

TC
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

**YÖREMİZDE İZOLE EDİLEN MİKROBakterİ SUŞLARININ ANTI-
TÜBERKÜLOZ İLAÇLARA KARŞI İN-VİTRO DUYARLILIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. Dr. Hakan İGAN

Tez Yöneticisi

Doç. Dr. Ayşe Esin AKTAŞ

Uzmanlık Tezi

Erzurum - 2007

I. İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	II
KISALTMALAR	III
ÖZET	V
SUMMARY	VI
ONAY	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tüberkülozun Tarihçesi	3
2.2. Tüberkülozun Epidemiyolojisi	4
2.3. Mycobacterium Türlerinin Yapısı	5
2.4. İnsanlar İçin Önemli Olan Tüberküloz Dışı Mikobakteriler	8
2.5. Tüberküloz'da İmmunoloji ve Patogenez	12
2.6. Tüberküloz'un Kliniği	15
2.7. Tüberküloz'un Tanısı	17
2.8. Duyarlılık yöntemleri:	20
2.9. Tüberkülozun Tedavisi	23
2.10. Antitüberküloz İlaçlara Direnç Mekanizmaları	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1.a Kullanılan İndikatör, Çözelti, Ayıraç, Besiyerleri	38
3.1.b Cihaz ve Diğer Araçlar	39
3.2.a Bakterilerin İzolasyonu	40
3.2.b Duyarlılıkların Saptanması	42
3.2.c Bulgular İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	48
7. KAYNAKLAR	55

II. TEŞEKKÜR

İhtisas eğitimim döneminde birlikte çalıştığım değerli hocalarım; Sayın Prof. Dr. Ahmet Ayyıldız, Sayın Prof. Dr. Selahattin Çelebi, Sayın Prof. Dr. Osman Aktaş, Sayın Doç. Dr. Halil Yazgı, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Özbek ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan Uslu' ya;

Tez çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim boyunca beni destekleyen ve yardımını esirgemeyen, tez yöneticim ve değerli hocam Doç. Dr. Esin Aktaş'a;

Çalışmalarım esnasında her türlü destek ve tecrübesinden yararlandığım Sayın. Doç. Dr. Ülkü Altoparlak'a;

Uzmanlık eğitimimiz esnasında birlikte çalıştığımız tüm asistan ve çalışma arkadaşlarıma

Teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Dr. Hakan İGAN

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AGP	Arabinogalaktan
ARB	Aside rezistan bakteri
ATS	American Thoracic Society
BCG	Bacille Calmette-Guerin
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ÇİD	Çok ilaca dirençli
ÇİDT /ÇİDTB	Çok ilaca dirençli Tüberküloz
DAP	diaminopimelik asidin
DGT	Doğrudan Gözetimli Tedavi
DOT	Directly Observed Treatment
DOTS	Directly Observed Treatment, Short Course
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
E test	Epsilometer test
ELISA	Enzim-Linked Immunosorbent Assay
ETM/E	Etambutol
EZN	Ehrlich-Ziehl-Neelsen
GAD	Gecikmiş tip aşırı duyarlılık
GI	Üreme İndeksi
HDF	Heteroduplex Formation
HIV	Human Immunodeficiency Virus
Hİ	Hücre sel imünite
INH/I	İsoniazid
LAM	Lipoarabinomanna
LJ	Löwenstein Jensen
LM	Lipomannan
LRP	Lusiferaz taşıyıcı faj yöntemi
MAC	Mikobakterium avium intracellulare
Magp	Mycolylarabinogalaktan
MGIT	Micobacterium Growth Indicator Tube
MİK	Minimum İnhibitör Konsantasyon
M.Ö	Milattan önce
M.S	Milattan sonra

MTBC	Mikobakterium tüberkülozis kompleks
NAGA	N-acetyl- glocosamine
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
NGMA	N-glycosylmuramic asit
NTM	Nontüberküloz Mikobakteri
OADC	Oleik asit-Albumin-Dekstroz-Katalaz
PAS	Para maino salisilik asit
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPD	Purified Protein Derivative)
PZA	Prozinamid
RFLP	Restriction fragment length polimorfism
RIF/R	Rifampisin
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
SM /S	Stretomisin
TB	Tüberküloz
VSD	Verem Savaş Daire Başkanlığı

III. ÖZET

Tüberküloz(TB); modern tanı, tedavi ve kontrol yöntemlerine rağmen tüm dünyada önemli bir sağlık problemidir. Bugün dünya nüfusunun %32'si tüberküloz basilleri ile infekte olup, her yıl 9 milyon kadar insan da bu hastalığa yakalanmaktadır. İnfeksiyon oranları tüm dünyaya göre azalıyor gibi görülse de (26/100000, 2003) yine de ülkemiz orta derece de insidansa sahip ülkeler arasında yer almaktadır.

Yüksek tüberküloz insidansının en önemli nedenlerinden birisi yaygın kullanılan antibiyotikler karşı hızla gelişen dirençtir, ilaç direnci ve çoklu ilaç direnci monoterapi, yetersiz ilaç tedavisi ve ulusal tüberküloz kontrol programlarının bir sonucudur.

Bu çalışma yöremizdeki tüberküloz hastalarına ait farklı klinik örneklerden izole edilen M. tuberculosis suşlarının major antibiyotik ilaçlara (isoniazid [INH], streptomycin [SM], ethambutol [EMB] ve rifampicin [RIF]) karşı direnç oranlarını tespit etmek amacıyla planlandı. Aynı zamanda E test ve proporsiyon yöntemleri de kıyaslandı. Çalışma Nisan 2006-Mayıs 2007 tarihleri arasındaki toplam 45 TB hastasını içermektedir (24 erkek, 21 kadın ortalama yaş (35+/-18). İzole edilen suşlar morfolojik, üreme ve biyokimyasal özelliklere göre tanımlandı (mikroskopi, üreme zamanı, koloni tipleri, katalaz, niasin test). H37Rv suşu referans suş olarak kullanıldı. Antibiyotik duyarlılıklarının tespiti amacıyla; E test metodunda OADC içeren 7H11 agar ve standart proporsiyon metodunda ise Löwenstein-Jensen agar besiyeri kullanıldı.

Proporsiyon yöntemiyle; isoniazide %11, streptomisine %4.4, rifampisine %4.4, ethambutole %2.2 oranlarında direnç saptanırken, sadece 1 suşta isoniazid ve rifampisine karşı çoklu direnç tespit edildi. E test yöntemiyle ise isoniazide karşı direnç %8.8 iken diğer ilaçlara karşı dirençler proporsiyon yöntemiyle tespit edilenlerle aynıydı.

Sonuçlarımız E test ve proportion yöntemlerinin duyarlılıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığını göstermiştir. Duyarlılık sonuçlarını elde etmek gereken ortalama süre E test ve proportion metodu için sırası ile 7 ve 21 gündür. Rutin için pratikte hızlı ve kolay olması nedeni ile E test uygulanabilir.

IV. SUMMARY

In spite of modern diagnostic, treatment and control methods tuberculosis is important public health problem in all over the world. Today, 32% of world populations are infected by Tuberculosis basil's, every year about 9 million people have been catching to this disease. Although tuberculosis incidence in Turkey is in the declining trend (incidence: 26/100,000 2003), Turkey is among the countries having moderate incidence. One of the most important reasons for the high tuberculosis incidence is becoming increasingly resistant to commonly used antibiotics. Drug-resistant and multidrug-resistant (MDR)-TB is a consequence of monotherapy, insufficient drug therapy and national TB control programs.

The present study was designed to provide information about the frequency of the resistance to major antituberculosis drugs (isoniazid [INH], streptomycin [SM], ethambutol [EMB], and rifampicin [RIF]) of Mycobacterium tuberculosis isolated from the different specimens of TB patients in Erzurum, Turkey. In the same time, this study was carried out to compare the performance of the E test method and the proportion method.

The study included totally 45 patients (24 male and 21 female, with an average age 38+/-18) with TB (29 pulmonary and 16 extrapulmonary) between April 2006 and May 2007. The strains were identified by morphological, cultural and biochemical characteristics (microscopy, time of growth, type of colonies, catalase, niacin-test). H37RV strain was tested as reference strain. The E-test method was performed on 7H11 agar with OADC, and the standard proportion method was performed on Lowenstein-Jensen agar for the antibiotic susceptibility.

Total resistance to individual anti-tuberculosis drugs were: isoniazid (11%), streptomycin (4.4%), rifampicin (4.4%), ethambutol (2.2%) and poly-resistance (resistance to two or more drugs) was noted in 1 (2.2%) isolates by the proportion method. E test results were seen in 4.4% of isolates resistant to SM, in 8.9% to INH, in 4.4 to RIF and in 2.2% to EMB. With this method, poly-resistance was 2.2%.

Our results showed that there were no statistically significant differences in susceptibility testing results between E-test and the proportion method. The average times to obtain susceptibility test results were 7 and 21 days for the E-test and agar proportion methods, respectively. The E-test may be suitable the method in routine practice due to its fast and easy application.

ONAY

“Yöremizde İzole Edilen Mikobakteri Suşlarının Anti-tüberküloz İlaçlara Karşı İn-vitro Duyarlılığının Araştırılması” isimli tez konusu Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 21.05.2007 tarih 1/2 karar no'lu ortak kararı ile Anabilim Dalı Kurulunda görüşülerek kabul edildi.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 08.06.2007 tarih ve 44 no'lu karar ile etik kurallara uygun görüldü.

Çalışma Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığınca 21.05.2007 tarih ve 1/2 no'lu karar ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz (TB); mikrobik, bulaşıcı, sosyoekonomik koşullarla yakından ilgili, akut veya kronik seyirli, lokal veya yaygın olabilen, çok değişik klinik ve radyolojik belirtiler gösteren ve her organda yerleşebilen granülomatöz bir hastalıktır. Tarihin bilinen ilk infeksiyon hastalıklarından birisi olup yaklaşık 120 yıldır etkeninin bulunmasına ve 60 yılı aşkın bir zamandır tedavi edilebilip, korunulabilir bir hastalık olmasına rağmen hala tüm dünyada yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla görülmeye devam etmektedir ⁽¹⁾. Her yıl dünyada 8-10 milyon yeni hasta ortaya çıkmakta ve 2-3 milyon kişi tüberkülozdan ölmektedir. Dünyada tüberkülozun artışı, yetersiz halk sağlığı altyapısı, tüberküloz infeksiyonunun yetersiz kontrolü, artan nüfus, insan immun yetmezlik virüsünün eş zamanlı epidemisi ve sanayileşmiş ülkelere göç gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır ⁽²⁾. Dünya çapında yürütülen çalışmalara rağmen gün geçtikçe yeni tüberküloz olgularının sayısının artması engellenememektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) verilerine göre dünya nüfusunun yaklaşık 1/3'ünün yani yaklaşık olarak 1.7 milyar kişinin enfekte olduğu düşünülmektedir ^(3,4). Ülkemizdeki tüberküloz insidansı 29/100.000 olarak kabul edilmektedir. Ne var ki gerçek sayının bunun çok üzerinde olduğu ve insidansın 50/100.000 düzeyinde olduğu düşünülmektedir ⁽⁵⁾.

Geçmişteki yetersiz tüberküloz kontrol programlarının bir sonucu olarak hastalara uygun olmayan tedavi rejimlerinin verilmesi ve ilaçların gözetimsiz kullanılmış olması sonucunda günümüzde TB tedavisinde büyük güçlükler yaşanmaktadır ⁽⁵⁾.

En çok izoniazid (INH) ve rifampisin'e (RIF) karşı direncin tespit edildiği vakaları tanımlamakta kullanılan Çok İlaça Dirençli (ÇİD; multi drug-resistant: MDR) TB olguları büyük bir sorun haline gelmiştir. . 2000 yılında saptanan 8.5 milyon yeni olgunun %3.2'sinin ÇİD TB olduğu düşünülmektedir ^(6,7). DSÖ tüm dünyada yaklaşık 50 milyon kişinin ÇİD-TB suşları ile enfekte olduğunu tahmin etmektedir DSÖ' nün yayınladığı 1994-1997 yılları arasını kapsayan raporda 5 kıtadaki 35 ülkenin sonuçları değerlendirilmiş ve yeni olgularda ilaç direnci ortalama %10 (%2-%40), ÇİD suş oranı ise %1.4 (% 0-%14) olarak belirlenmiştir ⁽⁸⁾. Türkiye'de ise tüm ülkedeki ilaç direncini gösterecek geniş çaplı bir çalışma olmamakla birlikte, yaklaşık ilaç direnci oranları; yeni hastalarda en az bir ilaca direnç %14-31, ÇİD TB %1.7-6; tedavi görmüş olgularda ise en az bir ilaca direnç %18.5-65, ÇİD TB %6.7-30 arasında bulunmuştur. Son yıllarda gündeme gelen Doğrudan Gözetimli Tedavi (DGT; Directly Observed Treatment: DOT) ve DGT-artı (DOT-plus) stratejileri doğrultusunda ve günlük pratikte sayıları giderek

artan şekilde karşımıza çıkan majör ve minör antitüberküloz ilaçlara dirençli olgular nedeniyle ilaç duyarlılık testleri günümüzde daha da önem kazanmış, ilaç duyarlılığını belirlemek için kullanılan laboratuvar yöntemleri ve bu konuda yapılan çalışmalar hızlanmıştır. Son on yıl içinde M. Tuberculosis complex (MTBC)'in antitüberküloz ilaçlara karşı geliştirdiği direncin moleküler temeli daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır ⁽⁹⁾.

Antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı belirlemek amacıyla; mutlak konsantrasyon, proporsiyon yönteminin yanı sıra, radyometrik, kolorimetrik, floresan, karbondioksit oluşumunu saptayan sistemler ile E (Epsilometer) test yöntemi yer almaktadır. Tüberkülozun etkin şekilde kontrolü ile başarılı tedavi için erken tanı yöntemleri ile hızlı duyarlılık testlerine gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda bu amaç için yarı otomatize bir sistem olan TK medium ve E-testinin güvenle kullanılabileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir ⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Yöremizde daha önce tüberküloz ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmış olsa da antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumunu tam olarak ortaya koyan bir çalışma yapılmamıştır.

Bu alışma tüberküloz basillerinin major antitüberküloz ilaçlara karşı direnç oranlarının proporsiyon ve E test yöntemi ile belirlenip; yöntemlerin kıyaslanması amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

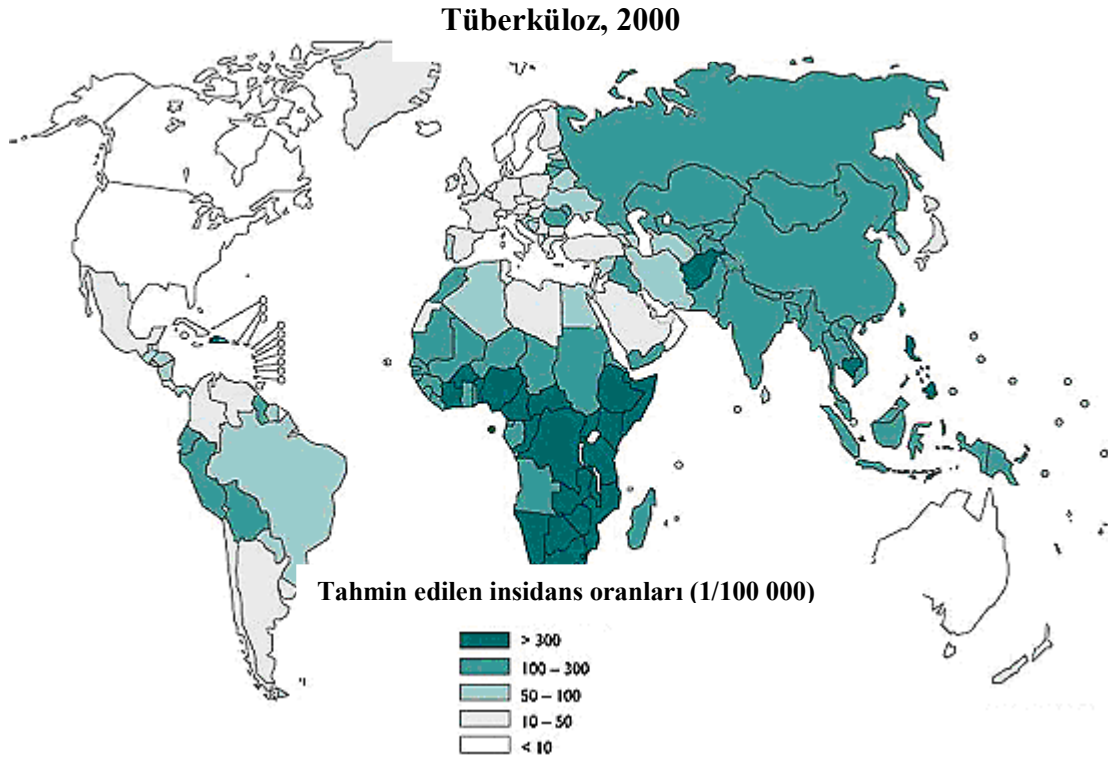
2.1. Tüberküloz'un Tarihçesi

Tüberküloz'un tanımı ilk olarak M.Ö. 4. yüzyılda Hipokrat tarafından yapılmış olmasına rağmen, insanların mikobakterilerle ile karşılaşmasının M.Ö. 8000 yıllarında ilk yerleşik toplulukların oluşması ve sığırların evcilleştirmesiyle birlikte olduğu tahmin edilmektedir. M.Ö. 3. yüzyılda Aristo ilk olarak tüberküloz'un bulaşıcı olabileceğini düşünmüş, M.S. 2. yüzyılda yaşayan Galen, kendisinden 1000 yıl sonra bile değişmeyen tedavi önerilerini ortaya koymuştur. Bu öneriler istirahat, öksürüğün kesilmesi, göğüs yakıları, venden kan alımı, sülük uygulaması, kusturucular, müshiller, kabartıcı maddelerle ciltte yaralar oluşturmak şeklinde özetlenebilmektedir^(14, 15).

19. yüzyıla kadar sadece klinik olarak tanımlanan tüberkülozun bulaşıcı bir hastalık olduğu ilk defa 1868 yılında bir Fransız askeri doktoru olan Jean Antoin Villemin tarafından saptanmıştır^(16, 17). İlk kez 1882 yılında Berlin'de tüberküloza neden olan etkeni bulduğunu açıkladığında, mikrobiyolojide yeni bir çığır açan Robert Koch, bundan kısa bir süre sonra 1891 yılında, benzer şekilde immunoloji'de de çığır açan Koch fenomenini tanımlamıştır⁽¹⁸⁾. 1907-1921 yılları arasında çalışan Calmette ve Guerin günümüzde de profilakside en önemli silah olan BCG aşısını bulmuşlardır^(16, 17).

Amerika Birleşik Devletleri(ABD) 'li Waksman'ın 1946 yılında Streptomycin'i bulmasıyla tüberküloz tedavisinde kemoterapi dönemi başlamıştır. Bunu 1950–1953 yılları arasında Para-amino salisilik asit (PAS), isoniazid (INH) ve 1969 yılında rifampinin (RIF) bulunması takip etmiştir. Tüm dünyada uygulanan standart bir tedavi olmamakla birlikte başlangıçta 2 yıl olan tüberküloz tedavi süresi, İNH ve RIF'in birlikte kullanımıyla 9 aya ve çok ilaçlı tedavi yaklaşımları sonucunda da 8 ile 6 aya düşmüştür. Ancak tüberküloz Dünya'da halen en yaygın ve ölüme en çok yol açan infeksiyon hastalığı olarak varlığını devam ettirmektedir⁽¹⁹⁾.

Şekil 1. 2000 yılında Dünyada Tüberküloz İnsidansı



2.2. Tüberkülozun Epidemiyolojisi

Aslında yoksul veya gelişmekte olan ülkelerin bir sorunu olan TB gelişmiş ve gelişmekte olan ülke ayrımı yapmaksızın bütün dünyada giderek artmaktadır. Bu artışın nedeni olarak ise hükümetlerin hastalığı önemsememeleri sonucunda kötü yönetilen veya doğru yaklaşımların uygulanmadığı TB kontrol programları, HIV epidemileri, TB'un sık görüldüğü ülkelere göçler ve ekonomik yetersizlikler sayılmaktadır⁽²⁰⁾.

Tüberküloz diğer enfeksiyon hastalıkları ile kıyaslandığında çok daha fazla ölüme neden olmaktadır. Bu hastalık yüzünden yılda yaklaşık olarak 2-3 milyon kişi ölmektedir. DSÖ raporlarına göre dünya nüfusunun yaklaşık olarak 1/3'ü TB basili ile infektidir. TB ölümlerinin %95'i az gelişmiş ülkelerdedir. TB olgularının yaş ortalamasına bakıldığında ise gelişmiş ülkelerde %75-80'i 50 yaş ve üzeri, az gelişmiş ülkelerde ise yine %75-80'i 50 yaş ve altında olmaktadır^(20, 21).

DSÖ' ne göre ülkeler tüberküloz açısından altı kategoriye ayrılmaktadır. Kategori 0'da olgu rapor etmeyen ülkeler, kategori 1'de DOTS (Directly Observed Treatment Short-Course) stratejisini uygulamayan ve insidansın 100 binde 10'un üzerinde olduğu ülkeler, kategori 2'de total popülasyonun %10'un altında DOTS stratejisini uygulayan (pilot faz) ülkeler, kategori 3'de total popülasyonun %10-90'ında DOTS stratejisini uygulayan (expansiyon faz) ülkeler kategori 4'de total popülasyonun

%90'ından fazlasında DOTS stratejisini uygulayan (rutin faz) ülkeler, kategori 5'de DOTS stratejisini uygulamayan ve insidansın 100 binde 10'un altında olduğu ülkeler bulunmaktadır⁽⁸⁾.

Türkiye'de bu yüzyılın başında bütün ölüm nedenleri içerisinde birinci sıradaydı. 1945'te 100 binde 262 olan ölüm oranı 1950'de 100 binde 204'e gerilemiştir. Ülkemizdeki TB insidansı 2000 yılı Verem Savaş Dispanserleri kayıtlarına göre 100 binde 27'dir ki bu durum başarılı ve başarısız kontrol programlarının uygulandığı ülkelerin arasında yer almasına sebep olmaktadır⁽²²⁾.

Verem Savaşı Daire Başkanlığı (VSD) tarafından DSÖ'ne gönderilen ve DSÖ 1999 raporunda yer alan bilgide Türkiye'nin 1997 yılı nüfusu 62.774.000 yıl içinde tanı konan yeni TB hastalarının sayısı 20.778, insidansı yüz binde 33.1'dir Yine DSO'ün 2002 raporuna göre Türkiye nüfusu 66.668.000'dir ve tanı konulan hasta sayısı 18.038, insidansı yüz binde 27'dir Bu rakamların Türkiye'de tüm hastaları içermediği bilinmektedir. Örneğin bazı dispanserlerimizde SSK'lı hastaların yada hastanelerde tedavi başlanan hastaların bir kısmı kayıtlı değildir. Özel kurumlarda, üniversitelerde, diğer hastanelerde tedavi olan ve VSD'de kaydı olmayan hastalar olabilmektedir. Bu şekilde dispanserlerde kayıtlı olmayan hastaların sayısı konusunda elimizde sağlam bilgiler yoktur⁽²²⁾.

2.3. Mycobacterium Türlerinin Yapısı

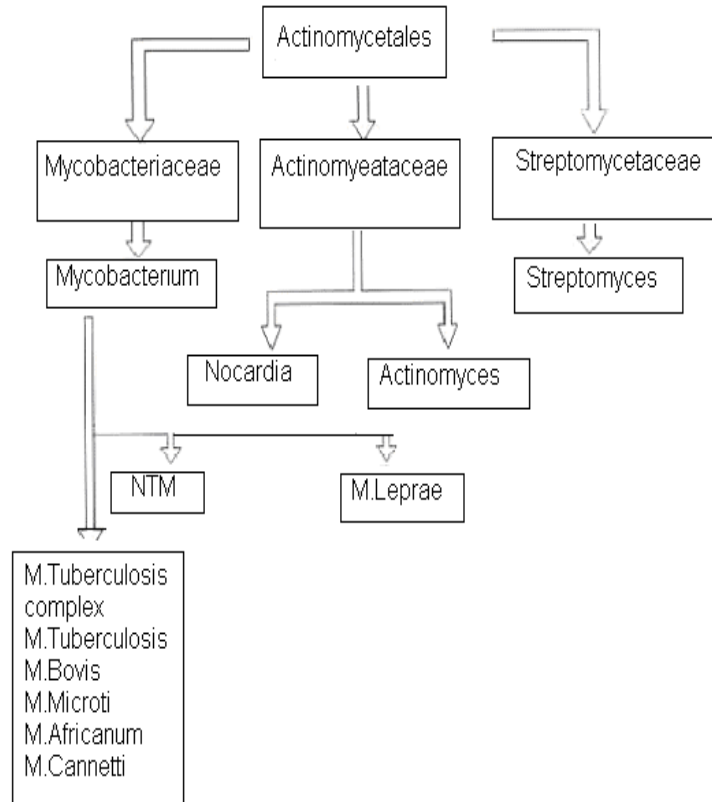
Yapı yönünden Mikobakteriler, Nocardia ve Corynebacteria'lere benzerlik gösterirler. DNA G+C (%62–70) oranı ile diğer aside dirençli bakterilerle (Acide Resistance Bacteria-ARB) aynı özelliğe sahiptir⁽²³⁾.

Mycobacterium genusu içinde yer alan Mikobakterium tuberculosis kompleks beş bakteri türü içerir. Bunlar; M. tuberculosis, M. bovis, M. microti, M. africanum, M. canetti'dir. İnsan M. tuberculosis için tek kaynaktır ve bu mikroorganizma insanlar arasında hastalık yapar⁽²³⁾.

M. tuberculosis 0.2–0.6 mikron kalınlığında, 1.0–10 mikron uzunluğunda, aerobik, sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz hafif kıvrık veya düzgün çomak şeklinde bir basildir. Mikobakterilerin hücre duvarı yapısı alışlagelmiş gram negatif veya gram pozitif bakteri hücre duvarlarından oldukça farklı, kompleks bir yapıdadır. Bu komplekste en iç tabaka diğer bakterilerde de görülen plazma membranıdır. Orta tabakanın kuru ve duvarın iskeletini, peptidoglikan ve arabinogalaktan (AGP)'in mikolik asit esterinden oluşan mycolylarabinogalaktan peptidoglikan (mAGP) oluşturur. Benzer kor yapısı mikobakteriler dışında korinebakteriler ve nokardiyalarda da görülür. Mikobakterilerin en dışında ise özellikle infekte makrofajlardan hazırlanan preparatlarda

açık olarak gösterilebilen ağırlıklı olarak polisakkarit ve proteinlerden az miktarda da lipidleri içeren bir tabaka yer almaktadır. Bu yapılar içerisinde alfa-1,4 glukon, bir arabinomannan ve mannan içeren lipomannan (LM) ve Lipoarabinomannan (LAM) gibi kapsüler polisakkaritler, son derece önem arz eder. Mikobakterilerin hücre duvarında gram negatif bakterilerde görülen porin proteinleri de bulunur ⁽²⁴⁾.

Şekil 2. Mikobakterilerin Taksonomik Ağacı ⁽²⁵⁾.



Plazma Membrani:

Mikobakterilerin plazma membranları diğer bakterilerin plazma membranları ile benzer özelliklere sahiptir. Membran tipik olarak protein ve fosfolipidlerden oluşan çift katmanlı bir yapıdadır. Kuramsal olarak bir periplazmik boşluk sayesinde orta tabaka yani peptidoglikandan ayrılır ⁽²⁴⁾.

Hücre Duvarı:

Peptidoglikan: Mikobakterilerde hücre duvarının en önemli karakteristiği kemotip-IV peptidoglikan yapısıdır. Klasik bakteriyel peptidoglikandan farklı olan bu yapı N-acetyl- glocosamine (NAGA) ve N-glycosylmuramic asit'in (NGMA), betaqlikozid ve

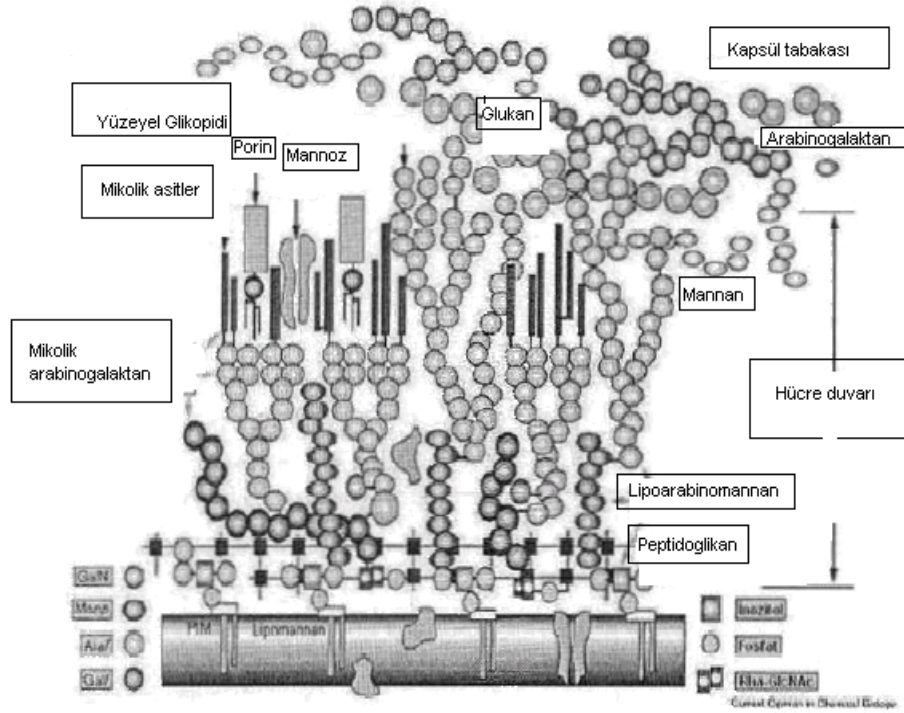
fosfodiester bağlarla bağlanmasından oluşan bir heteropolimerdir. Diğer bakterilerin peptidoglikanlarından farklı olarak mikobakteri peptidoglikanında, bir başka ifade ile kemotip-IV peptidoglikanda iki önemli farklılık görülmektedir. Bunların ilki muramik asidin asetillenmiş yapısı yerine glikolik asitle glikozillenmiş formunun yapıda yer alması, diğeri de tetrapeptid yan zincirler diaminopimelik asidin (DAP) yer almasıdır. Mikobakterilerdeki peptidoglikan tabaka kor bölgesinin iskeletini oluşturmak üzere gram pozitif bakterilerdeki teikoik asidin bağlanmasına benzer bir disakkarit fosforil (diglycosylphosphoryl) köprü ile bir heteropolisakkarit olan AG'ı kovalent olarak bağlar. Mikobakterilerde kor bölgenin sentezi bu disakkarit fosforil köprüünün sentezi için bir decaprenyl-P'nin sentezlenmesi ile başlar. Galaktoz köprü ile peptidoglikana bağlandıktan sonra arabinozu bağlar. Çok dallı arabinoz ve galaktoz zincirleri birlikte uzamaya başlar ve sitoplazmik membran yolu ile orta tabakaya taşınırlar. Daha sonra mikolik asitler bağlanır ve orta tabakanın (kor'un) sentezi tamamlanır. Peptidoglikan yapı bakteriye şeklini verir, hücre duvarına bütünlük ve sertlik kazandırır^(24, 25).

Arabinogalaktan (AGP): Arabinogalaktanın yapısı ile ilgili 50 yılı aşkın süredir yapılan çalışmalar bu polimer yapının D-galactofuranos'lar ve D-arabinofuranos'lardan oluştuğunu göstermiştir. Bunlar doğada son derece nadir görülürler ve yapısal olarak diğer bakterilerde görülen polisakkaritlerden oldukça farklıdır. Bu polisakkarit polimerlerinde bazı yapısal motif farklılıkları görülmekle beraber tekrarlayan birimlere rastlanmaz. Gerek AG'de gerekse LAM'da arabinan'ın yapısı benzerdir ve muhtemelen arabinanın kaynağı β -D-Arabinophosphodecaprenol (DPA)'dür^(24, 25).

Mikolik asitler: Mikolik asitler α dallanma gösteren β hidroksillenmiş büyük yağ asitleridir. Mikobakteriler dışında, Corynebacterium'lar, Gordona, Nocardia ve Rhodococcus türlerinde de görülürler ve hücre duvarı yapısına girdikleri mikroorganizmalar arasında yapısal olarak 3 kategoriye ayrılırlar. Bunlar; korinobakterlerde görülen korinomikolik asit, nokardiyalarda görülen nokardomikolik asitler veya nocardic asitler ve mikobakterilerde görülen mikobakteriyel mikolik asitler veya eumycolic asitlerdir. Mikobakteri hücre duvarı içerisinde de AGP'nin arabinan parçası üzerinde tetramycolpentarabinofuranosyl esteri şeklinde peptidoglikana dik olarak yerleşirler. M. tuberculosis'in akciğerlerde en çok havalanan bölgeye yerleşmelerinin nedenlerinden biri olarak mikolik asit üretiminin oksijen bağımlılığı gösterilebilir. Mikolik asitlerin aside dirençli oluşu fagolizozomal füzyonda vakuol içerisindeki asit ortamda mikobakterilerin hayatta kalmasını sağlar. Ayrıca mikolik asitler ilk bilinen CD1 antijenler olup bazı özel memeli Th lenfosit subgrupları tarafından antijen olarak tanımlanırlar. Yani konağın mikroorganizmaya karşı immun cevabını da

etkilerler. Buna karşılık serbest komplemanın bağlanmasını engelleyerek klasik fagositozu önlerler⁽²⁵⁻²⁸⁾.

Şekil 3. Hücre Duvar Yapısı⁽²⁷⁾



2.4. İnsanlar İçin Önemli Olan Tüberküloz Dışı Mikobakteriler

Tüberküloz dışı mikobakteriler Runyon sınıflamasına göre; fotokromojenler, skotokromojenler, nonkromojenler ve hızlı üreyenler olarak 4 gruba ayrılmıştır:

Fotokromojenler: Karanlıkta ürerler ve kolonileri renksizdir ama üreme döneminde ışığa maruz kaldıklarında sarı pigment meydana getirirler⁽²⁹⁻³⁶⁾.

M. kansasii: M. tuberculosis'e göre daha uzun ve kalındır. Bazı bölgeleri koyu, bazı bölgeleri açık boyandığından boncuk dizisi (tespih tanesi) gibi görülür. Bu görünüm tanıda önemlidir. Karanlıkta 37°C 'de 10-21 günde gri-beyaz koloniler oluşturur. Koloniler ışığa maruz kalınca sarı renge dönerler. Bu nedenle "sarı basil" olarak bilinmektedir. Işıktaki uzun süre bırakılırsa rengi kızarır. M. kansasii su kaynaklarının olduğu yerlerden sık izole edilir. M. kansasii hastalığının gözlendiği tüm dünyada, musluk sularından izole edilmekte ve doğal rezervuarının musluk suları olduğuna inanılmaktadır. Sığır ve domuzlarda da bulunur. İnsandan insana bulaş

görülmez. Tüberküloz benzeri kronik akciğer infeksiyonu, servikal lenfadenit yapar. Pulmoner infeksiyon ile ilgili olarak MAC'tan (*Mikobakterium avium intracellulare*) farkı, daha az hastada altta yatan bir akciğer infeksiyonunu vardır ve kemoterapiye yanıtın da daha iyi olmasıdır. AIDS'le beraber dissemine infeksiyona yol açar ki eritema nodozum, eritema multiforme, maküler deri döküntüleri görülebilir. Ekstrapulmoner infeksiyonları sık değildir. *M. kansasii*, AIDS' lilerde en sık karşılaşılan fırsatçı mikobakteri infeksiyonlarında MAC'tan sonra gözlenen ikinci etkindir. Genelde orta yaş ve üzerinde hastalık yapar. Çocuklarda pek görülmez. Kömür ve maden işçileri risk altındadır.

M. marinum: Genelde deniz, yüzme havuzu ve akvaryumlarda bulunur. Ciltte meydana gelen bir travmanın ardından kontamine olmuş sularla temas sonucu kütanöz infeksiyonlar ortaya çıkar. Buralarda çalışanların travmatik deri lezyonlarından veya balık yerken kılçık batması ile vücuda girer ve yüzme havuzu granülomu (Fish tank granulom = Balık tankı granülomu) yapar. Tipik olarak dizde, dirsekte, ayaklarda, parmaklarda papülonodüler lezyonlar şeklindedir. İnokülasyondan sonra 2-3 hafta içerisinde lezyonlar ortaya çıkar, nadiren sporotrikozise benzer bir tablo da oluşturabilir. Tenosnovit, artrit, bursit ve osteomyelit daha ciddi komplikasyonlar olarak karşımıza çıkabilir. Optimal üreme ısısı 30°C olup 7–14 günde ürer. Kolonileri 8–14 gün içerisinde görünür hale gelir.

M. simiae: İlk olarak 1965 yılında maymunlardan izole edilmiştir ve bunlarla uğraşanlarda tüberküloz benzeri bir akciğer infeksiyonu yapar. Klinik izolatlar Amerika Birleşik Devletleri'nin güneybatısı, İsrail ve Karayipler gibi coğrafik bölgelerde, içme sularından elde edilmiştir. Kronik pulmoner hastalık ve osteomyelit gibi klinik tablolar nadirdir. AIDS'li hastalarda, MAC'ı taklit eden *M. simiae* infeksiyonları bildirilmiştir. *M. tuberculosis*'den sonra niasin üretimi görülen en önemli mikobakteridir. Pigment üretebilmesi için kolonilerinin 4–8 saat kadar ışıktan bırakılması gerekmektedir.

Skotokromojenler: Hem ışıktan hem de karanlıkta sarı ve turuncu pigment meydana getirirler⁽²⁹⁻³⁶⁾.

M. scrofulaceum: Bu mikroorganizmanın adı, servikal lenf bezlerinin mikobakteriyel infeksiyonları için kullanılan ve tarihi bir terim olan "scrofula" dan gelmektedir. 1980 yılına kadar, çocuklarda görülen mikobakteriyel servikal lenfadenitlerin en yaygın sebebi *M. scrofulaceum*'du. Sonra MAC bunun yerini aldı. Bununla beraber halen, 5 yaşın altındaki çocuklardaki lenfadenitlerin en önemli nedenlerindedir. Nadir olarak akciğer infeksiyonu, konjunktivit, osteomyelit ve menenjit yapar. Doğada toprak ve suda yaygın olarak bulunur. Sağlıklı çocukların

boğaz ve solunum yollarında kolonize olabilir. Bu yüzden klinik örneklerden izolasyonu her zaman infeksiyonu göstermez.

M. gordonae: Klinik mikrobiyolojide en sık rastlanılan, nonpatojen mikobakteri türüdür. Musluk skotokromojeni olarak bilinir. Musluk kenarlarında, musluk sularında ve toprakta bulunur. İmmün yetmezlikli hastalarda akciğer infeksiyonu, menenjit, prostetik aortik kapak endokarditi ve AIDS hastalarında eklem infeksiyonu yaptığına dair yayınlar mevcuttur. Ancak son yıllarda, Eckburg ve arkadaşları, M. gordonae açısından balgam kültürü pozitif olan, immün sistemi baskılanmış ve anormal göğüs radyoloji bulguları olan hastalarda yaptıkları çalışmalarında, bu mikroorganizmanın patojen olmadığı kanaatine varmışlardır. M.gordonae rifampisin ve ethambutola duyarlı iken, isoniazid, streptomisin ve p-aminosalisilik asite (PAS) dirençlidir.

M. flavescens: Toprak ve suda bulunan saprofit bir bakteridir. Fenotipik olarak M. gordonae ile karışabilir. Ancak üreaz aktivitesi ve nitratları nitritlere indirgeyebilme özelliği ile M. gordonae'den ayrılır. İnsanlarda hastalık oluşturmaz. %5 NaCl'de üreyebilmesi önemli bir özelliğidir.

M. szulgai: Üremesi nispeten hızlıdır ve kolonileri 2 hafta içerisinde görünür hale gelir. M. szulgai'nin en önemli özelliği ısıya bağımlı pigment oluşturmasıdır. 37°C 'de üretildiğinde skotokromojenik, oda ısısında (25°C'de) üretildiğinde ise fotokromojeniktir. Bu türün tüm dünyada yaygın olduğu düşünülmekte, fakat doğal rezervuarı bilinmemektedir. İnsan infeksiyonları nadirdir. Genelde tüberküloza benzer bir akciğer infeksiyonu yapar. Şimdiye kadar AIDS'lilerde iki olgu bildirilmiştir.

M. xenopi: İlk olarak 1957 yılında Afrika'da kurbağalardaki deri lezyonlarından izole edilmiş, fakat 1965 yılına kadar insanlarda patojen olarak tanımlanmamıştır. Laboratuvar olanaklarının ve tekniklerinin gelişmesi, bu mikroorganizmaların klinik örneklerden izolasyon sıklığını arttırmıştır. Hastanelerdeki sıcak su sistemleri ve depoları nozokomiyal infeksiyonlar için potansiyel kaynaklardır. M. xenopi kolonileri yavaş gelişir ve karakteristik sarı pigment oluştururlar. Kolonilerinden havaya doğru aerial hifalar çıkar. Koloni etrafından çevreye doğru yayılan dallanmalar M. xenopi için önemli bir özelliktir. Kolonileri mikroskopta kuş yuvasına benzer. Optimal üreme ısıları 42-45°C' dir. En sık oluşturduğu infeksiyon tablosu pulmoner hastalıktır. Tüm dünyada artan sıklıkta izole edilmektedir ve bazı bölgelerde MAC'tan sonra en sık gözlenen ajan olmuştur. Klinik olarak pulmoner infeksiyonlar M. tuberculosis, M. kansasii veya MAC'ın oluşturduklarına benzer. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda, septik artrit ve spondilit gibi ekstrapulmoner infeksiyonlar da bildirilmiştir.

Nonkromojenler: Ne ışııkta ne de karanlıkta pigment oluşturmazlar ⁽²⁹⁻³⁶⁾.

M.avium-intracellulare: M. avium ve M. intracellulare basilleri birbirlerine çok benzemektedirler. Bunların aynı bakteri olabileceği düşünülmüş ve bu ikisine birden M. avium complex (MAC) denmiştir. Bunlar pleomorfik özelliktedirler. Esas rezervuarları kuşlar ve kümes hayvanlarıdır. Tavşana damardan verilirse bir ay içinde öldüren akut bir inflamasyon oluşturur. Otopside organlarda herhangi bir lezyon görülmediği halde buralardan yapılan preperatlarda bol miktarda basil görülür (Yersin tipi mikobakteri infeksiyonu). M. avium insan hastalığından en çok sorumlu olan NTM (Nontüberküloz Mikobakteri) türüdür. Son on yıl içerisinde MAC infeksiyonlarındaki en büyük artış AIDS'li hastalarda olmuştur ve bunlarda fırsatçı infeksiyonlara yol açarlar. ABD ve Avrupa'da MAC infeksiyonları gittikçe daha sık görülmeye başlanmıştır.

AIDS ortaya çıkmadan önce MAC infeksiyonunun en sık görülen şekli pulmoner hastalıktı. MAC'ın neden olduğu akciğer hastalığının dört klinik şekli tanımlanmıştır:

- a. Soliter nodüller
- b. Nodüler bronşektazi
- c. Tüberküloz-benzeri infiltrasyon
- d. İmmünyetmezlikli hastalarda yaygın infiltrasyon

M. malmoense: Schroder ve Juhlin isimli araştırmacılar tarafından 1977'de, İsveç-Malmö'de pulmoner hastalığı olan dört hastadan izole edilmiştir. Bu mikroorganizmaya bağlı hastalık daha sonra diğer Avrupa ülkelerinde de görülmüştür. Tipik olarak yavaş ürer. Bazı suşlarının izolasyonu 8-12 haftalık bir inkübasyon süresi gerektirebildiğinden, oluşturduğu infeksiyonun umulandan daha fazla olduğu düşünülmektedir. Çünkü bu süreler rutin inkübasyon sürelerinden daha uzundur. Mikroaerofiliktir. Kolonileri renksizdir. Son zamanlarda toprak ve su gibi çevresel kaynaklardan izole edilebilmektedir. Çocuklarda servikal lenfadenit, erişkinlerde ise kronik pulmoner hastalığa yol açar. Tüberküloza benzer akciğer infeksiyonu yapar.

Hızlı Üreyenler: Kültürde bir haftadan kısa sürede koloni oluştururlar. Patojenik olanlar; M. fortuitum group (M. fortuitum, M. peregrinum), M. chelonae group (M. chelonae, M. abscessus). Saprotik olanlar; M. thermoresistibile, M. smegmatis, M. vaccae, M. phlei, M. flavescens'dir⁽²⁹⁻³⁶⁾.

M. fortuitum group: Bu grupta bulunan mikobakteriler osteomyelit, sellülit, cerrahi yara infeksiyonları, posttravmatik yara infeksiyonları, otitis media ve nadiren kronik pulmoner hastalık gibi sporadik infeksiyonlar yapabilirler. Vakaların %80'inden fazlasından M. fortuitum sorumludur. M. fortuitum grup içinde klasik olarak M. fortuitum, M. peregrinum ve isimsiz üçüncü bir biovaryant kompleks bulunmaktadır. Daha sonra bunlara M. septicum, M. mageritense, M. alvei ve M. senegalense ilave edilmiştir.

Üçüncü biovaryant kompleks, sorbitol-pozitif ve sorbitol-negatif alt gruplara ayrılmıştır. Genelde immunosupresif hastalarda travmayı takiben ortaya çıkan yumuşak doku infeksiyonlarına yol açar.

M. abscessus: Pigmentsiz bir mikobakteri olan *M. abscessus*, *M. chelonae*'ye çok yakın benzerlik gösterir. Hızlı üreyen türlerin neden olduğu kronik akciğer infeksiyonlarının çoğundan (%90) sorumludur.

M. thermoresistibile: Adından da anlaşılacağı gibi, 52°C'de üreyebilen tek türdür. Potansiyel bir patojen olup virülansı oldukça düşüktür. İmmundeprese hastalarda kronik akciğer infeksiyonuna yol açabilmektedir.

M. smegmatis: Bu grupta aril sülfataz enzimi olmayan tek tür budur. 45°C'de üreyebilmektedir. Sellülit, lokal abseler, travmatik bir olayı takiben osteomyelit ve intravenöz kateter infeksiyonlarına neden olabilir.

2.5. Tüberküloz'da İmmunoloji ve Patogenez

Tüberküloz hücre içi bir infeksiyondur. İnfeksiyonun immunopatogenezindeki temel sorunlar basilin hücre içi öldürme mekanizmalarına nasıl direndiği ve infeksiyonu yok edici ve sınırlayıcı bağışık yanıtla, doku harabiyeti yapan bağışık yanıt arasındaki dengenin nasıl belirlendiğidir ^(37, 38).

Mikobakterilerin hücre içinde yaşayabilme mekanizmaları: Makrofajların antimikrobiyal mekanizmaları tam olarak anlaşılacakla birlikte lizozomal enzimler, hidrojen peroksit, çeşitli peptid ve proteinler, laktik asit ve yağ asitleri mikobakterilerin öldürülmesinde rol alırlar. Aktive olmuş makrofajlarda toksik doymamış yağ asitlerinin, doymuş yağ asitlerine oranının arttığı gösterilmiştir. Mikobakteriler fagolizozom füzyonunu önlerler. Bu etki açıkça sülfolipitler ve amonyak tarafından oluşturulmaktadır. Mikobakteriler aynı zamanda oksijen ara ürünlerinin yapımını da önlemektedirler. Süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleriyle peroksidazı parçalarlar. Virülansı yüksek olan mikobakteriler peroksit yapımını daha az uyarırlar. Mikobakteriler intraselüler basilin temel aktivitesi için gerekli olan demiri kullanırlar. Mikobakterilerdeki "eksoşelin" adı verilen molekül demiri alarak çözünür hale getirirken "mikobaktin" ise demiri hücre içinde depolar ^(37, 38).

Tüberküloz patogenezi ile ilgili ilk çalışmalar gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu olan Koch fenomeninin tanımlanmasıyla başlamış, Max B.Lurie'nin tavşanlarda yaptığı çalışmalar ile büyük ilerleme kaydetmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen verilerle birlikte Dannenberg'in yaptığı çalışmalar, ilk infeksiyondan kavite oluşumuna kadar devam eden olayların tanımlanmasını sağlamıştır ⁽³⁹⁾. Tüberkülozda immun yanıt, başlıca iki hücreye bağlı olarak zincirleme seyreden bir seri etkileşimler

sonucu gelişir ⁽⁴⁰⁾. Bu immün yanıt T lenfositler, makrofajlar ve bunlardan salınan sitokinlerle oluşur ⁽¹⁶⁾.

Normal bireylerde tüberküloz enfeksiyonu gelişmesi dört evrede meydana gelir:

Evre I: Başlangıç Evresi (Birinci Hafta)

Hasta tarafından çıkarılan basil içeren damlacıkların, sağlam kişi tarafından inhale edilip alveollere ulaşmasıyla patogenetik süreç başlar. Enfekte kişilerin özellikle öksürerek çevreye saçtıkları iri tükürük damlacıkları, solunum yollarındaki silier aktiviteye takılırken veya havada uzun süre asılı kalamazken; çevreye saçılan, havada uzun süre asılı damlacık halinde bulunabilen ve her biri 1-3 basil içeren, 1-5 nm çapındaki aerosoller alveollere kadar ulaşabilmektedir. Alveollere ulaşan bakterilerin hücresel immünite ve gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonunu başlatabilmesi için 10^3 - 10^5 sayısına ulaşması gerekir ⁽⁴¹⁾. Alveollere ulaşan basiller alveoler makrofajlar ya da kan kaynaklı monositler tarafından nonspesifik olarak fagosite edilirler ⁽⁴²⁾. Fakat çok sayıda basil ile enfeksiyon veya basilin virulans özelliği makrofajların basili tahrip etme özelliğini sınırlamaktadır. Aktive olmamış makrofaj içinde basil kolayca çoğalarak hücrenin erimesine yol açabilmektedir. Açığa çıkmış olan mikobakteriler, inflamatuvar cevap nedeniyle lezyon bölgesine gelmiş olan diğer monositer serideki hücreleri de enfekte ederler. Enfekte makrofajların bazıları bölgesel lenf bezlerine giderek immün yanıtı başlatırlar ⁽⁴³⁾. Konağın basilleri elimine etme yeteneği makrofajların bakterisidal gücüne ve basilin genetik ve fenotipik virulansına göre sağlanır. Hastalık gelişimine karşı direncin genetik kontrol altında olduğu savunulmaktadır. Aynı oranda tüberküloz basiline maruz kalan zencilerde beyazlara nazaran daha fazla tüberkülin konversiyonu saptanmıştır. Bundan dolayı zencilerde makrofajların basili yok etme yeteneğinin daha az olduğu sonucuna varılmıştır ⁽⁴⁴⁾.

Evre II: Ortak Yaşam ve Basillerin Logaritmik Çoğalma Evresi (2-3 hafta)

Alveoler makrofajlar basilleri yok edemezlerse basiller makrofajların içinde çoğalmaya başlarlar. Basil yüklü makrofajların neden öldüğü bilinmemekle beraber, son çalışmalar metabolik olarak aktif olan tüberküloz basilinin makrofajdaki apoptozisi indüklediği, ölü basilin ise bunu inhibe ettiğini göstermektedir. Bu süreçte birçok kan kaynaklı monosit, serbestleşen basillerden açığa çıkan kemotaktik faktörlerin etkisiyle (C5a, MCP-1) olay yerine gelirler ve makrofaja dönüşürler. Ortamda serbest haldeki basiller bu makrofajların içine girerler. Bu aşamada simbiyotik bir ilişki gelişmiştir. Konağın makrofajı ve basil birbirlerine zarar vermezler. İnaktif durumdaki bu yeni makrofajların sitoplazmalarında bulunan fagositik vakuoller, basilin logaritmik çoğalması için ideal bir hücre içi ortam işlevi görür ^(18,39). Bölgedeki makrofajların

birbirine füzyonu sonucunda mononükleer dev hücreler (Langhans) ve Ghon odağı oluşur. Enfekte olmuş makrofajlar içlerindeki basilleri bölgesel, hiler-mediastinel lenf bezlerine lenfatik yolla ulaştırırlar. Akciğer hiler lenf bezlerinin de olaya katılması ile (Ghon kompleksi) hücrel immunite etkenle tanışır ve PPD pozitifleşir^(41,45,46). Bazen mediastinel lenf bezlerinden hematojen yayılım ile akciğer apeksine (Simon odağı), karaciğer, dalak, kemik, kemik iliği ve merkezi sinir sistemi (Rich odağı) gibi organ ve dokulara yayılıp burada odaklaşırlar (Milier tüberküloz)^(45,47,48).

Evre III: Hücre Aracılı İmmun Yanıt ve Geç Tip Aşırı Duyarlılığın Gelişimi (3–9 hafta)

Hücrel immun yanıt (Hİ) ve CD8'e bağlı gecikmiş tipte aşırı duyarlılık reaksiyonları (GAD) 3. haftadan sonra gelişir. Tüberkülozda Hİ, antijen varlığında (tüberküloz basilleri) makrofajları aktive eden sitokinleri üreten geniş bir antijen spesifik Th1 lenfosit popülasyonu ile karakterize yararlı bir konak yanıtıdır^(39, 49, 50). Hİ tam olarak geliştiğinde, aktive T hücreleri ve makrofajların basilleri çevrelemesi ile granülom formasyonu ve tüberküloza özgü tüberkül denen lezyon gelişir. Granülomun amacı basilleri sınırlamak ve yayılmalarını önlemektir. Lezyon bölgesindeki basil sayısı Hİ ile yok edilemeyecek kadar fazladır. GAD basil yüklü makrofajları yok ederek inaktif makrofajlar içindeki basillerin çoğalmasını durdurur. Bu sırada çevre dokularda da harabiyet oluşarak, granülomların merkezinde kazeöz nekroz odakları oluşur. Oluşan kazeöz nekroz ortamında, anoksik koşullar, düşük pH, toksik yağ asitlerinin varlığı ve henüz bilinmeyen nedenlerle basiller çoğalamazlar fakat canlılıklarını sürdürebilirler. Hem Hİ, hem de GAD'ın basillerin çoğalmasını eşit oranda inhibe ettiği saptanmıştır. Ancak Hİ bu işlemi makrofajları fagosite ettikleri basilleri öldürmeleri için aktive ederek gerçekleştirirken, GAD basil içeren aktive olmamış makrofajları ve çevre dokuları yok ederek basilin büyümesi için çok uygun olan hücre içi çevreyi ortadan kaldırarak yapar⁽³⁸⁾. Kazeöz dokularda basillerin bir kısmı ölür, diğerleri yıllarca hatta yaşam boyu dormant halde (canlı ve çoğalamayan) kalırlar. Böylece konakçı hücre içi basil çoğalmasını durdurmuş fakat bunun için kendi dokularında da harabiyet yapmak durumunda kalmıştır. Primer infeksiyonun olduğu ve tüberkülin deri testinin pozitifleştiği bu evreden sonra, akciğerler ve diğer organlarda primer kompleks lezyonları GAD ve Hİ arasındaki karşılıklı etkileşime bağlı olarak ilerleyebilir veya gerileyebilir^(38, 39, 49). Bu evrede eğer konağın Hİ'si iyi gelişmiş ise (%90-95 olguda) infeksiyon granülom oluşması ile sonlanır ve kontrol altına alınır. Primer lezyon ve metastatik odaklar geriler, minimal sekel bırakır. Konağın immun cevabı yetersiz ise

(%5-10 olguda) progresif akciğer tüberkülozu veya ekstrapulmoner hastalık oluşur^(38, 42, 49, 50).

Evre IV: Likefaksiyon Ve Kavite Oluşumu

Granülom oluşumundan sonra patolojik olaylar sınırlandırılmazsa, makrofajlarda bulunan TNF- alfa, reaktif oksijen metabolitleri ve basilin kord faktörü gibi toksik ürünler bölgedeki doku destrüksiyonunu arttırır. Bu arada makrofajlarca salınan prokoagulan faktörler koagulasyon faktörlerini aktive eder ve bunun etkisiyle kan damarlarında trombüsler gelişir. Sonuçta lezyonun santralinde kazeifikasyon nekrozu gelişir (tüberkül). BCG uygulanmış bireylerdekinin aksine, basil ile ilk kez karşılaşmış kişilerin primer infeksiyonlarında gelişmiş olan tüberkülda sınırlayıcı olamayabilir. Orta bölgedeki kazeumun bronşa açılması ile ortası kaviteli, çevresi bağ dokudan ibaret bir yapı yani kavern gelişir. Bu patolojik yapı da fibrozis veya kalsifikasyon ile iyileşir. Bronşa açılım sonucu akciğer içi yayılımla tüberküloz bronkopnömoni veya lenfohematojen yolla milier tüberküloz yada organ tüberkülozları gelişebilir^(41, 45-47).

Postprimer Tüberküloz

Primer infeksiyonun geçirilmesinden sonra hayatın herhangi bir evresinde vücudun genel direncinin kırılması (diyabet, beslenme bozukluğu, stresler, mide ameliyatı, pnömokonyoz, immunosupresif ilaçların kullanılması vb.) ve primer odakdaki dormant basillerin yeniden aktivasyonu ve çoğalması ile tüberküloz hastalığı gelişebilir (postprimer tüberküloz). Burada lezyon apikal ve subapikal bölgelerdeki (daha önce hematojen yayılım odakları, simon odakları) lezyonların bronkojen yolla yayılımı ile gelişir⁽⁵¹⁾. Reaktivasyon akciğer dışındaki alanlarda olursa ekstrapulmoner tüberküloz tipleri ortaya çıkar. Akciğer tüberkülozunun en sık rastlanan şekli endojen reaktivasyondur; ancak ekzojen reinfeksiyon da olabilir. Postprimer tüberkülozun patognomonik özelliği erime ve kavite oluşumudur⁽⁴²⁾.

2.6. Tüberküloz'un Kliniği

Primer infeksiyonu takip eden ilk beş yıl içinde ortaya çıkan tüberküloza primer tüberküloz (çocukluk tüberküloz'u), primer tüberkülozdan beş yıl sonra ortaya çıkan tüberküloza ise postprimer tüberküloz (yetişkin tipi tüberküloz) denir^(52, 53).

Primer infeksiyon

Her yaşta görülmekle birlikte özellikle tüberküloz infeksiyonunun yaygın olduğu ülkelerde erken çocukluk çağında olduğundan, çocukluk tüberkülozu olarak da adlandırılır. Lezyon akciğerde özellikle orta ve alt loblarda yerleşir. Primer infeksiyon geçiren özellikle 0-4 yaş arası çocuklarda, malnütrisyon, kabakulak ve kızamık gibi diğer infeksiyonların varlığında hastalanma riski artar. Bu dönemde tüberküloz menenjit

ve milier tüberküloz şekilleri de sık görülür. Çocuklarda saptanan plevral efüzyonlarında önde gelen nedenlerinden biri primer tüberküloz infeksiyonudur. Çoğunlukla primer tüberküloz infeksiyonunun semptomları hafif bir ateş, plevra reaksiyonu ve minimal bir sıvı toplanmasına bağlı yan ağrısı olabilir. Tüberkülinin pozitif dönüşmesi primer tüberküloz infeksiyonunun geçirildiğini gösterir^(41,45-47,53).

Sekonder infeksiyon (post primer tüberküloz)

Daha önce primer infeksiyon geçirmiş, PPD pozitif kişilerde, yaşamın ileriki bir evresinde endojen reaktivasyon veya eksojen reinfeksiyon sonucu ortaya çıkan, erişkin tipi akciğer tüberkülozudur. Eksojen infeksiyon genellikle akciğerde ve apeks bölgesinde, endojen infeksiyon daha çok hiler lenf bezlerindedir⁽⁵⁴⁾. Hastalık genellikle sinsi seyirlidir fakat pnömoni gibi akut başlangıçlı tablolarda olabilir. En sık görülen semptom öksürüktür^(45, 47, 53).

Akciğer Dışı Tüberküloz

Milier tüberküloz; tüberküloz basilinin kan yoluyla yayılması sonucunda akciğerlerde 2 mm çapında darı tanesi görünümünde nodüllerin oluşması ile karakterizedir. Daha çok 0-4 yaş grubu, immun sistemi zayıf ve virulansı yüksek basille enfekte olan çocuklarda görülür. Primer infeksiyondaki kan yayılımı sırasında intimada kazeöz vaskülit oluşur ve basiller buradan kan dolaşımına geçer, tüm organlara dağılır, özellikle karaciğer ve dalakta yerleşir. Yetişkin hastalarda da eski bir tüberküloz lezyonunun yeniden aktive olması ve kan damarlarında erozyon yapmasıyla veya tüberküloz lezyonu içeren bir organda yapılan cerrahi işlemler ile basil kana karışabilir ve milier tüberküloz gelişebilir⁽⁵⁵⁾.

Plevra tüberkülozu; çoğunlukla çocuklarda ve genç erişkinlerde primer infeksiyonu takiben basilin plevraya yayılmasıyla gelişir. Plevra sıvısı eksuda niteliğinde olup sitolojik olarak lenfosit hakimiyeti vardır. Tedavi edilmeyen olguların da kendiliğinden iyileşmesi söz konusudur, ancak bunlarda 5 yıl içinde önemli bir oranda akciğer tüberkülozu görülür⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾.

Perikard tüberkülozu; çoğunlukla hiler ve/veya mediastinal lenf bezlerinden komşuluk yoluyla seyrek olarak ta plevra tüberkülozunun yayılmasıyla gelişir^(29, 48).

Lenfadenit tüberküloz; daha çok çocuklarda, sıklıkla servikal ve sub mandibuler lenf bezlerinde görülür⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾.

İskelet sistemi tüberkülozu; çoğunlukla primer infeksiyonu takip eden ilk üç yılda ortaya çıkar. % 50 vertebra (en sık T10 düzeyi), %15 kalça, %15 diz eklemlerinde görülür⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾.

2.7. Tüberküloz'un Tanısı

Tüberküloz'un kesin tanısı gelen klinik örneklerde tüberküloz basilinin gösterilmesi ile konur⁽⁵⁶⁾. Tanıda ayrıca anamnez, fizik muayene bulguları, radyolojik tetkikler de yardımcıdır.

1. Bakteriyolojik tanı: Örneklerin direkt preparat halinde incelenmesi veya kültürü yapılması şeklinde ikiye ayrılır. Direkt preparatlar hem hızlı sonuç verilmesi hem de maliyetinin düşük olması nedeni ile tüberküloz tanısında çok önemli bir yere sahiptir⁽⁵⁷⁾.

a. Direkt mikroskopik inceleme: M. tuberculosis aranması için alınan materyaller balgam, açlık mide suyu, solunum sistemine ait diğer örnekler (bronş lavajı, bronkoalveolar lavaj, transbronşial biyopsi gibi), idrar, beyin omurilik sıvısı, gaita, doku ve diğer vücut sıvılarıdır. Akciğer tüberkülozu tanısı için en sık balgam örneğine başvurulur. Balgam ard arda 3 gün, sabah erken saatlerde, steril, geniş ağızlı, kapağı sıkı kapatılabilen plastik kutulara alınmalıdır ve alınan tüm örnekler hızla laboratuara ulaştırılmalıdır⁽⁵²⁾. Yaymalar direk materyalden hazırlanabileceği gibi, dekontaminasyon işlemi sonrası örnek santrifüj edildikten sonra (homojenizasyon) elde edilen materyalden de hazırlanabilir. Steril bölgelerden alınan materyallere dekontaminasyon işlemi uygulamaya gerek yoktur. Mikobakteriler kimyasal ajanlara daha dayanıklı olduklarından, bu özellikleri kullanılarak dekontaminasyon işlemi gerçekleştirilir. En sık kullanılan yöntem, N-asetil-L-sistein %2 NaOH (NALC-NaOH) yöntemidir. NALC disülfid bağlarını kopararak mukolitik etki, NaOH ise dekontaminasyon yapar^(48,58). Hazırlanan yaymalar karbol fuksin metodları veya flo-ro-krom metodları ile boyanabilir. Karbol fuksin metodları; Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) ve Kinyoun metodudur. Florokrom metodunda preparat auramin-o ile boyanır ve floresan mikroskopta incelenir^(59,60). Alınan örnekte basil görülebilmesi için balgamın her ml'sinde 5000-10000 basil bulunmalıdır⁽⁶¹⁾.

b. Kültür: Tüberküloz tanısı kesin olarak ancak basilin kültürde üretilmesi ile konur. Kültür yöntemleri geç sonuç vermesine rağmen, tür düzeyinde idendifikasyon işlemleri için gerekli izolatların elde edilebilmesine, bakterilerin canlılıklarının doğrudan gösterilebilmesine, ilaç duyarlılık testlerinin yapılarak hastaların doğru tedavi edilebilmesine, çoğaltılan izolatların daha sonraki araştırmacılar için saklanabilmesine ve epidemiyolojik verilerin elde edilebilmesine imkan sağlamaları açısından TB tanısında halen altın standart olmaya devam etmektedir⁽⁶²⁾. Yapay ortamda çoğalma için, potasyum, magnezyum, fosfor ve sülfür gereklidir. Nitrojen gereksinimi amonyum tuzları ve bütün yumurta içeriği, karbon gereksinimi ise glukoz veya gliserol tarafından

karşılır. Mikobakteriumların en iyi çoğaldığı pH 6.5-7'dir. CO₂ konsantrasyonunun %5-10 arasında olması gerekir. CO₂, kültür çoğalması sırasında yavaşça üretilir. Ancak inkübasyonun ilk 3-4 haftasında CO₂ ortamı gerekir. Nem nispeten yüksek olmalı ve inkübasyon ısısının 35-37°C arasında bulunması gerekir⁽⁵⁸⁾. Kültür için kullanılan besiyerleri üç grupta incelenebilir⁽²⁹⁾.

b.1. Yumurtalı besiyerleri (Löwenstein-Jensen, petraghani, Amerikan Toraks Topluluğu)

b.2. Sıvı besiyerleri (Middlebrook7H12)

b.3. Agarlı besiyerleri (MB7H10.MB7H12)

En sık kullanılan besiyeri Löwenstein-Jensen besiyeridir. Bakteriolojik tanıda sık kullanılan yeni yöntemler, hızlı kültür sistemleri olan BACTEC ve MGIT (Mycobacterium Growth İndicator Tube) dir. Bu yöntemlerin esasını sıvı besiyerleri oluşturur (TK kültür sistemi hariç). Sıvı kültürler ile mikobakterilerin saptanması daha kısa sürede ve daha yüksek duyarlılıkta olmaktadır. İçlerinde Middlebrook 7H9 ve Dubos Tween albümin sıvıları yer alır. Hızlı kültür sistemleri cihaz ve bilgisayar ile değerlendirilip değerlendirilmemesine göre manuel, yarı otomatize veya tam otomatize sistemler olarak gruplandırılmaktadır⁽⁶¹⁾.

b.4. Otomatize hızlı kültür yöntemleri

MGIT 960 (Mycobacterium Growth İndicator Tube) (BD Biosciences, MD, ABD)

BACTEC 9000 MB (BD Biosciences)

MB/BacT ALERT , BacT / ALERT 3D , BacT / VIEW (bioMerieux)

MycoESP II (Extra Sensing Power) Sistemi (Trek Diagnostics Inc., Ohio, ABD)

TK Kültür Sistemi (Salubris A, İstanbul): TK Medium, TK SLC (selektif), TK PNB, TK İNHRİF-STR-EMB, MYCOLOR TK⁽⁵⁸⁻⁶²⁾.

b.5. Yarı otomatize hızlı kültür sistemi

BACTEC 460 TB Sistemi (BD Biosciences): Middlebrook 7H12 (BACTEC 12B) veya Middlebrook 7H13 (BACTEC 13A) sıvı besiyerleri ile karbon kaynağı olarak C işaretli palmitik asit içeren radyometrik bir sistemdir. DSÖ ve National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından altın standart kabul edilen sistem ülkemizde halen en çok kullanılan otomatize kültür sistemidir⁽⁵⁸⁻⁶²⁾.

b.6. Manuel hızlı kültür sistemleri

MB Redoks (Biotest Diagnostics Corp., NJ, A.B.D) : Modifiye Kirchner besiyeri içerir. SeptiChek AFB (BD Biosciences) : Sıvı (Middlebrook 7H9) ve üç tip katı (LJ, Middlebrook 7H11, çukulatamsı agar) besiyerini birlikte içeren bifazik bir sistemdir. Ülkemizde bu sistemi kullanan merkez yoktur.

MGIT: Modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren ve cihazsız olarak mikobakterilerin üretilmesine dayalı bir yöntemdir. Wood lambası veya transilluminator dışında başka özel ekipmana gerek yoktur⁽⁵⁸⁻⁶²⁾.

2. Tüberkülin Deri Testi: Test, infeksiyon veya BCG aşısı yoluyla basil ile karşılaşan kişilerde gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonunun ortaya çıkarılmasına dayanır. Pozitif deri testi immunitiyi göstermediği gibi, hastalığın varlığını veya yokluğunu da göstermez, sadece kişinin tüberküloz basili antijeni ile daha önce karşılaştığını gösterir. Tüberkülin deri testinde en sık kullanılan tüberkülin maddesi PPD (5TUPPD) dir^(45,63, 64).

3. Serolojik Tanı Yöntemleri: İmmunolojik tanı için hem klinik örneklerde mikobakteriyel antijenlerin gösterilmesi, hem de bu antijenlere karşı oluşan antikörlerin saptanmasına çalışılmaktadır. Geliştirilen yöntemler arasında immunodiffüzyon, pasif hemaglutinasyon, ELISA floresan antikor, solid faz radyoimmunoassay bulunmaktadır. Serolojinin yüksek tanı değerine sahip olduğu diğer hastalıklardan farklı olarak tüberkülozda, klinik kullanım için duyarlı, özgül ve pratik bir yöntem geliştirme çabaları başarısız kalmıştır. Özgüllük konusunda temel sorun, infekte olmak ile hastalık varlığı ayırımının yapılamamasıdır. Daha önce yapılmış olan BCG aşısına bağlı olarak serolojik reaksiyon da sorun oluşturmaktadır^(58, 65, 66).

4. Moleküler Biyolojik Yöntemler:

a-Nükleik asit çoğaltma yöntemleri: Nükleik asit çoğaltma yöntemleri iki prensip üzerine oturtulmuştur. Bunlar; nükleik asit prob hibridizasyon ve nükleik asit amplifikasyon (NAA) yöntemleridir. Nükleik asit prob hibridizasyon yöntemlerinde örnekteki hedef nükleik asit dizisi, komplementeri olan işaretli bir prob ile hibritlenmekte ve tanı konmaktadır. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri ise nükleik asit teknolojisinin en kompleks ve duyarlı olanıdır. Bu yöntemde hedef DNA'yı çoğaltmak için enzim kullanılır. Ortaya çıkarılan amplikonu tespit için de nükleik asit problemleri kullanılması ve agaroz jelde amplikonların boyanarak gösterilmesi yoluna gidilir. Yöntemin üç modifikasyonu bulunur⁽⁶⁷⁾.

- Hedef amplifikasyon yöntemleri: Polimeraz zincir reaksiyonu
- Prob hibridizasyon bazlı NAA: Ligaz zincir reaksiyonu
- Sinyal amplifikasyona dayalı yöntemler

Polimeraz Zincir Reaksiyonu: Nükleik asitlerin in vitro şartlarda replikasyonu için geliştirilmiş bir test tüp sistemidir. Hedef DNA/RNA'nın selektif olarak amplifikasyonuna imkân verir. Tüberküloz laboratuvarlarında klinik örneklerde bulunabilecek etkenin kısa sürede gösterilmesi, erken identifikasyonu, moleküler tiplendirilmesi ve ilaç direncinin saptanmasında kullanılmaktadır⁽⁶⁷⁾.

Restriction fragment length polimorfizm (RFLP): Restriksiyon enzimleri; DNA'yı çok özgül olarak belli bölgelerden keserek genellikle 1000–20000 baz çiftlik parçalar oluşturan enzimlerdir. DNA'nın bu enzimlerin bir ya da birkaçı ile kesime uğratıldıktan sonra, agaroz jel elektroforezine tabii tutulması ve sonra etidyum bromür ile boyanan jelde oluşan DNA bantlarının yeri ve sayısı kıyaslanarak elde edilen çeşitliliğe RFLP adı verilir. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılır. Dört temel adım vardır: DNA izolasyonu, DNA'nın restriksiyon enzimleri ile kesimi, kesilen DNA'nın elektroforezi ve jeldeki DNA parçalarının görüntülenmesi ⁽⁶⁸⁾. Bu yöntemle M. tuberculosis complex içinde tip tayini ve M. tuberculosis suşlarında nokta mutasyonları saptanarak ilaç direncini saptamak mümkündür ⁽⁶⁷⁾.

2.8. Duyarlılık yöntemleri:

Klinik örneklerden etken olarak izole edilen mikobakterilere duyarlılık deneyi uygulaması, klinisyenin en etkili antitüberküloz ilacı seçmesi ve hastanın uygulanan tedaviye verdiği cevabın değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Mikobakterilerin antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını belirlemek amacıyla uygulanan deneylerde, direkt ve indirekt olmak üzere 2 yöntem kullanılmaktadır. Direkt yöntemde; preparatında aside dirençli bakteri görülen klinik örneklerin, mililitresindeki ortalama bakteri sayısı hesaplanarak, homojenizasyon-dekontaminasyon işlemleri sonrasında ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekimi yapılır. İndirekt yöntemde ise, klinik örneklerden saf kültür halinde aside dirençli bakteri izole edilir, uygun inokulum hazırlanarak ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekim yapılır. Mikobakterilerin duyarlılık deneylerinde, oleik asit-albumin-dekstroz-katalaz (OADC) ile zenginleştirilmiş Middlebrook 7H10 ve 7H11 besiyerleri ile yumurta temelli Löwenstein-Jensen besiyeri kullanılır. Radyometrik yöntemlerde ise 4 ml'lik hazır BACTEC 12B (Middlebrook 7H12) besiyeri kullanılmaktadır. M.tuberculosis 'in ve diğer yavaş üreyen mikobakterilerin tedavisinde kullanılan primer ve sekonder antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı saptamada 5 yöntem tarif edilmiştir ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

- a) **Orantı (proporsiyon) yöntemi (direkt – indirekt):** Bu yöntemde basiller ilaç içeren ve ilaç içermeyen agar temelli besiyerlerine ekilip 3 hafta inkübasyona bırakılmaktadır. İnkübasyon sonunda ilaç içeren besiyerindeki koloni sayısının, ilaç içermeyen besiyerindeki koloni sayısına oranı dirençli basillerin oranını gösterir. Test edilen suşlarda hesaplanan direnç yüzdesi 1 veya daha fazla ise o suşun test edilen antibiyotiğe dirençli olduğu kabul edilir ⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾.
- b) **Mutlak konsantrasyon yöntemi:** Test edilen organizmaya karşı her bir ilacın Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerini tespit etme temeline dayanan

bu yöntemde, 2×10^3 veya 2×10^4 koloni oluşturan birim/mililitre (kob/ml) bakteri içeren mikobakteri solüsyonu, hem belirli konsantrasyonlarda ilaç içeren hem de ilaçsız kontrol besiyerlerine ekilir. Üreme olmayan besiyerindeki ilaç konsantrasyonu o suşun MİK değeri olarak kabul edilir ⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾.

c) **Nisbi direnç yöntemi:** Mutlak konsantrasyon yöntemi ile aynı temel prensibe dayanır. Farkı bu yöntemde standart H37Rv M.tuberculosis suşu ile denenen suşa paralel bir seri hazırlanmasıdır. Denenen mikobakteri suşunun MİK değeri, standart suşun MİK değerine bölünerek direnç belirlenir. Bu oran ≥ 8 ise suş denenen ilaca dirençli, ≤ 2 ise duyarlıdır. Oranın 4 olması suşun dirençli olabileceği hakkında fikir vermektedir ⁽⁶⁸⁻⁷¹⁾.

d) **Radyometrik proporsiyon yöntemi:** NCCLS tarafından standart bir yöntem olarak kabul edilen bu yöntemde BACTEC TB 460 sistemi kullanılır ve klasik yöntemlerle aynı temele dayanır. Farkı sıvı besiyeri (Middlebrook 7H12;12B) kullanılması ve 3 hafta sonra koloni sayılması yerine, üremenin radyometrik olarak takip edilmesi ve sonuçların 4-5 gün içerisinde verilebilmesidir. Bu yöntemle özellikle ilk seçenek antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık test edilebilmektedir. Dirençli basillerin oranının belirlenememesi ve radyoaktif madde kullanımı gibi dezavantajlara sahipse de, hızlı, güvenilir bir yöntem olması ve agar oranı (proporsiyon) metodu ile %90 uyumlu olması nedeniyle birçok merkez tarafından kullanılmaktadır. Bu yöntemde duyarlılığı saptanacak her suş için dört antibiyotikli (Streptomisin, İzoniazid, Rifampisin, Etambutol) ve bir antibiyotiksiz olmak üzere beş adet 12B besiyeri kullanılır. Besiyerlerine her ilaçtan 0.1 ml ve 12B besiyerinde Üreme İndeksi (GI) 500-800 arasında olan denenecek suştan 0.1 ml eklenir. Kontrol şişesinin hazırlanması için, orijinal suş Bactec Dilüsyon Sıvısı (DF) ile %1 direnci saptamak için 1/100 oranında sulandırılır. 37° C'de inkübe edilen besiyerleri Bactec cihazında her gün aynı saatlerde (± 2 saat) okutulur, 4-12 gün boyunca GI' ları takip edilir. Bir önceki güne göre GI değerleri arasındaki fark ΔGI olarak ifade edilir ve kontrol şişesinin GI değeri ≥ 30 olduğunda, kontrol şişesi de dahil olmak üzere tüm şişelerin ΔGI ' ları hesaplanır ve sonuçlar aşağıdaki şekilde yorumlanır :

ΔGI (kontrol) $>$ ΔGI (ilaç) \rightarrow "duyarlı"

ΔGI (kontrol) $<$ ΔGI (ilaç) \rightarrow "dirençli"

ΔGI (kontrol) \approx ΔGI (ilaç) \rightarrow "sınırdaki" (tekrar edilmelidir)

Bir mikobakterinin belirli bir antibiyotiğe karşı duyarlı ya da dirençli olarak tanımlanabilmesi için o ilacın konsantrasyonunun önceden belirlenmiş olması gerekir.

Bir ilacın kritik konsantrasyonu mutant suşların üremesini etkilemeksizin tüm yabancı suşların üremesini inhibe eden ilaç miktarı olarak tanımlanır. Günümüzde gerek NCCLS gerekse CDC ve American Thoracic Society (ATS) komiteleri tarafından duyarlılık deneylerinde kullanılan ilk seçenek ilaçlar için farklı besiyerlerine göre bazı kritik konsantrasyon değerleri şu şekilde önerilmiştir ⁽⁷²⁻⁷⁴⁾

Tablo.1. İlk seçenek antimikrobiyal ilaçların radyometrik (BACTEC TB460) yöntem ve agar proporsiyon yönteminde önerilen kritik konsantrasyonları.

Antimikrobiyal madde	Duyarlı suşlar için MİK (µg/ml)	Serumdaki konsantrasyon (µg/ml) ²	Besiyeri ve konsantrasyon (µg/ml)			
			BACTEC 12B		BACTEC 7H10	
			Düşük ³	yüksek ³	düşük ³	yüksek ³
INH	0.05-0.2	7	0.1	0.4	0.2	1
RIF	0.5	10	2	-	1	-
SM	8	25-50	2	610	2	
EMB	1-5	2-5	2.5	7.5	5	10
PZA ¹	20	45	100	-	25	-

¹.PZA, BACTEC 12 B besiyerinde PH 6'da, 7H10 agara besiyerinde PH 5.5'te test edilir.

².Daha önceden belirlenen uygun doz kullanımını takip eden 1-4 saat aralığındaki serum konsantrasyonu.

³.Antimikrobiyal maddelerin düşük ve yüksek kritik konsantrasyonlarını göstermektedir. Ancak bu ilaçların düşük konsantrasyonları sorgulanmalıdır.

Mikobakterilerin duyarlılığının belirlenmesinde geleneksel yöntemler dışında günümüzde moleküler ve fenotipik özelliklere dayalı yeni duyarlılık yöntemleri de kullanılmaktadır.

Moleküler yöntemler içerisinde Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP), Polymerase Chain Reaction-Heteroduplex Formation (PCR HDF), Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), Dideoksi fingerprinting (ddF), Automatize DNA Sequencing, Solid faz hibridizasyon ve DNA microarray, sayılabilir. ^(73,74,75)

Fenotipik yöntemler içerisinde ise Mikobakteri Büyüme İndikatör Tüp Yöntemi (MGIT), E-Test (Epsilometer), Kolorimetrik Yöntem (Alamar Blue), Biyoluminesans

ölçümü (hücrese ATP ölçümü), Flow Sitometri yöntemi, Lusiferaz taşıyıcı faj yöntemi (LRP) ve Modifiye agar-dilüsyon yöntemi (mikrokoloni saptama) sayılabilir ⁽⁷³⁻⁷⁵⁾.

2.9. Tüberkülozun Tedavisi

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 negatifleştirmek
2. İlaç direnci gelişimini önlemek
3. Relaps olmaksızın tam kür sağlamak
4. Toplumda infeksiyonun yayılmasını önlemek.

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilk sıra ilaçlar streptomisin, izoniazid, rifampin, etambutol ve prazinamiddir. 1944 yılında streptomisinin keşfi ile tüberküloz tedavisinde altın çağ başlamıştır. Bunu 1952 yılında izoniazidin, 1965 yılında rifampinin ve 1968 yılında etambutolün bulunuşu izlemiştir. 1970'li yıllarda rifampinin, 1980'li yıllarda ise prazinamidin tedaviye eklenmesiyle, tüberküloz tedavisi sırasıyla dokuz ve altı aylık sürelerle kısalmıştır. Günümüzde de tüberküloz tedavisi için DSÖ'nün önerdiği "çok ilaçlı, kısa süreli" tedavi uygulanmaktadır ⁽⁷⁶⁻⁷⁹⁾.

Tüm bu tedavi yaklaşımlarına rağmen tüberküloz olgularında artış bildirilmektedir. Özellikle son yıllarda dirençli suşların ortaya çıkışı, hastalığın kontrolünü güçleştirmektedir. Tüberküloz tedavisinde diğer bir ciddi sorun da latent kalan organizmalara bağlı gelişen relapstır. Tüberküloz tedavisi uzun süreli bir tedavidir ve hastanın tedaviye uyması, tedavinin başarısında büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda, aralıklı (intermittant) tedavi şemaları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Böylece hastaların tedavi protokollerine daha iyi uyum sağlamaları hedeflenmektedir. Tüberküloz tedavisinde bu zorluklar göz önüne alındığında, yeni tüberküloz ilaçlarının geliştirilmesi gerektiği görülmektedir. Bu amaçla kurulmuş olan, Global Tüberküloz İçin İlaç Geliştirme Örgütü (Global Alliance for TB Drug Development) yeni ilacın; çoklu ilaç dirençli ve latent M. tuberculosis'e etkili ve de tedavi süresini altı aydan iki aya veya daha kısa süreye indirebilecek bir ilaç olması gerektiğini belirtmektedir ⁽⁸⁰⁾.

Tedavide kullanılan ilaçlar üç grupta toplanabilir:

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 ⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

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 yer alır. Bu ilaçlar birinci sıra ilaç kombinasyonlarına bakteride rezistans gelişmesi veya bu ilaçlara ait ciddi yan etkiler görüldüğünde veya kontrendikasyon varlığında, AIDS'li hastalarda olduğu gibi hastada immun yetmezlik bulunması ve benzeri durumlarda tercih edilir⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

3. Sıra ilaçlar: Rifobutin, Rifapentin makrolid antibiyotikler (klaritromisin, azitromisin), florokinolon türevleri, amikasin, amoksisilin + klavunat ve bir lepra ilacı olan klofazimin bu grupta yer alır. 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 infeksiyonu gelişmesi nedeni ile bu grup ilaçların kullanımı gündeme gelmiştir⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

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 antibiyotiğe karşı direnç 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 vardır^(53, 83). Aşağıdaki tabloda belirtilen bu basil grupları içinde, en büyük popülasyonu A Grubu, ikinci olarak C Grubu basiller oluşturmaktadır. İlaçların bu basil grupları üzerine etkileri de farklılıklar göstermektedir⁽⁸³⁾.

Tablo 2. Tüberküloz Lezyonlarında Farklı Metabolik Aktivite Gösteren Basil Grupları^(83,84)

	Bulunduğu yer	Metabolik aktivite	Sorumlu olduğu olay	En etkili ilaç
A grubu	Kavite duvarı	Hızlı	Bulaştırıcılık direnç gelişimi	H>S>R>E
B grubu	Hücre içi asit ortam	Yarı dormant	Relaps	Z>R>H
C grubu	Kazeöz odaklar	Yarı dormant	Relaps	R>H
D grubu	Primer lezyon	Dormant	Reaktivasyon	

(H: İzoniazid, S: Streptomisin, R: Rifampin, E: Ethambutol, Z:Prazinamid)

2. İlaçlar yeterli süre kullanılmalıdır; Sterilizasyon sağlamak, relapsları önlemek için tedavi uzun süre devam ettirilmelidir. Uzun süreli tedavide ilacın enjeksiyon şeklinde kullanılan bir ilaç olması sakıncalıdır. Bu nedenle tüberküloz ilaçlarının çoğu oral uygulanan ilaçlardır ^(83, 84).

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 ^(83, 84).

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 ^(83, 84).

İzoniazid

İzonikotinic asidin hidrazididir. İzoniazid halen en güçlü antitüberküloz ilaçtır. Klinik dozlarla oluşan konsantrasyonlarda dormant basiller üzerinde bakteriyostatik, hızlı çoğalanlar üzerinde bakterisid (tüberkülisid) etki yapar ⁽⁸³⁻⁸⁵⁾.

Ayrıca makrofajların ve kazeöz lezyonların içine girebilmesi, iyi absorbe edilmesi, 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, M. tuberculosis'ten başka bakteriler üzerinde antibakteriyel etki yapmaz. Bu nedenle çok dar spektrumlu bir ilaçtır ⁽⁸⁶⁾.

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 desatüras 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. İsoniazid mikroorganizma içine diffüzyon ve oksijen bağımlı aktif transport ile alınır ve dirençli organizmalarda bu uptake azalmış olabilir^(85, 86).

İsoniazid 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 izonikotik 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 asetilleyiciler). Bunlarda izoniazid'in inaktivasyon hızı, normal (hızlı asetilleyici) kimselere göre ortalama 5-6 kez daha yavaştır. Eliminasyon yarı ömrü hızlı asetilleyicilerde ortalama 1 saat, yavaş asetilleyicilerde ise 3 saat bulunmuştur. Yavaş asetilleyicilerde normal dozda izoniazid ile tedavi yapılırsa ilaç vücutta birikir, nörit ve hepatit bunlarda daha fazla oranda oluşur. Hızlı asetilleme, otozomal dominant bir karakterdir. İsoniazid 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^(85, 86).

İsoniazid oral ve parenteral olarak uygulanabilir. Genellikle oral tek doz olarak verilir ancak ikiye bölünmüş dozda da verilebilir. İsoniazid'in toksik etkileri profilaktik piridoksin tedavisi ve hastanın dikkatli bir şekilde izlenmesi ile azaltılabilir^(85, 86).

Rifampisin

Bir rifamisin 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 M. leprae, gram pozitif ve gram negatif koklara, koliform basillere ve klamidya grubu mikroorganizmalara karşı da etkilidir^(83- 85).

Mikobakterilerin RNA polimeraz enzimini inhibe eder. Mikobakterilerde rifampisine direnç gelişmesi diğer bakterilerde olduğundan daha yavaştır. Direnç gelişimini önlemek için izoniazid, prazinamid, 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 dirençli suşlara karşı etkili bulunması bu ilacın değerini artırır. İnsan çalışmalarında izoniazid, rifampisine göre daha 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 bağlanmazken, rifampisin ise yaklaşık %80 oranında bağlanır. Rifampisin asit ortamda daha iyi emilir. Hem besinler, hem de antasitler emilimini azaltır. Standart tedaviye yavaş yanıt veren dirençli tüberkülozu olmayan hastalarda rifampisin dozunun ve serum ilaç düzeyinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiği öne sürülmüştür⁽⁸⁴⁾.

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 yada yemekten 2 saat sonra verilir^(84, 85).

Prazinamid

Nikotinanamid'in sentetik pirazin analogudur. İzoniazid 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. Prazinamid diğer tüberküloz ilaçları tarafından öldürülmeyen asidik ortamdaki yarı dorman basil popülasyonunu öldürür. Prazinamid'in aktivitesini göstermesi için neden asidik bir ortama gereksinim duyduğu bilinmemektedir. Bir çalışmada, asidik pH'nın M. tuberculosis'de prazinamidin aktif derivativesi olan pirazinoik asidin intrasellüler

akümülyasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Tersine, nötral veya alkali pH'da pirazinoik asidin *M. tuberculosis* hücrelerinin dışında olduğu bulunmuştur ⁽⁸⁷⁾.

Tüberkülosid etkisinin mekanizması belli değildir. Günümüzde tedavi programlarında birinci sıra ilaç şeklinde izoniazid ve rifampisine ek olarak kullanılmaktadır. Mide barsak kanalından iyi absorbe edilir. Vücutta tüm dokulara ve vücut sıvılarına kolayca dağılır. Esas olarak böbreklerden atılarak elimine edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 10-16 saattir ⁽⁸⁷⁾.

Morfozinamid (morinamid)

Prazinamid'in N morfolinometil türevidir. Hem kendi başına, hem de vücutta prazinamide dönüşmek suretiyle antitüberküloz etki yapar. Farmakolojik özellikleri ve yan tesirleri bakımından prazinamide benzer. Türkiye'de prazinamid yerine genellikle bu ilaç kullanılmaktadır. Çocuklarda kullanılmaz ^(83, 84).

Etambutol

Etambutol, Di- (1-butanol)-etilendiimin dihidroklorür'ün dekstro şeklidir. 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 veya izoniazid'e karşı direnç kazanmış suşlar üzerinde de etkilidir. Antitüberküloz ilaç kombinasyonuna direnç gelişimini önlemek veya geciktirmek için katılır. *M. tuberculosis*'in hemen hemen tüm suşları, *M. kansasii* ve bir çok *M. avium* kompleksi etambutole duyarlıdır ⁽⁸⁴⁾.

Tüberkülostatik etki mekanizması kesin olarak belli değildir. Mikolik asidin sentezini bozmaz, 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. Tamamı 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 ilaç depo görevi yapar, kan düzeyinin uzun süre sürdürülmesini sağlar. Etambutol 5 yaşın altındaki çocuklarda görme fonksiyonları test edilemeyeceğinden önerilmez ⁽⁸⁴⁾.

Streptomisin

M. tuberculosis tedavisinde ilk bulunan ilaçtır. Streptomisin parenteral olarak kullanılır. 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 duyarlıdır, ancak diğer nontüberküloz mikobakteriler nadiren duyarlıdır. 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 kaviterler içine (fakat kazeöz lezyonlara değil) iyi nüfuz eder. Dissemine tüberküloz ve tüberküloz menenjit gibi tüberküloz şekillerinde tercih edilir. Streptomisin gibi bir aminoglikozit olan kanamisin de tüberküloz tedavisinde onun yerine kullanılabilir. Kısa süreli rejimlerde izoniazid, rifampisin ve prazinamid 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 ^(83,88).

Para-aminosalisilik 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 veya olanaksız olduğundan onun yerine PAS kullanmak gerekir ⁽⁸⁴⁾.

Etionamid

Etionamid ikinci sıra bir ajandır, primer ilaçlar etkili olmadığında veya kontrendike olduğunda diğer ilaçlarla birlikte kullanılır. Etionamid izoniazid gibi izonikotinik asiden 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. Gastrik iritasyonu azaltmak için yemeklerle birlikte bölünmüş dozlarda verilir ⁽⁸⁴⁾.

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 veya 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 veya diğer ilaçlara direnç durumunda kullanılmalıdır ⁽⁸⁴⁾.

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 ⁽⁸⁴⁾.

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 ⁽⁸⁴⁾.

Tiasetazon

Çok ucuz olduğundan gelişmekte olan ülkelerde izoniazid'le birlikte çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İn vitro 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 eritema multiforme ve toksik epidermal nekrozis'dir ⁽⁸⁴⁾.

Klofazimin

Klofazimin tüberküloz tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmış olan bir riminofenazindir. Bu ilaç çok ilaça dirençli tüberküloz tedavisinde yararlı olabilir. Oral olarak aktiftir fakat absorpsiyonu değişkendir. Klofazimin retikuloendotelial sistemde ve adipoz dokularda birikir ⁽⁸⁴⁾

Kanamisin, amikasin, kapreomisin, viomisin

Bu bölümde gruplanan ilaçlar pek çok açıdan benzer özellikler göstermektedir. Hepsi "ikinci sıra" ilaçlardır ve sadece dirençli 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 bir arada kullanılmamalıdır ve streptomisinle kombine edilmemesi gereklidir ⁽⁸⁴⁾.

Kanamisin, bir aminoglikozittir. Toksik etkileri: nöromüsküler paralizi, solunum depresyonu, agranülositozis, anafaksi ve nefrotoksisite. Amikasin'de bir aminoglikozittir. Birçok 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 veya dirençli mikroorganizma varlığında diğer antitüberküloz ilaçlarla kombine edilerek kullanılır. Viomisin, birçok dirençli tüberküloz suşlarına karşı etkilidir. Kapreomisin ve viomisine karşı çapraz-direnç sıklıkla oluşmaktadır ⁽⁸⁴⁾.

2.10. Antitüberküloz İlaçlara Direnç Mekanizmaları

Tüberkülozda ilaç direnci kemoterapi dönemi ile birlikte insanoğlunun ortaya çıkardığı bir sorundur. Kötü kontrol programları özellikle Rifampisin' nin (R) denetimsiz kullanımı olayı çözümü çok zor bir noktaya getirmiştir. Bugün H (İzoniazid) ve R direncine ek olarak fluorokinolon ve aminoglikozid direncinin de bulunması olarak tanımlanan ve tedavi edilme oranı çok düşük olan "Yüksek ilaç direnci- Extensively drug resistant tuberculosis (XDR-TB)" nden bahsedilmektedir ⁽⁸⁹⁾. İlaç duyarlılık testleri

1) İlaç içeren ve içermeyen kültür ortamında üremenin makroskopik olarak izlenmesi

2) Metabolik aktivitenin ya da ürünlerinin ölçümü ya da ürünlerinin saptanması

3) Mikobakteriofaj ile lizis

4) Moleküler tekniklerle genetik mutasyonların saptanması esaslarına dayanır.

Löwenstein- Jensen kullanılarak yapılan standart yöntemler proporsiyon, absolut konsantrasyon ve rezistans ratio en sık kullanılan ve en azından majör antitüberküloz ilaçlar için en iyi standardize edilmiş durumda olan yöntemlerdir. Ne yazık ki bu yöntemlerle sonuçlar 6-8 haftada alınmaktadır. Bu en büyük dezavantajlarıdır. Daha kısa sürede sonuç elde etmek için yeni yöntemler geliştirilmiştir. Ama bunların da yüksek maliyet, karmaşık teknik ve uygulama için gerekli uzman personel bulunması gibi sıkıntıları vardır. Bunun ötesinde yeni tekniklerin hiçbiri için klinik ile uyumlu standart rezistans kriterleri bulunmamaktadır. Bu yöntemler arasında en çok tercih edilenler BACTEC-460 ve MB/Bact gibi CO₂ üretiminin veya MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) gibi oksijen tüketiminin saptanması esasına dayanan

yöntemlerdir. Rifampisin direncini saptayan bakteriofaj teknikleri (FAST-PlaqueTB-RIF) de araştırma safhasındadır. Bunun dışında “DNA sequencing”, “real-time PCR”, “line probe assays” gibi moleküler yöntemlerle ilaç direncinden sorumlu mutasyonları saptama çabaları sürmektedir ⁽⁶⁷⁾.

ÇİTB'den çoğunlukla standart tedaviye rağmen yayma ve kültür pozitifliğinin devam etmesi ya da hastalığın klinik ya da radyolojik olarak progresyonu ile şüphe edilir. ÇİDTB ile temas ettiği bilinen bir tüberküloz olgusunda da ÇİDTB şüphesi vardır. Tanının konabilmesi için duyarlılık testlerinde izoniazid ve rifampisin direncinin gösterilmesi önerilmektedir ⁽⁹⁰⁾.

Tüberkülozlu olgularda tedaviye çoğunlukla ilaç direnç durumu bilinmeden başlanır. Hangi durumlarda duyarlılık testi yapılacağı halen tartışma konusudur. Gelişmiş ülkelerde epidemiyolojik direnç verileri bellidir. Direnç paternleri göz önüne alınarak başlanılan ampirik tedaviden kısa bir süre sonra duyarlılık testleri elde edilebilmektedir. “Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (CDC)”, “Amerikan Toraks Derneği (ATS)”, “Amerikan İnfeksiyöz Hastalıklar Derneği (IDSA)” ve “İngiliz Toraks Derneği (BTS)” yeni ve eski tüm olgularda birinci sıra ilaçlar için başlangıçta duyarlılık testi yapılmasını önermektedir. Ancak toplumların birçoğunda bunu standart bir pratik olarak kabul etmek güçtür ^(91,92).

Kaynakları sınırlı olan ülkelerde duyarlılık testlerinin ÇİDTB yüksek riskli hastalarda yapılması önerilmektedir. Standart tedavi ile tedavide başarısızlık gelişmiş olgular, ÇİDTB ile temas öyküsü olan olgular, standart tedavinin 3. ayında yayma pozitif olan olgular, relaps ve tedaviyi terk edip dönen olgular, hastane personeli, HIV(+) olgular, ÇİD oranları yüksek toplumlarda yaşayanlar, malabsorbsiyon gibi kronik hastalıkları olanlar ÇİDTB için yüksek riskli olgulardır ⁽⁹⁰⁾.

M tuberculosis'de plazmidlere bağlı direnç tarif edilmemiştir. Daha ziyade tek basamaklı, rastgele, spontan kromozomal mutasyonlar sonucu oluşmakta ve bakteriler arası genetik aktarımı söz konusu değildir. İlaça duyarlı bakterilerin ölmesiyle var olan dirençli mutantlar belirgin hale gelir. Spontan direnç oranları sırasıyla INH, RFM, ETM ve SM için 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-5} olarak gerçekleşmektedir. Kromozomlar üzerindeki direnç bölgeleri birbirleriyle bağlantılı olmadıklarından, bakterinin iki ilaca birden spontan direnç geliştirmesi, olasılıkların çarpımına eşittir. Örneğin INH+RFM için 10^{-14} 'dür. Diğer taraftan ilerlemiş kaviteli olgularda bile toplam bakteri sayısı ender olarak bu sayıya erişir. Tüberküloz tedavisinde multiple ilaçların kullanılması, direnç mutasyonlarına çok az sıklıkla rastlanması ve duyarlı bakterilere nakledilememesi

temeline dayanır. Dolayısıyla birden fazla ilaç kullanılması direnci önleyici en önemli faktörlerden birisidir ⁽⁹³⁻⁹⁹⁾.

İsoniazid : İlk çalışmalar INH'a dirençli basiller ile katalaz-peroksidaz aktivitesi arasında ilişkiyi göstermişlerdir. INH'a dirençli klinik izolatların yaklaşık olarak yarısında katalaz-peroksidazı kodlayan katG geninde delesyonlar ve anlamsız mutasyonlar saptanmıştır. INH mikobakteriyel katalaz-peroksidaz ile reaksiyon sonucu aktive edilmesi gereken bir öncü ilaçtır. Katalaz-peroksidazdaki mutasyonlar sonucu inaktive enzim ortaya çıkar ve bu enzim ön ilacı aktive etmez ve yüksek derecede INH direncine yol açar. Bu mekanizma klinik izolatlarda en çok rastlanan direnç mekanizmasıdır. INH'ın etki mekanizmalarından birisi de inhA geni tarafından kodlanan ve mikolik asit sentezinde rol oynayan enoil redüktaz enzimine bağlanarak redüktaz aktivitesi inhibe etmektir. Bu nedenle inhA bölgesindeki mutasyonlarda INH'a dirençte rol oynarlar. Klinik izolatların yaklaşık %25 inde inhA geninde mutasyonlar saptanmıştır. KatG katalaz- peroksidaz aktivitesini ortadan kaldıran mutasyonlar INH aktivasyonunu engellemekte ve bu ilaca dirençte major mekanizma olarak görülmektedir. Fakat KatG aktivitesinin kaybolması bir paradoks olarak görülmektedir. Çünkü KatG aktivitesi organizmanın yaşayabilmesi için önemli bir faktördür. M tuberculosis de alkil hidroperoksidaz redüktazı kodlayan ahpC geni bulunmuştur. INH'ın aktif ara ürününü detoksifiye ettiği düşünülmektedir. KatG'nin veya alkilhidroperoksidaz ahpC'nin ekspresyonu basili organik peroksidlerin toksik etkilerine karşı korumaya yeterlidir. İnfeksiyon süresinde yaşayabilmek için INH'a dirençli katG mutanlarının kat G katalaz-peroksidaz kayıplarını ikinci bir mutasyonla ahpC nin fazla yapımı ile kompanse ettiği düşünülmektedir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Etionamid: INH'in potent yapısal analogudur. Etionamidin etki mekanizması INH'a benzer. Ön ilaç olarak aktivasyon ihtiyacı vardır. Enoil redüktazdaki mutasyonlar etionamide direnç oluştururken, katalaz-peroksidaz geninde mutasyon içeren INH'e dirençli suşlar etionamide duyarlı kalır. Bu durumda etionamidi aktive eden başka bir enzim olmalıdır ki bu enzim bu ön ilacı inhA kodlu enoil redüktaz a bağlanabilir forma getirmektedir ve sonuçta bu enzimi inhibe etmektedir. Bir diğer mekanizma enoil redüktazın fazla ekspresyonuna bağlı olarak gelişen dirençtir. INH a dirençli klinik izolatların çoğu inhA geninin promotor bölgesinde mutasyonlar içerir ve enoil redüktaz yapımı artar, Sonuçta ilaç enzimin bir kısmını inhibe edebilmekte, fazla miktardaki enzim mikolik asit yapımına devam etmektedir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Rifampisin: Rifampisin bakterideki RNA polimerazı rpoB geni tarafından kodlanan b alt ünitesine bağlanarak inhibe eder. Dirençli suşlarda mikobakteri RNA

polimerazının beta alt ünitesini kodlayan geni rpoB de 27 amino asidlik bir bölgede anlamsız mutasyonlar saptanmıştır. Rifampisin ve isoniazid direnci ile birlikte sıklıkla görülmektedir. Antibiyotikle karşılaşmamış suşların kültürlerinde direnç yaklaşık 10^{-8} oranında görülmektedir. Mutasyonların büyük bir kısmının 526 ve 531 aminoasid pozisyonları arasında olduğu kabul edilmektedir. Bu mutasyonlar çeşitli coğrafik bölgelerden elde edilen izolatlarda bulunmuş fakat direncin derecesi ile ilişkisi bulunamamıştır. Ayrıca çoklu dirençli fenotipler ile ilişkili bulunmamıştır. Yeni sentetik deriveler olan rifabutin ve rifapentin rifampisinden daha etkili değildirler ve aralarında çapraz direnç söz konusu değildir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Streptomisin: Streptomisinin etki mekanizması diğer aminoglikozidler gibi protein yapımını inhibe etmek suretiyle olur. Bu etkisini ribozomal S12 proteini ve 16SrRNA üzerinden yapar. Diğer bakterilerde olduğu gibi M. tuberculosis de de aminoglikozidlere karşı direnç asetilasyon şeklinde ilacın inaktive edilmesi yoluyla olur. M tuberculosis'de streptomisine direncin %80'inde iki tür mutasyon tespit edilmiştir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

1. Ribozomal S12 proteinini kodlayan rpsL geninde nokta mutasyonu olmakta bu da tek amino asid değişimine neden olmaktadır. Aminoasid değişimi 88. kodonda lizinin arjinine, 43. kodonda ise lizinin arjinin veya treonine değişimi olarak gerçekleşmektedir.

2. Diğer mutasyon ise 16 S RNA'yı kodlayan rrs geninde olmaktadır. Burada 530 kıvrımı ve 904 bölgesinde mutasyonlar olmaktadır. Muhtemelen ribozomlardaki bu değişiklik ilacın bakteriye bağlanmasını azaltmaktadır. Geri kalan %20 dirençli suşta üçüncü bir mekanizma söz konusu olabilir. Bazı dirençli suşlarda rpsL veya rrs'de mutasyon yoktur. Burada muhtemel mekanizma ilacın alınmasında bir engel oluşmasıdır ki bu da hücre duvar geçirgenliğindeki değişikliğe bağlıdır. Sonuçta düşük veya orta derecede direnç oluşur ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Etambutol ilacın hedefi bakterinin dış duvarıdır. Etambutolün etkisi aktif mikolil gruplarının arabinogalaktona taşınmasını engellemek veya arabinogalakton sentez aşamalarında inhibisyon yapmaktır. Son zamanlarda etambutolün hedefinin arabinozil transferaz veya arabinoz akseptörü sentezi ile ilgili herhangi bir enzim olabileceği de düşünülmüştür. Bir gen bölgesi EmbCAB operonu idendifiye edilmiştir ve bu bölge arabinozil transferazı kodlamaktadır. Etambutole direnç emb proteinlerinin fazla yapımı ve embB de mutasyonlar sonucu gelişmektedir. embCAB lokusu ile yapılan çalışmada etambutole dirençli suşların %89'unda embB de 306 aa rezidüsünde değişiklikler

saptanmıştır. Bu da embB deki değişiklikler sonucu ilaç protein etkileşiminin değiştiği ve sonuçta EMB direncinin geliştiği görüşünü desteklemektedir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Prazinamid

Mikobakterilerin prazinamide duyarlılığı spesifik amidazin varlığına bağlıdır. Bu amidaz prazinamid ve nikotinamidi hidrolize eder. Bu nedenlerden dolayı prazinamid de INH gibi bir öncü ilaçtır. Mikobakteri hücre duvarından diffüze olur ve ilacın aktif şekli olan pirazonoik aside çevrilir. Yapılan çalışmalarda pirazonoik asit esterlerinin in vitro şartlarda M. tuberculosis'e prazinamidden daha etkili olduğu gösterilmiştir. Dirençli suşlarda prazinamidaz aktivitesinde kayıp belirlenmiştir. Dirençli suşların %72-94'ünde bu enzimi kodlayan PncA gen bölgesinde mutasyonlar saptanmıştır ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Florokinolonlar

Bu ilaçların hedefi DNA giraz enzimidir. Florokinolonlar DNA giraza bağlanarak bakteri DNA'sının süpersarmal oluşumunu engellerler. Dirençli suşlarda DNA giraz enzimini kodlayan gyrA ve gyrB genlerinde mutasyonlar saptanmıştır. Yüksek düzeyde siprofloksasin direnci gyrA geninin 90.kodonu civarındaki anlamsız mutasyonlarla ilişkili bulunmuştur. Kinolon bağlanma bölgesindeki spesifik mutasyonların akümüasyonu MIC değerlerinde de kümülatif etki yapmaktadır, dolayısıyla tedavi altındaki hastalarda direnç gelişme tehlikesi bulunmaktadır. İkinci bir direnç şekli düşük seviyede dirençtir. Burada normal DNA giraz genleri vardır. Fakat mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Mevcut tedavi süresini daha da kısaltabilmek, MDR tüberkülozlu olgularda başarı sağlamak ve latent tüberkülozlu olguların tedavisinde daha etkin tedavi sağlamak amacıyla yeni antitüberküloz ilaç arayışları devam etmektedir. Üzerinde en çok çalışılan yeni ilaçlar rifamisinler, yeni florokinolonlar, oksazolidinonlar ve nitroimidazopiranlar'dır. Rifamisin'in türevi olan rifabutin, HIV pozitif tüberkülozlu hastalarda antiretroviral ilaçlarla etkileşiminden dolayı rifampin alamayan hastalarda önerilmektedir. Florokinolonların iki yeni üyesi olan moxifloksasin ve gatifloksasin ilaç duyarlı tüberküloz olgularında başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir. Oksazolidinonların öncü üyesi olan linezolid tüberküloz olgularının tedavisinde ümit bağlanan ilaçlardan birisidir. Nitroimidazopiran bileşiği olan PA-824 maddesi replike olmayan organizmalar üzerine etkili bulunduğundan tüberküloz tedavisinin kısaltmasında yararlanabileceği düşünülmektedir ⁽⁹⁴⁻⁹⁹⁾.

Tablo 3. M. tuberculosis' de İlaç Direnci Gelişme Mekanizmalarının Özeti ⁽⁹⁶⁾.

Mekanizma	İlaç
Ön ilacın aktif ilaç haline dönüşümünden sorumlu enzim kaybı veya azalması	İsoniazid, etambutol
İlacın hücre içine alınmasında azalma	Dormant bakteriler
Hedefin aşırı salgılanması	İsoniazid
Artmış efflux	İsoniazid
Antibiyotik hedeflerindeki değişiklik	izoniazid, rifampisin, etambutol, streptomisin

Tablo 4. M. tuberculosis' de İlaç Direnci Gelişimine Yol Açan Genler ⁽⁹⁶⁾.

İlaç	Dirence yol açan genler
İsoniazid	kat G, inh A, kas A, ahp C, ndh
Rifampisin	RpoB
Etambutol	embCAB (embC ,A ,B)
Streptomisin	rpsl, rrs

Extensively Drug Resistant Tuberculosis (XDR-TB)

Güney Afrika, KwaZulu Natal'de (KZN) ortaya çıkan bir XDR-TB hastane salgını dünyada neler olabileceğini gösteren çok ciddi bir senaryodur ⁽⁸⁹⁾ "HIV enfeksiyonu ve yüksek antitüberküloz ilaç direnci birlikteliği" Salgında 53 XDR-TB olgusunun 52'si (%98) 16 (2-21) günde ölmüştür. HIV taraması 44 olguda pozitif bulunmuştur. %51'inde önceden tüberküloz tedavi öyküsü yoktur. %64' ü tüberküloz tanısı almadan önce hastaneye yatırılmıştır. %34'ü hiç hospitalize edilmemiştir. Bu durum olguların XDR-TB'ü toplumdaki kazanmış olduklarının göstergesidir. Spoligotyping olguların %85'inin 1996 yılından beri bölgede yaygın olan KZN suşu, diğerlerinin Pekin suşu ile hasta olduğunu göstermiştir. KZN suşu 1996'da tüm birinci sıra ilaçlara duyarlı ya da yalnızca birinci sıra ilaçlara dirençli iken, son 2-3 yılda ikinci sıra ilaçlara da dirençli hale gelmiştir. 2000-2004 yılları arasında 49 ülkeden alınan 17 690 örnekte ÇİDTB % 20, XDR-TB %2 oranında saptanmıştır. XDR-TB ABD' de ÇİDTB'lu olguların %4'ünü, Latvia'da %19'unu, Güney Kore'de %15'ini oluşturmaktadır. ABD'de ÇİDTB olguları yıllar içinde azalırken, XDR-TB olguları artmıştır. 1993-2002 yılları arasında XDR-TB olgularında ölüm, ÇİDTB olgularına göre %64 daha fazla görülmüştür. Latvia'da 2000-

2002 yılları arasında XDR-TB oranı artmış, XDR-TB olgularında ölüm ya da tedavi başarısızlığı ÇİDTB olgularına göre %54 daha fazla görülmüştür. Sonuç olarak, kötü tüberküloz kontrolü ve yetersiz sağlık sistemleri sonucu ortaya çıkan XDRTB bizi kemoterapi öncesi döneme götüren bir tehdit olarak karşımızda durmaktadır ^(89,100,101).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tüberküloz Laboratuvarı'na Nisan 2006 - Mart 2007 arasında gelen örnekler işleme alınmıştır.

GEREÇLER

3.1.a Kullanılan Çözelti, Antiseptik, Kit ve Besiyerleri

- Çözeltiler ve Antiseptikler

. Steril distile su

Fenol (%3)

. Etanol (%70)

- Kitler

Niasin test sribi

- Besiyerleri;

Löwenstein-Jensen Besiyeri ⁽¹⁰²⁾

Monopotasyum fosfat	2400 mg
Magnezyum sulfat	240 mg
Magnezyum sitrat	600 mg
L- Asparajin	3600 mg
Gliserin	12 ml
Saf su	600 ml

Yukarıdaki maddeler bir balona konulup benmaride eritildi ve tuz solüsyonu elde edildi. Sonra 115° C'de 20 dk steril edildi. 25 adet temiz, taze iri boy yumurta alındı ve sabunlu su ile iyice fırçalanarak temizlendi. Yumurtalar geniş bir kap içinde U.V. Lamba altında 60-120 dk steril edildi. Sonra 5-6 lt'lik ağız lastikli steril bir balona steril huni yardımı ile kırılarak konuldu. Homojenize oluncaya kadar kuvvetlice çalkalandı veya vortekslendi. Tuz solüsyonu, temiz steril bir tülbent veya gazlı bez ile süzüldü, %2'lik malaşit yeşilinden 25-30 ml ilave edilerek Ana Löwenstein-Jensen Besiyeri elde edildi. Koagülatörde 78-80°C'de 1 saat koagüle edildi. 18-24 saat 37° C'de sterilite kontrolü yapıldıktan sonra soğutucu'da (2-8° C) saklanır.

Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri (Remel) ⁽¹⁰³⁾

Toz Middlebrook 7H9 buyyon	4.7 gr
Gliserol	2 ml
Distile su	900 ml

Sıvı besiyeri hazırlanırken ticari olarak hazır bulunan toz halindeki karışımdan 4.7 gram tartılarak 900 ml distile su içinde çözündürüldü ve 2 ml gliserol ilave edilerek otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edildi. Sterilizasyon sonrası 56°C' ye soğutulduktan sonra steril ağzı burgulu kapaklı tüplere dökülerek +4°C'de muhafaza edildi.

Middlebrook 7H11 agar besiyeri (Remel) ⁽¹⁰³⁾

Toz Middlebrook 7H11 agar	20 gr
Gliserol	5 ml
OADC	100 ml
Distile su	900 ml

Katı besiyeri hazırlanırken de ticari olarak hazır bulunan toz halindeki karışımdan 20 gr tartılarak 900 ml distile su içinde çözündürüldü, 5 ml gliserol ilave edildikten sonra. otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi ve 56 °C'e kadar soğuduktan sonra üzerine 100 ml OADC ilave edilerek ve steril petri plaklarına döküldü.

L J hazır besiyeri (Salubris)

3.1.b Cihaz ve Diğer Araçlar

. - Elektrikli cihazlar

- Etüv (B5042)
- Terazi
- Otoklav
- Vorteks
- Buzdolabı
- Işık mikroskobu
- Sınıf II Bio-güvenlik kabini
- BACTEC 460 Otomatize kültür sistemi
- Distile su cihazı
- Pasteur fırını
- Koagülatör

. - Cam araçlar

- Mumlu kavanoz
- Lam
- Burgulu kapaklı tüp
- Cam boncuk (1mm çaplı)
- Steril cam tüp ve pamuklu eküvyon

Erlenmayer
Mezür
Vidalı kapaklı steril cam tüpler
Balonlar (500-1000ml)
Pipetler: 1ml, 5ml, 10ml

.- Metal araçlar

Lup öze
Tüp sporları
Bunzen beki

.- McFarland eşeli

.- Diğer malzemeler

Eldiven ve maske (3M)
Kurutma kağıdı
Steril, plastik 1 ml'lik ve 10 ml'lik enjektör
Gazlı bez
Atık kabı
Petri
Otomatik pipet ve steril uçları

-. Kimyasal maddeler

Erlich- Ziehl-Nielsen boya seti
Steril distile su
Gliserin
NaOH
NALC
OADC (Oleic acide-dextrose-citrate)
Niasin strip kağıdı
NAP

YÖNTEM

3.2 a. Bakterilerin İzolasyonu

Laboratuvarımıza kliniklerden gelen çeşitli hasta örnekleri mikobakterilerle birlikte, kontaminasyona neden olan bakteri ve mantarları ve bu mikroorganizmaların çoğunluğunun etrafını sararak çevre şartlarına dirençli hale gelmelerine neden olan lökosit, eritrosit, vücut sıvıları ve doku gibi organik kalıntıları da içerebileceği için; organik kalıntıları sindirmek (digestion) ve kontaminasyona neden olan bakteri ve mantarları elimine etmek amacıyla dekontaminasyon işlemi uygulandı. Steril kabul

edilen vücut sıvıları ise, gerek örneğin alınması gerekse laboratuara transportu sırasında kontaminasyon olabileceği ihtimalinden dolayı aynı işlemlere tabi tutuldu⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾.

Bazı örnekler için sadece %4 NaOH bazı örnekler içinse N-Asetil-Sistein(NALC) + Sodyum hidroksit (NaOH) kullanıldı. Falkon tüpü içerisinde gelen incelenecek örnek miktarı 5 ml'den fazla ise ilk önce 3000 rpm/dk'da 15 dk santrifüj edildikten sonra üstte kalan fazla sıvı içinde dezenfektan (%0.1-1 sodyum hipoklorit, %70 alkol, %5 fenol v.s.) bulunan bir kaba boşaltıldı. Altta kalan tortulu kısma eşit miktarda NALC + NaOH solüsyonu ilave edilip yaklaşık bir dakika kadar vortekslelendikten sonra oda ısısında 15 dakika bekletildi. Süre sonunda falkon tüpünün 50 ml işaretine kadar 0,067 M fosfat tamponu (pH 6.8) ilave edilerek nötralizasyon sağlandı ve dekontaminasyon işlemi durduruldu. Fosfat tamponu ilave edilmiş tüpler bakteri yoğunluğunu artırmak (konsantrasyon) için ≥ 3000 rpm/dk'da 15-20 dakika santrifüje edildi, sonra üst sıvı içinde dezenfektan (% 0.1-1 sodyum hipoklorit, % 70 alkol, % 5 fenol v.s.) bulunan bir kaba boşaltıldı ve sedimente 1-2 ml steril fosfat tamponu (pH 6.8) ilave edildi. Bu işlemlerden sonra örnekler steril pipetlerle LJ besiyerlerine 2 ayrı örnek şeklinde ekildi. Kültür tüpleri 37°C'de 56 güne kadar bekletildi. LJ besiyerinde makroskopik olarak üreme gözlenen ilk kolonilerin ARB olduğu, yapılan Ziehl Neelsen boyama ile doğrulandı. İzole edilen mikroorganizmaların tanımlanması ile M. tuberculosis kompleks ve atipik mikobakteri ayırımı amacıyla niasin ve para-nitro-asetiaminobetahidroksipropiyofenon (NAP) testleri yapıldı⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁷⁾.

Niasin testinde pozitif kontrol olarak M. tuberculosis ATCC 25177, negatif kontrol için ise MAC ATCC 13950 suşları kullanıldı. Üreme saptanan LJ besiyeri içine bir pastör pipeti dolusu steril su kondu, besiyeri yüzeyindeki koloniler pipet ucu ile yerlerinden oynatılarak sıvıyla tam olarak temasları sağlandı. Tüpler horizontal olarak oda ısısında bir saat bekletildikten sonra bir pastör pipeti dolusu geri alınan sıvı temiz bir tüpe aktarıldı ve tüpün içine kağıt niasin stripleri yerleştirildi. Oda ısısında 15dk bekletildikten sonra renk değişimi gözlemlendi. Sarı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi⁽¹⁰⁸⁾.

NAP (p-nitro- α -acetylamino- β -hydroxypropiofenone) testinde ise BACTEC 12B şişesinde Growth Index (GI) 10'un üzerinde olduğunda, GI yaklaşık 50-100'e ulaşıncaya kadar besiyerleri günlük olarak okundu. 12B şişesinin GI'i 50-100'e ulaştığında, besiyeri iyice karıştırıldı. Aseptik koşullarda 1 ml besiyeri NAP flakonuna aktarıldı. Kalan 3 ml besiyeri kontrol olarak kullanıldı. Flakonun ağzı uygun bir antimikobakteriyel dezenfektanla ve ardından etil alkolle temizlendi. Flakon iyice

karıştırıldı. Hem inokülasyon yapılan primer izolasyon şişesi (kontrol), hem de NAP flakonları günlük olarak 2-6 gün süre ile okundu, GI kaydedildi. Sonuçlar 2-7 gün, ortalama dört gün içinde değerlendirildi. Kontrol şişesinin GI' artmasına rağmen NAP testi şişesinin GI' azalıyor veya değişmiyorsa *M. Tuberculosis* kompleks, artış gösteriyorsa tüberküloz dışı mikobakteri olarak değerlendirildi ⁽¹⁰⁵⁾.

3.2 b Duyarlılıkların Saptanması

Suşların Birinci Seçenek Tüberküloz İlaçlarına E test yöntemi ile Duyarlılıklarının ve MİK Değerlerinin Saptanması

Bunun için Löwenstein-Jensen besiyerinde üremiş taze kolonilerden 8-10 tanesi içinde 1mm çapında cam boncuklar bulunan Middlebrook 7H9 sıvı besiyerine aktarılıp yaklaşık 5 dk boyunca vortekslenildi. Vorteks sonucunda McFarland 3'e göre bulanıklığı ayarlanmış bakteri süspansiyonu yarım saat kadar oda ısısında bekletildikten sonra Middlebrook 7H11 katı besiyeri yüzeyine steril pamuklu çubuklarla yayıldı ve 37 °C 'de %5-10 CO²li ortamda bir gün bekletildikten sonra üzerine değişen oranlarda antitüberküloz ilaç içeren E-test şeritleri kondu. Plaklar, 37°C'de inhibisyon zonu oluşuncaya kadar (5-10 gün) inkübe edildi. İnhibisyon zonunun antibiyotik şeridini kestiği noktadaki konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirildi ⁽¹⁰⁹⁻¹¹⁴⁾.

. Suşların Birinci Seçenek Tüberküloz İlaçlarına Proporsiyon Yöntemi İle Duyarlılıklarının Saptanması

Yine. üremiş taze kültürden birkaç koloni öze ile alıp süspansiyon tüpündeki boncuklar arasına karıştırılıp vorteks ile 5 dk süre ile iyice çalkaladıktan sonra yaklaşık 1 McFarland bulanıklık değerinde süspansiyon elde edildi. Süspansiyon tüpünden steril pipet ucu ile 100 µl alarak 10⁻² seyreltim tüpüne aktarılıp vorteksle çalkalandı. 10⁻² seyreltim tüpünden 100 µl alarak 10⁻⁴ seyreltim tüpüne eklenmiş ve vorteksle çalkalandıktan sonra 10⁻² seyreltim tüpünden, ilaçsız ve ilaçlı L-J besiyerlerine 100 µl ekim yapıldı. 10⁻⁴ seyreltim tüpünden ilaçsız L-J besiyerine 100µl ekim yaptıktan sonra besiyerleri normal L-J kültürü gibi inkübe edilmiş yaklaşık 3-4 hafta sonunda üremeleri değerlendirilerek antibiyotik duyarlılıkları belirlendi. Çalışmanın tüm aşamaları Class II tipi güvenlik kabininde gerçekleştirildi ^(10,28).

Test edilen antitüberküloz ilaçlar isoniasid (İNH), etambutol (EMB), rifampisin (RİF) ve streptomisin (SM)'dir. İlaç derişimleri; İNH 0.2 µg/ml, 1 µg/ml, RİF 20 µg/ml 40µg/ml, , SM 4 µg/ml, 8 µg/ml, EMB 2 µg/ml, 4 µg/ml olarak alındı.

Kalite kontrol kökeni (standart köken) olarak tüm ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* ATCC 27294 kullanıldı ⁽¹⁰⁸⁾.

Değerlendirme; İlaçsız kontrol besiyerindeki koloni sayıları ile ilaçlı besiyerindeki koloni sayılarının karşılaştırılması şeklinde yapıldı. ilaçlı besiyerindeki üreme, kontrolündeki üremenin %1 ve daha fazlası ise dirençli olarak kabul edildi. Oran (ilaçlı besiyerindeki koloni sayısı/kontrol koloni sayısı) x100=% direnç formülü kullanılarak hesaplandı. Kontrol besiyerindeki üreme 50-100 koloniden azsa ya da sayılamayacak kadar çok koloni varsa inceleme tekrarlandı ⁽¹¹¹⁾

3.2.c Bulgular İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Bulgular istatistiksel olarak (MN) : Mc Nemar Testi ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tüberküloz Laboratuvarı'na Nisan 2006 - Mart 2007 arasında yaklaşık 1700 hasta örneği gönderildi. Bu örneklerin 728'i (%42.8) balgam, 200'ü (%11.7) idrar, 257'si (%15.1) bronkoalveoler lavaj, 165'i (%9.7) BOS, 60'ı (%3.5) torasentez mayi, 115'i (%6.7) yara yeri, 57'si (%3.35) plevral mayi, 38'i (%2.23) parasentez mayii, 80'i (%4.7) diğer örneklerden gelmiştir. Bu örnekler homojenizasyon, dekontaminasyon işleminden sonra Löwenstein-Jensen besiyerine çift ekim yapıldı, üreme tespit edilenler değerlendirmeye alınırken, negatif sonuç için ise 56 gün kadar 37⁰C'de bekletildi. Üreme tespit edilen örnekler arasından çoğunlukla solunum sisteminden izole edilen 45 M. tuberculosis complex suşu, rastgele yöntemle seçilerek çalışmada kullanıldı. Bu suşların 29'u balgamdan, 6'sı idrardan 2'si torasentezden ve 8'i de diğer klinik materyallerden elde edilmiştir. Hastaların 21'i kadın %46 (16-58 ort 39) 24'ü erkek %54 (19-62 ort 36)' idi..

Hastalardan izole edilmiş 45 suş için isoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETB) ve streptomisin (SM)'in proporsiyon metodu ile ve hızlı ve kolay bir yöntem olan, E-test ile duyarlılıkları belirlendi. Ayrıca E test ile minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlendi^(113,114,115,111). Referans yöntem olarak proporsiyon metodu alındı.

Mikobakterium tuberculosis kompleks tanısı konan 45 suşun antitüberküloz ilaçlara karşı proporsiyon ve Es test yöntemine göre duyarlılıkları tablo 10' da verilmiştir.

Tablo 5. İşleme Alınan 1700 Hasta Örneğinin Dağılımı

Örnek tipi	Sayı	Yüzde
Balgam	728	42.8
Bronkoalveoler lavaj	257	15.1
İdrar	200	11.7
Beyin Omurilik Sıvısı	165	9.7
Yara yeri	115	6.7
Torasentez mayii	60	3.5
Plevrak mayii	57	3.35
Diğer	118	6.9

Tablo 6. Klinik Örneklerden İzole Edilen 45 Suşun Dağılımı

Örnek tipi	Sayı	Yüzde
Balgam	29	64,4
İdrar	6	13,3
Torasentez	2	4,4
Diğer	8	17,7

Tablo 7. Hastaların Meslek Dağılımı

Meslek	Hasta sayısı	%
İşçi	11	24,4
Memur	8	17,7
Serbest çalışan	9	20
Ev hanımı	14	31,1
İşsiz	2	4,4
Öğrenci	1	2,2

Tablo 8. Hastaların Cinsiyet Dağılımı

Cinsiyet	Sayı	%
Kadın	21	46,6
Erkek	24	53,4

Tablo 9. Hastaların Tüberküloz Dış Hastalıkları

Ek hastalıklar	Sayı	%
Diabet	4	8,8
Kardiyovasküler sistem hastalığı	11	24,4
Sürekli bir veya daha fazla ilaç kullanımı	14	31,1
Sigara kullanımı	20	44,4

Tablo 10. Suşların Direnç Oranları

İlaçlar	Proporsiyon Yöntemi		E test	
	Sayı	%	Sayı	%
İNH	5	11	4	8,8
RİF	2	4,4	2	4,4
ETM	1	2,2	1	2,2
SM	2	4,4	2	4,4
İNH+RİF	1	2,2	1	2,2
İNH+RİF+ETM	0	0	0	0
İNH+RİF+SM	0	0	0	0
İNH+RİF+ETM+SM	0	0	0	0
Toplam	9	20	8	17,7

Tablo 11. E test ve Proporsiyon Yöntemleri Arasında İzoniazid Direnç İlişkisi

İzoniazid Direnci	Proporsiyon Yöntemi			Test istatistik p	
	Dirençli	Duyarlı	Toplam		
E Test Yöntemi				MN=1	
	Dirençli	4	0		4
	Duyarlı	1	40		41
	Toplam	5	40		45
Duyarlılık				%83.3	
Özgüllük				%100	
Pozitif kestirim Değeri				%100	
Negatif Kestirim Değeri				%97.6	

MN: Mc Nemar Testi

E test ve proporsiyon yöntemleri ile izoniazid direnci saptanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 12. E test ve Proporsiyon Yöntemleri Arasında Antitüberküloz İlaç Direnç İlişkisi

Antitüberküloz İlaç Direnci		Proporsiyon Yöntemi			Test istatistik p
		Dirençli	Duyarlı	Toplam	
E Test Yöntemi	Dirençli	8	0	8	MN=1
	Duyarlı	1	36	37	
	Toplam	9	36	45	
Duyarlılık				%90.0	
Özgüllük				%100	
Pozitif kestirim Değeri				%100	
Negatif Kestirim Değeri				%97.3	

E test ve proporsiyon yöntemleri ile toplam direnci saptanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Tüberküloz uzun yıllardır tedavi edilebilen bir hastalık olmasına rağmen halen insanlığı tehdit eden sağlık problemleri arasında ön sıralarda yer almaktadır. *Mycobacterium tuberculosis*, tek infeksiyöz ajana bağlı ölümlerin en sık etkeni olarak belirtilmektedir. Yılda yaklaşık olarak 8 milyon yeni olgu bildirilmekte ve 2 milyon kişi bu hastalığa bağlı olarak ölmektedir ⁽¹¹⁵⁾. Dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri, belirgin bir klinik bulgu göstermeden, *M. tuberculosis* ile infektidir. Bu kişilerin %5-10'unda hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde de tüberküloz insidansı 25-49/100.000 olarak rapor edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2015 yılında tüberküloz insidansını ve ölüm oranını yarıya düşürmeyi hedeflemektedir ⁽¹¹⁶⁾.

Tüberkülozun tanısında, hastanın öyküsü, kliniği ve radyolojik bulguları önemli göstergeler olmalarına karşın, kesin tanı için etkenin izolasyonu ve identifikasyonu gereklidir. Bu amaçla, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen tüberküloz kuşkulu örneklerin ARB açısından hızla değerlendirilmesi, izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testlerinin en kısa süre içinde yapılarak sonucun bildirilmesi, infekte kişilerin oluşturduğu bulaş zincirinin kırılmasına ve yayılımının önlenmesine önemli katkıda bulunacaktır ⁽¹¹⁷⁾.

Son 15 yılda özellikle HIV ile infekte hastalarda MDR-TB olgularının hızla artması, bu olguların %40'ının ölmesi ve sağaltımın başarısız olması, hastane kaynaklı bulaşların gözlenmesi, primer ve sekonder ilaç direncinin artması gibi nedenler tüberküloz kontrol çalışmalarını sonuçsuz bırakmaktadır ⁽¹¹⁸⁾.

Diğer yandan, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de yapılan tarama çalışmalarının raporlarına göre, özellikle 1985'ten bu yana çok ilaca dirençli MTB'nin neden olduğu salgınlardaki artışa dikkati çekmektedir ⁽¹¹⁹⁾.

Gelişmiş ülkelerde tüberkülozun eradikasyonu amacıyla 20. yüzyıla kadar yapılan çalışmalara rağmen, Human Immunodeficiency Virus (HIV) epidemileri yüzünden bu hâlâ başarısızdır. Tüberküloz tedavisi uzun süre çoğul ilaç kullanımını gerektirmektedir. Tüberkülozun tanısındaki gecikme, yetersiz ve/veya yanlış tedavi uygulamaları antitüberküloz ilaçlara karşı dirençli *M.tuberculosis* suşlarının giderek artış göstermesine sebep olmaktadır ⁽⁸⁹⁾. Dünya genelinde yapılmış pek çok çalışmada en sık direncin İNH'e karşı olduğu bildirilmektedir. Ancak bazı ülkelerde RİF, SM ve ETB de ilk sırayı alabilmektedir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda İNH ve SM ilk sırada olarak bildirilmiştir ^(120, 121).

Günümüzde tüberküloz tüm insanlık için büyük bir sağlık sorunu olma özelliğini korumaktadır. İlaçlara duyarlı mikobakteriler ile oluşan hastalıklarda uygun ilaç kombinasyonu ile olguların %88-98'nin sağaltılabilmesine karşın, MDR-TB olgularının sağaltımı büyük bir sorun olmaktadır ⁽¹¹⁸⁾.

Bu nedenle antibiyogram çalışmalarının mutlaka yapılması gerekmektedir. Türkiye'de yapılan antibiyotik duyarlılık sonuçları farklılık göstermektedir. Direnç oranları INH için %8.1 ile %33, RIF için %1.3-%21.3 arasında, EMB için %1.6-%18.27, SM için %1.99-%9.4 arasında bildirilmektedir (Tablo 11). Bölgesel özellikler, örnek sayısı ve araştırmacıların kullandığı yöntem farklılığı nedeniyle sonuçlar değişebilmektedir.

Tablo 13. Ülkemizde Antitüberküloz İlaçlara Karşı Saptanan Direnç Oranları (%)

Çalışma	Yöntem	İl	Yıl	INH	RIF	SM	ETM
Uzun ve ark. ⁽¹²²⁾	12B	İstanbul	1993	33.0	5.0	2.0	5.0
Yaman ve ark. ⁽¹²³⁾	12B	Adana	1994	16.9	12.5	14.2	2.6
Yüce ve ark. ⁽¹²⁴⁾	LJ	İzmir	1997	6.0	10.3	10.3	5.2
Otkun ve ark. ⁽¹²⁵⁾	7H10	Edirne	1997	30.0	11.0	39.0	13.0
Özcan ve ark. ⁽¹²⁶⁾	12B	Kayseri	1998	7.3	22.1	10.1	4.6
Aydın ve ark. ⁽¹²⁷⁾	12B	Bursa	1998	22.2	7.4	4.5	4.0
Balcı ve ark. ⁽¹²⁸⁾	12B	Gaziantep	1999	10.6	0.5	2.0	4.5
Öztürkeri ve ark. ⁽¹²⁹⁾	12B	İstanbul	1999	35.3	21.0	6.8	30.5
Saniç ve ark. ⁽¹⁰⁹⁾	LJ	Samsun	2000	7.3	22.1	10.1	16.0
Özcan ve ark. ⁽¹³⁰⁾	12B	Kayseri	2002	19.8	21.3	9.4	4.2
Sürücüoğlu ve ark. ⁽¹³¹⁾	12B	Manisa	2002	17.1	12.4	20.2	7.0
Kısa ve ark. ⁽¹³²⁾	12B	Ankara	2002	8.7	2.1	4.1	5.1
Gani ve ark. ⁽¹³³⁾	12B	Gaziantep	2002	13.9	2.9	1.9	3.4
Kocazeybek ⁽¹³⁴⁾	MGIT	İstanbul	2002	19.6	14.7	6.5	3.2
Tansel ve ark. ⁽¹³⁵⁾	12B	Edirne	2002	9.0	4.5	2.2	1.5
Saniç ve ark. ⁽¹³⁶⁾	12B	Samsun	2002	8.0	4.0	4.0	2.0
Bizim çalışmamız	Proporsiyon	Erzurum	2007	11.0	4.4	4.4	2.2
Bizim çalışmamız	E test	Erzurum	2007	8.8	4.4	4.4	2.2

Tablo 14. Ülkemizde Antitüberküloz İlaçlara Karşı Saptanan Direnç Oranları (%)

Çalışan	Yıl	Yöntem	Örnek Sayısı	INH (%)	RIF (%)	EMB (%)	SM (%)	2.ilacı (%)	3.ilacı (%)	4.ilacı (%)
Arseven ve ark. ⁽¹³⁷⁾	1985	LJ	1388	29.6	17.1	23.3	8.8	11.7	6.8	3.9
	1990									
Arseven ve ark. ⁽¹³⁷⁾	1994	LJ	333	34.8	25.2	10.5	29.4	12.9	10.5	7.8
Orhan ve ark. ⁽¹³⁸⁾	1998	BACTEC	201	13.93	2.98	3.48	1.99	7.96	9.45	0.99
	2001									
Şenyüz ve ark. ⁽¹³⁹⁾	1990	LJ	328	33.2	20.1	5.5	35.3	-	-	-
	1994									
Şenyüz ve ark. ⁽¹³⁹⁾	1994	BACTEC	328	19.8	21.3	4.2	9.4	-	-	-
	2000									
Kibar ⁽¹⁴⁰⁾	2000	BACTEC	354	20.9	9.03	5.08	7.62	6.49	3.10	1.12
	2001	MGIT								
Balcı ve ark. ⁽¹⁴¹⁾	1995	BACTEC	264	33	18.6	15.9	8.7	10.6	11	0.8
	1999									
Hasçelik ve ark. ⁽¹⁴²⁾	1995	BACTEC	2944	8.1	1.3	1.6	2.5	3.26	6.25	2.89
	2000									
Korkmaz ve ark. ⁽⁷⁴⁾	2002	BACTEC	104	25	10.58	18.27	2.89	5.76	3.84	-
	2003									
Korkmaz ve ark. ⁽⁷⁴⁾	2002	Proporsiyon	104	24.04	10.58	25.96	2.89	6.72	4.81	-
	2003									

Çalışmalar farklı zaman dilimlerinde ve farklı bölgelerde yapılmıştır. Ülke genelinde gerçek direnç oranını belirlemek için çok katımlı ve standardizasyonun sağlanmış olduğu yöntemlerle çalışılıp sonucun bu değerlere göre tartışılması gerekmektedir. Hasçelik ve ark.⁽¹⁴²⁾'nin çalışması bu açıdan çok önemlidir. Çalışmalar, birçok merkezde yapılmıştır. Ancak sağlıklı ulusal direnç haritalarının çıkarılması için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır. Antitüberküloz ilaç direnci, özellikle çoklu dirençli tüberkülozun kontrolünü sağlamada ciddi problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Dirençli kökenlerin oluşmasını önlemek için standart kombinasyon tedavisi ya da yeni tedavi rejimlerinin uygulanması önerilmektedir. Primer ilaç direncinin %5 ve daha düşük olduğu ülkelerde iyi bir ulusal tüberküloz kontrol programının uygulandığı söylenebilir, ancak %15 ve daha fazla primer ilaç direnci varlığı ile uygulanan programın başarılı olmadığını ve yeni bir kontrol programının uygulanması gerektiğini göstermektedir^(143, 144).

Yapılan çalışmalar, Türkiye’de tüberküloz kökenlerine yüksek oranda çoklu direnç olduğunu göstermektedir. Bu durum, tüberküloz olgularında direncin araştırılması ve tedavinin alınacak sonuca göre yönlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Nitekim bazı kaynaklarda primer INH direncinin yüksek (%4’den fazla) olduğu bölgelerde mutlaka direnç varlığının saptanması gerektiği vurgulanmaktadır⁽¹⁴⁵⁾.

Türkiye’de uygulanan tüberküloz kontrol programı, çok büyük oranda kültür ve antibiyogram sonucu olmadan tedaviye başlanması, hasta uyumundaki problemler ve direnç gelişmiş hastaların aktif olarak basili topluma yayması gibi nedenlerden dolayı sağlıklı yürümektedir. Sekonder ilaçlarla tedavi maliyeti yüksek olup ülke ekonomisine zarar vermekte, hastaya ise yüksek toksisiteye sahip olduğundan zarar verebilmektedir. Bu nedenle; primer seçenek ilaçların önemi büyüktür⁽¹⁴⁵⁾.

Tablo 15. Dünyada 2004 Yılında Tahmin Edilen Tüberküloz Olguları ⁽¹⁴⁶⁾

Bölge	Nüfus	Olgular	İnsidans	Prevalans	Ölüm
	1000	1000	10000	1000	1000
Afrika	721995	2573	356	3741	538
Amerika	880036	363	41	466	54
Doğu Akdeniz	530359	645	122	1090	144
Avrupa	881211	445	50	575	67
Güney Doğu Asya	1632982	2967	182	4965	617
Batı Pasifik	1740099	1925	111	3765	327
Toplam	6386642	8918	140	14602	1747

Ülkemizde 1982⁽¹⁴⁷⁾ yılında yapılan çalışmada tüberküloz prevalansı binde 3.58 olarak tespit edilmiştir. Bu rakamın 1950’lerde binde 30 civarında tahmin edilmektedir. 1982’deki bu çalışmaya göre ülkemizde güneydoğu Anadolu, Karadeniz ve Marmara bölgeleri tüberkülozun en yaygın olduğu yerlerdir. DSÖ’ne göre ise ülkemizde tüberküloz prevalansı binde 45 olarak tahmin edilmektedir. Elimizdeki resmi rakamlara göre ülkemizdeki tüberküloz insidansı yüzbinde olmak üzere 1965’de 172, 1980’de 52.2, 1990’da 43.8, 2004’de 27’dir. Bu rakamlara göre ülkemiz tüberkülozun orta derecede yaygın olduğu ülkeler arasındadır. 2004 verilerine göre ülkedeki en yüksek prevalans yüzbinde 37 ile marmarada ve burada yüzbinde 58 ile İstanbul’dadır⁽¹⁴⁷⁾.

Türkiye’de başarılı mücadele sonucu tüberküloz mortalitesinde çok belirgin bir azalma olmuştur. Resmi verilere göre 1945’de tüberküloz mortalitesi yüzbinde 262 iken

bu rakam 2001 yılında 1.9'dur. Fakat DSÖ Türkiye'de tüberküloza bağlı ölümü 100.000'de 5 olarak tahmin etmektedir^(147, 148).

Yine aynı şekilde Türkiye'de tüberküloz ilaç direncini yurt çapında temsil eden bir çalışma yoktur. Fakat yapılan bazı çalışmalarda gerek yeni hastalarda gerekse daha önceden tedavi görmüş hastalarda direnç oranlarının yüksek olduğu gösterilmiştir. Çok ilaca dirençli tüberküloz [ÇİD tüberküloz, (Multi Drug Resistant tuberculosis)] olgularının prevalansı yeni olgularda %3-5, önceden tedavi görmüş olgularda %15-20 civarında bulunmaktadır^(149,150,151). Bu değerler Batı Avrupa ülkelerine göre yüksektir.

Türkiye'de DSÖ standartlarında tedavi elde edilememektedir. DSÖ orta ve az gelişmiş ülkeler için yayma pozitif olgularda en az %85 kür elde etme hedefini koymuştur. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2003 yılında tanı konulan yeni olgularda tedavi başarısı %72 olarak görülmektedir⁽¹⁴⁸⁾. 1999 yılında Türkiye'deki olguların yarısını kapsayan bir çalışmada yeni yayma pozitif olgularda kür %36.8, tedavi tamamlama %45.7, toplam tedavi başarısı %82.5, tedavi terki %8.1 olarak bulunmuştur^(151, 152).

DGTS Dünya Sağlık Örgütü'nün tüberküloz kontrolü ve direnç gelişimini önlemek için önerdiği doğrudan gözetim altında tedavi stratejisidir. DGTS ile zamanla ilaç direnç oranlarının düşmesi beklenir. Ancak DGTS'ye rağmen ÇİD tüberküloz insidansının kontrol altına alınamaması üzerine DGTS uygulanan toplumlar için DOTS-Plus projeleri ve ÇİD tüberküloz tedavi rehberi yayınlanmıştır^(153,154). Ama ne var ki dünyada DGTS'nin yetersiz bulunup DOTS-Plus çalışmaları başlatılırken ülkemizde henüz DGTS bile uygulanmamaktadır. Tüm tüberküloz ilaçları serbest satılmakta ve gözetimsiz kullanılmaktadır. LJ besiyeri kullanılarak yapılan kültür ve duyarlılık sonuçları ancak 2-3 ay sonra çıkmaktadır. Laboratuvarlarda farklı standartlar kullanıldığından sonuçların güvenilirliği de tartışmalıdır. İstanbul'da iki laboratuvar da çalışılan aynı suşlar için sadece %30'unda aynı duyarlılık paterni belirlenmesi sorunun ciddiyetini ortaya koymaktadır⁽¹⁵⁵⁾. Ülkemiz ve bizim gibi gelişmekte olan ülkelerde direnç sorununun giderek büyüdüğü, majör ilaçlar yanı sıra minör ilaçlara da direnç gelişimi görülmektedir. Süreyya Paşa Göğüs ve Kalp Damar Hastalıkları Eğitim Hastanesinde sekonder İNH+RİF dirençli 32 suşun yaklaşık %65.6'sında ETM dirençli olduğunun gösterilmesi tablonun ne kadar ciddi boyutlarda olduğunun bir göstergesidir⁽¹⁵⁵⁾.

1999-2002 yılları arasında 75 ülke/yerleşim yerinden tedavi görmemiş 55779 hasta üzerinde yapılan çalışmaların analizine göre bir veya daha fazla ilaca direnç

oranı %10.2 olup en yüksek direnç oranı %57.1 ile Kazakistan'da saptanmıştır. Ortalama direnç oranları İNH için %5.9, SM için %6.3, RİF için %1.4 ve ETB için %0.8 olarak bulunmuştur. Ortalama çoğul direnç oranı ise %1.1 olarak hesaplanmıştır. Aynı periyottaki sekonder direnç oranları 66 ülke/yerleşim yerinden tedavi görmüş 8400 hasta üzerinde çalışılmış, bir veya daha fazla ilaca direnç oranı ortalaması %18.4 (en yüksek oran %82.1 ile Kazakistan) olarak belirlenmiştir. Ortalama sekonder direnç oranları İNH için %14.4, SM için %11.4, RİF için %8.7 ve ETB için %3.5 olarak saptanmıştır. Suşların %7.0'sinde çoğul ilaç direnci rapor edilmiştir ⁽¹⁵⁶⁾.

Türkiye'de direnç oranları

Direnç oranını ortaya koymak için ülke genelini kapsayan planlı çalışmalar yoktur. Tek tek sağlık kuruluşlarının yaptığı bağımsız çalışmaların verilerinin karşılaştırılmasında sıkıntılar vardır. Uygulanan yöntemler farklıdır, ilaç konsantrasyonları farklıdır, sunumda hatalar vardır (çoğunlukla primer, sekonder, toplam direnç ayrımı yapılmamaktadır) ve aynı hastaya ait birden fazla izolatin sonucu farklı hastalarmış gibi sunulmaktadır ⁽⁶⁷⁾.

Değişik klinik örneklerden gönderilen materyellerden elde ettiğimiz 45 Mikobakterium tuberculosis kompleks suşunun 4 major (İzoniazid, Rifampisin, Streptomisin, Etambutol) antitüberküloz ilaca karşı Proporsiyon ve E test yöntemi ile duyarlılığını araştırdığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçları özetleyecek olursak:

1. Ürettiğimiz suşlara NAP ve Niasin testi yaparak bunlardan 45 tanesinin Mycobacterium tuberculosis kompleks olduğu anlaşılmıştır.
2. Proporsiyon metodu ile Mycobacterium tuberculosis kompleks suşlarının major antitüberküloz ilaçların kritik konsantrasyonlarında İNH' a %11 RİF'e %4.4, SM'e %4.4 ve ETM'e %2.2 oranında direnç saptanmıştır.
3. Kritik konsantrasyonlarda yalnız tek ilaca karşı dirençli toplam suş sayısı 9 ve direnç oranıda %20 olarak tespit edilmiştir.
4. Kritik konsantrasyonlarda birden fazla ilaca karşı direnç(İNH+RİF)yani ÇİDT yalnız bir suшта elde edilmiş olup direnç oranıda %2.2'dir.
5. E test yöntemi ile Mycobacterium tuberculosis kompleks suşlarının major antitüberküloz ilaçların kritik konsantrasyonlarında İNH' a %8.8 RİF'e %4.4, SM'e %4.4 ve ETM'e %2.2 oranında direnç saptanmıştır.
6. Kritik konsantrasyonlarda yalnız tek ilaca karşı dirençli toplam suş sayısı 8 ve direnç oranıda %17.7 olarak tespit edilmiştir.
7. Kritik konsantrasyonlarda birden fazla ilaca karşı direnç(İNH+RİF) yani ÇİDT yalnız bir suшта elde edilmiş olup direnç oranıda %2.2'dir.

8. Proporsiyon metodu ile E test yöntemi kıyaslanacak olursa RİF, SM, ETM ve ÇİDT arasındaki uyum %100 iken, İNH direnci arasındaki uyum istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre E test yönteminin klasik proporsiyon yöntemine göre sonuçları daha çabuk vermesi uygulama kolaylığı avantajı iken; pahalı olması ve daha sık kontaminasyonlara rastlanması dezavantajıdır.

Ülkemizde yapılan bazı çalışmaların sonucunda (ÇİD-TB) olgu hızı %3.2-4.8 olarak bildirilmektedir ⁽¹⁵⁷⁻¹⁵⁹⁾. Bizim yaptığımız çalışmada bu oranın %2.2 olarak çıkması bölgemiz açısından sevindiricidir.

DSÖ'nün ÇİD TB oranının %3'ten daha fazla olduğu bölgeler "sıcak bölgeler (Hotspots)" olarak tanımladığı hatırlanacak olursa ülkemiz için durumun önemi bir kez daha ortaya çıkacaktır ^(160,161).

CDC, Amerikan Toraks Derneği (ATS) ve İngiliz Toraks Derneği (BTS) yeni ve eski tüm olgularda birinci sıra ilaçlar için başlangıçta duyarlılık testi yapılmasını önermektedir ^(91, 92).

Elde ettiğimiz sonuçlar ışığında mikobakterilere direnç konusunda daha fazla suşla daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, M. tuberculosis kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanmasında E-testinin alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir ⁽¹⁶²⁻¹⁶⁴⁾.

Çalışmamızda proporsiyon metodu ile E-test'in birlikte kullanılması, bu yöntemin diğerlerine göre daha hızlı sonuç vermesi, basit ve kolay uygulanabilir olmasından kaynaklanmaktadır ^(165,166).

Sonuçlarımız E test ve proportion yöntemlerinin duyarlılıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığını göstermiştir. Duyarlılık sonuçlarını elde etmek gereken ortalama süre E test ve proportion metodu için sırası ile 7 ve 21 gündür. Rutin için pratikte hızlı ve kolay uygulanabilir olması nedeni ile E test yönteminin, proportion metodunun (7H11 agar ve LJ medium) yanı sıra kullanılacak bir yöntem olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. İlvan A. Akciğer tüberkülozu. Aktüel Tıp Dergisi 2002; 3 (7); 27-35.
2. Kochi A The Global Tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organisation Tubercle 1991;72:1-6).
3. Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, Watt CJ, Dye C. Tuberculosis. Lancet. 2003 Sep13;362(9387):887–99.
4. Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC. Clinical practice. Latent tuberculosis infection. N Engl J Med. 2002 Dec 5;347(23):1860–6.
5. Uçan E. Sabri, 24 Mart Dünya Tüberküloz günü. Medical Life Mart-Nisan 2005; sayı (2;8).
6. Loddenkemper R, Sagebiel D, Brendel A. Strategies against multidrug resistant tuberculosis. Eur Respir J 2002; 36: 66 - 77.
7. Espinal MA. The global situation of MDR-TB . Tuberculosis 2003;83:44-51
8. World Health Organization. Antituberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLDGlobal Project on Antituberculosis Drug Resistance Surveillance 1994-1997. WHO/TB/97.229.
9. Bilgiç H. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu .Samsun.2003:23.
10. İnderlied CB, Nash KA. Antimycobacterial agents: İn vitro susceptibility testing, spectra of activity, mechanisms of action and resistance and assays for activity in biologic fluids. Lorian W (ed): Antibiotic in Laboratory Medicine, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore 1996:127-75.
11. Casal M. Laboratory approaches to mycobacterial susceptibility to antibiotics. Rev Esp Quimioterap 1995; 8:184.
12. Heifets LB. Conventional methods for antimicrobial susceptibility testing of mycobacterium tuberculosis. Bastian I, Portaels F (eds). Multidrug-Resistant Tuberculosis.Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2000: 133-42.
13. İnderlied CB. Mycobacteria. Armstrong D, Cohen J (eds): Infectious Diseases. Mosby Company, London 1999; 1 (8):1-2210.
14. İmecik O. Tüberküloz Tedavi İlkeleri. Toraks Derneği İkinci Yıllık Kongresi, Tüberküloz kursu notları 1998: 1-5.
15. Kılıçarslan Z. Dünyada ve Türkiye’de tüberküloz epidemiyolojisi ve kontrolü. İnfeksiyon hastalıkları serisi, 2001. 4(1) p: 5–13.
16. Kocabaş A. Günümüzde tüberküloz sorunu. In:Tüberküloz kliniği ve kontrolü Kocabaş A.(ed.) Emel matbaası, Adana. 1991; 3-32.

17. Yazıcıoğlu S. Tüberküloz Teşhis ve Tedavisi. Diyarbakır Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları 1981; 1-112.
18. Tüberküloz. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi, Ocak-Şubat-Mart 2001; Cilt 4 Sayı 1
19. 21. yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun. 2003: 74–75. 89.
20. Kocabaş A. Akciğer Tüberkülozu. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed). İnfeksiyon Hastalıkları. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Kitabevi, 1996:396-441.
21. Hashimoto T. BCG vaccines for the prevention of tuberculosis in the world. *Kekkaku* 1997;72(11):629-637.
22. Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Türkiye’de. Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı 2003).
23. Wayne, L. G. Kubica, G. P. The Mycobacteria. In: Bergey’s Manuel of Determinative Bacteriology. Williams&Wilkins, Baltimore, 1986 p.1435-1457.
24. Parker T, Deverden B (ed): Topley Wilson’s principles of Bacteriology, Virology and Immunity. Vol II. 1990: 74–97.
25. Brennan P. J Structure, function, and biogenesis of the cell wall of Mycobacterium tuberculosis, *Tuberculosis*, 2003 Volume 83, Issues 1-3, Pages 91-97.
26. Jarlier V. ve Nikaido H., Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. *FEMS Microbiol.* 1994 Lett. 123. 11–18.
27. Chatterjee D. The mycobacterial cell wall: Structure, biosynthesis and site of drug action. *Current opinion in Chemical Biology* 1997 1:579-588..
28. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun Prof. Dr. Fatih KÖKSAL, Doç. Dr. Akgün YAMAN, Y. Doç. Dr Özlem Tansel
29. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, & Winn WC Jr. Mycobacteria. In *Color Atlas And Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5 th . Ed. USA. Lippincott-Raven publishers, 1997:893-952.
30. Ustaçelebi Ş, Cengiz TA, Erdem B. Mycobacteria. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara 1999:419-456.
31. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Mycobacterium: General Characteristics, Isolation, and Staining Procedures. In *Manuel of Clinical Microbiology*. 8 th . Ed. USA. ASM Press, 2003:532-584.
32. Bilgehan H. Mycobacteriumlar. Klinik Mikrobiyoloji ve Tanı. Üçüncü baskı. İzmir 2002:571-589.

33. Chesney PJ. Nontuberculous mycobacteria. *Pediatrics in Review* 2002; 23(9): 300-209.
34. Philips MS, Reyn CF. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1363-74.
35. Eckburg PB, Budau EO, Stark P, Sarinas PSA, Chitkara RK, Kuschner WG. Clinical and chest radiographic findings among persons with sputum culture positive for *Mycobacterium gordonae*. *Chest* 2000; 117: 96-102.
36. Wallace JR, Brown BA, Griffith DE. Nosocomial outbreaks/pseudo-outbreaks caused by nontuberculous mycobacteria. *Annu Rev Microbiol* 1998; 52: 453-90.
37. Goren MB, D'Arcy Hart P, Young MR, Amostrong JA. Prevention of phagosomelysosome fusion by sulfotides from *Myocobacterium tuberculosis*. *Proc Notl Acad Sc:USA*1976;73:2510-2514.
38. Goldon AH, D'Arcy Hart P, Young MR. Ammonia inhibitis phagosome-lysosome fusionin macrophages. *Nature* 1980;286:79-80.
39. Dannenberg Am. Delayed- type hypersensitivity and cell- mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis. *Immunol Today* 1991; 12: 228- 233.
40. Mısırlıgil Z. Tüberküloz İmmunolojisi. *Tüberküloz ve Toraks* 1986;34:184-194.
41. Çobanlı B. Akciğer Tüberkülozu Numan N. (Ed). *Solunum Sistemi ve Hastalıkları*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ANTIP A.Ş. Yayınları, 2001, 2. baskı:bölüm 13;306-338.
42. Topçu WA, Söyletir G, Doğanay G, Doğanay M. *İnfeksiyon Hastalıkları*, Nobel Tıp Kitapevleri 1996; 404-425.
43. Mısırlıgil Z. Tüberküloz İmmunolojisi. In: *Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü*.68 Kocabaş A.(ed.) Emel Matbaası Adana 1991; 73-78.
44. Stead WW, Senner JW, Reddich WT, Lofgren JP: Racial differences in susceptibility to infection by mycobacterium tuberculosis. *N. Eng. J. Med.* 1990; 322: 422-7.
45. Kılıçaslan Z. Akciğer tüberkülozu ve atipik mikobakteri enfeksiyonları. Arseven O(Ed). *Akciğer hastalıkları*, Nobel Tıp kitapevleri 2002: bölüm 14; 283-301
46. Jawetz, Melnick and Adelberg *Mycobacteria*. Brooks GF, Bulel JS, Morse SC (Eds). *Medical Microbiology*. Appleton and Lange 2001. 21st ed. : 270-284.
47. Toraks Derneği 2. Yıllık kongresi, tüberküloz kursu notları. 6-10 Mayıs 1998
48. Çöplü N. Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı. *Enfeksiyon Hastalıkları Serisi* 4(1): 30-40.

49. Fishman AD, Pulmonary Disease and Disorders. Volume II 3. ed. 1998; 2447-2465.
50. Handzel ZT, Barak V, Altman Y, Bibi H, Lidgi M, Iancovici-Kidon M, Yassky D, Raz M Increased Th1 and Th2 type cytokine production in patients with active tuberculosis. Isr Med Assoc J. 2007 Jun;9(6):479-83.
51. Smitt D.W., Weigeshaus, What animal models can teach us about the pathogenesis of tuberculosis in humans Rev Infect Dis 1989; II (supp 2). 385-393.
52. Stoyblo K. Tüberküloz Epidemiyolojisi (Koçoğlu F, çeviri) Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları Sivas : 1992;52.
53. Iseman MD. Klinisyenler için Tüberküloz kılavuzu. çeviri: Nobel Tıp Kitabevi 2002;1-276.
54. Osma E. Solunum Sistemi Radyolojisi (Normal ve Patolojik), Çağdaş ofset İzmir 2000; 199-207.
55. Numanoğlu N. , Solunum Sistemi ve Hastalıkları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları 1997; 310-316.
56. American Thoracic Society. Current approaches to the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med .1995; 149: 264-267.
57. 21. yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun. 2003: 34-47.
58. Schlossberg D. Tüberküloz. Bilimsel ve Teknik Yazı Çeviri Vakfı 1995: 39-47.
59. Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire başkanlığı, Tüberküloz hastalıklarının tanı, tedavi ve izlenmesi,1998
60. Aktoğu S. Tüberküloz Tanı ve Tedavisi Ders Notları. Toraks Derneği Ulusal Akciğer Sağlığı Kongresi 2000; 1-5.
61. Akkaynak S. Tüberküloz. Ayyıldız Matbaası. Ankara Tüberkülozda bakteriyolojik tanı yöntemleri 1986; 105-113.
62. Baylan O. 5.Ulusal Mikobakteri Sempozyumu .İzmir.2004:65-72)
63. Küçükusta AR. Göğüs hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul. 2001;257-260. 61.
64. Özkara Ş. Tüberkülozda Tanı ve Tedavi. Şubat, 5, 2001 Erzurum Verem Savaş Derneği Toplantısı Seminer notları. 24-47.
65. Khomenko AG, Bayensky AV, Chernousova LN, Kulikovskaya NV, Demianenko NV, Litvinov VI. Serodiagnosis of tuberculosis: detection of mycobacterial antibodies and antigens. Tuber Lung Dis. 1996 Dec;77(6):510-5.

66. Özdemir Ö. Tüberküloz tanı yöntemleri. Türkiye Klinikleri Tıp bilimleri dergisi, Tüberküloz özel sayısı, 1994: 420–4.
67. Durmaz R. Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitapevleri 2001, 15–35.92.
68. Mboden P, Cole S, Bodmer T, Telenti A. Detection of rifampin resistance mutation in Mycobacterium tuberculosis and M. Leprae. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC (eds): Diagnostic molecular Microbiology: Principles and Applications. ASM Press, Washington DC 1993: 519–26.
69. İnderlied CB. Mycobacteria. Armstrong D, Cohen J (eds): Infectious Diseases. Mosby Company, London 1999; 1 (8):1-22.
70. Metchook BG, Nolte FS, Wallace RJ Jr. Mycobacterium. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 7th ed, ASM Press, Washington DC, 1999: 399-437.
71. Woods GL. The mycobacteriology laboratory and new diagnostic techniques. Griffith DE (ed): Infectious Disease Clinics of North America, Mycobacterial Infections. WB Saunders Company, Philadelphia 2002; 16: 127-44.
72. Parsons LM, Driscoll JR, Taber HW, Salfinger M. Drug resistance in tuberculosis. Infect Dis Clin North Am 1997; 11:905-28.
73. Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in Mycobacterium tuberculosis:1998 update. Tubercle and Lung Disease 1998; 79:3-29.
74. Korkmaz G, Balcı İ. Bayram A. Karşılıgil T Mikobakterium tuberculosis kompleks suşlarının birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının saptanmasında Bactec ve agar proporsiyon yöntemlerinin karşılaştırılması İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection) 2006; 20 (1): 7-14.
75. Iseman MD. Tuberculosis therapy: past, present and future. Eur Respir J 2002; 20(Suppl 36):87-94.
76. Duncan K. Progress in TB drug development and what is still needed. Tuberculosis 2003; 83:201-7.
77. Jawahar MS. Current trends in chemotherapy of tuberculosis. Indian J Med Res 2004; 120:398-417.
78. Duncan K, Barry CE III. Prospects for new antitubercular drugs. Curr Opin Microbiol 2004; 7:460-5.
79. Özlü T. Tüberküloz Ders Notları . Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Trabzon, 2001.

80. WHO97 Treatment of tuberculosis. Guidelines for national programmes. WHO 1997.
81. Tahaoğlu K. Tüberkülozda tedaviye yanıtın takibi ve ilaç yan etkileri, tüberkülin, koruyucu tedavi, temaslı muayenesi. Toraks Derneği 2. Yıllık Kongresi 1998, tüberküloz kursu. 58-68.
82. Bilgiç H. Tüberküloz tanı ve tedavisi ders notları, Toraks Derneği Ulusal Akciğer kongresi 2000; 27-35.
83. Kayaalp S. Oğuz. Tıbbi Farmakoloji, Feryal matbaacılık, Ankara, cilt 1, 1998; beşinci baskı; 306-316.
84. Douglas JG, McLeod MJ. Pharmacokinetic factors in the modern drug treatment of tuberculosis. Clin Pharmacokinet 1999; 37(2):127-146.
85. Bardou F, Raynaud C, Ramos C, M A Laneelle, Laneelle G. Mechanism of isoniazid uptake in mycobacterium tuberculosis. Microbiology 1998;144:2539-2544.
86. Schaller A, Sun Z, Yang Y, Somoskovi A, Zhang Y. Salicylate reduces susceptibility of mycobacterium tuberculosis to multiple antituberculosis drugs. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46(8):2636-2639.
87. Zhang Y, Scorpio A, Nikaido H, Sun Z. Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to pyrazinamide. J Bacteriol 1999;181(7):2044-9.
88. Ruiz P, Rodriguez-Cano F, Zerolo FJ, Casal M. Investigation of the in vitro activity of Streptomycin against mycobacterium tuberculosis. Microb Drug Resist 2002;8(2):147-9.
89. Gandhi NR, Moll A, Sturn AW et al. Extensively drug resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. Lancet 2006; 368: 1575-80.
90. WHO/IUATLD. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-tuberculosis drug resistance Surveillance, Geneva: World Health Organization, 2000. WHO/CDS/TB/2000/278.
91. ATS/CDC/IDSA: Treatment of Tuberculosis. Amj Respir Crit care Med. 2003;167:603-62.
92. BTS guidelines Chemotherapy and management of tuberculosis in the United Kingdom Thorax 1998;53:536-48.
93. Cockerill FR. Genetic methods for assessing antimicrobial resistance. Antimicrob Agent Chemother 1999; 43:199-212.

94. Musser JM. Antimicrobial agent resistance in Mycobacteria: Molecular genetic insights. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8:496-514.
95. Giellespie SH. Evolution of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis: Clinical and Molecular Perspective. *Antimicrob Agent Chemother* 2002; 46:267-74.
96. Saniç A. Tüberkülozda Direnç Mekanizmaları. 5. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu. İzmir. 2004:24-35.
97. Raviglione M. XDR-TB: entering the post-antibiotic era *Int J Tuberc Lung Dis* 10(11): 1185-87.
98. Emergence of Mycobacterium tuberculosis with Extensive Resistance to Second-Line Drugs – Worldwide, 2000-2004. *MMWR* 2006; 55(11); 301-5.
99. World Health Organization (WHO). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WHO/HTM/TB/2006.361.
- 100 Iseman MD. A clinician's guide to tuberculosis. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams&Wilkins, 2000.
- 101 Lipsitch M, Levin BR. Population dynamics of tuberculosis treatment: mathematical models of the roles of non-compliance and bacterial heterogeneity in the evolution of drug resistance. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998; 2: 187-199
- 102 Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları.10. Baskı, İzmir, 2000: 229-7y
- 103 Flournoy D, Twilley J. Modified Middlebrook 7H9 broth for the rapid detection of mycobacteria. *Clin Lab Sci.* 2001 Spring;14(2):85-8.
- 104 Siddiqi SH. BACTEC TB system: Product and Procedure Manual. Sparks, MD: Becton Dickinson Diagnostic Instruments System, 1995.
- 105 Morgan MA, Hortsimeier CD, De Young DR, Roberts GD. Evaluation of the p-nitro-a-acetyl-amino- β -hydroxypropiophenone differential test for identification of Mycobacterium tuberculosis complex. *J Clin Microbiol* 1983; 21:634-5
- 106 Salfinger M, Pfyffer GE. The new diagnostic mycobacteriology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 961-79.
- 107 Baylan O, Kisa O, Albay A, Doganci L. Evaluation of a new automated, rapid, colorimetric culture system using solid medium for laboratory diagnosis of tuberculosis and determination of anti-tuberculosis drug susceptibility. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004 Jun;8(6):772.

- 108 Lillian VL. Mycobacteriology and antimycobacterial susceptibility testing, conventional biochemicals. Isenberg HD (ed): Essential Procedures for Clinical Microbiology. ASM Press, Washington DC 2004.
- 109 Sanic A, Gunaydin M, Coban AY, Tokac , Cetin M. A comparison of the E-test and proportion methods for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J Chemother. 2000;12(6):491-4
- 110 Wanger A, Mills K. Testing of Mycobacterium tuberculosis susceptibility to ethambutol, isoniazid, rifampin, and streptomycin by using Etest. J Clin Microbiol. 1996 Jul;34(7):1672-6.
- 111 İnerlied CB, Salfinger M. Antimicrobial Agents and Susceptibility Tests: Mycobacteria. In : Murray PR ed. Manuel of Clinical Microbiology. 6th edition. ASM Press, Washington, DC; 1995: 1385-1405
- 112 Joloba ML, Bajaksouzian S, Jacobs MR: Evaluation of E test for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis, J Clin Microbiol 2000;38(10): 3834-6.
- 113 Kakkar N, Sharma M, Ray P, Sethi S, Kumar S: Evaluation of E test for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to primary anti tubercular drugs, Indian J Med Res 2000;111:168-71
- 114 Sanchez L, Londono D, Arango AI, Mattar S: In vitro activity of antituberculous agents against Mycobacterium tuberculosis isolates from Bogota, DC (Colombia) evaluated by E test, Diagn Microbiol Infect Dis 1999;35 (2):109-12.
- 115 Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis. Estimated incidence, prevalence, and mortality by country. JAMA 1999; 282:677-86.
- 116 Roscigno G, Rustomjee, Zumla A. TDR/WHO Reference Group on TB. Nat Rev Microbiol 2004; 2:930-2.)
- 117 Songur M. Tüberküloz tanısında standart kültür, hızlı kültür (MGIT) ve polimeraz zincir tepkimesi (PZT), yöntemlerinin karşılaştırılması [Doktora Tezi]. İzmir, 1998.)
- 118 Çoban AY, Ekinci B, Birinci A, Yenigün A, Durupınar B. Mycobacterium tuberculosis klinik suşlarında streptomisin direncinin araştırılması. İnfek Derg, 2002; 16: 35-8.)
- 119 Över U. Antitüberküloz Duyarlılık Testleri. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1997: 115-25.)

- 120 FeixoM, InesM, Caldas PC et al:Antimicrobial susceptibility determined by the E test, Löwenstein-Jensen proportion, and DNA sequencing methods among Mycobacterium tuberculosis isolates discrepancies. Preliminary results, Mem Inst Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) 2004; 99(1):107-10.
- 121 Kartaloğlu Z, Bozkanat E, Öztürkeri H, Okutan O, _Ivan A: BACTEC yöntemi kullanılarak primer antitüberküloz ilaçlara direnci saptanan 365 tüberküloz olgusu, Solunum 2002;4(4):443-8.
- 122 Uzun M, Kiraz M, Kaya D, Aktan G, Kasımoğlu Ö Mycobacterium türlerinin antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları, ANKEM Derg 1993;7 (4):273-6.
- 123 Yaman A, Dünder İH, Aksungur P, Apan TZ: Mycobacterium tuberculosis'in izolasyonunda Bactec sistemi ile Löwenstein-Jensen'in kıyaslanması ve ilaç hassasiyetlerinin Bactec ile değerlendirilmesi, Mikrobiyol Bül 1994;28(3):189-98.
- 124Yüce A, Yücesoy M, Ercan H, Çeliktepe E, Yuluğ N: Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberkülo ilaçlara direnç paternleri ve izoniazid direnci ile katalaz aktivitesi arasındaki ilişki, Klimik Derg 1997;10(1):33-5. 192
- 125 Otkun M, Akata F, Karabay O, Tabakoğlu E, Tuğrul M, Dünder V: Trakya Üniversitesi Hastanesine 1996 yılı içinde başvuran tüberkülozlu olgularda antitüberküloz ilaçlara direnç sorunu, İnfeksiyon Derg 1997;11(3):191-6.
- 126 Özcan M, Özbal Y, Fazlı A, Kılıç H: Kayseri'de tüberküloz kompleksi mikobakterilerin antitüberkülotiklere karşı direnç durumu, 2.Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, Ankara (1998).
- 127 Aydın Ö, Özakin C, Gedikoğlu S: 175 Mycobacterium tuberculosis kompleks suşunun Bactec ile saptanan antitüberküloz ilaç duyarlılıkları, II. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, Ankara (1998).
- 128 Balcı İ, Bayram A, Filiz A: Mycobacterium tuberculosis'te birinci seçenek ilaçlara direnç, İnfeksiyon Derg 1999;13(4):521-5.
- 129 Öztürkeri H, Emektaş G, Kocabay Ö, Gözüaçık A: İzoniazid, rifampin, streptomisin ve etambutolün tüberküloz basillerine in-vitro etkinlikleri. BACTEC test yöntemi ile alınan sonuçlar, Türk Mikrobiyol Cem Derg 1999;29(1-2):58-60.
- 130 Özcan M, Özbal Y, Şenyüz A: Mikobakterilerde antitüberkülotiklere karşı direnç gelişimi, 4. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, Abant (2002).

- 131 Sürücüoğlu S, Özkütük N, Kurutepe S, Değerli K, Özbakkaloğlu B: Manisa bölgesinde izole edilen tüberküloz basillerinin primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının incelenmesi, 4. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, Abant (2002).
- 132 Kısa Ö, Albay A, Baylan O, Doğançlı L: Mycobacterium tuberculosis suşlarında antitüberküloz ilaç direnç oranlarının BACTEC 460 TB kültür sistemi ile değerlendirilmesi, Flora 2002;7(3):171-6.
- 133 Gani O, Zer Y, Balcı İ, Bayram A, Korkmaz G: Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002;32(3-4):225-9.
- 134 Kocazeybek B: Tüberküloz tanısında BBL-“Mycobacteria-Growth Indicator Tube (MGIT)” Yönteminin “Löwenstein-Jensen” besiyeri ile karşılaştırılması ve izole edilen suşların dört majör ilaca karşı dirençlerinin değerlendirilmesi, Flora 2002;7(2):112-9.
- 135 Tansel Ö, Yüksel P, Kuloğlu F, Akata F: Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloz ilaçlara direnci: Trakya Üniversitesi Hastanesi'nin iki yıllık sonuçları, İnfeksiyon Derg 2003;17(1):23-6.
- 136 Karadağ A, Tokaç M, Güvenli A, Sünbül M, Günaydın M, Saniç A: Klinik örneklerden izole edilen tüberküloz basili kompleksinin major antitüberküloz ilaçlara direnç oranları ANKEM Derg 2004;18(4):189-192
- 137 Arseven O, Eraksoy H, Uzun Y ve ark. Doğu Karadeniz bölgesinde tüberküloz ilaçlarına direnç durumu. KLİMİK Derg 1995; 8: 63-7.
- 138 Orhan G, Zer Y, Balcı İ, Bayram A, Korkmaz G. Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2002; 33: 225-9.
- 139 Şenyüz A, Özcan M, Özbal Y. Mikobakterilerde antitüberkülotiklere karşı direnç gelişimi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya, 2002: 297.
- 140 Kibar F, Yaman A, Dündar İH. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesinde izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi kitabında. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 298.
- 141 Balcı I, Bayram A, Dikensoy O, Filiz A. Drug-resistant tuberculosis at The University Hospital in Gaziantep, south-eastern Turkey. J Int Med Res, 2000; 28: 300-6.

- 142 Hasçelik G, Ercis S, Özakin C, et al. Is Mycobacterium tuberculosis still a problem in Turkey? In: ASM 101st General Meeting (May 20-24 May 2001 Orlando Miami). 2001: 235.
- 143 Okutan O. Hastanelerde tanı konulan tüberküloz hastalarının bildiri ve izlenmesi. XXIII. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi kitabında. 2003: 52-60.
- 144 Kocabaş A. Akciğer tüberkülozu. Topçu-Wilke A, Söyletir G, Doğanay M, ed. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi'nde. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 538-99.
- 145 T.C. Verem Savaş Daire Başkanlığı verileri (Yayınlanmamış veriler).
- 146 World Health Organization (WHO). Anti-tuberculosis drug resistance in the world report no.3 (WHO/HTM/TB2004.343).
- 147 T.C. Sağlık Bakanlığı: PPD (Tüberkülin) Araştırması SB Verem Savaş Daire Başkanlığı, Epidemiyolojik Değerlendirme şube Müdürlüğü, Ankara (1996).
- 148 World Health Organization: WHO tuberculosis country profiles, Predefined reports (www.who.int/globalatlas). 32 World Health Organization: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing, WHO Report, Geneva (2006) (who/htm/tB/2006.362).
- 149 Güneri S, Ünsal İ, Öztop A ve ark: Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloz ilaçlara direnç oranları: Ege bölgesine ait iki yıllık verilerin değerlendirilmesi, Mikrobiyol Bül 2004;38(3):203-12.
- 150 Kılıçaslan Z, Albal H, Kıyan E, Aydemir N, Seber E: Drug resistance in pulmonary tuberculosis, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002;21(10):763-4.
- 151 Surucuoglu S, Ozkutuk N, Celik P et al: Drug-resistant pulmonary tuberculosis in western Turkey: prevalence, clinical characteristics and treatment outcome, Ann Saudi Med 2005;25(4):313-8.
- 152 Özkara Ş, Kılıçaslan Z, Öztürk F ve ark: Bölge verileriyle Türkiye'de tüberküloz, Toraks Derg 2002;3(2):178-87.
- 153 Farmer P, Kim JY: Community based approaches to the control of multidrug resistant tuberculosis: introducing "DOTS-plus", Brit Med J 1998; 317 (7159):671-4
- 154 Törün T: Türkiye'de çok ilaca dirençli tüberküloz ve tedavi sonuçları, 4. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, Kongre kitabı s:145-53, Abant (2002).

- 155 Oğuz VA, Akbal H, Sarıbaş S, Karagöz T, Öztürk R: Edinsel çok ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının major ve minör antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg* 2000;14(3):383-6.
- 156 World Health Organization: Anti-tuberculosis drug resistance in the world, Third Global Report. The WHO/IUATLD Global Project on anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance 1999-2002,WHO (2005).
- 157 Tahaoğlu K, Kızkın Ö, Karagöz T , Tor M, Partal M, fiadoğlu T. High initial and acquired resistance in pulmonary tuberculosis in Turkey. *Int J Tuberc Lung Dis* 1994; 75: 324- 28
- 158 Kılıçaslan Z, Sarımurat N, Ortaköy G, Küçük C, Çağlar E. Multidrug resistance tuberculosis in İstanbul. *Int J Tuberc Lung Dis* 1994 (Suppl.75) 15
- 159 Tülay TÖRÜN, Kemal TAHAOĞLU. Çok İlaça Dirençli Tüberküloz Göğüs Hastalıkları Dergisi 2003 / Volume: 1 / No: 2
- 160 Aziz MA, Wright A, Laszlo A et al. Epidemiology of antituberculosis drug resistance (the Global Project on Anti,tuberculosis drug resistance surveillance): an updated analysis. *Lancet* 2006; 16: 368(9553): 2142-54
- 161 Zignol M, Hosseini MS, Wright A et al. Global incidence of Multidrug-resistant tuberculosis. *JID* 2006; 194: 479-85
- 162 Wanger A, Mills K. E-test for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium-intracellulare*. *Diagn. Microbiol Infect Dis* 1994; 19: 179-81.
- 163 Hoffner SE, Klintz L, Olsson-Liljequist B, Bolmström A. Evaluation of Etest for rapid susceptibility testing of *Mycobacterium chelonae* and *M. fortuitum*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1846-9.
- 164 Biehle JR, Cavalieri SJ, Saubolle MA, Getsinger LJ. Evaluation of Etest for susceptibility testing of rapidly growing *Mycobacteria*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1760-4.