitney CG, Mckenna MT, et al. Risk factors for rifampin mono-resistant tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1998; 157: 1881-4
24. Chien HP, Yu MC, Ong TF, Lin TP, Luh KT. In vitro activity of rifabutin and rifadin against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2000; 99: 408-11
25. Yang B, Koga H, Ohna H, et al. Relationship between antimycobacterial activities of rifampicin, rifabutin and KRM-1648 and *rpoB* mutations of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 621-8
26. Jabes D. Effectiveness of rifabutin alone or in combination with isoniazid. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2346
27. Gonzalez-Montaner LJ, Natal S, Yongchaiyud P, Olliaro P. Rifabutin for the treatment of newly-diagnosed pulmonary tuberculosis: a multinational, randomized, comparative study versus rifampicin. Rifabutin Study Group. *Tuberc Lung Dis* 1994; 75: 341-7
28. Bergman JS, Woods GL. In vitro activity of antimicrobial combinations against clinical isolates of susceptible and resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 621-6
29. Grassi C, Peona V. Use of rifabutin the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1996; 22(Suppl 1):50-4
30. De Cian W, Sassella D, Wynne BA. Clinical experience with in the treatment of mycobacterial infections. *Scand J Infect Dis* 1995; 98: 22-6