

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**3-KLORO-6SÜBSTİTÜEPİRİDAZİN, 6-SÜBSTİTÜE-
3(2H)PİRİDAZİNON VE ETİL 6-SÜBSTİTÜE-3(2H)-PRİDAZİNON-
2-İL ASETAT TÜREVLERİNİN ANTI-TÜBERKÜLOZ
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emine YAŞA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gönül ARSLAN

MERSİN – 2016

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**3-KLORO-6SÜBSTİTÜEPİRİDAZİN, 6-SÜBSTİTÜE-
3(2H)PİRİDAZİNON VE ETİL 6-SÜBSTİTÜE-3(2H)-PRİDAZİNON-
2-İL ASETAT TÜREVLERİNİN ANTI-TÜBERKÜLOZ
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emine YAŞA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gönül ARSLAN

Tez No: 302.....

MERSİN – 2016

Kabul ve Onay

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan '3-kloro-6 sübstitüepiridazin , 6-Sübstitüe-3(2H) piridazinon ve Etil 6-Sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat türevlerinin anti tüberküloz aktivitelerinin araştırılması" başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

05.05/2016

Prof. Dr. Gönül ASLAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nuran DELIALIOĞLU

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi/Danışman

Yrd. Doç. Dr. Toğrul NAĞIYEV

Ç.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek
Okulu

Jüri Üyesi/Danışman

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ~~07.06.2016~~ tarih ve ~~216/131~~ sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Fehmi ATEŞ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve tez çalışmam süresince, her konuda yardım ve desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN'a, teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim süresinde destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ, Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK, Sayın Prof. Dr. Nuran DELİALİOĞLU, Sayın Prof. Dr. Feza OTAĞ ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN ÜLGER'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Semra UTKU'ya ve Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Mahmut ÜLGER'e teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu tez çalışmam sırasında da beni maddi ve manevi olarak destekleyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	2
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Epidemiyoloji.....	4
2.2.1. Dünyada TB.....	5
2.2.2. Türkiye’de TB.....	6
2.2.3 Tüberküloz Bakteriyolojisi.....	7
2.3. Tüberküloz Patogenezi ve Tanısı.....	13
2.4. Antitüberküloz İlaçlar Ve Etki Mekanizmaları.....	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler.....	27
3.2. In Vitro Aktivitesi Araştırılacak Maddelerin Sentezi.....	27
3.2.1. Yeni Sentezlenen Maddelerin Çalışma İçin Hazırlanması.....	29
3.3. Kullanılan Besiyerleri.....	29
3.3.1. LJ Besiyerinin Hazırlanması.....	29
3.3.2. Middlebrook 7H9 Agar Besiyerinin Hazırlanması.....	41
4.Yöntemler.....	31
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	58
7. KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Yüksek tüberküloz olgu yükü bulunan 22 ülke, DSÖ 2015 raporu.....	7
Şekil 2.2. Dünya’da tüberküloz vakalarının genel dağılımı, DSÖ 2015 raporu.....	8
Şekil 3.1. <i>M. tuberculosis</i> suşunun 3-kloro-6-sübstitüepiridazin, 10^{-2} dilüsyonunun sağdan sırasıyla 10, 20, 40 konstrasyonunda Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü.....	39
Şekil 3.2. <i>M. tuberculosis</i> suşunun 10^{-4} dilüsyonda 10 konstrasyonunda Etil 6-sübstitüe- 3(2H)-pidazinon-2-il asetat III bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü.....	42
Şekil 3.3. <i>M. tuberculosis</i> suşunun 10^{-2} dilüsyonda 2,5 µg/ml konstrasyonunda sağdan sırasıyla 3-kloro-6-sübstitüepiridazin I, 6-Sübstitüe-3(2H)pidazinon II, Etil 6 sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III ve 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon- 2-il asetohidrazit IV bileşikleri bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların BACTEC MGIT 960 sistemi ile birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı sensitiflik paterni.....	37
Çizelge 3.2: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 3-kloro-6-sübstitüepiridazin I'e karşı sensitiflik paternleri	38
Çizelge 3.3: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 6-Sübstitüe-3(2H)piridazinon II'ye karşı sensitiflik paternleri	40
Çizelge 3.4: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'e karşı sensitiflik paternleri.....	41
Çizelge 3.5: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı sensitiflik paternleri.....	43
Çizelge 3.6: Yeni sentezlenen hidrazit türevlerinin 40 µg/ml konsantrasyonunda direnç ve sensitiflikleri.....	45
Çizelge 3.7: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 3-kloro-6-sübstitüepiridazin I'e karşı sensitiflik paternleri	47
Çizelge 3.8: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 6-Sübstitüe-3(2H)piridazinon II'ye karşı sensitiflik paternleri	48
Çizelge 3.9: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'e karşı sensitiflik paternleri.....	49
Çizelge 3.10: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'nin 10 ⁻² dilüsyonuna karşı sensitiflik paternleri.....	50
Çizelge 3.11: Alamar mavisi yöntemiyle 10 ⁻² dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonunda yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı seçilen suşların direnç ve sensitiflik paternleri.....	51
Çizelge 3.12: Alamar mavisi yöntemi(10 ⁻² dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonu) ile agar proporsiyon yönteminin(10 ⁻² dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonu) karşılaştırılması.....	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- ARB:** Aside Rezistan Bakteri
- AMK:** Amikasin
- ATS:** Amerikan Toraks Derneği
- BCG:** Bacille Calmette-Guerin
- BTS:** İngiliz Toraks Derneği
- CDC:** Hastalıkları Kontrol ve Önleme Komitesi
- CLF:** Klofazimin
- CYC:** Sikloserin
- ÇİD TB:** Çok İlaç Rezistan Tüberküloz
- DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü
- DGT:** Doğrudan Gözetimli Tedavi
- EMB/E:** Etambutol
- ETH:** Etionamid
- EZN:** Ehrlich- Ziehl-Neelsen
- HIV:** Human İmmunodeficiency Virus
- INH/H:** İsoniazid
- KAP:** Kapreomisin
- KAN:** Kanamisin
- LJ Besiyeri:** Löwenstein –Jensen besi yeri
- MİK:** Minimal İnhibitör Konsantrasyon
- MGİT:** Mycobacterium Growth İndicator Tube
- MTBC:** *M. Tuberculosis* complex
- MOTT:** Mycobacterium Other Than *M. tuberculosis* complex
- NCCLS:** National Committee for Clinical Laboratory Standards
- NAP:** p-nitro-asetilamino-hidroksi propiyofenon
- OFL:** Ofloksasin
- PZA/Z:** Pirazinamid
- PAS:** Para-amino salisilik asit
- RIF/R:** Rifampisin
- RBt:** Rifabutin
- SM/S:** Streptomisin
- TB:** Tüberküloz
- THI/T:** Thioasetazone
- VSD:** Verem Savaş Dispanseri

ÖZET

Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTC) tüm dünyadaki enfeksiyon kaynaklı ölümlerin en sık nedenlerinden biridir. Tedavide kullanılan antitüberküloz ilaçlar; Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar başlıca iki grupta incelenebilir. Primer ilaçlar; izoniazid (İNH), rifampisin (RİF), pirazinamid (PZA), etambutol (ETM), streptomisin (SM) ve tiasetazon (T)'dur. Rifabutin, rifapentin, sikloserin, etiyonamid, amikasin, kanamisin, kapreomisin, paraaminosalisilik asit, levofloksasin ve moksifloksasin gibi daha toksik ve zor tolere edilebilen ilaçlar ise sekonder ilaçlar grubunda yer alır. Hidrazit türevleri de yeni seçenek ilaçlar olarak araştırılmaktadır.

3-kloro-6süstitüepiridazin, 6-süstitüe-3(2h)piridazinon ve etil 6-süstitüe-3(2h)-pidazinon-2-il asetat türevleri çalışma için hazırlandılar. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı stoklarında bulunan birinci seçenek antitüberküloz ilaçların en az ikisine rezistanolduğu tespit edilen 5 suş ile birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara sensitif olduğu bilinen 5 suş ve bir standart *M. tuberculosis* suşu (H37Rv) olmak üzere toplam 11 *M. tuberculosis* suşu bu çalışmaya dahil edilmiştir.

Klinik örneklerden izole edilen suşların en az iki en çok üç antitüberküloza rezistanolduğu, suşların yarısının izoniazid'e rezistanolduğu ve tüm suşların da etambutole sensitif olduğu gözlemlendi. BACTEC MGIT 960 sistemi ile elde edilen antitüberküloz ilaçlara karşı sensitiflik için kullanıldı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların BACTEC MGIT 960 sistemi ile birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara karşı sensitiflik paterni incelendi.

H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ve alamar mavisi yöntemi ile 3-kloro-6süstitüepiridazin, 6-süstitüe-3(2h)piridazinon ve etil 6 süstitüe-3(2h)-pidazinon-2-il asetat türevlerine karşı sensitiflik paternleri değerlendirilmiştir. Agar proporsiyon yöntemi ile 3-kloro-6-süstitüepiridazin I'e karşı 10^{-4} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonunda sensitiflik göstermiştir. Çalışmaya alınan suşlardan yeni sentezlenen 6-Süstitüe-3(2H)piridazinon II'ne karşı 10^{-4} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonunda sadece bir hastanın sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşıda

sensitif olan iki hasta suşunun, agar proporsiyon yöntemi ile yeni sentezlenen Etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'ne karşı 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarının 40 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmada elde edilen olgulara göre; Agar proporsiyon yöntemi ile birincil seçenek ilaçlara karşı da sensitif olan üç hasta suşunun, yeni sentezlenen 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarının 40 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte çalışma sonuçları incelenmeye devam edildiğinde 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı 10^{-4} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonunda üç hasta suşunun daha yeni sentezlenen ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Yeni sentezlenen 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı sensitiflik gösteren hastaların birinci seçenek ilaçlardan RİF ve EMB' e karşı da sensitiflik gösterdiği bilinmektedir.

Alamar mavisi yöntemiyle 10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonunda yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı seçilen suşların direnç ve sensitiflik patentleri incelenmiştir. Alamar mavisi yöntemiyle yaptığımız çalışma sonucunda 3-kloro-6-sübstitüepiridazin I'e ve 6-Sübstitüe-3(2H)pidazinon II'e karşı 10^{-2} dilüsyonunda çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşu da direnç göstermiştir.

Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşıda sensitif olan iki hasta suşunun, yeni sentezlenen Etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'e karşı 10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Alamar mavisi yöntemi(10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonu) ile agar proporsiyon yönteminin(10^{-2} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonu) karşılaştırılması yapılmıştır.

Agar proporsiyon yöntemini ve alamar mavisi yöntemi arasında suşlar üzerinde ilaç sensitiflik MİK hesaplanırken uyumlu bir sonuç elde edilebileceği sonucuna varılabilir. Buradan da her iki yöntem arasında MİK belirlemede uyum olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *M. tuberculosis*, piridazin türevleri, antitüberküloz

ABSTRACT

Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTC) is one of the most mortality reason that arise from infectious diseases and drugs used for treatment of tuberculosis can be determined in two groups. Drugs used for the treatment of tuberculosis can be determined in two groups. Primary drugs are; isoniazid (INH), rifampicin (RMP), pyrazinamide (PZA), ethambutol (ETM), streptomycin (SM) ve thiacetazone, (T)'dur. Rifabutin, rifapentine, cycloserine, ethiyonamide, amikacin, kanamycin, capreomycin, paraaminosalicylic acid, levofloxacin ve moxifloxacin which are more toxic and hardly tolerable are placed in the secondary drugs group. Hydrazide derivates are being investigated as new choice drugs.

3-chloro-6substitue-pyridazine, 6-substitue-3(2h)pyridazinone ve etil 6-substitue-3(2h)-pyridazinone-2-yl acetate derivates are prepared for our study. 5 strains that have been determined to be resistant at least two of first choice antituberculosis drugs present at the Laborautary of Mycobacteriology Of Department Of Medical Microbiology Of Medical Faculty, Mersin University reserves and 5 strains which are known to be sensitive for antituberculosis drugs and one standard *M.tuberculosis* strain *M.tuberculosis* (H37Rv), in total 11 *M.tuberculosis* strains are included in the study.

The strains which have been obtained from clinical samples are resistant at least two maximum 3 antituberculosis drugs and half of the strains were resistant to Isoniazide, all were sensitive to ethambutol. BACTEC has been used as a sensitivity index against antituberculosis drugs that had been obtained through MGIT 960 System.

The patients included in the study were examined against the first choice antituberculosis drug susceptibility patterns with MGIT 960 system.

The sensitivity patterns of *M. tuberculosis* H37Rv and the patients included in the study against 3-chloro-6substitue-pyridazine, 6-substitue-3(2h)pyridazinone ve etil 6-substitue-3(2h)-pyridazinone-2-yl acetate derivates has been evaluated via Agar Proportion method and the Alamar Blue method.

Sensitivity is observed against 3-chloro-6substitue-pyridazine at 40 µg/ml concentration with 10^{-4} dilution. The strains obtained from the study; only one of the patient had sensitivity against 6-substitue-3(2h)pyridazinone at 40 µg/ml with 10^{-4} dilution.

According to the obtained cases from the study strains of two patient is sensitive to first choice of drugs, at 10^{-2} and 10^{-4} dilution level, 40 $\mu\text{g/ml}$ concentration sample which is newly synthesized against etil 6-substitue-3(2h)-pyridazinone-2-yl acetate III via agar proportion method have been seen to be sensitive to the drugs.

According to obtained cases from the study; 3 patients strains which are sensitive to first choice drugs via agar proportion method have been observed to be sensitive to newly synthesized etil 6-substitue-3(2h)-pyridazinone-2-yl acetohidrazid IV at 40 $\mu\text{g/ml}$ with 10^{-2} and 10^{-4} concentration. However, when results of the study continued to be examine 3 patients strains are sensitive to the newly synthesized 6-substituted-3 (2H) -pyridazinone-2-yl asetohidrazid IV at 40 $\mu\text{g/ml}$ with 10^{-4} dilution. It's known that the patients who have sensitivity against newly synthesized 6-substitue-3 (2H) -pyridazinone-2-yl asetohidrazid IV are also sensitive to RIF and EMB.

Resistance and sensitivity patterns of the strains selected against hyrazide derivates that have been newly synthesized at 50 $\mu\text{g/ml}$ concentration with 10^{-2} dilution via Alamar Blue method were examined. After the study via Alamar Blue method against 3-chloro-6substitue-pyridazine, 6-substitue-3(2h)pyridazinone II, all the 11 M. tuberculosis strains included in the study also showed resistance. According to the cases obtained from the study; two patient's strains which are sensitive to first choice drugs are also sensitive to newly synthesized etil 6-substitue-3(2h)-pyridazinone-2-yl acetate at 50 $\mu\text{g/ml}$ concentration with 10^{-2} dilution.

Comparision of Alamar Blue method (at 50 $\mu\text{g/ml}$ concentration with 10^{-2} dilution) and agar proportion methods (at 40 $\mu\text{g/ml}$ concentration with 10^{-2} dilution) have been performed.

A compliance outcome can be obtained while drug MIC sensitivity being calculated among the strains through agar proportionmethod and Alamar Blue method . In conclusion MIC determination seems to be compliant among two methods.

Here it is seen that there isan accordance between the two methods for determining MIC.

Keywords: *M. tuberculosis*, pyridazine derivatives, antituberculosis

1. GİRİŞ

Tüberküloz (TB), farklı klinik görünümlere sahip kronik, nekrozitan bir enfeksiyon hastalığıdır. Bu hastalığın meydana gelmesinden % 97-99 oranında *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) sorumludur. Zayıflatıcı, sakat bırakan, potansiyel olarak öldürücü, yaş, cinsiyet, ırk, sosyal statü ayrımı yapmayan, insanlık tarihi kadar eski olan ama içinde yaşadığımız modern toplumu halen varlığıyla tehdit edebilen, 120 yıldan beri etkeni bilinmesine, uzun yıllardır tedavi edilebilmesine ve korunulabilir bir hastalık olmasına rağmen hem gelişmiş hem gelişmekte olan ülkelerde yüksek morbidite ve mortalite bakımından önemini sürdüren, diğer epidemik hastalıklardan farklı olarak epidemiyolojik olarak etkili yani enfeksiyonun bulaşma döngüsünü durduran bir aşı geliştirme çabalarına meydan okuyan bir hastalıktır (1,2).

TB, dünyada bilinen en eski hastalıklardan birisidir. Enfeksiyöz etkenlere bağlı ölümlerin en başta gelen sebebidir. Hastalığın kontrolüne ve önlenmesine yönelik tüm çabalara rağmen, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. TB tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunları içindedir. Dünya nüfusunun üçte biri *M. tuberculosis* ile enfektedir (3,4,5,6,7).

Antitüberküloz ilaçların 1940'lı yıllarda klinik kullanıma girmesiyle hastaların tedavilerinde alınan yüz güldürücü sonuçlar, çiçek hastalığında olduğu gibi tüberkülozun da dünyadan tamamen eradike edilebileceği fikrini doğurmuştur (4,5,8,9). Antibiyotiklerden alınan bu başarılı sonuçlar üzerine, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Sağlık Daire Başkanı W. H. Stewart, "artık enfeksiyon hastalıkları kitabını kapatmanın ve zafer ilan etmenin zamanı geldi"(8) şeklinde bir ifade kullanmıştır; ancak daha sonra diğer mikroorganizmaların olduğu kadar *M. tuberculosis*'in de anti-TB ilaçlara karşı direnç geliştirdiği anlaşılmıştır (9).

Tüberküloz kontrolünde *M. tuberculosis*'in rezistan formları ile savaşmaya yardım etmek için yeni ilaçlar gerekmektedir ve TB kontrolü tedavi süresini kısaltır. Bu amaçla da, hidrazon türevleri sentezlenmiştir.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Tarihçe

Üç yüz milyon yıldan beri canlılığını sürdüren verem basili, doğanın her yerinde, örneğin sularda, otlaklarda, toprakta, çamurda havada bulunmaktadır. Arkeolojik çalışmalar Avrupa’da sığırların ehlileştirilmesinin 9000 yıl önce başladığını göstermiştir. İnsanlar soğuk iklim şartları sebebiyle ısınabilme ve korunma amacıyla ehlileştirdikleri hayvanları ev ve ahırlarda barındırdıkları bilinmektedir. Aynı ortamı paylaşan insan ve hayvanlar yüzünden aslında sığırların basili insanlarda patojenite yapabilmek için mutasyon geçirerek *M. humanus*’a dönüşmüş olduğu hipotezi ortaya atılmıştır(10). TB basilinin genomu açığa çıktıktan sonra, *M. tuberculosis*, *M. bovis*’ten mutasyon sonucu gelişen bir bakteri değil, fakat, her iki bakteri de ortak bir atadan mutasyonlarla farklılaşmış iki tür olduğu anlaşılmıştır. Sığır tipi mikobakteri önceleri insanlarda lenf bezi ve kemik veremine yol açarken sonradan akciğere zarar veren ve öksürükle bulaşan bir hastalık yapar hale gelmiştir (11).

Daniel kitabında verem üzerinde ilk klinik bilgilerin Nil nehri kenarındaki Dra Abu-el-Naga kasabasında yaşamış olan hemoptizili bir çocuktan öğrenildiğini bildirmektedir(12). Arkeolojik araştırmalarda insan iskeletlerindeki, veremin izleri gösterilmiştir. Milattan bin yıl önce yaşamış olan rahip Nesperehân’ın mumyasında Pott hastalığına bağlı vertebral değişiklikler olduğu ortaya konmuştur. Kutsal kitap olarak bilinen Kitab-ı Mukaddes’te Yehova, Musevileri “Sizin üzerinize terör salacağım. Yakıcı sıtma ve verem ile sizleri vuracağım. Gözleriniz çürüyecek. Kalbiniz yorulup hastalanacak” diye uyarılmaktadır. Aynı kitabın başka bir bölümünde “Tanrı sizleri verem ile, ateşle ve irinleşme ile şiddetli bir şekilde cezalandıracaktır” ibaresi yer alır (13). Daha sonraki yüzyıllarda verem ile ilgili bilgileri Eski Roma ve Yunan hekimlerinden öğreniyoruz. İstanköy (Kos) adasında yaşamış olan Hipokrat (M.Ö. 460-350) kitabında “Hekimlerin baktıkları hastalıkların çoğu tanrıların yardımıyla kendiliğinden iyileşir. Hastalıklara çare doğadadır, esas hekim doğadadır ve hekimin görevi tedavi hususunda hastasına yardımcı olmaktır” yazmıştır. Hipokrat, hastaların

göğsüne kulağını yaslayarak dinleyip akciğer seslerini ayırt edenilmekteydi. Rallerin “sirke kabarcığı” gibi olduğunu, plörezi de ise “sürtünme sesi” duyulacağını kaydetmiştir. Bir hastasında Cheyne Stokes solunumu; ampiyem de ise çomaklaşma (clubbing) olduğunu belirtmiştir. İki hafta içinde boşaltılamayan plörezilerde sonradan boşaltılmazsa ampiyem olacağını vurgulamıştır (12,14). Hipokrat TB'nin daha çok 18-35 yaşları arasındaki insanlarda orataya çıktığını yazmıştır (12). M.S. II. yüzyılda yaşamış olan Eski Roma'nın ünlü hekimi Kapadokyalı Areteus, “Veremin en önemli belirtileri kanlı balgam ve kronik öksürüktür, sesleri kısık, boyunları hafif derecede bükük ve sert; parmakları silindirik fakat eklemleri şiş, vücutları zayıfladığı için kemikleri belirginleşmiştir. Tırnakları ise eğri, yassılaştı ve kırılığandır. Burun keskin ve silindiriktir. Yanakları belirgin bir şekilde pembeleşmiş, gözler iyice çukura çekilmiş olmasına rağmen parlaklığını kaybetmemiştir. Yüzleri kadavra gülüşü halini almıştır. Kol ve bacak kasları erimiştir. Kadınların sadece meme başları kalmış. Kaburgaların başladığı ve sonlandığı yerler ve eklemler açık bir şekilde seçilmektedir. Skapulalar kuş kanadı halini almıştır” (12,15). Roma'da da çalışmış olan Bergama'lı Galen, her fonksiyonel bozukluğun organik bir nedeni vardır diye belirtmiştir. Ona göre veremin bulaşıcılığı azdır ve ateş, hemoptizi ve terleme ile kendisini belli eder. Tedavi için perhiz, seyahat etmek ve egzersiz önermiştir (14).

Verem tarihi hakkında araştırma yapanlar, M.Ö. ve M.S.'ki asırlarda hastalığın Nil vadisinde, Yunanistan'da, Amerika'da, Kuzey Amerika'nın Yeni İngiltere yöresinde ve Avrupa'da beş epidemik artış ve azalma şeklinde dalgalanmalar yaptığını ortaya çıkarmışlardır. Bu epidemilerde ilk birkaç on yıl hastalık en yüksek düzeye ulaşmış ve sonradan ani olarak düşmüştür. Bu tür dalgalanmaların oluşmasında, bağışıklık sisteminin, sosyo-ekonomik durumların ve hastalığın doğal seyrinin etkisi olmuştur (12). Nüfus artışı, yoksulluk, göçler ve sanayi devriminin veremin artışında etkisi bilinmekteydi. TB'nin sosyal yönünü ve sanayi ekolojisinin önemini ilk kez ortaya çıkaran René Dubos isimli bilim adamı bir çevre bilimcisidir (15).

“A history of Tuberculosis. The White Death” isimli kitabın yazarı Dubos, TB'nin ortaya çıkmasında sadece basilin sorumlu olmadığını; kötü barınma koşulları, yetersiz beslenme, aşırı nüfus artışı, göç ve hava kirliliğinin de katkısı olduğunu belirtmektedir (16).

Tıp alanında reformist ve pozitif bilime ilk adımı atan kişi olarak bilinen Paracelsus maden işçilerinde veremin daha yaygın olduğunu ortaya atan ilk bilim adamıdır (12, 15, 17). Verem hastalığına halk dilinde çok sayıda ad verilmiştir. İnsanları eriterek öldürdüğü için “Tüketim hastalığı” anlamındaki “Consumption”, ölenlerin çoğu soluk tenli olduğu için “Beyaz Ölüm” ya da “Beyaz Veba” (White Death; White Plaque) ve en önemli ölüm sebebi olduğu için de “Ölümün Kaptanı” (Captain of the death) bunlardan yalnızca bir kaçıdır (12, 15, 16). Romalılar, “phthisis sözcüğü” Yunanca’da “eriyip tükenmek” anlamında kullanılmıştır. Eskiden verem hastalığının tedavisini üstlenen hekimlerin fitizyolog (phthisiolog) olarak anılması bu nedendir (12, 15).

TB’nin tanınması ve patogenezinde önemli gelişmeler Paris’te bulunan Necker hastanesinde çalışan Rene Laennec’in çalışmaları ile ortaya çıkmıştır(15).

TB’nin tarihsel seyri, hastalığın ortaya çıkışı, tanısı, tedavi uygulamaları açısından özetlenecek olursa üç ayrı dönem olarak incelenebilir (2).

Birinci dönem:

XVIII. yüzyılın sonlarına kadarki gelişmeleri kapsar. Üç bin yıl önceki Mısır mumyalarında kemik TB’sine rastlanmıştır. TB’nin geçtiği ilk yazılı kaynaklar M.Ö. 1500 yılındaki Hint din kitaplarıdır. Hastalığın belirtileri ilk defa M.Ö. 460 yılında Hipokrat tarafından tanımlanmıştır. Binsekizyüzlü yıllara değin TB hakkında çok önemli ve farklı gelişmeler kaydedilmemiştir (2).

İkinci dönem:

Bu dönemin ilk önemli gelişmesi Laennec tarafından TB’nin oskültasyon ve otopsi bulgularının meydana çıkarılmasıdır. Villemin 1865’de TB’nin bulaşıcı bir hastalık olduğunu öne sürmüştür. Robert Koch’un 1882’de TB basilini izole etmesi ile Villemin’in bu iddiası doğrulanmıştır. Koch ayrıca tüberkülini de bulan bilim insanı olmuştur (2).

Üçüncü dönem:

Bu dönemdeki en önemli gelişmeler, 1885’den itibaren yapay pnömötöraksın bir tedavi yöntemi olarak uygulamaya konulması, 1887’de Edinburg’da ilk verem

dispanserinin Robert Philips tarafından kurulması, 1895’de Röntgen tarafından X ışınlarının bulunması ve tıbbı uygulanarak ilk akciğer filmi çekilebilmesi olmuştur. 1921’de Calmette ve Guerin tarafından Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısının bulunması, Saurbruk tarafından akciğer rezeksiyonu ve torakoplasti ameliyatlarının akciğer TB’si tedavisine dahil edilmiştir. 1944’de streptomisin, 1952’de isoniazid, 1961’de ethambutol ve 1966’da rifampisin keşfedilmiş, 1977’de Radyometrik Yöntem (BACTEC), son on yıl içinde de Polymerase Chain Reaction (PCR), Radio Immuno Assay (RIA), Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) ve Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) gibi gelişmiş tanı yöntemleri bulunmuştur(2).

2.2. Tüberküloz Epidemiyolojisi

TB epidemiyolojisi, TB enfeksiyon ve hastalığının zaman içindeki gelişimini incelemektedir ve hastalığın kontrol altına alınabilmesi için temel bilgiyi sağlamaktadır. TB patogenezinde başlıca iki ana evre vurgulanmaktadır. Bunlardan birincisi bulaşma ve enfeksiyon evresidir. Diğer ise enfeksiyondan hastalığa geçiştir.

TB epidemiyolojisinde kullanılmakta olan başlıca endeksler şunlardır (2, 18);

- a. İnsidans oranı
- b. Hastalık prevalansı
- c. TB mortalitesi
- d. Yıllık enfeksiyon riski

TB için en iyi epidemiyolojik ölçüt enfeksiyon riskinin yıllık değişimidir (18).

- İnsidans oranı: 100.000 kişilik bir toplumda, bir yıl içerisinde saptanan yeni TB olgularıdır.
- Hastalık prevalansı: 100.000 kişilik bir toplumda bir yıl içerisinde belirlenen eski ve yeni tüm olgulardır.
- Mortalite: 100.000 kişilik bir toplumda bir yılda TB’den ölenlerin toplam sayısıdır.

Yıllık enfeksiyon riski (YER): Toplumda TB basili ile enfekte olmamış kişilerin bir yıl içinde enfekte olma olasılığı olarak tanımlanır. Belirli bir toplumda TB’ye karşı

mücadele başarı ile yapılıyorsa, YER her yıl %10'dan fazla azalacaktır. Mücadele başarısız ise bu azalma %5'den az olacaktır (18).

TB için sadece basille karşılaşmış, ancak hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen kişilere enfekte, aktif hastalık belirtisi gösteren lezyonu olan kişilere ise hasta denir (16, 18).

Türkiye'de yıllara göre TB insidansı son verilere göre ülkemizde TB yıllık insidansı 29/100.000 olarak kabul edilmektedir. Ancak çok sayıda çalışmada bu rakamın gerçekçi olmadığı ve insidansın 50/100.000 düzeyinde olduğu üzerinde durulmaktadır (19). TB yıllık insidansı, gelişmiş ülkelerde 10/100.000, gelişmekte olan ülkelerde 30/100.000, sıcak nokta olarak kabul edilen 22 ülkede ise 100/100.000 değerinin üzerindedir. Dünyada küresel TB insidansı her yıl yaklaşık %1.1, toplam olgu sayısı ise %2.4 artmaktadır (19).

2.3. Dünyada TB

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) her yıl yayımladığı Küresel TB Raporları ile hastalığa ait olan verileri dünya, bölgeler ve ülkeler bazında ortaya koymaktadır. TB'ye ait veriler birçok ülkede düzenli olarak kayıt altına alınmaya çalışılsa da bu veriler çeşitli nedenlerle ülkeden ülkeye farklı oranlarda eksik bilgiler içermektedir. DSÖ'nün yayımladığı veriler bilimsel bulguları temel alan tahmini rakamlardır. DSÖ hesaplamalarına göre 2007 yılında dünyada 13,7 milyon TB hastası olduğu ve TB prevalansının 206/100.000 olduğu tahmin edilmektedir. 2007 yılındaki TB insidansı ise 139/100.000 olarak hesaplanmıştır (20).

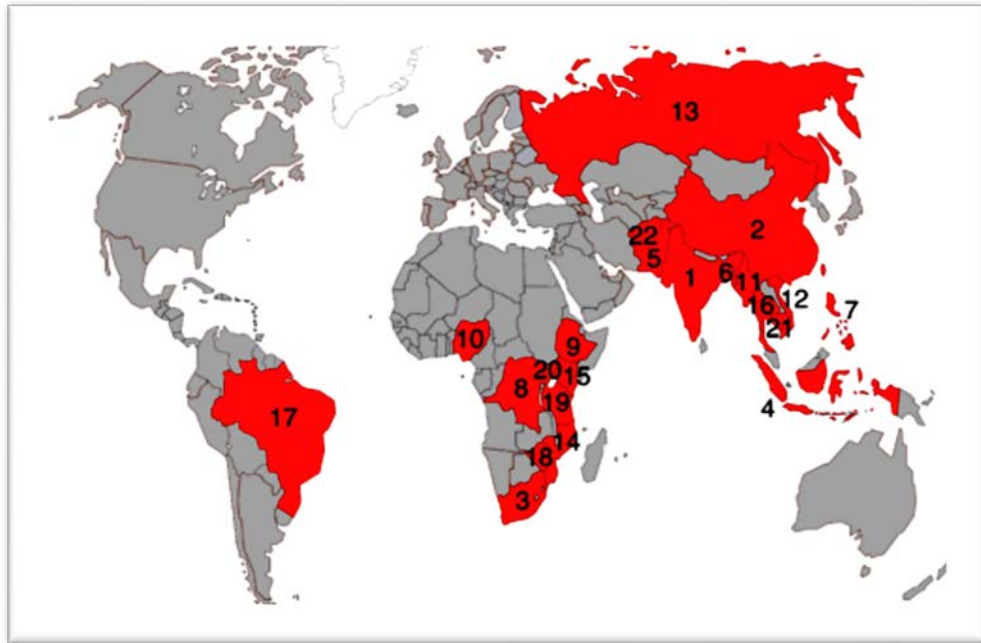
2007 yılı içinde tahmin edilen 9,27 milyon olgudan 4,1 milyonunun yayma pozitif olgu olduğu beklenildiği için dünyada yayma pozitif TB insidansının da 61/100.000 olduğu hesap edilmiştir. Afrika yüz binde 363 ile en yüksek TB insidansına sahipken, Amerika bölgesi yüz binde 36 ile en düşük insidansa sahip durumdadır (20).

2007 senesinde ortaya çıktığı tahmin edilen 9,27 milyon olgunun 1,37 milyonunun Human Immunodeficiency Virus (HIV) ile enfekte olduğu

hesaplanmaktadır. HIV(+) TB insidansı dünya ortalaması yüz binde 14,8 iken bu rakam Afrika kıtasında yüz binde 38 ile en yüksek değerdedir. Tüm Afrika kıtasındaki HIV(+) TB hastalarının %31'i ise Güney Afrika'da bulunmaktadır. Çok İlaç Rezistan TB (ÇİD-TB) hem TB kontrolü kalitesinin bir göstergesi hem de TB kontrolündeki en önemli sorunlardan biridir. 2007 tahmini rakamlarına göre tüm dünyada tanı konulan toplam 10,4 milyon olgunun %4,9'u (511.000) ÇİD-TB'dir. Yeni olgular arasında ortalama olarak ÇİD-TB oranı %3,1 (289.000), daha önceden tedavi görmüş olgular arasında ise %19'dur (221.000). Dünyadaki tüm TB hastalarının yaklaşık %82'si 22 ülkede bulunmakta olup, bu 22 ülkenin 13'ü ise Afrika kıtasındadır. Yüksek TB olgu yükü bulunan 22 ülke şunlardır

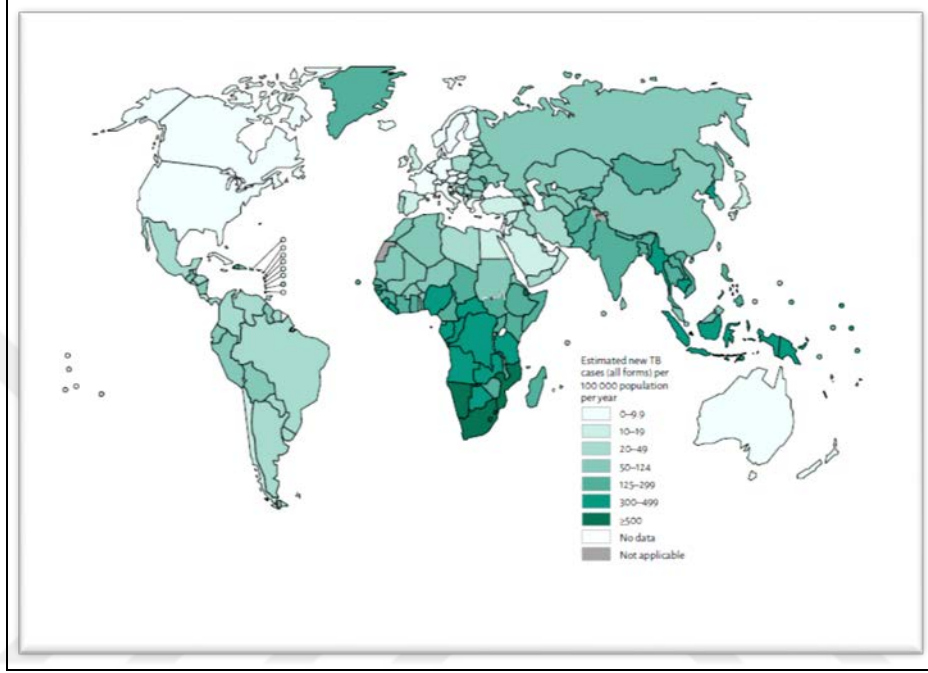
: Hindistan, Çin, Endonezya, Nijerya, Bangladeş, Pakistan, Etyopya, Güney Afrika, Filipinler, Kenya, Kongo Demokratik Cumhuriyeti, Rusya Federasyonu, Vietnam, Tanzanya, Brezilya, Uganda, Tayland, Mozambik, Zimbabve, Myanmar, Afganistan ve Kamboçya (Şekil 2.1) (20).

Şekil 2.1: DSÖ 2015 Raporu



Dünya'da TB vakalarının en sık olarak görüldüğü 22 ülke ise Şekil 2.2'de verilmiştir ,DSÖ 2015 raporu

Şekil 2.2: Dünya’da TB vakalarının genel dağılımı DSÖ 2015 raporu



2.4. Türkiye’de TB

Osmanlı döneminde padişah II. Mahmut ve I. Abdülmecit’in verem sebebiyle öldükleri bilinmektedir (21). 1890’da Koch’un tüberkülünü, tedavi amacıyla kullandığını açıklamasından sonra gelişmelerin yerinde incelenmesini isteyen II. Abdülhamit bir sağlık komisyonunu Berlin’e göndermiştir. İnceleme yapan komisyon tüberkülünün yararları yanında zararlı da olabileceğini bildirmişlerdir. Padişahın emri ile veremin yayılmasını önleyici önlemler alınmış, özel bir verem hastanesinin kurulması fikri doğmuştur. Osmanlı’da tüberkülün üretimi ve uygulaması 1910-1913 yılları arasında Bakteriyolojihane-i Şahane’de Dr.Osman Nuri Bey tarafından gerçekleştirilmiştir. II. Abdülhamit’in emriyle görevlendirilen Dr.İbrahim Bey’in başhekimliğinde Etfal Hastane-i Âlisi (1899) kurulmuştur. İlk çocuk senatoryumu 24 yataklı olarak 1905’de bu hastanede hizmet vermeye başlamıştır. 8 Haziran 1918’de İstanbul’da ‘Veremle Mücadele Osmanlı Cemiyeti’ Cemal Paşanın başkanlığında faaliyete başlamıştır. Bu

derneğin başkanlığına Dr.Besim Ömer Paşa seçilmiştir. 16 Mart 1920 tarihinde İstanbul'un işgali ile dernek çalışmalarına ara verilmiştir(21, 22, 23, 24). Balkan ve I. Dünya Savaşlarından sonra TB hastalarında artış olmuştur. Buna benzer durum II. Dünya Savaşında da meydana gelmiştir. Yapılan çalışmalar sonunda, 1918 yılında 'İstanbul'da Veremle Mücadele Osmanlı Cemiyeti', 18 Şubat 1923 tarihinde 'İzmir Veremle Mücadele Hayriyesi' ismi ile ilk dernekler kurulmuştur. TB hastalığının ciddiyetini anlayan yeni Cumhuriyet Hükümeti, dünyadaki gelişmeler ışığında TB savaşının halkla birlikte yapılmasının akılcı olduğunu düşünerek; yurdun birçok yerinde Veremle Savaş Dernekleri kurmuştur ve Verem Savaşı Dispanserleri açmıştır. Bu çalışmalar içerisinde Heybeliada Sanatoryumu Kasım 1925'de 16 yatak kapasiteli olarak kurulmuştur. Daha sonraki dönemlerde 600 yatak kapasitesine ulaşarak, Tevfik Sağlam Tüberküloz Eğitim ve Gösteri Merkezi'nin uygulama hastanesi olarak hizmet vermiş ve uluslararası alanda ismini duyurmuştur(23). Sanatoryum, 2005 yılında kapatılmıştır. BCG Türkiye'de ilk defa 1926 yılında Prof. Dr. Refik Güran tarafından oral olarak uygulanmıştır. RSHM'de 1931 yılında BCG üretimine başlanmış; ancak geniş bir uygulama alanı bulamamıştır. İskandinav Ülkelerinde BCG aşısıyla ilgili yeni gelişmeleri ve uygulama tekniklerini öğrenen sağlık ekiplerimizin gelişmeleri takip ederek sıkı bir şekilde çalışması ile BCG aşısı üretimi tekrar başlatılmış, deri içi aşısı 19.06.1948 tarihinde Prof. Dr. Tevfik Sağlam tarafından ilk defa uygulanmıştır. 1980 yıllarından sonra verem savaşında yaşanan yavaşlama nedeniyle Nisan 1998'de RSHM'de BCG aşısı üretimi durdurulmuştur. TB savaşının ilk dönemlerinde yokluk içinde yapılan başarılı çalışmalar yadsınamaz. Ancak sistemli ve kararlı bir savaşın adımları Prof. Dr. Nusret Karasu'nun Mayıs 1960'da Sağlık Bakanlığı'na atanmasıyla başlamıştır. İlk defa 'Verem Savaşı Genel Müdürlüğü' kurulmuş ve başına Dr. Hamdi Açan getirilmiştir. Bu dönemde Milli Verem Savaşı Programı oluşturulmuş, tüm ülkede uygulamaya başlanmıştır. Bu programda 5 ana ilkeye ön plana çıkmaktadır: Eğitim ve Propaganda, Koruma, Erken tanı, Erken tedavi, Sosyal yardım. WHO ve UNICEF ile yapılan anlaşmalar çerçevesinde BCG kampanyaları ile 67 il, 570 ilçe 34823 köy taranarak tüberkülin testi uygulanmış, gerekenlere BCG aşısı yapılmıştır 1948 yılında, verem savaşı ile ilgili yasal düzenlemeler yapılmış, çeşitli çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Ülkemizin ilk fitizyoloji kürsüsü 1951 yılında Ankara Tıp Fakültesinde Nusret Karasu tarafından, sonrada Prof. Dr. Tevfik Sağlam'ın girişimleriyle İstanbul

Üniversitesi Tıp Fakültesinde kurulmuştur. 1950'lerde WHO ve UNICEF ile yapılan anlaşmalar ve Uluslararası ilişkilerin TB savaşında önemli etkileri olmuştur. İstanbul'da 'Milletlerarası Verem Savaşı Olgunlaşma ve Gösteri Merkezi' kurulmasına karar verilmiş, Dr. Etienne Berthet tarafından hizmet vermeye başlanmıştır. Yönetim Mayıs 1952 tarihinde Prof. Dr. Tevfik Sağlam başkanlığındaki Türk ekibine devredilmiştir. Bu merkez yapmış olduğu araştırmalar ve düzenlemiş olduğu kurslarla verem savaşında çalışacak olan birçok yerli, yabancı doktor ve yardımcı sağlık personeline eğitim vermiştir. 1951 yılında Taksim'de inşa edilen binada İstanbul Verem Savaşı Derneği Merkez Bakterioloji Laboratuvarı kurulmuş idaresi Prof. Dr. Ekrem Kadri Unat'a verilmiştir. Bu laboratuvarında teksif ile mikroskopi, kültür, direnç testleri yapılabiliyor, İstanbul ve çevresine, Trakya dahil olmak üzere tüm verem savaş dispanserlerinden gelen örneklerle cevap veriyordu, bu laboratuvarın başarılı çalışmaları devam etmektedir (21, 23). Verem Savaşı Genel Müdürlüğü'nün 1960 tarihinde hayata geçirilmesiyle, Bölge Tüberküloz Laboratuvarları kurulmuştur. Veremle savaşta SM, PAS, İNH, PZA gibi ilaçların yaygın kullanılmasından bir süre sonra direnç sorununun ortaya çıkması, rezistan hastaların tedavi edilecekleri hastanelerde ve direnç incelemelerinin yapılacağı laboratuvarlarda yeni yapılanmaları zorunlu kılmıştır. Bu projenin alt yapı çalışmaları 1973 yılında tamamlanmış, Ankara, İstanbul, Bursa, İzmir, Adana, Samsun ve Trabzon'da bölge laboratuvarları kurulmuştur. 1952'den 1975 yılına kadar planlı bir anlayışla yürütülen TB savaşında ulaşılan durum şu şekildedir: 0-3 yaş grubu çocuklarda enfeksiyon oranı % 0.08'e düşürülmüştür. TB ölüm oranları yüz binde 11.9'a gerilemiştir. Bu gelişmelerin yanı sıra kronik TB'lilerde ilaç direnci: İNH'a % 12.8, streptomisine % 6.8, iki ilaca direnç düzeyi ise % 80.4 olarak gerçekleşmiştir. 1980 yılında aktif hasta oranı % 0.1, basil pozitif hastaların oranı yüzbinde 15, veremden ölüm oranı yüz binde 8.8 ve insidansı yüz binde 52.23 olarak kaydedilmiştir. 1990'da TB ölüm oranı % 3.2 ye gerilemiştir. 80'li yıllarda Dünya genelinde yürütülmekte olan TB savaşında yaşanan gevşeme, AIDS'de TB'un fırsatçı enfeksiyon olarak artış göstermesi ve yaşanan göç hareketleri, DSÖ'nü 1991 yılında yeni bir TB kontrol programı uygulamaya yöneltmiştir. Doğu Avrupa ülkelerinde tedaviye direçli olguların artması ve 3. Dünya ülkelerinde yaşanan olumsuz gelişmeler nedeni ile DSÖ, 1993 yılında 'Acil Durum' ilan etmiştir. Bu anlayışla 'Doğrudan Gözetimli Tedavi' 'Directly Observed Treatment Short Course (DOTS)' ile direnç gelişimi önlenmesi

amaçlanmıştır. 2004 yılı verilerine göre bakteriyolojik muayene oranı % 30'lardan % 70'lere yükseltilmiş, hastalık insidansındaki düşme devam etmiştir. 1990'daki insidans 44, 1995'de 35.48, 2000'de ise 26.24, 2003'de 24.31'dir. Mortalite ise 1945 yılında yüzbinde 262 iken 1950'de 204, 1960'da 55, 1970'de 20, 1980'de 8.8, 1990'da 3.2, 2000'de 1.8 olarak tesbit edilmiştir. TB, ölüm nedenleri arasındaki sırasına göre 1980 yılında 8. sırada iken 2000 yılında 19. Sıraya gerilemiştir. Türkiye'de verem savaşı dispanserine 2007 de kayıt edilen hasta sayıları: Toplam hasta: 19,694, olgu hızı: 27.9, yeni olgular 17,781 (% 90), tedavi görmüşler 1,913, Bakteriyolojik tetkikler: akciğer TB: 13,690, mikroskopi yapılan 12,219 (% 89.3), mikroskopi pozitif: 8,797 (% 64.3), kültür yapılan: 8,379 (% 61.21), kültür pozitif: 6,868 (% 50.2), ilaç sensitiflik testi yapılan 4,917, çok ilaca rezistan TB: 240 (% 4.9)'dır. Bir ülkede TB savaşı, Ulusal ve Uluslararası otoritelerin birlikte planlı, programlı çalışmasıyla ile gerçekleşmektedir. Bu plan ve kararlılık içinde TB laboratuvarlarının önemi tartışmasız olarak çok büyüktür. Mikobakteri laboratuvarı TB kontrolü ve eradikasyonunda en önemli yönlerden birini oluşturur. Laboratuvar yoksa tanı yoktur-Tanı yoksa tedavi yoktur-Tedavi yoksa DGTS yoktur- DGTS yoksa TB kontrolü yoktur(25, 26, 27, 28, 29, 30)olarak düşünülmektedir.

2.2.3 Tüberküloz Bakteriyolojisi

TB basili ilk kez 1882 yılında Robert Koch tarafından ortaya konmuştur. Mikobakteri ailesinin bir üyesi olan *M. tuberculosis* 1-4 µm uzunluğunda, 0,3-0,6 µm genişliğinde asit ve alkole rezistanaerobik bir basildir(31). TB basili *Actinomycetales* takımı, *Mycobacteriaceae* ailesi ve *Mycobacterium* cinsi içinde bulunmaktadır. *M. tuberculosis* ve *M. leprae* dışında 70'in üzerinde türü de tanımlanmıştır. *Mycobacterium* cinsi bakterilerin temel özellikleri yavaş üremeleri, aside rezistan olmaları, hücre duvarlarında bol miktarda mikolik asit (lipid) kapsamalarıdır. Genomlarında ki GC oranı %59-65'dir. Bakteriyolojik özellikleri ve DNA benzerlikleri sebebiyle birbirleriyle yakın ilişkili türler "kompleks" olarak adlandırılır.

Tüberküloz basilinin soy ağacı şöyle belirlenmiştir:

Soy: Actinomycetales;

Aile: Mycobacteriaceae;

Cins: Mycobacterium;

Tür: *Mycobacterium Tuberculosis*.

Mycobacterium genusu içinde yer alan *Mycobacterium tuberculosis* kompleks beş bakteri türü içerir. Bunlar; *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canetti*'dir(32).

“*M. tuberculosis complex*” *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum* ve *M. bovis* BCG içermektedir. Klinik açıdan bakıldığında ise hastalık yapma potansiyeli ve halk sağlığı ile yakın ilişkisi sebebiyle *M. tuberculosis* cinsin en önemli üyesidir ve günümüzde insanlarda görülen TB'nin ana nedenidir. Günümüzde TB olgularında en sık izole edilen tür; *M. tuberculosis*'tir. *M. bovis* sıklıkla (% 75-80) akciğer dışı organ TB'una neden olur. *M. africanum*, Batı Afrika'da nadiren hastalık meydana getiren bir türdür. *M. microti*'nin ise kemirici hayvanlar için patojen olduğu ortaya konmuştur. İnsanlarda hastalık oluşturan *M. tuberculosis* ve *M. bovis* dışındaki mikobakteriler (lepra hariç) “atipik mikobakteri” ya da “tüberküloz dışı mikobakteriler” (MOTT/Mycobacteria other than tuberculosis) olarak adlandırılmaktadır. Sıklıkla insanlarda hastalığa neden olan mikobakteri türlerinin sınıflandırılması (33,34).

I. *Mycobacterium tuberculosis complex*

M. tuberculosis

M. bovis

M. africanum

M. microti

II. Yavaş Üreyen Mikobakteriler

A. Fotokromojenler

M. kansasii

M. marinum

B. Skotokromojenler

M. gordonae

M. scrofulaceum

C. Nonkromotojenler

M. avium complex-*M. avium*, *M. intracellulare*

M. terrae complex

M. ulcerans

M. xenopi

M. simiae

M. malmoense

M. szulgai

M. asiaticum

III. Hızlı Üreyen Mikobakteriler

M. fortuitum

M. chelonae

M. abscessus

2.3. Tüberküloz Patogenez ve Tanısı

M. tuberculosis hücre içi yerleşen bir bakteridir. TB basili ile karşılaşan konakçıda basile karşı oluşan hücrel immünite (HI) ve gecikmiş tipte aşırı sensitiflik reaksiyonları (GADR), TB patogenezinin esasını oluştururlar. Basilin çoğalması ile ona karşı gelişen yanıtın etkileşimi hastalık Çizelgelerinden sorumludur. Hücrel immünite hasta için yararlı olurken özellikle yüksek konsantrasyondaki antijenik uyarıma karşı oluşan şiddetli hücrel immünite ve gecikmiş tipte aşırı sensitiflik reaksiyonları etraf dokularda nekroza, kaviteleşmeye neden olan zararlı bir reaksiyon olarak ortaya çıkar(9).

TB patogenezinde dört evre vardır (39) :

1. Evre: Başlangıç
2. Evre: Simbiyosis ve logaritmik çoğalma
3. Evre: İmmünolojik kontrol
4. Evre: Erime ve kavite formasyonu

Enfeksiyon üçüncü evre ile sınırlı kalırsa primer enfeksiyon periyodu tamamlanmış olur. Enfeksiyonun sınırlandırılmaması halinde progresif primer TB ortaya çıkar. Primer enfeksiyondan en az beş yıl sonra yaşamın herhangi bir döneminde endojen ya da eksojen kaynaklı gelişen sekonder enfeksiyon da ise dördüncü evrede göreceğimiz immün patolojik değişiklikler ortaya çıkar.

Tüberküloz immünopatogenezinde rol oynayan iki önemli hücre grubu bulunmaktadır: Bunlar makrofajlar ve lenfositlerdir.

A- PRİMER ENFEKSİYON

Evre I ; Başlangıç dönemi:

Evre II; Logaritmik Çoğalma ve Simbiyozis:

Evre III; Kazeöz Odak Oluşumu Ve İmmünolojik Kontrol:

Evre IV ; Likefaksiyon Ve Kavite Oluşumu:

B- PROGRESSİF PRİMER TÜBERKÜLOZ VE SEKONDER ENFEKSİYON

2.3.Tüberküloz Tanısı

Tüberküloz da tanı esas olarak bakteriolojik tanıdır.

- Anamnez
- Fizik muayene bulguları
- Akciğer grafisi, ileri radyolojik tetkikler
- Tüberkülin deri testi
- Patolojik tetkikler
- Diğer laboratuvar tetkikleri tanıya yardımcıdır.

BAKTERİYOLOJİK TANI

1. Direkt mikroskopik inceleme:

En sık kullanılan materyal balgamdır. Balgam çıkaramayan hastalarda hipertonic tuzlu su inhalasyonu ile alınan indükte balgam, gastrik lavaj, bronkoalveoler lavaj, bronş lavajı, bronkoskopik biopsi materyalinde de basil aranabilir. Hastanın kliniğine göre ayrıca plevra sıvısı, BOS, idrar, dışkı ve eklem sıvıları da incelenebilir. Hazırlanan yaymalar karbon fuksin metodları veya floro-krom metodları ile boyanabilir. Karbon fuksin metodları; Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) ve Kinyoun metodudur. Florokrom metodunda preparat auramin-o ile boyanır ve floresan mikroskopta incelenir.

2. Kültür:

Tüberküloz tanısı kesin olarak ancak basilin kültürde üretilmesi ile konur. Basilin kültürde üretilmesi tanımlama parametrelerini uygulamak, ilaç sensitiflik testlerini yapabilmek, epidemiyolojik çalışmalarda genotiplemeyi yapabilmek için zorunludur. Kültür için kullanılan besiyerleri 3 grupta incelenebilir:

- 1.Yumurtalı besiyerleri (Löwenstein-Jensen, petragnani, Amerikan Toraks Topluluğu.)
- 2.Sıvı besiyerleri (middlebrook7H12)
- 3.Agarlı besiyerleri(MB7H10,MB7H12)

En sık kullanılan besiyeri Löwenstein-Jensen besiyeridir. Bakteriolojik tanıda sık kullanılan yeni yöntemler, BACTEC ve MGIT dir.

Moleküler biyolojik yöntemler (PCR), Likit gaz kromatografisi, rapörtör faj yöntemi, serolojik yöntemler (38 kD antijen, antijen A 60, LAM ve benzeri diğer) ise yeni tanı yöntemleridir.

PATOLOJİK YÖNTEMLER

Organ biopsilerinde kazeifikasyon nekrozu gösteren granuloamların saptanması tanıda faydalıdır. Fakat kesin tanı için bu dokularının boyanarak tüberküloz basilinin dokuların kültürlerinde basilin üretilmesi gereklidir.

TÜBERKÜLİN DERİ TESTİ

Test, enfeksiyon ya da BCG aşısı yoluyla basil ile karşılaşan kişilerde gelişen aşırı sensitiflik reaksiyonunun ortaya çıkarılmasına dayanır. Pozitif deri testi immüniteyi göstermediği gibi, hastalığın varlığını ya da yokluğunuda göstermez, sadece kişinin tüberküloz basili antijeni ile daha önceden karşılaştığını gösterir. Tüberkülin deri testinde en sık kullanılan tüberkülin maddesi PPD (5TUPPD) dir.

Ülkemizde TCT reaksiyonunu değerlendirme ölçütleri:

Bacille Calmette Guerin'lilerde:

- 0-5 mm negatif kabul edilir.
- 6-14 mm BCG'ye atfedilir.
- 15 mm ve üzeri pozitif kabul edilir, enfeksiyon olarak değerlendirilir.

Bacille Calmette Guerin' sizlerde:

- 0-5 mm negatif kabul edilir.
- 6-9 mm şüpheli kabul edilir, bir hafta sonra test tekrarlanır; yine 6-9 mm bulunursa negatif kabul edilir.
- 10 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.
- Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.

Bağışıklığı baskılanmış, malnütrisyonlu ve HIV pozitiflerde, PPD, 5 mm ve üzerinde ise pozitif olarak kabul edilir. BCG ile aşılanelarda ve tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonlarında da tüberkülin pozitifliği görülebilir. PPD deri testi negatifliği ayrıca şu durumlarda görülebilir: Alerjik bazı enfeksiyonlar, canlı virüs aşuları, kronik böbrek yetersizliği, lenfoid dokuları tutan hastalıklar, kortikosteroid ve immun süpressif ilaç kullanımı, yenidoğan ve çok ileri yaş, *mycobacterium tuberculosis* ile yeni geçirilmiş veya ağır bir enfeksiyon, HIV enfeksiyonu, stres, cerrahi girişim ve yanıklar.

2.4 Antitüberküloz İlaçlar Ve Etki Mekanizmaları

Tüberküloz, kombine ilaçlardan oluşan doğru bir tedavi rejiminin, hasta tarafından uygun şekilde, yeterli süre ve eksiksiz kullanılması halinde % 100 ' e yakın oranlarda tedavi edilebilir bir hastalıktır.

Tüberküloz tedavisinin başlıca dört amacı vardır:

1. Balgam kültürlerini en kısa sürede negatışeştirmek
2. İlaç direnci gelişimini önlemek
3. Relaps olmaksızın tam kür sağlamak
4. Toplumda enfeksiyonun yayılmasını önlemek

Tedavide kullanılan ilaçlar üç grupta toplanabilir (40, 41):

1. Sıra ilaçlar:

İzoniazid, rifampin (rifampisin), etambutol, streptomisin, prazinamid (bunun türevi morfozinamid) bu grupta yer alır. Bu ilaçlar en fazla tercih edilen anti tüberküloz ilaçlardır.

2. Sıra ilaçlar:

Etionamid, para amino salisilik asit (PAS), tiasetazon (amitiozon), sikloserin, siprofloksasin, ofloksasin ve streptomisin dışı aminoglikozitler olan viomisin,

kapreomisin, kanamisin ve amikasin bu grupta bulunmaktadır. Bu ilaçlar birinci sıra ilaç kombinasyonlarına bakteride rezistans gelişmesi ya da bu ilaçlara ait ciddi yan etkiler görüldüğünde ya da kontrendikasyon varlığında, AIDS’li hastalarda olduğu gibi hastada immün yetmezlik bulunması ve benzeri durumlarda tercih edilir.

3. Sıra ilaçlar:

Rifobutin, Rifapentin makrolid antibiyotikler (klaritromisin, azitromisin), florokinolon türevleri, amikasin, amoksisilin + klavunat ve bir lepra ilacı olan klofazimin bu grupta bulunmaktadır. Son 15 yılda AIDS olgularının artması ve bu hastalığın ileri döneminde olguların yaklaşık 1/3 ünde *M. avium* kompleksi (MAC) bakterilere bağlı dissemine atipik tüberküloz enfeksiyonu gelişmesi nedeni ile bu grup ilaçların kullanımı gündeme gelmiştir. *M. tuberculosis* yavaş çoğalan, çoğalmaksızın uzun süre canlı (dormant) kalabilen, hücre içinde yerleşme eğilimi gösteren, tedavi sorunu olan ve tedavisi uzun süren bir bakteridir.

Bu özellikler dikkate alınarak tedavinin ana ilkeleri şu şekilde sıralanabilir

1. Kombine ilaç kullanılmalıdır;

Bu, aynı zamanda farklı metabolik aktiviteye sahip basillerin ortadan kaldırılması ve hastalık etkeninde rezistans oluşmasının önlenmesi açısından önemlidir. Mitchison’un 1985 te ortaya attığı ve bugünkü modern tedavi prensiplerinin temelini oluşturan “ özel basil popülasyonları teorisi” ne göre tüberküloz lezyonlarında farklı metabolik aktivite gösteren basiller mevcuttur.

2. İlaçlar yeterli süre kullanılmalıdır;

Sterilizasyon sağlamak, relapsları önlemek için uzun süre tedavi devam ettirilmelidir. Uzun süreli tedavide ilacın enjeksiyon şeklinde kullanılan bir ilaç olması sakıncalıdır. Bu nedenle tüberküloz ilaçlarının çoğu oral uygulanan ilaçlardır.

3. İlaçların düzenli kullanılması sağlanmalıdır;

Uzun süreli tedavi uyum sorunu yaratır. Bu nedenle hastaların periodik olarak yakından izlenmesi gerekir. Bundan dolayı tedavi rejimleri artık büyük oranda gözetimli rejimlerdir.

4. İlaçların yan etkileri bakımından hastaların düzenli takibi yapılmalıdır;

Uzun süreli tedavide ilaçların akut toksisitesi yanında kronik toksisitesi de önem kazanır. Hasta ilaçların yan etkileri konusunda bilinçlendirilmeli, periodik takiplerde de yan etkiler kontrol edilmelidir.

Tüberküloz ilaçları etkilerine göre üç grupta incelenir (40,41)

a) Erken bakterisidal aktivite gösterenler

Basil sayısını hızla azaltarak balgam kültürlerini negatişleştiren, bulaştırıcılığı azaltan, hastanın genel durumunu düzelten, mortaliteyi ve rezistans gelişimini azaltan ilaçlardır. Bu konuda en güçlü ilaç H, daha sonra R ve E dir. H birkaç gün içinde basillerin %90'ını yok edebilmektedir.

b) Sterilizan aktivite gösterenler;

Tüm basillerin yok edilmesini hedefler. Relapslardan sorumlu C ve B grubu basiller bu aktivite ile yok edilir. Bu basillere en etkili ilaçlardır.

c) Direnç gelişimini önleyici etki gösterenler;

Daha önce tüberküloz ilaçları ile karşılaşmamış bir basil topluluğunda da az sayıda bile olsa ilaçlara karşı rezistanmutant basiller bulunabilmektedir. Direnç gelişimini önlemede en etkili ilaçlar H ve R, daha sonra E ve S dir.

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçların farmakolojik özellikleri:

İzoniazid

İzonikotinic asidin hidrazididir. İzoniazid halen mevcut olan antitüberküloz ilaçların en güçlüsüdür. Klinik dozlarla oluşan konsantrasyonlarda dormant basiller üzerinde bakteriyostatik, hızlı çoğalanlar üzerinde bakterisid (tüberkülisid) etki yapar. Ayrıca makrofajlar ve kazeöz lezyonlar içinegirebilmesi, iyi absorbe edilmesi, kolay alınması ve ucuz olması bu ilacı en önemli antitüberküloz ilaç yapar. İzoniazid mikobakterilerde ileri derecede morfolojik değişiklikler meydana getirir. Bakterinin aside dayanıklı olma özelliği kaybolur. Ziehl boyası ile boyanma özellikleri değişir. On gün süre ile kültür ortamında izoniazid ile temasta kalan bakterilerde immünojenik (kobayı tüberküline karşı allerjik kılma özelliği) özelliği ortadan kalkar. Kaviter lezyonlar içinde ekstrasellüler olarak bulunan ve hızlı çoğalan mikobakteriler üzerinde özellikle etkilidir. Ayrıca hücreler içine kolayca girebildiğinden makrofajlar içindeki mikobakteriler üzerinde kültür ortamındakiler kadar etkilidir. İzoniazid, *Mycobacterium tuberculosis*'ten başka bakteriler üzerinde antibakteriyel etki yapmaz. Bu nedenle çok

dar spektrumlu bir ilaçtır. Etki mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Bir görüşe göre bakteri içine giren izoniazid orada bir peroksidaz'ın etkisi altında hidrazin ve izonikotinic aside dönüşür. Sonucu madde bakteride nikotinic asidin antimetaboliti olarak etki yapar ve bir koenzim A türünün sentezini bozar. Sonuçta hücrede hidrojen peroksid yıkımı yapılamaz ve fazla miktarda biriken bu madde letal etki yapar. Etki mekanizması ile ilgili diğer bir bulgu, *M. tuberculosis* kültürlerine izoniazid uygulandığında mikobakterilerin NAD içeriğinin düşmesi ve işaretli prekürsör metabolitlerin mikolik asid yapısına katılmasının azalmasıdır. Bunun nedeni mikolik asid sentezinin önemli bir enzimi olan C-24 asid delta-5 desaturaz enziminin izoniazid tarafından inhibisyonudur. Mikolik asid, mikobakterilerin hücre duvarının önemli bir yapı taşı olduğundan, onun sentezinin bozulmasının hücrenin yaşamı ile bağdaşmadığı düşünülmektedir. Etki mekanizması iyi bilinmediği için ilaç direncinin nedenleri de açık değildir. İzoniazid mikroorganizma içine diffüzyon ve oksijen bağımlı aktif transport ile alınır ve rezistanorganizmalarda bu uptake azalmış olabilir. İzoniazid mide-barsak kanalından çabuk ve tama yakın absorbe edilir, biyoyararlanımı yaklaşık olarak %90'dır. Ağır yemekler, karbohidrat ve yağlı besinler, gecikmiş emilime ve çeşitli yayımlara göre -%90 ile - %50 arasında azalmış maksimum konsantrasyonlara neden olur. Karaciğerde N-asetillenmek ve kısmen de izonikotinic aside dönüşmek suretiyle metabolize edilir. Asetillenme en önemli biyotransformasyon mekanizmasını oluşturur. İlacın itrah hızı asetilasyon hızı ile orantılıdır. Bazı kimselerde genetik bir değişiklik nedeniyle karaciğerde N-asetiltransferaz 2 (NAT-2) enzimi normal kimselere göre daha az miktarda oluşur. Böyleleri izoniazid'i yavaş inaktive ederler (yavaş asetilleyciler). Bunlarda izoniazid'in inaktivasyon hızı, normal (hızlı astilleyci) kimselere göre ortalama 5-6 kez daha yavaştır. Eliminasyon yarı ömrü hızlı asetilleycilerde ortalama 1.1 saat, yavaş asetilleycilerde ise 3 saat bulunmuştur. Yavaş asetilleycilerde normal dozda izoniazid ile tedavi yapılırsa ilaç vücutta birikir, nörit ve hepatit bunlarda daha fazla oranda oluşur. Hızlı asetilleme, otozomal dominant bir karakterdir. İzoniazid karaciğerde birçok (CYP1A2, CYPC9 ve CYP3A4) mikrozomal oksidaz enzimini inhibe eder, bunlarla yıkılan ilaçların plazma düzeyini artırabilir. Böbreklerden izoniazid'in sadece küçük bir kısmı atıldığı için doz sadece ciddi böbrek yetmezliği olan hastalarda azaltılmalıdır. oral ve parenteral olarak uygulanabilir. İzoniazid'in erişkinlerdeki günlük olağan dozu maksimum 300 mg olmak üzere, 5 mg/kg'dır.

İzoniazid genellikle oral tek doz olarak verilir ancak ikiye bölünmüş dozda da verilebilir. İzoniazid'in toksik etkileri profilaktik piridoksin tedavisi ve hastanın dikkatli bir şekilde izlenmesi ile azaltılabilir. Piridoksin'in (günlük 15-50 mg) özellikle malnütre hastalara ve nöropati predispozisyonu olan kişilere (örn. yaşlılar, gebe kadınlar, diabetliler, alkolikler ve üremikler) verilmesi gerekir (40,41).

Rifampisin

Bir rifampisin türüdür. Tüberküloz tedavisinde izoniazid'den sonra ikinci önemli ilaçtır. Hem hızlı çoğalan, hem de dormant duruma geçmiş mikobakterilere etkilidir. Gerek hücre dışındaki ve gerekse hücre içindeki mikobakterilere bakterisid etki yapar. *M. tuberculosis*'den başka *Mycobacterium leprae*, gram pozitif ve gram negatif kokuslara, koliform basillere ve klamidya grubu mikroorganizmalara karşı da etkilidir. Mikobakterilerin RNA polimeraz enzimini inhibe eder. Mikobakterilerde rifampisine direnç gelişmesi diğer bakterilerde olduğundan daha yavaştır. Direnç gelişimini önlemek için izoniazid, pirazinamid, etambutol ve/veya başka bir ilaçla birlikte kullanılır. Tek doz halinde alınabilmesi, bütün tüberküloz ilaçları içinde etki gücü bakımından izoniazid'e en yakın ilaç olması, yan etkilerinin ondan daha az olması ve diğer ilaçlara rezistansuylara karşı etkili bulunması bu ilacın değerini artırır. İnsan çalışmalarında izoniazid, rifampisine göre daha fazla erken bakterisidal aktivite göstermiştir fakat rifampisin'in daha fazla sterilize edici kapasitesi olduğu düşünülmektedir. İzoniazid'in erken bakterisidal etkisinin proteine bağlanma kapasitesi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür: izoniazid nerdeyse bağlanmaz, rifampisin ise kabaca %80 oranında bağlanır. Rifampisin asit ortamda daha iyi emilir. Hem besinler, hem de antasitler emilimini azaltır. Standart tedaviye yavaş yanıt veren rezistantüberkülozu olmayan hastalarda rifampisin dozunun ve serum ilaç düzeyinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiği öne sürülmüştür.

Rifampisin karaciğerde bazı mikrozomal enzimleri (CYP2C9 ve CYP3A4 gibi) güçlü ve selektif bir şekilde indükler. Buna bağlı olarak varfarin'in yıkımını artırır, etkinliğini azaltır. Östrojenlerin yıkımını artırır. Oral kontraseptiflerin etkinliğini azalttığından bu ilacı kullananlarda doz artırılmaz ise rifampisin tedavisi istenmeyen gebeliğe ve ara kanamalara neden olabilir. Benzer bir şekilde oral antidiyabetiklerin, prednisolon ve diğer glükokortikoid ilaçların da yıkımını artırarak etkinliklerini azaltır. Kinidin ve

digoksin'in metabolizmasını hızlandırır ve serum düzeylerini düşürür. Rifampisin kesildiği zaman diğer ilaçlara bağlı rebound etki nedeniyle oluşan toksisiteyi saptamak önemlidir. Bu durumda, daha önce tedavi edici düzeylerde olan bir ilaç dozu, enzim indüksiyonu etkisi ortadan kalktığında tehlikeli derecede yüksek serum konsantrasyonlarının birikmesine neden olabilir. Tüm antitüberküloz ilaçlar içinde rifampisin'in en uzun postantibiyotik etkiye (67.8 sa) sahip olduğu gösterilmiştir. Rifampisin tüberküloz tedavisinde oral olarak günde tek doz halinde ya yemekten 1 saat önce ya da yemekten 2 saat sonra verilir(40,41).

Pirazinamid

Nikotinanamid'in sentetik pirazin analogudur. İsoniazid derecesinde olmasa bile oldukça güçlü tüberkülisid etkisi vardır. Bu etkisini hem çoğalma halindeki, hem de dormant duruma geçmiş mikobakteriler üzerinde gösterir. Monositler ve makrofajlar içindeki yavaş çoğalan mikobakteriler üzerinde en etkili tüberkülisiddir. Kazeöz lezyonlardaki mikobakterilere rifampisin kadar, fakat izoniazid'den daha fazla etkilidir. Pirazinamid tüberküloz tedavisinin kısaltılmasında çok önemli bir rol oynar, çünkü pirazinamid diğer tüberküloz ilaçları tarafından öldürülmeyen asidik ortamdaki yarı dorman basil popülasyonunu öldürür. Pirazinamid'in aktivitesini göstermesi için neden asidik bir ortama gereksinim duyduğu bilinmemektedir. Bir çalışmada, asidik pH'nın *M. tuberculosis*'de pirazinamidin aktif derivesi olan pirazinoik asidin intrasellüler akümüülasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Tersine, nötral ya da alkali pH'da pirazinoik asidin *M. tuberculosis* hücrelerinin dışında olduğu bulunmuştur. Tüberkülisid etkisinin mekanizması belli değildir. Günümüzde tedavi programlarında birinci sıra ilaç şeklinde izoniazid ve rifampisine ek olarak kullanılmaktadır. Midebarsak kanalından iyi absorbe edilir. Vücutta tüm dokulara ve vücut sıvılarına kolayca dağılır. Esas olarak böbreklerden atılarak elimine edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 10-16 saattir(40,41).

Morfozinamid (morinamid):

Pirazinamid'in Nmorfolinometil türevidir. Hem kendi başına, hem de vücutta pirazinamide dönüşmek suretiyle antitüberküloz etki yapar. Farmakolojik özellikleri ve yan tesirleri bakımından pirazinamide benzer. Türkiye'de pirazinamid yerine genellikle bu ilaç kullanılmaktadır. Çocuklarda kullanılmaz. Tüberküloz tedavisindeki günlük

dozu 50 kg'ın altında olanlarda 1.5 g, 50 kg'ın üstünde olanlarda 2 g'dır. Doz 3 ya da 4'e bölünerek verilir(40,41).

Etambutol

Etambutol, başka hiçbir antimikrobiyal ilaç ailesi ile ilişkisi olmayan ayrı bir bileşiktir. Di- (1-butanol)-etilendiimin dihidroklorür'ün dekstro şeklidir. Birinci sıra ilaçlara artan bakteriyel direnç nedeniyle geliştirilmiştir. Tüberkülostatik bir ilaçtır ve etkinliği izoniazid ve rifampisine göre düşüktür, ancak kendisine karşı yavaş direnç gelişmesi teröpatik değerini artırır. Streptomisin ya da izoniazid'e karşı direnç kazanmış suşlar üzerinde de etkilidir. Antitüberküloz ilaç kombinasyonuna direnç gelişimini önlemek ya da geciktirmek için katılır. *M. tuberculosis*'in hemen hemen tüm suşları, *Mycobacterium kansasii* ve birçok *M. Avium* kompleksi etambutole sensitifdir. Tüberkülostatik etki mekanizması kesin olarak belli değildir. Mikolik asidin sentezini bozamaz, fakat onun mikobakterinin hücre duvarına katılmasını inhibe eder. Hücre içinde çinko ve bakırı şelasyon yapmak suretiyle bağlar. Bu durumun antitüberküloz ve toksik etkinliğine katkıda bulunduğu sanılmaktadır. Mide-barsak kanalından %70-80 oranında ve hızlı absorbe edilir; besinler etambutol alımı ile etkileşmez. Vücutta çoğunlukla biyotransformasyona uğramaz. Tamamıyla böbreklerden atılır, itrahi oldukça hızlıdır. Böbrek bozukluğu olan hastalarda doz ayarlaması yapılması zorunludur. Plazmada proteinlere az bağlanır (%10'dan az); fakat eritrositler içine kolayca girer ve orada toplanan ilaç depo görevi yapar, kan düzeyinin uzun süre sürdürülmesini sağlar. Etambutol'ün tüberküloz tedavisindeki normal yetişkin dozu günde bir kez verilen 15 mg/kg'dır. Etambutol 5 yaşın altındaki çocuklarda görme fonksiyonları test edilemeyeceğinden önerilmez (40, 41).

Streptomisin

M. tuberculosis'e karşı etkin olduğu gösterilen ilk ilaçtır. Streptomisin parenteral olarak kullanılan bir ilaçtır, 1940'larda keşfinden bugüne sürekli olarak tüberküloz kemoterapisinde majör bir rol oynamıştır. Streptomisin bakterinin 30S ribozomuna irreversibl olarak bağlanır, böylece protein sentezini inhibe eder. Streptomisin'in bakteri ve makrofajlar içine girme yeteneği düşüktür. *M. kansasii* sıklıkla streptomisine

sensitifdir, ancak diğer nontüberküloz mikobakteriler nadiren sensitifdir. Klinikte kullanılan dozlarda, streptomisin'in etkisi esas itibariyle bakteriyostatiktir. Böylece streptomisin'le tedavi süpresif bir tedavidir, yani vücuttaki odaklarda yerleşmiş bakteri ilaç ortamda bulunduğu sürece baskı altında kalır, çoğalamaz; fakat bakterilerin tamamıyla yok edilmesi (eradikasyon) mümkün olmaz. Streptomisin kaviteler içine (fakat kazeöz lezyonlara değil) iyi nüfuz eder. Dissemine tüberküloz ya da tüberküloz menenjit gibi ciddi tüberküloz şekillerinde tercih edilir. Streptomisin gibi bir aminoglikozit olan kanamisin de tüberküloz tedavisinde onun yerine kullanılabilir. Kısa süreli rejimlerde izoniazid, rifampisin ve pirazinamid tedavisi ile birlikte en sık olarak seçilen dördüncü ilaç etambutol'dür. Ancak, dördüncü ilaç olarak etambutol yerine streptomisin kullanıldığında nüks oranlarının bir miktar daha düşük olduğu bildirilmiştir. Tüberküloz tedavisinde streptomisin'in günlük 15 mg/kg (ya da 1 gr) dozunda, im enjeksiyon yoluyla 2-3 ay süreyle verilmesi önerilmektedir(40, 41).

Paraaminosalisilik asid (PAS)

Sadece *M. tuberculosis*'e etkili, çok dar spektrumlu bir ilaçtır. PAS, paraaminobenzoik asidin yapısal analogudur ve para-aminobenzoik asidin folik aside konversiyonunu kompetitif olarak bloke ederek *M. tuberculosis* üzerinde bakteriyostatik etki yapabilir. Streptomisin ve izoniazide göre çok daha zayıf etkilidir. Bu ilaca karşı mikobakteride direnç gelişmesi, streptomisin ve rifampisine karşı olana göre daha geç ve güç olur. Birlikte kullanıldığında bu ilaçlara ve izoniazide direnç gelişmesini geciktirir. Günümüzde, 2 yaşın altındaki çocuklarda tüberkülozun kombine tedavisinde kullanılır. Bunlarda etambutol'ün görme ile ilgili toksik etkisinin başladığını saptamak zor ya da olanaksız olduğundan onun yerine PAS kullanmak gerekir(40,41).

Etionamid

Etionamid ikinci sıra bir ajandır, primer ilaçlar etkili olmadığında ya da kontrendike olduğunda diğer ilaçlarla birlikte kullanılır. Etionamid izoniazid gibi izonikotininik asidden üretilmiştir ve bakterisidal etkilidir. Gerçek etki mekanizması bilinmemekle birlikte, izoniazid'deki gibi mikobakteriyel hücre duvarında mikolik asid sentezini inhibe ederek etki ettiği düşünülmektedir. Etionamid sadece oral olarak kullanılır. Yetişkinler için başlangıç dozu günde iki kez 250 mg'dır; doz 15-20 mg/kg oluncaya

kadar artırılır. Gastrik iritasyonu azaltmak için yemeklerle birlikte bölünmüş dozlarda verilir(40,41).

Sikloserin

Sikloserin *Streptococcus orchidaceus* tarafından üretilen geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. D-alanin'in analogudur, ve alanin rakemaz ve D-alanil-D-alanin sentaz'ın hareketini kompetitif olarak inhibe eder. Bu enzimler hücre duvarının prekürsörlerini inhibe ederler, ve bunların inhibisyonu hücre büyümesinde gerilemeye ve büyük olasılıkla lizis yolu ile hücre ölümüne neden olmaktadır. Günümüzde sikloserin pulmoner ya da ekstrapulmoner tüberkülozun tedavisinde primer ilaçlar başarısız olduğunda, diğer tüberkülostatik ilaçlarla birlikte kullanılır. Siklosporin ve diğer tüberkülostatik ilaçlar arasında çapraz-direnç yoktur. Renal yetmezlik durumunda ilaç toksik konsantrasyonlarda birikebilir. Sikloserin yeniden tedavi gerekli olduğunda ya da diğer ilaçlara direnç durumunda kullanılmalıdır. Tüberküloz tedavisi için kullanıldığında diğer efektif ilaçlarla birlikte verilmelidir. Yetişkinler için günde iki kez 250- 500 mg önerilmektedir(40,41).

Florokinolonlar

DNA giraz inhibisyonu yapan florokinolonlar bakterisidal etki gösterirler. DNA giraz inhibisyonu DNA replikasyonunda ve protein sentezinde yetersizliğe yol açar. Diğer antitüberküloz ilaçlarla etkileşimi önemlidir. Rifampisin gibi RNA ve protein sentez inhibitörleri kinolonların bakterisidal etkisini azaltabilirler. Bir çalışmada tüm florokinolonlar içinde levofloksasin, siprofloksasin ve grepafloksasin'in *M. tuberculosis*'e karşı en fazla aktiviteye sahip olduğu (MİK90 1 µ/ml), ofloksasin'in de ayrıca etkili olduğu (MİK90 2 µ/ml) gösterilmiştir. Aynı çalışmada trovaşoksasin ve gemişoksasin'in daha düşük in vitro aktivite gösterdiği saptanmıştır (MİK90 değerleri sırasıyla 64 µ/ml ve 8 µ/ml). Geniş spektrumlu bir florokinolon olan moksışoksasin'in rifampisin'e benzer in vitro aktivite gösterdiği bulunmuştur. Kinolonlar genellikle oral iyi absorbe edilmelerine rağmen, birlikte alınan antiasidler absorpsiyonu azaltır. Ofloksasin siprofloksasinden daha iyi absorbe edilir ve biyoyararlanımı %100'e ulaşır.

Ofloksasin idrar ile değişmeden atılırken, siprofloksasin ana ilaç ve metabolitlerin kombinasyonu olarak atılır(40,41).

Tiasetazon

Çok ucuz olduğundan gelişmekte olan ülkelerde izoniazid'le birlikte çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İnvitro etkinliği ve farmakokinetiği konusundaki bilgiler sınırlıdır. İlaç adrenal glandlarda konsantre olur ve akciğer içinde bakteriyostatik konsantrasyonlara ulaşır. Tiasetazon'un belirgin yan etkileri ve önemli toksisitesi vardır. Bu ilaç etionamid ile benzer yapıdadır ve bulantı, kusma, abdominal rahatsızlık ve iştahsızlık dahil benzer bir yan etki profili vardır. En önemli yan etkileri öldürücü eritema multiforme ve toksik epidermal nekrozis'dir(40,41).

Makrolidler

Yeni makrolidler klaritromisin ve azitromisin bir çok nontüberküloz mikobakteriye karşı etkindir. Ayrıca pulmoner ve dissemine *M. avium-intacellulare* enfeksiyonlarına karşı da klinik olarak etkilidir. Her iki makrolidin'de AIDS'li hastalarda dissemine *M. Avium* enfeksiyonundan korunmada etkili olduğu gösterilmiştir. Hızlı direnç gelişim riskinden ötürü bu ajanlar tek başına verilmemelidir. Klaritromisin sitokrom P-450 enzim sistemi tarafından metabolize edilir ve serum düzeyleri rifampisin gibi enzim indükleyicileri tarafından dramatik olarak azaltılır. Azitromisin, sitokrom P-450 sistemi tarafından metabolize edilmez ve belirgin ilaç etkileşimi yoktur(40,41).

Rifabutin

MAC mikobakterilerinin yaptığı tüberküloz hastalığında kullanılan bir rifamisin türüdür. Diğer bir rifamisin türevi olan rifampine yapısı ve antibakteriyel etki mekanizması tarafından benzer. Onun gibi mikobakteriyel RNA polimeraz enzimini inhibe eder, tüberkülostatik etki yapar. MAC mikobakterilerine karşı rifampinden daha güçlü etki yapar. AIDS'li hastaların MAC'a karşı korunmasında, nontüberküloz mikobakterilere bağlı enfeksiyonların tedavisinde ve rifampine rezistan*M.*

tuberculosis'e bağlı akciğer tüberkülozunun tedavisinde kullanılır. İnsanlarda uzun yarı ömrü vardır ve intermittan tedavi rejimleri için iyi bir adaydır.

Klofazimin

Klofazimin tüberküloz tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmış olan bir riminofenazin'dir. Bu ilaç çok ilaça rezistant tüberküloz tedavisinde yararlı olabilir. Oral olarak aktiftir fakat absorpsiyonu değişkendir. Klofazimin retikuloendotelial sistemde ve adipoz dokularda birikir.

Kanamisin, amikasin, kapreomisin, viomisin

Bu bölümde gruplanan ilaçlar pek çok açıdan benzer özellikler göstermektedir. Hepsi "ikinci sıra" ilaçlardır ve sadece rezistan mikroorganizmaların ya da nontüberküloz mikobakterilerin neden olduğu hastalığın tedavisinde kullanılırlar. Hepsinin parenteral olarak verilmesi gereklidir ve benzer farmakokinetiklere ve toksisiteye sahiptirler. Bu ilaçlar potansiyel olarak ototoksik ve nefrotoksik olduklarından, bu gruptan iki ilaç birarada kullanılmamalıdır ve streptomisinle kombine edilmemesi gereklidir.

Kanamisin, bir aminoglikozittir. Tüberkülozlu hastaların küçük grupları günlük 1 g kanamisin ile tedavi edilmişlerdir. Toksik etkileri sıktır: nöromüsküler paralizi, solunum depresyonu, agranülositozis, anafilaksi ve nefrotoksisite. Amikasin'de bir aminoglikozittir. Bir çok mikobakteri türüne karşı oldukça aktiftir ve nontüberküloz mikobakterinin neden olduğu hastalığın tedavisinde önemli bir ilaç olabilir.

Kapreomisin, *Streptococcus capreolus* tarafından oluşturulan antimikobakteriyel bir siklik peptiddir. İlaç hem in vitro hem de deneysel tüberkülozda etkilidir. Tek başına verildiğinde kapreomisine karşı bakteriyel direnç gelişir; bu mikroorganizmalar kanamisin ve neomisin ile çapraz direnç gösterirler. Kapreomisin bakterisidal ajanlar tolere edilemediğinde ya da rezistan mikroorganizma varlığında diğer antitüberküloz ilaçlarla kombine edilerek kullanılır.

Viomisin, birçok rezistant tüberküloz suşlarına karşı etkilidir. Kapreomisin ve viomisine karşı çapraz-direnç sıklıkla oluşmaktadır(40,41).

Piridazin ismi ilk olarak Knorr tarafından öne sürülmüşken; ilk piridazin türevi 1886 yılında Fischer tarafından levulinik asit ve fenilhidrazinden hareketle; non-sübstitüepiridazin ise 1895 yılında Tauber tarafından sentez edilmiştir(42).

Piridazin (1,2-diazin) (43), onun benzo analogu kinolin (1,2- diazanaftalen) ya da benzo[c]piridazin (44) ve fitalazin (benzo[d]piridazin) (45) 19. yüzyıldan beri bilinmektedir. Reaktiflik ve temel sentez esasları daha önceki yıllarda araştırılmasına rağmen, birçok türevleri biyolojik aktifliklerinden dolayı son 30 yıldır kullanılmaya başlandığında, bu bileşiklere ilgi artmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

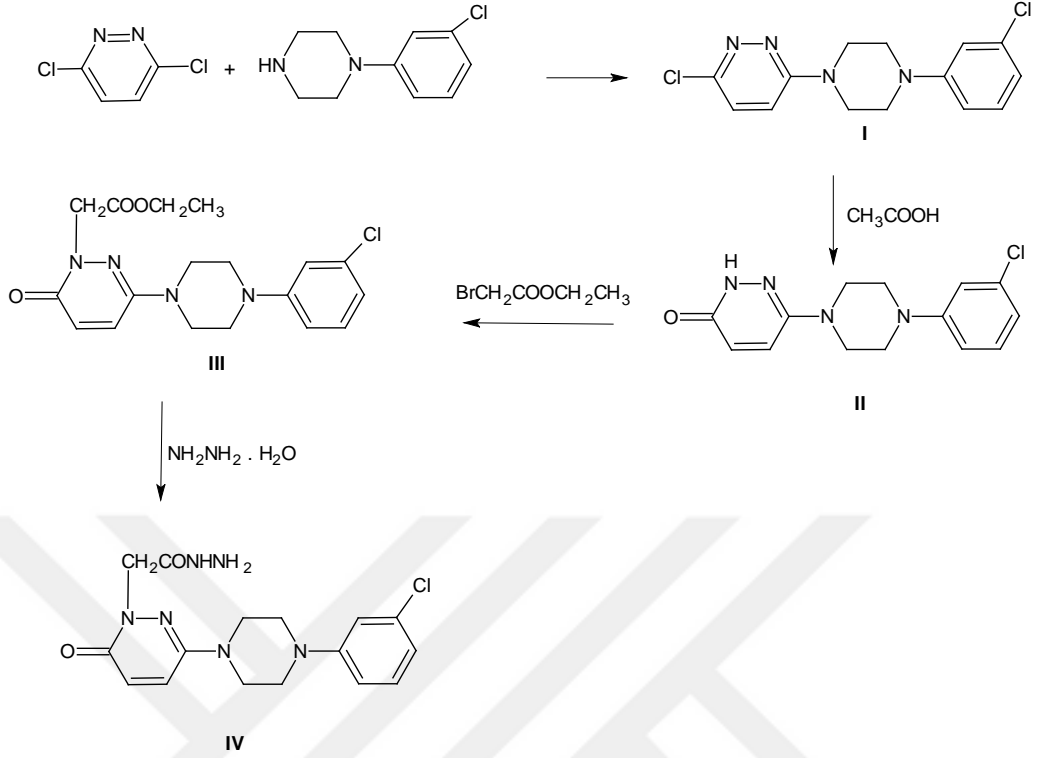
3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

Çalışmaya; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı stoklarında bulunan birinci seçenek anti-TB ilaçların en az ikisine rezistan olduğu tespit edilen 5 şuş ile birinci seçenek anti-TB ilaçlara sensitif olduğu bilinen 5 şuş ve bir standart *M. tuberculosis* şuşu (H37Rv) olmak üzere toplam 11 *M. tuberculosis* şuşu çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. *In Vitro* Aktivitesi Araştırılacak Maddelerin Sentezi

Antitüberküloz aktivitesi test edilecek 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV türevlerinin sentezi Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı ve Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.



Piridazin türevlerinin sentezi

3-kloro-6süstitüepiridazin I Türevlerinin Sentezi

0,05 mol 3,6-dikloropiradazin ve 0,055 mol aril piperazin türevi 30 ml etanol içinde 3 saat reşax edilmiştir. Etanol kısmen yoğunlaştırılmıştır ve soğutulmuştur. Çöken kısım vakumda altında süzölmüş ve kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Böylece toz haline gelen 3-kloro-6süstitüepiridazin I türevi falkon tüpüne konulmuş üzeri uygun şekilde etiketlenerek daha sonra kullanılmak üzere kaldırılmıştır.

6-Süstitüe-3(2H)-pidazinon II Türevlerinin Sentezi

0,01 mol 3-kloro-6süstitüepiridazin I türevleri 20 ml glasiyel asetik asit içinde ekimolar miktarda sodyum asetat varlığında 6 saat reşax yapılmıştır. Sodyum asetat hemen süzölmüştür, kalan sıvı kısım bir gece soğutulmuştur. Ertesi gün 15 ml buzlu su içerisi dökölmüştür. Buzlu su içerisinde çökelti oluşuncaya kadar bekletilmiştir ve

çökelti oluştuktan sonra çöken kısım süzülerek su ile iyice yıkanmıştır. Böylece toz haline gelen 6-Süstitüe-3(2H)-pidazinon II türevi falkon tüpüne konulmuş üzeri uygun şekilde etiketlenerek daha sonra kullanılmak üzere kaldırılmıştır.

Etil 6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat/propiyonat III Türevlerinin Sentezi

0,01 mol 6-substitüe-3(2H)-pyridazinon (II), 0,02 mol etil bromoasetat veya etilbromopropiyonat ve 0,02 mol potasyum karbonat 40 mL N,N-dimetilformamid içerisinde 24 saat reşak edilmiştir. Süre sonunda soğutulmuştur ve organik tuz süzülerek uzaklaştırılmıştır. Solvent uçurulmuştur ve kalan bakiye alkolden kristallendirilmiştir. Böylece toz haline gelen Etil 6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat/propiyonat III falkon tüpüne konulmuş üzeri uygun şekilde etiketlenerek daha sonra kullanılmak üzere kaldırılmıştır.

6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV Türevlerinin Sentezi

0,01 mol Etil 6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat/propiyonat III'ün metanoldeki çözeltisi üzerine 3 mL hidrazin hidrat (%99) ilave edilerek 3 saat reşak edilmiştir. Bir gece buzdolabında +4 °C de bekletildikten sonra süzölmüşür. Süzöntü su ile yıkanarak temizlenmiştir. Böylece toz haline gelen 6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV falkon tüpüne konulmuş üzeri uygun şekilde etiketlenerek daha sonra kullanılmak üzere kaldırılmıştır.

3.2.1. Yeni Sentezlenen Maddelerin Çalışma İçin Hazırlanması

Ependorf tüplerin üzerine tarih, analiz yapan kişi ve yeni sentezlenen hidrazit türevlerinin sıra ile isimleri yazılarak spor üzerine dizilmiştir. Daha sonra toz halinde sentezlenen antibiyotikler ependorf tüplere 1 mg tartılarak her birinin üzerine 1 ml

dimetil sülfoksit (Dimethyl sulfoxide-DMSO) eklenmiştir ve iyice vortekslenerek toz partükülleri halindeki hidrazit türevlerinin iyice çözünmesi sağlanmıştır. Çözülen bu ilaçlar 0,2 µm çapında filtrelerden geçirilerek steril edilmiştir.

3.3. Kullanılan Besiyerleri

3.3.1. LJ Besiyerinin Hazırlanması

Terazinin denge ayarı control edildikten sonar tartım kağıdı terazi üzerine yerleştirilerek darası alınmış ve toz LJ (Merck, Germany) besiyeri 37,5 gr tartılarak erlene aktarılmıştır. Besiyerinin üzerine 600 ml distile su ile 12 ml gliserol eklendikten sonra homojenize olana kadar karıştırılarak otoklava yerleştirilmiştir. 121°C’de 15 dakika 1 atmosfer basınçta otoklavda steril edilen besiyeri benmaride 50°C’ye kadar soğutulmuştur. Yumurtalar önce %2’lik iyotla daha sonra alkol (%70’lik etil alkol) ile silinmiştir. Steril edilmiş uygun büyüklükte bir erlen içerisinde steril boncuklar konmuş, Steril pens ile yumurtalar uç tarafından kırılan yumurta erlen içerisine aktarılıp homojenize edilmiştir. 1000 ml hacimde, homojenize ve filtre edilen yumurtalar, otoklanan besiyerine ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri önceden hazırlanan steril tüplere 5’er ml dağıtılmıştır. Tüpler koagülatörde, 80°C’de 45 derece açı oluşturacak şekilde eğik olarak yerleştirilerek 45 dakika koagüle edilmiştir. Besiyerlerinin sterilite kontrolü için ekim yapılmamış bir adet LJ besiyeri 37°C’de inkübatörde 2-3 gün bekletilmiştir ve süre sonunda kontaminasyon kontrolü yapılmıştır. Hazırlanan bu besiyerinin kalite kontrolü standart suşlarla [*M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294), *M. fortuitum* (ATCC 6841), *M. kansasii* (ATCC12478)] yapılmıştır. Hazırlanan LJ besiyerlerine ekim yapılan standart suşlar 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda LJ besiyerinde üreme gözlenmiştir. Besiyeri sterilite kontrolü uygun olan besiyerleri daha sonra kullanılmak üzere +4°C’da saklanmıştır. Besiyeri sterilite kontrolü uygun olmayan LJ besiyeri ise çöpe atılarak besiyeri tekrar hazırlanmıştır.

3.3.2. Middlebrook 7H9 Agar Besiyerinin Hazırlanması

Terazinin denge ayarı kontrol edildikten sonra tartım kağıdı terazi üzerine yerleştirilerek darası alınmış ticari olarak temin edilen Middlebrook 7H9 (Difco Becton Dickinson and Company, USA) besiyerinin 4,7 gramı cam balona aktarılmıştır. Üzerine 2 ml gliserol ve 900 ml distile su eklenmiştir ve otoklavda 121°C' de 15 dakika tutularak steril edilmiştir. Besiyerinin 50-55°C'ye gelinceye kadar soğuması beklenerek içerisine 100 ml oleik asit-albümin-dekstroz-katalaz (OADC) eklenmiştir. Hazırlanan besiyerleri daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına kaldırılmıştır.

3.3.3. Middlebrook 7H10 Agar Besiyerinin Hazırlanması

Terazinin denge ayarı kontrol edildikten sonra tartım kağıdı terazi üzerine yerleştirilerek darası alınmış ticari olarak temin edilen Middlebrook 7H10 (Difco Becton Dickinson and Company, USA) agar toz haldeki besiyerinin 19 gr'ı bir balon jojeye aktarılmıştır ve üzerine 5 ml gliserol ve 900 ml distile su eklenmiştir. Otoklavda 121°C de 15 dakika 1 atmosfer basınçta tutularak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besiyeri benmaride 50-55°C'ye kadar soğutulduktan sonra içerisine 100 ml OADC supplement eklenmiştir. İlaçsız besiyeri steril vida kapaklı tüplere 3'er ml olacak şekilde dağıtılmıştır ve eğik bir şekilde katılaşması için bekletilmiştir. Aynı şekilde ilaçlı besiyeri hazırlanırken otoklavdan çıkan ve OADC eklenmiş olan besiyerine son konsantrasyonu 2,5, 5, 10, 20 ve 40 µg/ml olacak şekilde hazırlanan yeni sentezlenen ilaçlar eklenmiştir. Steril vida kapaklı tüplere 3'er ml olacak şekilde dağıtılarak yine eğik bir şekilde katılaşması için bırakılmıştır. Hazırlanan besiyerleri kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

4. Yöntemler

4.1.1 Agar Proporsiyon Yöntemi İçin İnokulumun Hazırlanması

Laboratuvar çalışmaları başlamadan önce tüm yüzeyler, kullanılacak malzemeler %10'luk sodyum hidroksitle temizlenmiştir. Steril bir atık kabı içerisine 15- 20 ml kadar %10'luk sodyum hidroksit ilave edilerek biyogüvenlik kabinin içerisine bırakılmıştır. Çalışma öncesinde biyogüvenlik kabini 2 saat UV'ye maruz bırakılmıştır.

Mikrobiyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan 10 klinik ve bir standart suş çalışma esnasında kullanılmak üzere sıraya dizilmiş ve numaralandırılmıştır. Stok kültürlerden kabin içerisinde LJ besiyerlerine öze yardımı ile çizgi ekim şeklinde pasajlanmıştır. Besiyerleri 37°C de inkübasyona bırakılmıştır. Ekim işlemleri sonrasında biyogüvenlik kabininin içerisi ve temas edilen tüm yüzeyler %10'luk sodyum hipoklorid ile steril edilmiştir. Atık kabı otoklavlanmak üzere kaldırılmıştır. Üreme kontrolleri için haftada iki kez LJ besiyeri incelenmiştir.

Her örnek için iki antibiyotiksiz ve birer antibiyotikli besiyeri (antimikobakteriyel etkinliği araştırılacak olan her madde için bir besiyeri) hazırlandı.

Antibiyotiksiz besiyerlerine Mcfarland 1 bakteri süspansiyonu 10-2 ve 10-4 olacak şekilde sulandırılarak 0,3'er ml şeklinde tüm örneklerin ekimleri yapıldı. 37 °C'de 4 hafta inkübasyona bırakıldı.

Antibiyotikli besiyerine Mcfarland 1 bakteri süspansiyonları 10-2 olacak şekilde sulandırılarak 0,3'er ml şeklinde tüm örneklerin ekimleri yapıldı. 37 °C'de 4 hafta inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda üremeyi 100 kattan daha fazla engelleyenler sensitif 100 kattan daha az engelleyenler rezistan olarak yorumlandı (üreme oranı %1; dirençli).

4.1.1.2 EZN Boyama Yöntemi

EZN boyama yöntemi; LJ besiyerinde 3 hafta sonrasında üreyen koloniler üzerinde yeni sentezlenen ilaçların etkisini doğru olarak belirlememiz için saf koloniler ile çalışmamız gerekmektedir. Ayrıca LJ besiyerinde üreyen kolonilerin *M. tuberculosis* kolonisi olup olmadığını anlamak için EZN boyama ile hazırlanmış preparatlarda tipik pembe basiller gözlenmesi koloninin saf olduğunu göstermektedir. Örneğin; saf kültürler pasaj esnasında herhangi havadan bulaşan kontaminasyon sonucunda LJ besiyerinde *M. tuberculosis* kolonileri dışında üreme gözlenebilir.

EZN boyama yöntemi, lamın bir ucuna hastanın adı ya da protokol numarası yazılmıştır ve lamın ortasına bir damla saf su damlatılmıştır. Daha sonra bir öze dolusu koloni alınarak, lamdaki saf su üzerinde 1-2x2-3 cm çapındaki hayali bir oval alana, sürekli dairesel hareketler ile yayılmıştır. Havada kurutulduktan sonra 3-4 kez alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Tespit edilen lam üzerine öncelikle filtreden geçirilen karbol fuksin çözeltilisinden dökülmüştür. Tespit edilen preparatların üzerine eklenen karbol fuksin boya ile birlikte 5 dakika boyunca buhar çıkacak ancak kaynamayacak şekilde alttan ısıtılmıştır. Isıtma sırasında preparat üzerinde buharlaşmadan dolayı boya azalması olursa, lam yüzeyini tamamen örtecek şekilde karbol fuksin eklenmiş ve ısıtma işlemine devam edilmiştir.

Beş dakikanın sonunda fazla boyayı preparat üzerinden atmak için lamlar eğilmiştir ve daha sonra tazikli olmayan saf su ile lamlar yıkanmıştır. Bu işlemin ardından preparat üzerinden saf suyun kalanı aynı şekilde lamlar eğilerek süzöldükten sonra lamların üzerine %3'lük asit alkol çözeltilisi tamamen lamı kaplayacak şekilde dökülmüştür, preparat en fazla 3 dakika (ilk rengini kaybedinceye kadar) bekletilmiştir. Süre sonunda lamlar eğilerek asit alkolün fazla kısmı atılmıştır ve daha sonra tazikli olmayan saf su ile lamlar yıkanmıştır. Yıkama işlemini sırasında asit alkolün preparat üzerinden tamamen gitmiş olmasına dikkat edilmiştir. Ardından preparatların üzerine metilen mavisi akıtılmıştır (3 dakika). Süre bitiminde saf su ile lamların üzerindeki fazla boyalar yıkandıktan sonra lamlar dik olarak kurumaya bırakılmıştır. Preparatların materyal olmayan boyalı kısmı temiz bir bez ile iyice temizlenerek preparatların materyal olan kısmına bir damla immersiyon yağı damlatılmıştır. Preparatlar önce 10X oküler ardından 100X objektif olmak üzere toplam 1000 kat büyütme altında taranmıştır. En az yüz 100 mikroskop alanı taranmıştır ve ARB'ler, boyalı preparatlarda mavi zeminde pembe-kırmızı renkte görünürler. Mavi zemin üzerinde pembe-kırmızı renkte basillerin dışında başka bakterial forma rastlanmamıştır (LJ besiyerinde üreme gözlenen tüm suşların saf olduğunu göstermektedir).

2.1.13 Agar proporsiyon yönteminin hazırlanması

Çalıştığımız suşların yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı direnç ya da sensitif olarak tanımlanabilmesi için, hidrazit türevlerinin konsantrasyonunu ve besiyerine ekilen bakteri miktarının önceden tayin edilmesi gerekmektedir.

UV ile steril edilen kabin içerisine LJ besiyerini içeren spor yerleştirilmiştir. Her bir tüpe eşit olarak 10 ml'lik bir tüp alınarak üreme olan besiyerlerine paralel şekilde spora dizilmiştir ve 10 ml'lik tüp üzerine tarih, analiz yapan kişi ve sıra numarası yazılmış ve daha sonra her bir tüp içerisine 5 ml steril %0,85'lik serum fizyolojik (SF) ve cam boncuk konulmuştur.

Her bir hasta için LJ besiyerinde saf olarak üremiş olan koloniler, öze ile alınarak içerisinde 5 ml steril SF ve cam boncuk bulunan 10 ml'lik steril tüp içerisinde süspanse edilmiştir. Daha sonra tüplerin ağzı kapatılıp 1 dakika boyunca vorteks ile iyice karıştırılarak süspanسیون sırasında besiyeri ile birlikte alınan koloninin besiyerinden ayrılması ve koloninin küçük parçalar halinde ayrılması sağlanmıştır. Bu işlemden sonra vortekslenen tüpler hareket ettirilmeden 30 dakika bekletilerek büyük partiküllerin ve besiyeri kalıntılarının dip kısma çökmesi sağlanmıştır. Bekleme süresinin sonunda hazırlanan süspanسیونun üst kısmından steril pipet ile 1 ml yeni bir temiz tüpe alınarak üzerine SF eklenerek 1.0 McFarland bulanıklık değerinde süspanسیون elde edilmiştir.

Kritik konsantrasyonun belirlenmesi için besiyerine ekilen bakteri sayısını belirleyebilmek için bakteri 1.0 McFarland standart bulanık kullanılmıştır (1.0 McFarland standart bulanıklık 200-300 koloniye karşılık gelmektedir). Spor üzerine tüpler dizilmiştir ve üzerine 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} yazılmıştır ve her bir tüpe 9 ml SF eklenmiştir. 1.0 McFarland standart bulanıklığa getirilen suşu içeren tüpten 1 ml alınarak 10^{-1} yazan tüpe pipetaj yapılmıştır ve iyice vortekslenmiştir. Böylece 10^{-1} standart bulanıkta suş elde edilmiştir. Daha sonra 10^{-1} standart suşundan 1 ml alınarak sırası ile 10^{-2} tüpüne aktarılmıştır ve iyice vortekslenmiştir. Aynı şekilde işlem tekrar edilerek her bir hasta suşu için 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Sensitiflik testi için ekim, aynı hasta suşunun 10^{-2} ve 10^{-4} sulandırımından ilaçlı besiyerlerine(daha önceden 2.5, 5, 10, 20 ve 40 µg/ml konsantrasyonlarında yeni sentezlenen ilaç içeren) ve ilaçsız besiyerine 100 µl olacak şekilde insülin enjektörü ile inoküle edilmiştir. İlaçsız besiyeri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Kontaminasyon kontrolü için çalışılan her suş aynı zamanda çikolata/kanlı agar besiyerine de ekilmiştir. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılarak içerisindeki inokulumun besiyeri yüzeyine tamamen

yayılması sağlanarak, tütün kapağı tekrar gevşetilerek 45° açılı pozisyonda sporlara dizilmiştir ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Ekim işlemleri sonrasında biyogüvenlik kabininin içerisi ve temas edilen tüm yüzeyler %10'luk sodyum hipoklorid ile steril edilmiştir. İnkübasyonun 1. ve 2. gününde çikolata/kanlı agar ve ekim yapılan tüpler kontaminasyon yönünden incelenmiştir. Çikolata/kanlı agar besiyerinde üreme olması kontaminasyon varlığını göstermektedir. Kontamine besiyerleri yeni sentezlenen ilaça karşı mikobakterler üzerindeki etkisini belirlemede uygulanan testin geçerli olmamasını sağlar. Kontaminasyon saptanması durumunda çalışma tekrar edilmiştir. Değerlendirmede, ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerinde üremeler haftada bir kez kontrol edilmiştir ve 3. hafta sonunda üreme olan tüplerdeki koloniler etki ettikleri doz ve ilaçlı besiyerinin içerdiği konsantrasyon not edilmiştir. (Esen, 2003).

2.1.1. Alamar mavisi yönteminin hazırlanması

Bu yöntem, ilaç sensitifliğini saptamada altın standart olarak kullanılan agar proporsiyon yöntemine alternatif olarak mikobakterilerin ilaç sensitifliğini belirlemede daha hızlı bir yöntem olmasından dolayı çalışılmıştır. Çalışmamız her iki yöntem arasındaki kritik konsantrasyon arasındaki uyumu belirlemek için bakteri süspansiyonu, agar proporsiyon yönteminde olduğu gibi LJ besiyerine stok kültürden pasajlanan suşlar EZN boyama yöntemi ile saflık kontrolü yapıldıktan sonra saf olan suşlardan hazırlanmıştır. Yine agar proporsiyon yöntemindeki gibi saf olan suşlardan 10⁻² dilüsyon hazırlanmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce çalışılacak tüm yüzey ve malzemeler %10'luk sodyum hipoklorid ile steril edilmiştir ve kullanılacak tüm steril malzemeler biyogüvenlik kabini içerisinde açılmıştır.

Steril 96 kuyucuklu mikroplaklara sırası ile hasta numaraları, tarih ve analizi yapan kişi yazılmıştır ve mikroplakların tamamına, her ilaç için bir pozitif, bir negatif kontrol eklenmiş ve test edilen maddelerin dilüsyonu 100-0,39 µg/ml olacak şekilde kuyucuklarda yapılmıştır. Bu yöntemde, testin güvenilirliğini belirlemede pozitif kontrol olarak standart ilaç tercih edilmiştir. Standart ilaç olarak izoniyazid (32 µg/ml)

kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak bakteri süspansiyonu ve herhangi bir ilaç içermeyen kuyucuk kullanılmıştır.

Test edilen yeni sentezlenen anti-TB maddelerin ve izoniyazid dilüsyonu yapıldıktan sonra negatif kontrol kuyucuğu hariç, pozitif kontrol kuyucuğu da dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 100 µl daha önceden hazırlanan standart suşun süspansiyonu dağıtılmıştır. Plakların kapakları kapatılıp buharlaşmanın önlenmesi için kenarları parafilm ile kapatıldıktan sonra 37°C’de beş gün inkübe edilmiştir. Her bir hasta için bu işlem tekrarlanmıştır. Beşinci günün sonunda pozitif kontrolün bulunduğu kuyucuğa 1:1 olacak şekilde hazırlanmış 20 µl rezasurin (Alamar mavisi, Accumed International, Westlake, Ohio) eklenerek bir gece 37°C’de inkübe edilmiştir (NCCLS, 2002). Rengin maviden pembeye dönmesi üreme olduğunu göstermektedir. Pozitif kontrol kuyusunda renk değişimi gözleendiğinde, diğer kuyucuklara 20 µl rezasurin eklenip bir gece daha 37°C’de inkübe edilmiştir.

Rengin maviden pembeye döndüğü en son kuyucuk üreme olduğunu, o kuyucuktaki ilaç konsantrasyonuna karşı bakterinin rezistanolduğunu göstermektedir (NCCLS, 2002).

5. BULGULAR

Klinik örneklerden izole edilen suşların en az iki en çok üç anti-TB’ye rezistanolduğu, suşların yarısının izoniazid’e rezistanolduğu ve tüm suşların da etambutole sensitif olduğu gözleendi. BACTEC MGIT 960 sistemi ile elde edilen anti-TB ilaçlara karşı sensitiflik için diğer sonuçlar Çizelge 3.1’de özetlendi.

Çizelge 3.1: Çalışmaya dahil edilen hastaların BACTEC MGIT 960 sistemi ile birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı sensitiflik paterni

Suş No	BACTEC MGIT 960			
	Streptomisin (1 µg/ml)	İzoniazid (0,1 µg/ml)	Rifampisin (1 µg/ml)	Etambutol (5 µg/ml)
1	Sensitif	Sensitif	Sensitif	Sensitif
2	Sensitif	Sensitif	Sensitif	Sensitif
3	Sensitif	Sensitif	Sensitif	Sensitif
4	Sensitif	Sensitif	Sensitif	Sensitif
5	Sensitif	Sensitif	Sensitif	Sensitif
6	Rezistan	Rezistan	Sensitif	Sensitif
7	Sensitif	Rezistan	Rezistan	Sensitif
8	Rezistan	Rezistan	Sensitif	Sensitif
9	Rezistan	Rezistan	Rezistan	Sensitif
10	Rezistan	Rezistan	Sensitif	Sensitif

İlaç Sensitiflik Test Sonuçları

Çizelge 3.2’te çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntem 1. maddeye (3-kloro-6sübtitüepiridazin I Türevi) karşı sensitiflik patern sonuçları belirtilmiştir.

Çizelge 3.2: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 1. maddeye karşı sensitiflik paternleri

1. madde (3-kloro-6sübtitüepiridazin I Türevi)												
10 ⁻² Dilüsyon							10 ⁻⁴ Dilüsyon					
	Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)				
		2,5	5	10	20	40		2,5	5	10	20	40
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B.O.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmaya dahil edilen hastalardan sadece 5 tanesi, 1. maddeye karşı 10^{-4} dilüsyonunda $40 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda sensitiflik göstermiştir.

Yapılan çalışmada 1. maddeye karşı sensitiflik gösteren hastaların hepsi birincil seçenek ilaçlara karşı olan sensitiflik-direnç durumları incelendiğinde, birinci seçenek ilaçlara karşı sensitif oldukları görülmektedir.

Çalışmada ele alınan hasta suşlarının, birinci seçenek ilaçlardan herhangi ikisine rezistanve tümüne direnç gösteren suşlar 1. maddeye karşıda direnç gösterdiği görülmektedir.

A.T. isimli hastadan izole edilen *M. tuberculosis* suşunun 1. madde, 10^{-2} dilüsyonunun sağdan sırasıyla 10, 20, 40 konstrasyonunda Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü Şekil 3.1’da belirtilmiştir.



Şekil 3.1: *M. tuberculosis* suşunun 1. madde, 10^{-2} dilüsyonunun sağdan sırasıyla 10, 20, 40 konstrasyonunda Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü

Çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntem 2. maddeye (6-Süstitüe-3(2H)-pidazinon II Türevi) karşı sensitiflik patern sonuçları Çizelge 3.3’da belirtilmiştir.

Çizelge 3.3: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 2. maddeye karşı sensitiflik paternleri

(6-Süstitüe-3(2H)-pidazinon II Türevi)												
10 ⁻² Dilüsyon							10 ⁻⁴ Dilüsyon					
Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					
	2,5	5	10	20	40		2,5	5	10	20	40	
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
B.O.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmaya alınan suşlardan yeni sentezlenen 2. madde karşı 10^{-4} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonunda sadece bir hastanın sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Sensitiflik gösteren hastanın birinci seçenek ilaçların hepsine sensitif olduğu görülmektedir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntem 3. maddeye (Etil 6-süstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il asetat/propiyonat III Türevi) karşı sensitiflik patern sonuçları Çizelge 3.4’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 3. maddeye karşı sensitiflik paternleri

(Etil 6-süstitüe-3(2H)-pridazinon-2-il asetat/propiyonat III Türevi)												
10 ⁻² Dilüsyon							10 ⁻⁴ Dilüsyon					
	Kontro 1	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					Kontro 1	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)				
		2,5	5	10	20	40		2,5	5	10	20	40
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
B.O.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşıda sensitif olan iki hasta suşunun, yeni sentezlenen 3. maddeye karşı 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarının $40 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte çalışma sonuçları incelenmeye devam edildiğinde 3. madde karşı 10^{-4} dilüsyonunda $40 \mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda bir hasta suşunun daha yeni sentezlenen ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Sensitiflik gösteren M.K'nın birinci seçenek ilaçlara karşı da sensitiflik göstermiştir.

M.K.S isimli hastadan izole edilen *M. tuberculosis* suşunun 10^{-4} dilüsyonda 10 konstrasyonunda 3. madde bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü Şekil 3.2'da belirtilmiştir.



Şekil 3.2: *M. tuberculosis* suşunun 10^{-4} dilüsyonda 10 konstrasyonunda 3. madde bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü

Çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntem 4. maddeye (6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV Türevi) karşı sensitiflik patern sonuçları Çizelge 3.5'de belirtilmiştir.

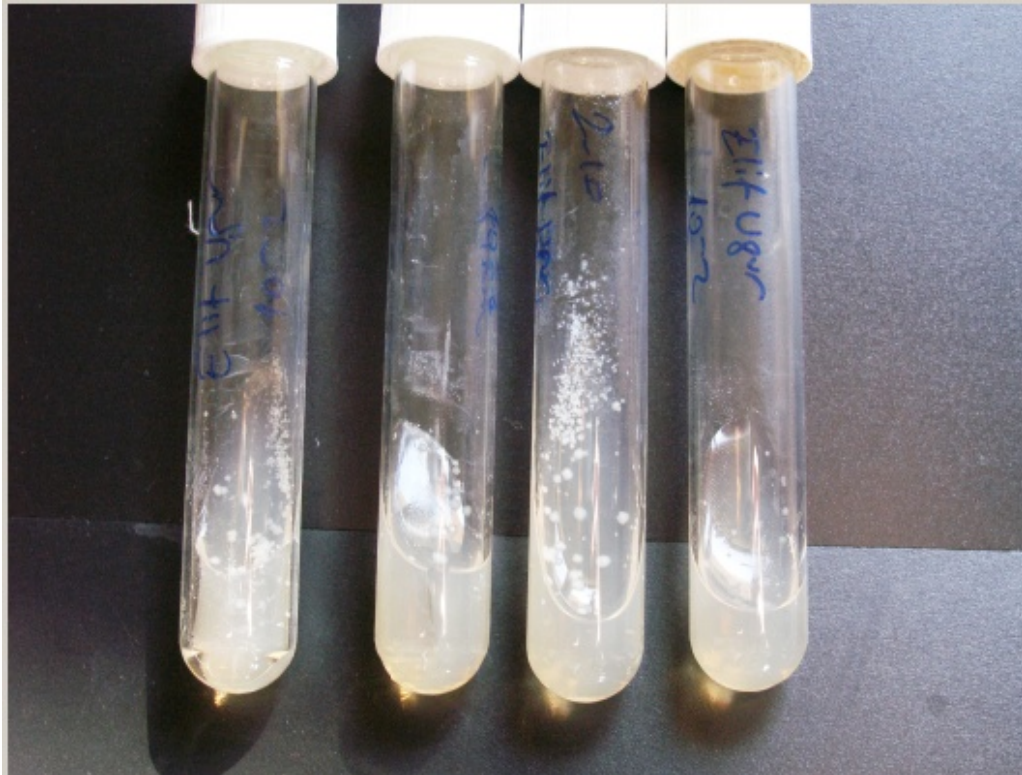
Çizelge 3.5: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların agar proporsiyon yöntemi ile 4. maddeye karşı sensitiflik paternleri

(6-süstitüie-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV Türevi)												
10 ⁻² Dilüsyon							10 ⁻⁴ Dilüsyon					
Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					Kontrol	İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)					
	2,5	5	10	20	40		2,5	5	10	20	40	
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
B.O.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
M.K.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşı da sensitif olan üç hasta (D.K, B.O, M.K) suşunun, yeni sentezlenen 4. madde karşı 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyonlarının 40 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte çalışma sonuçları incelenmeye devam edildiğinde 4. madde karşı 10^{-4} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonunda üç hasta (M.K.S, H.İ.G, R.K) suşunun daha yeni sentezlenen ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir. Yeni sentezlenen 4. maddeye karşı sensitiflik gösteren M.K.S, H.İ.G ve R.K'nın birinci seçenek ilaçlardan RİF ve EMB' e karşı da sensitiflik gösterdiği bilinmektedir.

E.U. isimli hastadan izole edilen *M. tuberculosis* suşunun 10^{-2} dilüsyonda 2,5 µg/ml konsantrasyonunda sağdan sırasıyla 1, 2, 3 ve 4. maddeler bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü Şekil 3.3'de belirtilmiştir.



Şekil 3.3: *M. tuberculosis* suşunun 10^{-2} dilüsyonda 2,5 µg/ml konsantrasyonunda sağdan sırasıyla 1, 2, 3 ve 4. maddeler bulunan Middlebrook 7H10 besiyerindeki görüntüsü

Agar proporsiyon yöntemi ile yapmış olduğumuz çalışma sonucunda elde ettiğimiz verileri genel olarak değerlendirdiğimizde; çalışmada kontrolların rezistançlığını (buda yapılan çalışmanın doğruluğunu göstermektedir) ve 40 µg/ml

konstrasyonunda yeni sentezlenen hidrazit türevine karşı, çalışmada kullanılan 10 *M. tuberculosis* suşunun göstermiş olduğu sensitiflikler Çizelge 3.6'da gösterilmektedir (çalışmada kullanılan diğer konsantrasyonlarda sensitiflik gösteren suş olmadığı için Çizelgeye dahil edilmemiştir).

Çizelge 3.6: Yeni sentezlenen hidrazit türevlerinin 40 µg/ml konsantrasyonunda direnç ve sensitiflikleri.

	BACTEC MGIT 960				10 ⁻² Dilüsyon				10 ⁻⁴ Dilüsyon			
	SM (1 µg/ml)	INH (0,1 µg/ml)	RİF(1 µg/ml)	EMB (5 µg/ml)	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde
E.U.	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
D.K.	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
B.O.	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
M.K.	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
U.K. T.	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
M.K. S.	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
A.T.	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G .	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
H.K.	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışma sonucunda tüm suşların sensitiflik gösterdiği tek konsantrasyon olan 40 µg/ml için sonuçlara bakıldığında birinci seçenek antibiyotiklere karşı sensitif olarak seçilen suşlar dan E.U hastasına ait *M. tuberculosis* suşu ise 1. maddeye 10^{-4} dilüsyonunda sensitif iken diğer maddelere ve dilüsyonlarına karşı direnç gösterdiği görülmektedir.

Çalışmanın sonuçları incelenmeye devam edildiğinde ise D.K' ya ait *M. tuberculosis* suşu 10^{-2} dilüsyonunda sadece 1, 2 ve 3. maddeye karşı direnç göstermektedir ancak konsantrasyon oranı azaltıldığında ise sensitiflik göstermekte olduğu görülmektedir.

Bunlara ek olarak yine birinci seçenek ilaçlara sensitif olan M.K ve B.O ye ait suşlar 1. madde için 10^{-2} dilüsyonunda sensitiflik gösterirken 3 ve 4. maddeler için ise 10^{-4} dilüsyonunda sensitiflik göstermektedir.

Birinci seçenek ilaçlara sensitif olarak seçilen son U.K.T. suşu ise yapılan çalışmada sadece 1. maddeye 10^{-2} dilüsyonunda sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Elde edilen sonuçlara göre birincil seçenek ilaçlardan en az ikisine rezistan olarak seçilen 5 *M. tuberculosis* suşu ise M.K.S, H.İ.G ve R.K hastalarına ait suşlarının sadece 4. maddeye karşı 10^{-4} dilüsyonunda sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmada elde edilen veriler neticesinde yeni sentezlenen ilaçlara karşı yapılan dilüsyon ve konsantrasyonlarda direnç gösteren A.T ve R.K suşlarının ortak özelliği olarak RİF direncinin olduğu görülmektedir.

Alamar mavisi Test Sonuçları

Alamar mavisi yöntemi ile yaptığımız çalışmaya dahil edilen, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na daha önceki yıllarda gelen örneklerden izole edilen ve BACTEC MGIT 960 sistemi ile birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı sensitiflik paternleri bilinen 10 hasta ve standart *M. tuberculosis* suşu (H37Rv) olmak üzere toplam 11 *M. tuberculosis* suşu LJ besiyerinde agar proporsiyon yönteminde olduğu gibi LJ besiyerinde aktiveleştirildi. Alamar mavisi yöntemi yukarıda anlatıldığı gibi uygulandı ve yeni sentezlenen ilaca hidrazit türevine

karşı suşların göstermiş oldukları direnç ve sensitiflik sonuçları Çizelge 3.7’den Çizelge 3.7’ e kadar belirtilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşunun 1. Hidrazit türevine karşı göstermiş oldukları sensitiflik paternleri Çizelge 3.7’da belirtilmiştir.

Çizelge 3.7: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 1. maddeye karşı sensitiflik paternleri

	3-kloro-6-sübstitüepridazin I Türevi İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)								
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	0,39
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B.O.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Alamar mavisi yöntemiyle yaptığımız çalışma sonucunda 1. maddeye karşı 10^{-2} dilüsyonunda çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşuda direnç göstermiştir.

Çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşunun 2. maddeye karşı göstermiş oldukları sensitiflik paternleri Çizelge 3.8’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.8: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 2. maddeye karşı sensitiflik paternleri

	6-Süstitüe-3(2H)-pidazinon II Türevi İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)								
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	0,39
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B.O.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Alamar mavisi yöntemiyle, 11 *M. tuberculosis* suş üzerinde yapılan çalışma sonucunda 2. maddeye rezistan olduğu görülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşunun 3. maddeye karşı göstermiş oldukları sensitiflik paternleri Çizelge 3.9’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.9: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 3. maddeye karşı sensitiflik paternleri

	Etil 6-süstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat/propiyonat III Türevi İlaç Konsantrasyonu (µg/ml)								
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	0,39
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	-	-	+	+	+	+	+	+	+
B.O.	-	-	+	+	+	+	+	+	+
M.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşıda sensitif olan iki hasta suşunun (D.K,B.O), yeni sentezlenen 3. madde karşı 10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmaya dahil edilen 11 *M. tuberculosis* suşunun 4. maddeye karşı göstermiş oldukları sensitiflik paternleri Çizelge 3.10'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.10: H37Rv ve çalışmaya dahil edilen hastaların alamar mavisi yöntemi ile 4. maddenin 10^{-2} dilüsyonuna karşı sensitiflik paternleri

6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il aseto/propiyonato Hidrazit IV Türevi İlaç Konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	0,39
H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D.K.	-	-	+	+	+	+	+	+	+
B.O.	-	-	+	+	+	+	+	+	+
M.K.	-	-	+	+	+	+	+	+	+
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Çalışmada elde edilen olgulara göre; birincil seçenek ilaçlara karşıda sensitif olan üç hasta suşunun (D.K,B.O, M.K), yeni sentezlenen 3. madde karşı alamar bleu yöntemiyle yapılan çalışmada 10^{-2} dilüsyonda 50 µg/ml konsantrasyonlarında ilaca karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Yapılan çalışma sonucunda seçilen *M. tuberculosis* suşları yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı direnç ve sensitiflikleri maddeler Çizelge 3.11'da gösterilmektedir. (Sensitiflik gösterdikleri en düşük konsantrasyon olan 50 µg/ml baz alınmıştır).

Çizelge 3.11: Alamar mavisi yöntemiyle 10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonunda yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı seçilen suşların direnç ve sensitiflik patentleri

	BACTEC MGIT 960				Agar proporsiyon yöntemi 10^{-2} Dilüsyon			
	SM (1 µg/ml)	INH (0,1 µg/ml)	RİF(1 µg/ml)	EMB (5 µg/ml)	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde
E.U.	-	-	-	-	+	+	+	+
D.K.	-	-	-	-	+	+	-	-
B.O.	-	-	-	-	+	+	-	-
M.K.	-	-	-	-	+	+	+	-
U.K.T.	-	-	-	-	+	+	+	+
M.K.S.	+	+	-	-	+	+	+	+
A.T.	-	+	+	-	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	-	-	+	+	+	+
H.K.	+	+	+	-	+	+	+	+
R.K.	+	+	-	-	+	+	+	+

+: Rezistan, -: Sensitif

Alamar mavisi yöntemiyle yapılan çalışma sonucunda birinci seçenek ilaçlara sensitif olan D.K ve B.O hastalarına ait suşlar 3 ve 4. maddeye karşı 50 µg/ml konsantrasyonda sensitiflik gösterdikleri görülmektedir, bununla birlikte yine

birinci seçenек ilaçlara sensitif olan M.K. hastasına ait suş ise sadece 4. maddeye karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir.

Yapılan çalışmada 10^{-2} dilüsyonunda çalışılan konsantrasyonlarda seçilen suşların direnç gösterdiği görülmektedir.

Seçilen 11 *M. tuberculosis* suşu üzerinde, farklı konsantrasyon ve dilüsyonlarda, klasik yöntem olan agar proporsiyon yöntemi ve alamar mavisi yöntemi ile çalışma sonucunda yeni sentezlenen hidrazit türevlerine karşı göstermiş oldukları ilaç sensitiflik patentleri Çizelge 3.12’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.12: Alamar mavisi yöntemi(10^{-2} dilüsyonunda 50 µg/ml konsantrasyonu) ile agar proporsiyon yönteminin(10^{-2} dilüsyonunda 40 µg/ml konsantrasyonu) karşılaştırılması

	Alamar mavisi Yöntemi				Agar Proporsiyon Yöntemi							
	10^{-2} Dilüsyon				10^{-2} Dilüsyon				10^{-4} Dilüsyon			
	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde	1. madde	2. madde	3. madde	4. madde
E.U.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
D.K.	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
B.O.	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
M.K.	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
U.K.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
M.K.S.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
A.T.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H.İ.G.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
H.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R.K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+: Rezistan, -: Sensitif

Yaptığımız çalışmada her iki yöntem arasında ilaç direnç patentlerinde yakın değerleri görülmektedir. Öncelikle 10^{-2} dilüsyonunda (eşit miktarlarda suş içeren) E.U ve U.K.T hastalarına ait suşlar ile çalışılan her iki yöntemlede 4 maddeye karşı dirençlilik göstermiştir. Ancak suşun konsantrasyonu azaltıldığında (10^{-4} dilüsyonunda) 1. maddeye karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir buradan da şu sonuca varılabilir bakteri konsantrasyonunun azalması ile anti-TB ilacın etkinliği artmaktadır. Buna benzer olarakta M.K.S, H.I.G ve R.K hastalarına ait suşlar 4. maddeye karşı 10^{-4} dilüsyonunda ilaca karşı sensitif olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmaya göre D.K ve B.O hastalarına ait suşlarına 3. madde, 40 µg/ml ilaç konsantrasyonunda ilaca karşı direnç gösterirken 50 µg/ml konsantrasyonda ise suşlar, ilaca karşı sensitif hale gelmektedir. Bu da ilaç konsantrasyonunun suş üzerindeki etkinliğini artırmada olan önemi görülmektedir. Ayrıca Çizelge 3.9 tekrar incelendiğinde, alamar mavisi yöntemin ile çalışılan 50 µg/ml den konsantrasyondan bir önceki konsantrasyon olan 25 µg/ml konsantrasyonda, D.K ve B.O ait suşlar 3. maddeye karşı direnç gösterdiği gözlenmiştir. D.K ve B.O'ya ait suşlar agar proporsiyon yöntemi ile Çizelge 3.4'de belirtildiği gibi 40 µg/ml konsantrasyonda 3. maddeye karşı rezistan gösterdiği görülmektedir. Tekrar Çizelge 3.9' ye dönüldüğünde ise 3. maddeye karşı 50 µg/ml konsantrasyonunda hasta suşları sensitiflik göstermekte olduğu görülmektedir. Buradan da agar proporsiyon yöntemini ve alamar mavisi yöntemi arasında suşlar üzerinde ilaç sensitiflik MİK hesaplanırken uyumlu bir sonuç elde edilebileceği sonucuna varılabilir. Buradan da her iki yöntem arasında MİK belirlemede uyum olduğu görülmektedir.

İki yöntem arasındaki uyumu gösteren diğer bir örnek ise 10^{-2} konsantrasyonunda, D.K ve B.O ait suşlar için 4. maddeye karşı göstermiş oldukları sensitiflik konsantrasyonunda görülmektedir. 25 µg/ml (Alamar mavisi yöntemini) de rezistan olan suşlar 40 µg/ml'de (Agar proporsiyon yöntemin) sensitiflik göstermektedir, 50 µg/ml (Alamar mavisi yöntemini) de sensitiflik gösterdiği yapılan çalışmada görülmektedir.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz verilere göre M.K' ya ait suş 10^{-2} konsantrasyonunda, D.K ve B.O hastalarına ait suşlar gibi sensitiflik gösterdiği

görülmektedir ve iki yöntem ile yapılan farklı konsantrasyonlarda göstermiş olduğu ilaç paterni iki yöntem arasındaki uyumu desteklemekte olduğu görülmektedir.

A.T ve H.K. suşları ile yaptığımız çalışmaya göre seçilen konsantrasyon ve dilüsyonlarda yeni sentezlenen ilaca karşı sensitiflik göstermemekte olduğu görülmektedir. Daha önceden de belirtildiği gibi A.T ve H.K. suşları seçilen suşlar arasında, RIF'e dirençlidir seçilen diğer suşlar ise RIF'e karşı sensitiflik gösterdiği daha önce yapılan çalışmadan bilinmektedir.

6. TARTIŞMA

Tüberküloz hastalığı, yaygınlığındaki artış ve kontrolündeki güçlükler nedeniyle son 20 yıldır dünyanın gündemine yeniden oturmuş bulunmaktadır. Günümüzde dünyada 2 milyardan fazla kişi *M. tuberculosis* basili ile enfektedir. Enfekte olan kişilerin onda birinde aktif tüberküloz ortaya çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre 2008 yılında 9,4 milyon yeni verem hastasının ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Bu tahminlere göre 2008 yılında 1,8 milyon kişi de verem hastalığına bağlı olarak ölmüştür.

Üç yüz milyon yıldan beri soyunu sürdüren verem basili, doğanın her yerinde, örneğin sularda, otlaklarda, toprakta, çamurda havada bulunur. Arkeolojik çalışmalar Avrupa'da sığırların ehlileştirilmesinin 9000 yıl önce başladığını, insanlar soğuk iklim şartları sebebiyle ısınabilme ve korunma amacıyla ehlileştirdikleri hayvanları ev ve ahırlarda barındırdıkları biliniyor. Aynı ortamı paylaşan insan ve hayvanlar yüzünden aslında sığırların basili insanlarda patojenite yapabilmek için mutasyon geçirerek *Mycobacterium humanus* dönüşmüş olduğu hipotezi ortaya atılmıştı (2). TB basilinin genomu açığa çıktıktan sonra anlaşıldı ki, *M. tuberculosis*, *M. bovis*'ten mutasyon sonucu gelişen bir bakteri değil, fakat, her iki bakteri de ortak bir atadan mutasyonlarla farklılaşmış iki türdür (3). Son yıllarda piridazin ve piridazinonların sentez ve özelliklerine karşı ilginin arttığı gözlemlenmiştir. Piridazin ve piridazinonların birçok biyolojik aktiviteleri mevcuttur. antitüberküloz antimikrobiyal, sahip olduğu rapor edilmiştir. Piridinler ve piridazinon'ların var önemli bir kısmı analjezik ve anti-

enflamatuar, antipiretik, herbisit, antiplatelet, antikanser, kardiyovasküler etkilerinin olduğu rapor edilmiştir.

3-Kloro-6-sübstitüepiridazin, 6-Sübstitüe-3(2h)Piridazinon Ve Etil 6-Sübstitüe-3(2h)-Pridazinon-2-İl Asetat Türevlerinin Anti-Tüberküloz Aktivitelerinin Araştırılması için yaptığımız bu çalışmada kullanılmış olan maddelere karşı sensitiflik ve dirençliliğin ortaya konması amaçlanmıştır.

Yaptığımız çalışmada her iki yöntem arasında ilaç direnç patentlerinde yakın değerleri görülmektedir. Bakteri konsantrasyonunun azalması ile anti-TB ilacın etkinliği artmaktadır. ilaç konsantrasyonunun suş üzerindeki etkinliğini artırmada olan önemi görülmektedir.

Agar proporsiyon yöntemini ve alamar mavisi yöntemi arasında suşlar üzerinde ilaç sensitiflik MİK hesaplanırken uyumlu bir sonuç elde edilebileceği sonucuna varılabilir. Buradan da her iki yöntem arasında MİK belirlemede uyum olduğu görülmektedir.

3-Kloro-6-sübstitüepiridazin, 6-Sübstitüe-3(2h)Piridazinon Ve Etil 6-Sübstitüe-3(2h)-Pridazinon-2-İl Asetat Türevlerinin Anti-Tüberküloz Aktivitelerinin Araştırılması ile ilgili yapı

Substitüe piridazin türevlerinin sentezlenmeleri, yapıları ve analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri ile ilgili Boissier et al. (1963); Gokce et al. (2001, 2004, 2005, 2009);

Islam M. ve arkadaşlarının Hindistan'da yapmış oldukları çalışmada bir dizi 6-substitüe phenyl-2-(3-substituted phenyl pyridazin-6-yl)-2,3,4,5-tetrahydropyridazin-3-sentez etmişlerdir. Uygun bir aromatik hidrokarbon süksinik anhidrit $AlCl_3$ varlığında β -aroil propionik asit elde etmek için reaksiyona girmiştir. Sentezlenen bileşiklerin in vitro antitüberküloz, antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri açısından incelenmişlerdir. Sonuçlar sentezlenen bileşiklerin uygun referans standartlarına göre sentezlenen bileşiklerin düşükten yüksek etkiliye olmak üzere etkinliklerini göstermiştir(46).

Gökçe M. ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada 6-sübstitüe piridazinon türevlerinin sentezlenmeleri ve anti-nosiseptif aktivitelerini incelemişlerdir. Modifiye Koster testinde farelerde 4-(4-florofenil) piperazin, Iif, en aktif bileşik olarak

bulunmuştur. Iid'nin dışındaki tüm bileşikler antinosiseptif aktivite testinde aspirinden daha etkin olduğu tespit edilmiştir(47).

Logu A. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı izonikotinoil hidrazonlarının yeni bir sınıfının aktivitesi tek başına ve izoniazid, rifampisin, etambutol, para-aminosalisilik asit ve klofazimine ile kombinasyon halinde kullanıldığında aktiviteyi araştırmışlardır. Yeni sınıf izonikotinilhidrazonların 6 derivativesinin *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294, izoniazid-rezistan *M. tuberculosis* ATCC 35822, rifampisin-rezistan ATCC 35838, pirazinamid-rezistan ATCC 35828, streptomisin-rezistan ATCC 35820 ve *M. tuberculosis*'in 16 klinik izolatına karşı aktiviteleri invitro olarak incelenmiştir. Çeşitli bileşikler hem ATCC suşlarına ve hem de klinik izolatlara karşı ilginç antimikobakteriyel aktiviteler gösterdi, ancak bu bileşiklerin izoniazid rezistan *M. tuberculosis*'e karşı daha az aktif olduğu görülmüştür. 5 izonicotinoylhidrazon derivesi ve rifampisin, etambutol, para-aminosalisilik asit, izoniazid ve klofazimin *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 ATCC ilaç rezistan suşlarına karşı da aynı zamanda incelenmişlerdir(48).

Rollas S. ve arkadaşları hidrazon derivelere biyolojik aktivitelerini incelemişlerdir. Antikonvülsan, antidepresan, analjezik, antiinflamatuvar, antiplatelet, antimalarial, antimikrobiyal, antimikobakteriyel, antitümöral, vazodilatör, antiviral ve antischistosomiasis aktiviteli yeni bileşiklerin geliştirilmesi konusuna oldukça büyük ilgi gösterilmektedir. Azometin -NHN=CH- protonuna sahip hidrazonların yeni ilaç gelişimi için önemli bir bileşik sınıfını oluşturmada olduklarını belirtmişlerdir. Bu nedenle, birçok araştırmacı, hedef yapılar olarak bu bileşikleri sentezlemiş ve bunların biyolojik aktivitelerini değerlendirdiklerini vurgulamışlardır. Bu gözlemler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip yeni hidrazonların geliştirilmesi için yol gösterici olmuştur(49).

Küçükgül SG. ve arkadaşları diflunisal hidrazid-hidrazonların biyolojik aktivitelerini ve sentezlenmelerini araştırmışlardır. Çeşitli diflunisal hidrazid-hidrazon türevleri, yani 2', 4'-difloro-4-hidroksibifenil-3-karboksilik asit [(5-nitro-2-furil / sübstitüe fenil) metilen] hidrazid (3a-) sentezlenmiştir. Metil 2', 4'-difloro-4-hidroksibifenil-3-karboksilik (1) ve 2', 4'-difloro-4-hidroksibifenil-3-karboksilik asit

hidrazid (2), aynı zamanda hem sentezlenmiş ve hem de ara bileşikler olarak kullanılmıştır. Sentezlenen tüm bileşikler *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv'e karşı antimikobakteriyel, çeşitli bakteri, mantar ve maya türlerine karşı antimikrobiyal karşı aktiviteleri açısından incelenmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin *M. tuberculosis* H37 Rv'nin % 12-34 oranında mikobakteriyel büyüme inhibisyonunu sağladığı bulunmuştur(50).

Pavan FG. ve arkadaşları tiyosemikarbazonlar, semicarbazones, ditiyokarbamatlar ve hidrazid / hidrazonlar: Anti-*Mycobacterium tuberculosis* ve sitotoksik etkileri adlı çalışmalarında bu bileşiklerden sentezlenmiş olan bileşiklerin antitüberküloz etkilerini incelemişlerdir. *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı, bu bileşiklerin minimal inhibitör konsantrasyonları (MIC) belirlenmiştir. En iyi bileşikler Tiyosemikarbazonlar (2, 3 ve 4) ve hidrazid / hidrazonlar (14, 15, 16 ve 18) olarak saptanmıştır. Antitüberküloz ilaç adayları olarak söz konusu bileşiklerin 1. Ve 2. Sıra ilaçlardan daha etkili oldukları savunulmuştur(51).

Sriram D. ve arkadaşları [(4-sub) fenil] -3- (4- {1 - [(piridin-4-karbonil) hidrazon] etil} fenil) tiyörelerinin bir kısmının invitro antitüberküler aktivitesi ve sentezlenmelerini araştırmışlardır. Çeşitli izonikotinil hidrazonlar 1-(4-acetylphenyl)-3- [(4-sub)phenyl]thioureler ile izonikotinil hidrazitlerle (INH) reaksiyona sokularak hazırlanmışlardır ve *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv'e ve INH rezistan *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı BACTEC 460 radyometrik sistemi kullanılarak invitro antimikobakteriyel aktiviteleri açısından test edilmişlerdir. entezlenen bileşiklerin arasında, 1- (4-florofenil) -3- (4- {1 - [(piridin-4-karbonil) -hidrazono] etil} fenil) tiyöre (4d) 0.49 mikro minimum inhibe edici konsantrasyon(MİK) ile en güçlü bileşik olduğu bulunmuştur. INH karşılaştırıldığında, 4d> 300 bir seçicilik endeksi ile *M. tuberculosis* H37Rv ve INH-rezistan *M. tuberculosis*'e karşı sırasıyla 3 ve 185 kez olduğu daha aktif bulunmuştur(52).

Gökçe M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Bu çalışmada, yeni 6-sübstitüe-3 (2H) -piridazinon-2-asetil-2- (p-süstitüte benzil) hidrazin V türevleri analjezik ve anti-enflamatuar maddeler olarak sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapıları, spektral ve element analizi ile aydınlatılmıştır. Va, Vb ve Vc Bileşikleri ASA'dan daha etkili bir analjezik aktivite sergilemiştir. Aynı zamanda bu deriveler indometazin gibi antienflamatuar aktivite göstermiştir.

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlk kez 1882'de Robert Koch tarafından mikrobiyoloji dünyasına tanıtılan mikobakterium tüberkülozis, günümüzde, özellikle AIDS'in tanımlanmasından sonra önemli bir enfeksiyon etkeni olmaya devam etmektedir. Hastalığa karşı yeni tedavi şekilleri ve yeni aşular araştırılmakta ve bunlar genellikle organizmaya konakçı cevabını değiştirmeye yönelik tedavi ve korunma yöntemleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Yaptığımız çalışmada her iki yöntem arasında ilaç direnç patentlerinde yakın değerleri görülmektedir. Öncelikle 10^{-2} dilüsyonunda (eşit miktarlarda suş içeren) E.U ve U.K.T hastalarına ait suşlar ile çalışılan her iki yöntemlede 4 bileşiğe karşı da dirençlilik göstermiştir. Ancak suşun konsantrasyonu azaltıldığında (10^{-4} dilüsyonunda) 3-kloro-6-sübstitüepiridazin I'e karşı sensitiflik gösterdiği görülmektedir buradan da şu sonuca varılabilir bakteri konsantrasyonunun azalması ile anti-TB ilacın etkinliği artmaktadır. Buna benzer olarakta M.K.S, H.I.G ve R.K hastalarına ait suşlar 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı 10^{-4} dilüsyonunda ilaca karşı sensitif olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmaya göre D.K ve B.O hastalarına ait suşlarına Etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III, 40 µg/ml ilaç konsantrasyonunda ilaca karşı direnç gösterirken 50 µg/ml konsantrasyonda ise suşlar, ilaca karşı sensitif hale gelmektedir. Bu da ilaç konsantrasyonunun suş üzerindeki etkinliğini artırmada olan önemi görülmektedir. Ayrıca Çizelge 3.9 tekrar incelendiğinde, alamar mavisi yöntemin ile çalışılan 50 µg/ml den konsantrasyondan bir önceki konsantrasyon olan 25 µg/ml konsantrasyonda, D.K ve B.O ait suşlar Etil 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'e karşı direnç gösterdiği gözlenmiştir. D.K ve B.O'ya ait suşlar agar proporsiyon yöntemi ile Çizelge 3.4'de belirtildiği gibi 40 µg/ml konsantrasyonda 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetat III'e karşı rezistangösterdiği görülmektedir. Tekrar Çizelge 3.9' ye dönüldüğünde ise 3. maddeye karşı 50 µg/ml konsantrasyonunda hasta suşları sensitiflik göstermekte olduğu görülmektedir. Buradan da agar proporsiyon yöntemini ve alamar mavisi yöntemi arasında suşlar üzerinde ilaç sensitiflik MİK hesaplanırken uyumlu bir sonuç elde edilebileceği sonucuna varılabilir. Buradan da her iki yöntem arasında MİK belirlemede uyum olduğu görülmektedir.

İki yöntem arasındaki uyumu gösteren diğer bir örnek ise 10^{-2} konsantrasyonunda, D.K ve B.O ait suşlar için 6-sübstitüe-3(2H)-pidazinon-2-il asetohidrazit IV'e karşı göstermiş oldukları sensitiflik konsantrasyonunda görülmektedir. 25 µg/ml (Alamar mavisi yöntemini) de rezistanolan suşlar 40 µg/ml'de (Agar proporsiyon yöntemin) sensitiflik göstermektedir, 50 µg/ml (Alamar mavisi yöntemini) de sensitiflik gösterdiği yapılan çalışmada görülmektedir.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz verilere göre M.K' ya ait suş 10^{-2} konsantrasyonunda, D.K ve B.O hastalarına ait suşlar gibi sensitiflik gösterdiği görülmektedir ve iki yöntem ile yapılan farklı konsantrasyonlarda göstermiş olduğu ilaç paterni iki yöntem arasındaki uyumu desteklemekte olduğu görülmektedir.

A.T ve H.K. suşları ile yaptığımız çalışmaya göre seçilen konsantrasyon ve dilüsyonlarda yeni sentezlenen ilaca karşı sensitiflik göstermemekte olduğu görülmektedir. Daha önceden de belirtildiği gibi A.T ve H.K. suşları seçilen suşlar arasında, RIF'e dirençlidir seçilen diğer suşlar ise RIF'e karşı sensitiflik gösterdiği daha önce yapılan çalışmadan bilinmektedir.

3-kloro-6sübstitüepiridazin, 6-sübstitüe-3(2h)pidazinon ve etil 6-sübstitüe-3(2h)-pidazinon-2-il asetat türevlerinin anti-tüberküloz aktiviteleri üzerinde çalışmaların devam etmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- **Iseman M D.** Klinisyenler için Tüberküloz kılavuzu. çeviri: Nobel Tıp Kitabevi **2002**; 1-276.
- 2- **İlvan A .** Akciğer tüberkülozu. Aktüel Tıp Dergisi **2002**; 3 (7); 27- 35
3. **Jain A, Dixit P.** Multidrug-resistant to extensively drug resistant tuberculosis: what is next? J Biosci **2008**; 33(4): 605-16.
- 4- **Baylan O, Albay A, Kisa O, Tekbas OF, Deniz O.** Detection of primary drug resistance rates of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated between 2002-2003 years and comparison with the data of 1998-2001 period. Mikrobiyol Bul **2005**; 39(2): 153-60.
- 5- **Palomino JC, Leao SC, Ritacco V (eds).** Tuberculosis from Basic Science to Patient Care. 1st ed. Available from: www.TuberculosisTextbook.com **2007**
- 6- **Ozkutuk N, Surucuoglu S, Gazi H, Coskun M, Ozkutuk A, Ozbakkaloglu B.** Second-line drug susceptibilities of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Aegean region-Turkey. Turk J Med Sci **2008**; 38(3): 245-50.
- 7- **Kayali R, Coplu N, Ceyhan I, Ocak F, Cıtil BE, Esen B.** The rates of resistance to second-line drugs in multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains. Mikrobiyol Bul **2006**; 40(1-2): 1-7.
- 8- <http://www.zeenews.com/news590601.html>
- 9- **Furin J.** The clinical management of drug-resistant tuberculosis. Curr Opin Pulm Med **2007**; 13(3): 212.
- 10- **Stead WW.** Epidemiology of the Global Distribution of Tuberculosis. In: Koprowski H, Oldstone MBA. Eds. Microbe Hunters. Then and Now. Medi- Ed Pres **1996**; 23: 311- 317.
- 11- **Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M, et al.** A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Proc Natl Acad Sci USA **2002**; 19: 3684-9.
- 12- **Daniel TM.** Captain of Death. The Story of Tuberculosis. University of Rochester Press Rochester, New York, **1997**.
- 13- **Eren N.** Tüberküloz. Actuel Medicine **1992**;2: 18-20.
- 14- **Yurdakök M.** Türkiye'nin kuruluşuna kadar ünlü Türk çocuk hekimleri. Alp Ofset Matbaa Ltd. Şt. Ankara, Dünyada Tüberkülozun Tarihi 15 **1997**.
- 15- **Dormandy T.** A history of Tuberculosis. The Hambledon Press. London and Rio Grande, **1999**: 1-50.

16- **Dubos R, Dubos, J.** The White Plaque: Tuberculosis, Man and Society. London: Rutgers University Press, **1987**.

17- **Haggard A.** The Doctor In History. Dorset Press, New York, **1989**: 332-5.

18- **Kılıçaslan Z.** Akciğer tüberkülozu ve atipik mikobakteri enfeksiyonları. Arseven O(Ed). Akciğer hastalıkları, Nobel Tıp kitapçevleri **2002**; 14: 283-301.

19- **Uçan E. Sabri,** 24 Mart Dünya Tüberküloz günü. Medical Life Mart-Nisan **2005**; (2,8)

20- **Barış İ.** Osmanlıda Tüberküloz, Toraks Dergisi **2002**; 3: 335.

21- **Aksu M:** Tıp Tarihi Açısından Türkiye’de Verem Savaşı, s.161-70, Türkiye Ulusal Verem Savaşı Dernekleri Federasyonu, Ankara **2007**.

22- **Barış Yİ:** Osmanlı Padişahlarının Yaşamlarından Kesitler, Hastalıkları ve Ölüm Sebepleri, s.206-68, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara **2002**.

23- **Gökçe Tİ:** İstanbul Verem Savaşı Derneğinin Kuruluşu Gelişimi ve Çalışmaları, 7-18, s.306-18, s.413-9, İstanbul Verem Savaşı Derneği, İstanbul **1972**.

24- **Terzioğlu A, Seber E:** Şişli Etfal Hastanesi (Hami-diye Etfal Hastane-i Alisi) 100. Yılı, Şişli Etfal Hastanesi, İstanbul **1999**.

25- **Ceyhan İ, Saygan MB, Saniç A, Tarhan G:** Tüberkülozda Bakteriyolojik Tanı, s.1-4, RSHMB, Ankara **2007**.

26- **Gümüslü F:** Türkiye’de Verem Savaş Hizmetleri, 24. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi Kitabı, s.11-4, Türkiye Ulusal Verem Savaşı Dernekleri Federasyonu, Konya **2006**.

27- **Özkara Ş:** Dünyada ve Türkiye’de Tüberküloz, 5. Tüberküloz Sempozyumu ve 6. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kursu Kitabı s.15-20, Klimik ve RSHMB, Ankara **2007**.

28- **T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı** Türkiye’de Verem Savaşı Raporu, Ankara **2009**.

29- Türkiye ulusal verem savaşı dernekleri federasyonu, tuvsdf, www.verem.org.tr

30- **Yolsal N, Malat G, Dişçi R, Örkün M, Kılıçaslan Z:** Türkiye’de tüberküloz ilaçlarına direnç sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 yılları için karşılaştırılması: Meta-analiz, Klimik Derg **1998**;11(1):6-9.

- 31- **Jose A. Caminero Luna.** A tuberculosis guide for specialist physicians, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, **2003**:45-52.
- 32- **Bilgehan H.** Klinik mikrobiyoloji, özel bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları; **1987**: 42-56.
- 33- **Bilgehan H.** Klinik mikrobiyoloji, özel bakteriyoloji ve bakteri infeksiyonları. İzmir; Barış Yayınları; **1987**: 407-37.
- 34- **Thomson RM, Yew WW.** When and how to treat pulmonary non-tuberculous mycobacterial diseases. *Respirology* **2009**; 14: 12-26.
- 35- **Jawetz, Melnick and Adelberg Mycobacteria. Brooks GF, Bulel JS, Morse SC (Eds)** Medical Microbiology. Appleton and Lange **2001**. 21st ed :270-284.
- 36- **Toraks Derneği 2.** Yıllık kongresi, tüberküloz kursu notları. 6-10 Mayıs **1998**.
- 37- **Aktoğu S.** Tüberküloz Tanı ve Tedavisi Ders Notları. Toraks Derneği Ulusal Akciğer Sağlığı Kongresi **2000**; 1-5.
- 38- **Çobanlı B.** Akciğer Tüberkülozu Numan N. (Ed). Solunum Sistemi ve Hastalıkları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ANTIP A.Ş. Yayınları, **2001**; (2.13);306-338.
- 39- **Osma E.** Solunum Sistemi Radyolojisi (Normal ve Patolojik), Çağdaş ofset İzmir **2000**: 199-207.
- 40- **Oğuz Kayaalp.** Tüberküloz ve diğer mikobakter infeksiyonlarında kullanılan ilaçlar In: Tıbbi Farmakoloji. **2002**: 306-312.
- 41- **Mandell GL, Petri WA.** Drugs used in the chemotherapy of tuberculosis, *Mycobacterium avium* complex disease In: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill. **1996**: 1155-1169.
- 42- **Lenhert A G, Castle R N.** Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyridazines, Volume 28. Physical Properties of Pyridazines. John Wiley & Sons, **1973**.
- 43- **J.N. Narendra Sharath Chandra, C.T. Sadashiva, C.V. Kavitha and K.S.Rangappa,** Synthesis and in vitro antimicrobial studies of medicinally important novel alkyl and N-sulfonyl derivatives of 1-[bis(4- fluorophenyl)-methyl] piperazine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 1 October **2006**;14(19): 6621-27.
- 44- **Singh SB, Occi J, Jayasuriya H, Herath K, Motyl M, Dorso K, Gill C, Hickey E, Overbye KM, Barrett JF, Masurekar P.**Antibacterial evaluations of thiazomycin- a potent thiazolyl peptide antibiotic from *Amycolatopsis fastidiosa*. *J Antibiot (Tokyo)* **2007**; 60(9): 565-71.

- 45- **Rudra S, Sangita F, Gujrati A, Pandya M, Bhateja P, Mathur T, Singhal S, Rattan A, Salman M, Das B.** Synthesis and antibacterial activity of novel oxazolidinones with methylene oxygen- and methylene sulfur-linked substituents at C5-position *Bioorg Med Chem Lett.* **2007**; 17(17):4778-83.
- 46- **Islam M, Siddiqui A, Rajesh R.** Synthesis, Antitubercular, Antifungal And Antibacterial Activities Of 6-Substituted Phenyl-2-(3-Substituted Phenyl Pyridazin-6-yl)-2,3,4,5 Tetrahydropyridazin-3-One, *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, Vol. 65 No. 3 pp. **2008**; 353-362.
- 47- **Gökçe M, Doğruer DS, Şahin MF,** Synthesis and antinociceptive activity of 6-substituted-3-pyridazinone derivatives *Il Farmaco* **2001**; 56, 233-237.
- 48- **Logu A D.; Onnis, V.; Saddi, B.; Congiu, C.; Schivo, M. L.; Cocco, M. T. J.** Activity of a new class of isonicotinoylhydrazones used alone and in combination with isoniazid, rifampicin, ethambutol, para-aminosalicylic acid and clofazimine against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Chemoth.* **2002**; 49: 275-282.
- 49- **Rollas S, Küçükgülzel,** Biological Activities of Hydrazone Derivatives *S. G. Molecules* **2007**; (12); 1910-1939.
- 50- **Küçükgülzel SG, Mazi, A, Şahin F, Öztürk S, Stables,** Synthesis and characterization of flurbiprofen hydrazone derivatives as potential anti-HCV, anticancer and antimicrobial agents *J. Eur. J. Med. Chem.* **2003**; (38): 1005-1013.
- 51- **Pavan FR, Maia PI, Liete SRA, Deflon VM, Batista AA, Sato DN, Franzbau S G, Liete CQ,** Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti – *Mycobacterium tuberculosis* activity and cytotoxicity *F. Eur. J. Med. Chem.* **2010**; 45: 1898-1905.
- 52- **Sriram D, Yogeewari P, Madhu K,** Synthesis and in vitro antitubercular activity of some 1-[(4-sub)phenyl]-3-(4-[1-(pyridine-4-carbonyl) hydrazono]ethyl)phenyl)thiourea *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**; (16); 876-878.
- 53- **Gökçe M, Utku S, Küpeli E,** Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(p-substituted/nonsubstituted benzal) hydrazone derivatives, *European Journal of Medicinal Chemistry* 44 **2009**; 3760–3764.

ÖZGEÇMİŞ

04.01.1976 tarihinde Bingöl'de doğdu. Mersin Cumhuriyet İlkokulu, Özel Toros koleji, Özel Toros Fen Lisesi Okudu. 2002 yılında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesinde'n mezun oldu.2002-2009 yılları arasında Bingöl Sağlık Eğitim Merkezi tabiplik ve baştabipliği, Ana çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Şube Müdürlüğü, Doğum ve Çocuk Hastanesi Çocuk Acil Departmanında tabip olarak görev yaptı.

2009 yılı Ankara Eryaman 3 No'lu sağlık Ocağında görev yaptı. 2010 Yılından itibaren Mersin Sahil Sağlık Denetleme Merkezinde çalışmaya başladı.2013 yılından buyana Mersin Gemiadamları Sağlık Merkezi Sorumlu Tabibi olarak görev yapmaktadır. 2011 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı ve halen devam etmektedir.