

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Mycobacterium tuberculosis* KOMPLEKS SUŞLARININ
SEKONDER ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENCİNİN AGAR PROPORSİYON YÖNTEMİ
İLE ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şinasi SAĞIR

TRABZON – 2011

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Mycobacterium tuberculosis*
KOMPLEKS SUŞLARININ SEKONDER ANTİTÜBERKÜLOZ
İLAÇLARA DİRENCİNİN AGAR PROPORSİYON YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI

Şinasi SAĞIR

Tezin Enstitüye Veriliş Tarihi : 20.05.2011

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 28.06.2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Faruk AYDIN

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Neşe KALKLIKKAYA

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Ahmet ALVER

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Ahmet KALKAN

HAZİRAN 2011

TRABZON

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca bilimsel destek veren ve yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Faruk AYDIN'a;

Yüksek lisans çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen bilgi, birikim ve deneyimlerini paylaşan, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın öğretim görevlileri, Prof. Dr. Murat ERTÜRK, Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA, Doç. Dr. İlknur TOSUN, Yrd. Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK ve Yrd. Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU'na,

Mikobakteriyoloji Laboratuvar çalışanlarına;

Tez çalışmam sırasında bilimsel destek veren Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gönül ASLAN'a, Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK'e, Arş. Gör. Mahmut ÜLGER'e ve Mikobakteriyoloji Laboratuvarı çalışanlarına,

Bu tez çalışmasında bana her konuda yardımcı olan Arş. Gör. Baran TONYALI'ya,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca destek veren ve sabır gösteren eşim Münevver, çocuklarım Arda Berk ve Berke'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına (<http://sabe.ktu.edu.tr/eski/yuksekk.doc>) uygun yazılmıştır.

Şinasi SAĞIR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım	3
2.2. Tüberkülozun Tarihçesi	3
2.3. Tüberküloz Bakterilerinin Özellikleri	5
2.4. Tüberkülozun Epidemiyolojisi	7
2.5. Tüberküloz Bulaşıcılığı	10
2.6. Tüberküloz Olgu Tanımları	11
2.6.1. Hastalığın Yeri	11
2.6.2. Bakteriyolojik Özellikler	11
2.6.3. Hastalığın Ciddiyeti	12
2.6.4. Daha Önceki Tüberküloz Tedavisi Öyküsü	12
2.7. Tüberküloz Tanı Yöntemleri	14
2.7.1. Öykü (Anamnez)	14
2.7.2. Fizik Muayene	15
2.7.3. Radyoloji	15
2.7.4. Bakteriyolojik Tanı	15
2.8. Antimikobakteriyel Duyarlılık Test Yöntemleri	18
2.8.1. Orantı (proporsiyon) yöntemi	18
2.8.2. Mutlak konsantrasyon yöntemi	19
2.8.3. Nispi direnç yöntemi	19

2.8.4. Radyometrik yöntem	19
2.8.5. Moleküler yöntemler	20
2.9. Tüberküloz Tedavisi ve Antitüberküloz İlaçlar	20
2.10. Tüberküloz İlaçlarında Direnç Sorunu	22
2.11. Ülkemizde İlaç Direnci Durumu	24
2.12. Dünyada Tüberküloz İlaç Direnci	26
3. MATERYAL VE METOD	28
3.1. Materyal	28
3.2. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması	28
3.3. İlaçlı ve İlaçsız Agar Besiyerinin Hazırlanması	29
3.4. İnokulum Hazırlanması	31
3.5. İnokulasyon ve İnkübasyon	32
3.6. Sonuçların Değerlendirilmesi	33
3.7. Gerekli Malzeme ve Teçhizat	33
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	43
7. ÖZET	44
8. ABSTRACT	45
9. KAYNAKLAR	46
ÖZGEŞMİŞ	51

TABLolar LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Ülkemizde ve DSÖ Avrupa Bölgesi'nde insidans hızları 2002-2008	9
Tablo 2. Ülkemizde tüberküloz mortalitesi	10
Tablo 3. EZN boyama yöntemi için derecelendirme kriterleri	16
Tablo 4. ÇİD-TB hastalarında tedavide kullanılacak ilaçlar	21
Tablo 5. İlaç duyarlılık testi (İDT) çalışılan hastalarda olgu tanımına göre her bir TB ilacı için toplam direnç sonuçları, 2005-2008	25
Tablo 6. İlaç duyarlılık testi (İDT) çalışılan hastalarda olgu tanımına göre tekli ve çoklu ilaç direnci dağılımları, 2008	26
Tablo 7. Küresel ilaç direnci sörveyansında 1994-2007 arasında çalışma yapılan ülkelerde INH, RIF, SM, EMB, ilaçları için ağırlıklı ortalama ilaç direnci	27
Tablo 8. Tüberküloz tedavisinde kullanılan antitüberküloz İlaçların kritik konsantrasyonları ve kritik proporsiyonları	29
Tablo 9. Çalışmada kullanılan suşların primer antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumları	36
Tablo 10. Agar plaklarındaki mikobakteri kolonilerinin üreme yönünden kantitasyonu	38
Tablo 11. 46 <i>M. tuberculosis</i> suşunda antitüberküloz ilaçlara direnç	39
Tablo 12. <i>M.tuberculosis</i> suşlarında toplam primer antitüberküloz ilaçlara dirençleri	39
Tablo 13. Yapılan çalışmalarda amikasin direnci	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Mikobakterilerin Taksonomik Sınıflaması	6
Şekil 2. <i>M. tuberculosis</i> hücre duvarı	7
Şekil 3. Anabesiyeri ve ilaçlı besiyerler	30
Şekil 4. Etiketlenmiş vidalı tüplere dökülmüş kontrol, AMK ve CIP içeren besiyerler	31
Şekil 5. Dilüsyonların hazırlanması	32
Şekil 6. BACTEC-MGIT 960	35
Şekil 7. Çalışmaya alınan suşların direnç yüzdeleri	36
Şekil 8. Çalışmaya alınan suşların primer antitüberküloz ilaçlara karşı direnç yüzdeleri	37
Şekil 9. Sırasıyla 10^{-2} , 10^{-4} , CIP ve AMK tüplerinde <i>M. tuberculosis</i> suşlarında üreme	38

KISALTMALAR LİSTESİ

MTB	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MTBC	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex
LJ	: Besiyeri: Löwenstein –Jensen besiyeri
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ÇİD	: Çok İlaç Dirençli (Multidrug Resistance)
YİD	: Yaygın İlaç Dirençli (Extensive Drug Resistance)
INH	: İsoniazid
RIF	: Rifampisin
EMB	: Etambutol
SM	: Streptomisin
AMK	: Amikasin
CIP	: Siprofloksasin
PZA	: Pirazinamid
ARB	: Aside Dirençli Bakteri
DGTS	: Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi
EZN	: Ehrlich- Ziehl-Neelsen
MGIT	: <i>Mycobacterium</i> Growth Indicator Tube
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
BCG	: Bacille Calmette-Guerin
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
TB	: Tüberküloz
VSD	: Verem Savaş Dispanseri
MOTT	: Tüberküloz Dışı Mikobakteri (<i>Mycobacteria</i> other than tuberculosis)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlık tarihinin en eski ve en yaygın bulaşıcı hastalıklarından biri olan tüberküloz (TB) günümüzde de halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (1). Dünyada yaklaşık 2 milyar kişinin TB basili ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010 yılı raporuna göre 2009 yılında 9,4 milyon yeni vaka görülmüştür. Toplam hasta sayısının 14 milyon olduğu tahmin edilmektedir. 2009 yılında, yaklaşık 1,7 milyon insan hastalık sebebiyle ölmüştür. TB, ülkemizde de önemli bir toplumsal sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (3). Türkiye’de 2008 yılı itibariyle 18.452 kayıtlı TB olgusu bulunduğu rapor edilmiştir (4).

Bakterinin çok tabakalı hücre duvarı ve çok ilaca etkili dışa-atım pompalarının neden olduğu doğal ilaç direnci, TB tedavisinin en önemli sorundur (5-6). Uygun olmayan tedavi rejimleri ve tedaviye uyumsuzluk kromozomal genlerde mutasyona sebep olmaktadır. Kromozomal genlerde meydana gelen mutasyonlar edinsel ilaç direncine neden olabilmekte ve TB tedavisinde kullanılan ilaçları sınırlamaktadır (7).

TB basili ile enfekte olmuş bireylerin bir an önce tespit edilmesi toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır (8).

İlaç direnci olan TB hastasının tedavisi, o hastanın hayatına önemli etki yapabilecek bir konudur. Gecikmeler, hastalığın ilerlemesine yol açar ve hatalı tedaviler hastanın hayatına mal olabilir.

M. tuberculosis’in çok ilaca dirençli (ÇİD) suşlarının görülme sıklığındaki artış ve yaygın ilaç dirençli (YİD) suşlarının görülmeye başlaması nedeniyle TB hastalarının ilaç tedavisi, mortalitenin azaltılması ile bulaşma zincirinin kırılması bakımından çok önemlidir (9). Hastaların tedaviye uyumsuzluğu, etkin olmayan ilaç kombinasyonları, giderek artan direnç sorununa yol açmaktadır (10).

TB tedavisinde kullanılan ilaçlar başlıca iki grupta incelenebilir. Bunlardan primer ilaçlar; izoniazid (INH), rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), etambutol (ETM), streptomisin (SM)’dir. TB tedavisinde yan etki ya da direnç durumu söz konusu değilse

primer ilaçlar kullanılır. Kanamisin, amikasin, kapreomisin, viomisin, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, moksifloksain, gatifloksasin, PAS, sikloserin, etionamid, protionamid ve tiasetazon gibi ilaçlar ise sekonder ilaç grubunda yer almaktadır (11). İlaç direncinin varlığında; ilk seçenek ilaçların ciddi yan etkileri görüldüğünde veya kontrendikasyon varlığında tedavide kullanılır. Sekonder antibiyotiklerin ilaç duyarlılıkları tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir.

İlaç direnç sürveyansının yapılması TB kontrol ve tedavi programlarının temelini oluşturur. Ülkemizde 2005 yılına kadar TB direnci ile ilgili yapılmış olan geniş kapsamlı sürveyans çalışmaları bulunmamakla birlikte, çeşitli bölgeler ve illerdeki direnç oranlarının bildirildiği rapor edilmiştir (12). 2007 yılından itibaren primer ilaç direnci ile ilgili raporlar Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı tarafından yayımlanmaktadır. Bölgemizde sekonder ilaç direnci ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

Hastanemizde izole edilen *M. tuberculosis* complex suşlarının primer ilaçlara SM, INH, ETB ve RIF'e karşı duyarlılık testleri BACTEC-MGIT 960 yöntemi ile belirlenmiştir. Bu çalışmada proporsiyon yönteminin kullanılarak *M. tuberculosis* complex suşlarının sekonder antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılıklarının belirlenmesi, elde edilen sonuçların BACTEC-MGIT 960 yöntemi ile elde edilen primer ilaçlara karşı direncinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada *M. tuberculosis* complex suşlarının sekonder antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları agar proporsiyon yöntemiyle saptanacaktır. Çoklu ilaç direnci bulunan olgular için sekonder ilaç duyarlılığın bilinmesi tedavinin yönlendirilmesinde önemli avantaj sağlayacaktır.

Bu çalışmada laboratuvarımızda izole edilen *M. tuberculosis* complex suşlarının sekonder antitüberküloz ilaçlardan amikasin ve siprofloksasine direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tanım

TB, *M. tuberculosis* complex olarak tanımlanan bir grup mikobakteri tarafından oluşturulan, bulaşıcı ve iltihabi bir hastalıktır. Hastalığın oluşumundan genellikle *M. tuberculosis* sorumludur. TB etkenin *M. tuberculosis* olduğu Robert Koch tarafından 1882 yılında bulunmuştur. TB, solunum yoluyla bulaştığından sıklıkla akciğerlerde hastalığa neden olmakla birlikte, kemik, beyin, akciğer zarı, kalp zarı, böbrek ve daha birçok organda daha nadir olarak hastalık ortaya çıkabilmektedir. BCG aşısı ilk kez 1921 yılında yapılmıştır.

TB, 1950'li yıllarda antitüberküloz ilaçlarla tedavi edilmeye başlandı. 1970'li yıllarda hastalığın ortadan kaldırılacağı düşünülüyordu. 1985 yılından itibaren özellikle yoksul ülkelerde insidansı artmaya başlamıştır. TB, günümüzde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.

Tüm dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri TB basili ile enfektedir (13). Yılda 8 milyon yeni hasta ortaya çıkmakta ve yaklaşık 2 milyon insan TB nedeniyle ölmektedir (13).

2.2. Tüberkülozun Tarihçesi

Arkeolojik kazı bulgularına göre TB yüzyıllardır bilinen bir hastalıktır. TB, geçmişte çiçek, veba, kolera gibi hastalıklarla birlikte birçok salgınlara neden olmuştur. Günümüzde AIDS, TB sıklığında artışlara neden olmaktadır (14).

M.Ö. 8000 yıllarında sığırların evcilleştirilmesiyle insanların mikobakteriler ile karşılaştığı düşünülmektedir. Almanya'da M.Ö. 8000 ait tarih öncesi insana ait iskelet kalıntılarının hastalık izi taşıdığı görülmüştür. Eski Mısır uygarlığına ait iskeletlerde ve İnkâ dönemi insanların pott hastalığına bağlı kesin bulgular saptanmıştır (15).

M.S. 700 civarında yaşayan, sekiz yaşındaki, İnkâ erkek çocuğu mumyasında TB kanıtı bulunmuştur. Hipokrat (M.Ö. 460-377) hastalık için erime, tükenme anlamına gelen “phtisis” deyimini kullanmıştır. M.S. 2. yüzyılda yaşayan Galen, istirahat, öksürüğün kesilmesi, göğüs yakıları, venden kan alımı, sülük uygulaması, kusturucular, müshiller, kabartıcı maddelerle ciltte yaralar oluşturmak gibi tedavi önerilerini ortaya koymuştur.

TB hastalığının doğru patolojik ve anatomik tanımlaması ise ilk kez 17.yy’da ortaya çıkmıştır. Anatomi profesörü olan “*Francius Sylvius de la Boe*” (1614-1672), hastaların akciğer ve diğer organlarındaki karakteristik değişiklikleri tanımlayan ilk kişidir. 1679’da yayımlanan “*Opera Medica*” adlı kitabında lezyonların tüberküllerden ülserlere ve kavitelere gelişimini tanımlamıştır (16).

Sanayi devrimi ile birlikte kötü yaşam koşulları TB salgınının genişlemesine neden olmuştur. Robert Koch 1882’de TB etkeninin *M. tuberculosis* olduğunu göstermiştir. Patates ve agardan oluşan katı besiyeri kullanarak saf kültür elde etmede yeni metotlar bulmuştur. TB basilini kültürde üretmiş ve basil ile deney hayvanlarında TB oluşturmuştur. TB basili ile ilgili çalışmaları ve “*Koch fenomeni*” olarak bilinen immün reaksiyonu tanımlaması ile Robert Koch 1905’de Nobel Ödülü almıştır.

TB tedavisi için 1854 yılında Almanya’da sanatoryumlar açılmaya başlanmıştır. Avrupa’da ve ABD’de yaygınlaşan sanatoryumlarda, hastalar temiz hava, iyi beslenme ve bol güneş ile tedavi edilmeye çalışılmıştır. Hastalara önceleri açık havada eksersiz ve ormanda yürüyüş önerilmiştir. Eksersizlere ve yürüyüşlere katılmayanlarda daha iyi netice alınmasıyla hastalara istirahat uygulanmıştır. 1895 yılında X ışınlarının bulunması TB açısından önemli bir gelişmedir.

F. Seibert 1932 yılında old tüberkülini amonyum sülfatla çöktürerek saflaştırılmış protein türevi (PPD) elde etmiştir. PPD ile TB enfeksiyonu varlığı saptanmaya başlanmıştır. TB aşısı Bacillus Calmette-Guerin (BCG), Calmette ve Guerin tarafından 1921 yılında Fransa’da geliştirilmiştir.

Rus asıllı Selman Abraham Waksman (1888-1973) ve öğrencisi Albert Shatz (1920-2005) 1943’te ABD’de ve *Streptomyces griseus*’tan streptomisini buldu. Böylece 1944 yılında tedaviye antibiyotik girmiş oldu. 1948 yılında İsveç’te *para-aminosalisilikasit* (PAS) tedavide kullanılmaya başlanmıştır. 1952 yılında INH, 1954 yılında PZA, 1962 yılında EMB ve 1966 yılında RIF bulunmuştur.

Yetmişli yıllarda TB’un kontrol altına alındığı ve eradikasyonunun yakında gerçekleşeceği düşünülüyordu. Fakat 1985 yılından itibaren TB insidansında artış

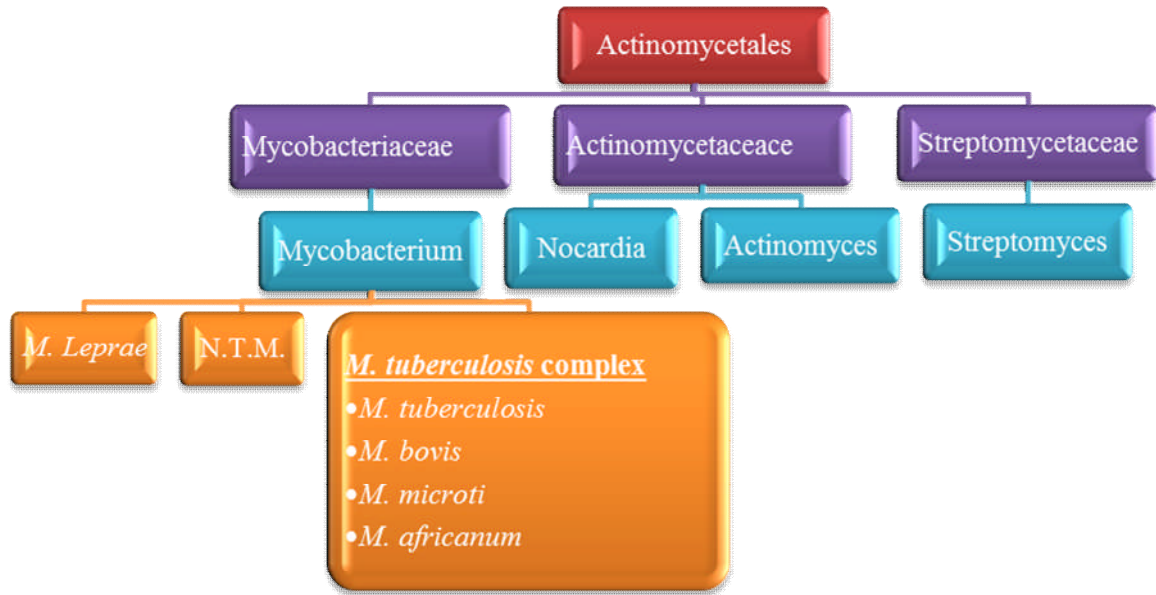
görülmüştür. Günümüzde TB tedavi edilebilir olmasına karşın halen ciddi bir halk sağlığı olarak etkisini sürdürmektedir. 1990 yılından sonra Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (DGTS) tüm dünyada artmaya başlamıştır. 1993 yılında DSÖ, TB için acil durum ilan etmiştir.

19. yüzyılın ortalarında Osmanlı İmparatorluğu'nda TB görülmeye başlanmış, Birinci Dünya Savaşı'nın getirdiği yoksulluk ve kötü yaşam koşullarıyla Anadolu'ya yayılmıştır. 1940'lı yıllarda TB en sık ölüm nedeni olmuştur. Ülkemizde TB ile etkin mücadele 1950'li yıllarda başlamıştır. İki 1953'te olmak üzere 1980'e dek 9 kez kitlesel aşılama kampanyası yapılmıştır. 1960 yılında Verem Savaş Dispanserleri (VSD) kurulmuştur. Bu çalışmalar sayesinde 1965'de yüz binde 172 olan TB insidansı 1975 yılında yüz binde 50'ye düşmüştür. Ülkemizde 2006 yılından itibaren DGTS uygulanmaktadır. Ülkemizde 2008 yılı TB insidansı yüz binde 30 dur. 2008 nokta prevalansı yüz binde 22 dir (4).

2.3. Tüberküloz Bakterilerinin Özellikleri

Mycobacterium cinsi bakteriler genel olarak yavaş ürerler ve aside dirençlidirler (17). Günümüzde insanlarda görülen TB'un esas nedeni, *M. tuberculosis*'dir. *M. bovis* ve *M. africanum*'un etken olduğu olgu sayısı çok azdır (17). *M. microti* ise kemiriciler için patojen olup insanlarda hastalık yapmaz. Bakteriyolojik özellikleri ve DNA benzerlikleri nedeniyle birbirleriyle yakın ilişkili türler "complex" başlığı altında toplanmaktadırlar. "*M. tuberculosis complex*" *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti*, *M. africanum* ve *M. bovis BCG*'yi içermektedir (18).

M. tuberculosis, *M. bovis* ve *M. africanum* bazı ayrımları ile birlikte genellikle birbirlerine benzerler. TB etkeni *M. tuberculosis* 0,2–0,6 µm kalınlığında, 1-4 µm uzunluğunda hafif kıvrık veya düzgün çomak bazen dallanmış yapıda bakterilerdir.



Şekil 1. Mikobakterilerin Taksonomik Sınıflaması

M. tuberculosis'in üreme zamanı oldukça yavaştır. İkiye bölünme zamanları 12-18 saat arasında değişir. Katı besiyerlerinde kolaylıkla görülebilecek koloni oluşturması için 2-3 hafta geçmesi gerekir. İnsanlarda hastalık oluşturan *M. tuberculosis* ve *M. bovis* dışındaki mikobakterilere (lepra hariç) atipik mikobakteri veya tüberküloz dışı mikobakteri (MOTT/Mycobacteria other than tuberculosis) denmektedir (19).

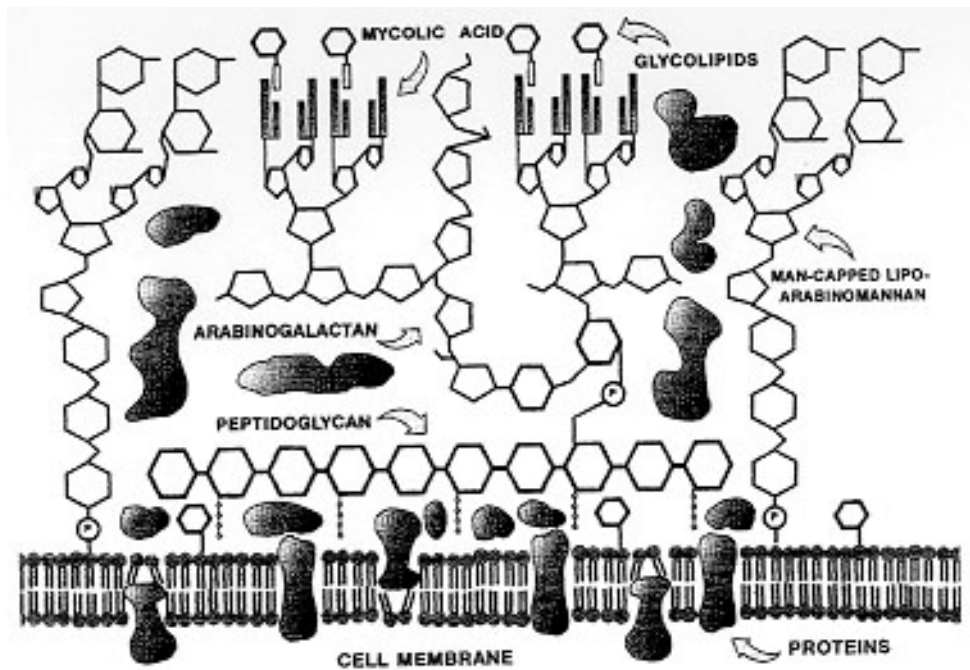
Atipik mikobakteriler doğada, toprakta, suda bolca bulunurlar, insandan insana geçişi çok enderdir ve çoğu patojen değildir. Bu grubun üyeleri ender olarak hastalık oluşturur ve antitüberküloz ilaçların çoğuna dirençlidirler. İmmün sistemi zayıflamış konakta ciddi infeksiyonlara neden olabilirler.

TB basilleri gram boyama ile boyanmazlar (20). En iyi boyandıkları boyama yöntemleri asidorezistan boyama yöntemleridir. Bunlar arasında en çok kullanılan Ehrlich-Ziehl-Neelsen yöntemidir. Bu boyama ile bakteriler mavi zemin içerisinde kırmızı olarak görülür.

TB bakterileri aerop, asido rezistans karakterde, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüzdür. Ortamda % 5-10 CO₂ in bulunması üremeyi hızlandırır. Optimal üreme derecesi 37°C'dir (21). Basit karbon kaynaklarının oksidasyonu ile enerji sağlayabilirler. Üreme ortamında karbon kaynağı olarak gliserin, glikoz, sitratlar ve azot kaynağı olarak aminoasitler, asparajin ve amonyum tuzları yeterlidir. *M. bovis* ilk izolasyonlarında gliserinli ortamda zayıf üreme gösterir. Zamanla uyum sağlar.

M. tuberculosis kalın ve etkileyici bir hücre duvarına sahiptir. Bakteri yüksek oranda lipid ve balmumu içeren hücre duvarına sahiptir. Hücre duvarı iskeletini peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asit oluşturur (22).

Plazma zarı üzerinde bulunan peptidoglikan tabakası, bakteriye şekil ve dayanıklılık verir. Bu tabakanın üzerinde arabinogalaktan tabakası bulunur. Polisakkarid olan bu tabaka arabinoz ve galaktozdan oluşur. Arabinogalaktanın zincirlerindeki uç arabinoz birimlerine mikolik asitler bağlanmıştır. Mikolik asitler hücre duvar kalınlığından ve aside dirençli olmasından sorumludur (22). Mikolik asitler trehalose gibi şekerlere bağlandığında “kord faktörü” oluştururlar.



Şekil 2. *M. tuberculosis* hücre duvarı. Fenton ve Vermeulen (1996) tarafından önerilen yapıdan uyarlanmıştır.

2.4. Epidemiyoloji

TB küresel ve ulusal olarak öncelikli bir halk sağlığı sorunudur(20). TB 1970’li yıllarda kontrol altına alındığı, artık ayakta tedavi edilebilir bir hastalık olduğu ve kısa bir süre sonra ortadan kalkacağı zannediliyordu. Gelişmiş olan ülkelerde hastalığın görülme sıklığı azalmış ve antibiyotiklerin kullanılmasıyla ölüm oranı oldukça düşmüştü. Ancak sosyoekonomik bozukluklar, Afrika’da AIDS’in artması, uygulanan TB kontrol

programlarında gevşeme, hastalık için bütçeden daha az para ayrılması, araştırmaların durdurulması gibi etkilerle hastalığın insidansında artışlar görülmüştür. Ayrıca uluslararası yolculukların kolaylaşması ile hastalık yalnızca yoksul bölgelerde kalmamış gelişmiş ülkelerde de sorun olmaya başlamıştır. TB hastalığı 1985 yılından sonra üç epidemik yayılım göstermiştir (23).

TB epidemiyolojisi, toplumdaki enfekte hasta nüfusun oranını belirler ve enfeksiyon havuzunun küçültülüp, yok edilebilmesi, tedavinin etkinliği ve halen yürürlükte olan TB savaş programlarını değerlendirme olanağı sağlar(24).

Bir toplumdaki TB sorununun boyutlarını kavramak, zaman içindeki seyrini izlemek ve alınan kontrol önlemlerinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla değişik epidemiyolojik ölçütler kullanılmaktadır.

Tüberküloz enfeksiyon prevalansı: Enfeksiyon prevalansı sonuçta toplumdaki basille karşılaşmış olguların oranını gösterir. Ülkemizde enfeksiyon prevalansı 1959 yılında % 56, 1982'de % 25'dir. Dünyada ise 1990 yılında enfeksiyon prevalansının % 32,8 olduğu bildirilmiştir (24).

Tüberküloz enfeksiyon riski: Belirli bir yaş grubunda TB'la enfekte olmamış kişilerin (BCG'siz ve PPD negatif), bir yıl içinde enfekte olma olasılığıdır (24).

$$YİR = 1 - (1-p)^{1/a}$$

p: Enfeksiyon prevalansı
a: incelenen grubun yaş ortalaması

Sağlık Bakanlığı'nın 1985 yılında yaptığı çalışmaya göre 0-3 yaş grubu için TB enfeksiyon riski 0.683 olarak bulunmuştur (24).

Tüberküloz prevalansı: Belirli bir toplumda araştırmanın yapıldığı anda, 100,000 kişilik nüfus başına düşen TB hasta sayısını gösterir. 1982 yılında Türkiye'de TB prevalansı binde 3,58 bulunmuştur (24).

$$\text{Tüberküloz Prevalansı} = \frac{\text{Tüm tüberküloz hastalarının sayısı}}{\text{Toplam nüfus}} \times 100000$$

Tüberküloz insidansı: Belirli bir toplumda bir yıl içinde 100,000 kişilik nüfus başına saptanan yeni TB hasta sayısını gösterir.

$$\text{Tüberküloz insidansı} = \frac{\text{Yıl içindeki yeni olgu sayısı}}{\text{Yıl ortası nüfus}} \times 100000$$

Tablo1. Ülkemizde ve DSÖ Avrupa Bölgesi'nde İnsidans Hızları 2002-2008
(DSÖ Verileri)

Yıllar	Türkiye İnsidans (1/100000)	DSÖ Avrupa Bölgesi İnsidans (1/100000)
2002	40	54
2003	37	53
2004	35	52
2005	33	52
2006	32	51
2007	31	50
2008	30	48

Enfeksiyon riskinde yıllık değişim hızı (İRYDH):Zaman içindeki değişimi verir
(24).

$$\text{İRYDH} = 1 - \frac{\text{YİR}^{t_2 - t_1}}{\text{YİR}^{t_1}}$$

t1: çalışmanın yapıldığı ilk yıl
t2: çalışmanın yapıldığı son yıl

Bulaştırıcılık parametresi: Bir enfeksiyon kaynağının 1 yıl içinde kaç kişiyi enfekte ettiğini gösterir.

$$\text{Bulaştırıcılık parametresi} = \frac{\text{Yıllık Enfeksiyon Hızı}}{\text{Enfeksiyon Kaynakları}}$$

Tüberküloz mortalitesi: Bir toplumda 1 yılda TB nedeniyle ölenlerin oranıdır
(24).

$$\text{Tüberküloz Mortalitesi} = \frac{\text{Tüberkülozdan yıl içinde ölenlerin sayısı}}{\text{Yıl ortası nüfus}} \times 100000$$

Tablo 2. Ülkemizde tüberküloz mortalitesi (24)

Yıllar	Mortalite (1/100000)
1945	262
1950	204
1960	55
1970	20
1980	8.8
1984	7.1
1986	5.4
1995	2.3

2.5. Tüberküloz Bulaşıcılığı

M. tuberculosis hava yolu ile yayılan küçük parçacıklar ile bulaşır (25). Ender olarak diğer geçiş yolları da bildirilmiştir.

Öksürük, hapşırma ve konuşma gibi derin solunum hareketleri ile basil yüklü damlacıklar; çevre havasına dağılır ve buharlaşarak daha küçük partiküller haline geçer. Bir öksürük 3000 damlacık çekirdeği oluşabilir. Damlacık çekirdeklerin sağlam kişiler tarafından solunum yoluyla alınması ile hastalık bulaşır. TB'un yiyecek ve içecekler ile bulaşması nadirdir (26).

TB bulaşıcılığını etkileyen faktörler:

1. Kaynak olgunun özellikleri

- Aside dirençli basil pozitif balgam çıkarma miktarı
- Aerosol oluşturma potansiyeli (öksürük, aksırık, konuşma vb.)
- TB'un klinik formu
- TB tedavisi alıp almadığı

2. Çevresel faktörler

- Havalandırma, ultraviyole, güneş ışığı

3. Karşılaşma süresi ve basil yoğunluğu

4. Mikroorganizmanın özellikleri

5. Hedef kişinin özellikleri

- Geçirilmiş TB öyküsü

- Riski arttıran faktörlerin varlığı (HIV pozitifliği, silikozis, kortikosteroid kullanımı, Diabetes mellitus vs.).
- BCG aşısının olup olmadığı (27)

Hasta doktor, diş hekimi, hasta bakıcı ve öğretmenler bulaştırıcılık açısından tehlikelidir (28).

2.6. Tüberküloz Olgu Tanımları

2.6.1. Hastalığın Yeri

Hastalığın yeri tanımından, hastanın, akciğer mi yoksa akciğer dışı organ TB'ü mu olduğu anlaşılır (29).

Akciğer TB: Tüm TB olgularının % 80'ini akciğer TB'ü oluşturmaktadır. Akciğer parankiminde veya trakea-bronş yolunda bir tutulum olması olarak tanımlanır. Bulaştırıcılık nedeniyle de halk sağlığı açısından en önemlisidir. Larinks TB'ü, akciğer TB'ü içinde sayılmaktadır. Milier TB için hem akciğer, hem de akciğer dışı TB olarak kabul edilmektedir (30).

Akciğer dışı organ TB: Akciğer TB'ü olarak tanımlananlar dışındaki organlarda tutulum olmasıdır. Plevra, lenf bezleri, menenjit dışı merkezi sinir sistemi, intratorasik lenfadenit, genitoüriner, ekstratorasik lenfadenit, gastrointestinal, periton, vertebra, milier, vertebra dışı kemik/eklem, menenjit akciğer dışı TB olarak gruplandırılmaktadır (30).

Hastalığın yeri tedavi rejimini değiştirmez (29). Hastalığın yerinin bildirilmesinin epidemiyoloji ile kayıt ve raporlama açısından önemi vardır (29).

2.6.2. Bakteriyolojik Özellikler

TB için bakteriyolojik yöntemler her türlü gelişmişlik düzeyindeki ülkelerde vazgeçilmez ve en güvenilir yöntemlerdir. Bakteriyolojik yöntemler kolay uygulanır ve doğru sonuç verirler.

Yayma Pozitif Akciğer Tüberkülozu: Bu amaçla en az üç kez balgam muayenesi yaptırmak gerekir. Yayma pozitif akciğer TB üç şekilde tanımlanır (29);

- İki ya da daha fazla balgam yayması ARB için pozitif olan hasta.

- Bir balgam yayması (+) olup TB ile uyumlu radyolojik bulgusu olan ve klinisyenin klinik olarak aktif akciğer TB düşündüğü ve tam süre küratif antitüberküloz ilaçlarla tedavi etme kararı aldığı hasta.
- Bir balgam yayması ARB açısından pozitif olan ve kültürde *M.tuberculosis* üreyen hasta.

TB kontrol programlarının amacı, toplumdaki yayma pozitif vakaların en az % 70'ini saptamak, bu vakaların en az % 85'ini etkili şekilde tedavi etmektir (19).

Yayma Negatif Akciğer Tüberkülozu: Dört şekilde tanımlanır;

- En az 3 balgam yayması negatif olması
- Aktif akciğer TB ile uyumlu radyolojik bulguları olması,
- Akciğer TB ile uyumlu radyolojik bulguların olması ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine yanıtın alınamaması,
- Klinisyen tarafından tam doz antitüberküloz ilaç başlanması kararı verilen hasta.

2.6.3. Hastalığın Ciddiyeti

Hastalığın yaygınlığı, basil yükü ve seçtiği organa göre ciddiyetini belirlemek olasıdır.

Menenjit TB, Miliyer TB, Perikard TB, Periton TB, Omurga TB, Barsak TB, Genito-üriner TB, Bilateral ve fazla miktarda sıvısı olan plevra TB ciddi olarak değerlendirilir.

Lenf bezi TB, Plevra TB (tek taraflı), Kemik TB (omurga hariç), Eklem TB, Cilt TB ise daha az ciddi olarak değerlendirilir (29).

2.6.4. Daha Önceki Tüberküloz Tedavisi Öyküsü

Hastaların daha önce TB tedavisi görüp görmedikleri konusunda ayrıntılı bilgi alınması gerekir. Kullandığı ilaçlar ve bu ilaçları ne kadar kullandıkları öğrenilmelidir. Daha önce TB tedavisi görmüş olup yeniden yayma pozitif olanlarda sekonder (edinsel) direnç oranları yüksektir. Tedavi yeniden düzenlenirken bu durum göz önünde bulundurulmalıdır. Olgu tanımının yapılmasının üç temel nedeni vardır:

- Hasta kayıtlarının düzgün yapılabilmesi

- Hasta bildiriminin düzgün yapılabilmesi
- Hastanın standardize edilmiş hangi tedavi kategorisine uygun olduğunun belirlenmesi.

Yeni olgu: Daha önce hiç TB tedavisi olmamış, ya da çok kısa bir süre (dört haftadan kısa) tedavi görmüş hastalara denir (31).

Nüks: TB tanısı konularak bir hekim gözetiminde, bir tam süre TB tedavisi gördükten ve bir hekim tarafından iyileşmiş olduğu belirlendikten sonra, yaşamının herhangi bir döneminde tekrar yayma pozitif TB olan hastalara denir (29).

Ara verdikten sonra tedaviye dönen: TB tedavisi altında iken tedaviye iki ay ya da daha uzun bir süre ara verip tekrar yayma pozitif olan hastalardır (29-31).

Tedavi başarısızlığından dönen olgu: Önceki tedavisi başarısız olduğu için yeniden tedavi rejimi başlanan hasta (31).

Nakil gelen olgu: Başka bir dispanserde kayda alınıp tedavisi başladıktan sonra, kayıtları ile birlikte devir alınan hastadır (31).

Kronik olgu: Nüks, tedaviyi terk ya da tedavi başarısızlığı nedeniyle uygulanan yeniden tedavi rejiminin sonunda hala balgamında basil pozitif olan hastalardır (31).

Tedavi sonuçları ile ilgili tanımlamalar:

Kür: Başlangıçta balgam yayması pozitif hastada, birisi tedavinin son ayında ve diğeri daha öncesinde olmak üzere en az iki balgamda yaymanın (-) olmasıdır (31).

Tedaviyi tamamlama: Başlangıçta yayma pozitif ya da negatif olsun, TB tedavisini tamamlayan ancak kür veya tedavi başarısızlığı tanımlarına uymayan hasta (31).

Tedaviyi terk: Tedavisine iki ay ya da daha uzun süre ara veren hasta (31).

Tedavi başarısızlığı: TB tedavisi almakta iken, tedavinin beşinci ayında halen yayma pozitif olan ya da tekrar pozitifleşen olgulara denir. Tedavi başlamadan önce yayma negatif olduğu halde tedaviye başladıktan iki ay sonra yayma pozitif olan olgular tedavi başarısız kabul edilir (31-32).

Ölüm: Tedavi sırasında bir TB hastasının ölmesidir. Hasta, TB'dan ya da TB dışı bir nedenle ölmüş olabilir.

Nakil giden: Hastanın başka bir dispanser bölgesine gitmesi nedeniyle tedavi sonuçlarının bilinmemesi durumudur.

Bakteriyoloji ile ilgili ifadeler:

Mikroskopik İnceleme: Mikroskop ile TB basillerinin saptanması, TB hastalığının tanısının konmasını sağlar. Basit, hızlı ve ucuz bir yöntem olup ayrıca hastaların

izlenmesinde kullanılır (19). TB basili kültürde çok geç üretildiğinden mikroskop ile saptanması büyük önem taşır (32). Hastanın balgamının ya da başka incelenecek örneğinin bir lama yayılarak mikroskopi ile değerlendirilmesi yapılır. Pozitif sonuç basilin gösterilmesi, negatif sonuç ise gösterilememesidir.

Aside dirençli basil (ARB): Bu bakteriyolojik test TB tanısını sağlar. Yayma (+) hastalar önemli bir enfeksiyon kaynağı olduğu için bunların belirlenmesi toplum sağlığı açısından önemlidir. TB mikrobu, ısıtılarak özel boya ile boyandığında, asit ile bu boyayı vermediğinden, mikroskopta farklı renkte görülür. Buna ARB denilir.

Kültür: Yaymadan daha duyarlı olup TB'un kesin tanısı sağlanır. TB basili üremesi için besiyerine ekilir. Besiyerinde üreme var ise kültür pozitif, üreme olmazsa kültür negatif denilir.

İlaça Dirençli Olgu: En az bir antitüberküloz ilaca karşı dirençli olgudur.

İlaç duyarlılık testi (İDT): Kültürde üretilen basil ilaçsız ve ilaçlı besiyerlerine aynı anda ekilir. İlaçlı tüpte, kontrol tüpünün yüzde birinden fazla basil üremesi olursa, basil o ilaca dirençlidir. İlaçsız besiyerinde üreme olurken, ilaçlı besiyerinde üreme olmaz ise basil o ilaca duyarlıdır (33).

Yeni olguda ilaç direnci: Hiç TB tedavisi almamış ya da bir aydan daha kısa süre tedavi almış hastada saptanan ilaç direncidir. Bulaşma ile alınmıştır (11).

Tedavi görmüş olguda ilaç direnci: Bir aydan daha uzun süre tedavi görmüş TB hastasındaki ilaç direncidir (11).

Çok ilaca dirençli TB (ÇİD-TB): INH ve RIF'e direnç için kullanılır (11). INH ve RIF, TB tedavisinde kullanılan temel ilaçlardır.

Yaygın ilaç dirençli tüberküloz (YİD-TB) :INH + RIF direncine (ÇİD) ilave olarak herhangi bir fluorokinolon ve 2. sıra parenteral ilaçlardan en az birine (amikasin, kanamisin, kapreomisin) direnç olması durumudur (33).

2.7. TB Tanı Yöntemleri

2.7.1. Öykü (Anamnez)

Akciğerle ilgili bulgular: Üç hafta süren öksürük TB'ü düşündürmelidir. Öksürük, genellikle balgamla birlikte görülür; bazen kanlı olabilir. Plevra tutulumunda solunumla

değişen göğüs ağrısı, sırt ağrısı, yan ağrısı görülür. Nefes darlığı ve ses kısıklığı görülebilir.

Genel bulgular: Halsizlik, çabuk yorulma, iştahsızlık, kilo kaybı, çocuklarda kilo almada duraklama, ateş, gece terlemesi gibi bulgular görülür. Diğer organ tüberkülozlarında bulgular, tutulan organa göre değişir. Böbrek tüberkülozunda idrarda kan, omurga tüberkülozunda sırt ağrısı olabilir (32).

2.7.2. Fizik Muayene

Akciğer TB'unda belirgin bir klinik belirti ve bulgu olmayabilir. Hafif ateş ve halsizlik gözlenebilir. Hastalık ilerledikçe ateş belirginleşebilir. Ateşin düşmesi ile gece terlemeleri görülür. Halsizlik, baş ağrısı, kilo kaybı, iştahsızlık ve öksürük olabilir. Hemoptizi ile birlikte balgam görülebilir. Uzun sürmüş hastalıkta çomak parmak olabilir. İlerlemiş hastalıkta genel durumu bozuk, kaşektik, nefes darlığı olan bir hasta görülebilir.

TB tedavisini etkileyebilecek sağlık sorunlarını saptamada ve hastanın genel durumunu değerlendirmede de fizik muayene yapılmalıdır (32).

2.7.3. Radyoloji

Akciğer radyolojisinde, TB'u düşündüren görüntüler birçok hastalıkla benzer olabileceği için radyoloji ile TB'un kesin tanısı konulamaz (34). Akciğer radyolojisi ile TB'un gelişimi ve lezyonların lokalizasyonunda yararlıdır. Elde edilen görüntünün doğru yorumlanması da çok önemlidir.

2.7.4. Bakteriyolojik Tanı

TB bir enfeksiyon hastalığıdır ve kesin tanısı da bakteriyolojik olarak konulur (32).

Direkt Mikroskopik İnceleme: DSÖ'nün benimsediği DGTS'ne göre hastaların takip edildiği yöntemdir. Doğrudan mikroskopi ile enfeksiyöz akciğer TB olguların tanılarının konulması, tedavinin izlenmesi ve iyileşmenin kayıt edilmesi de amaçlanmaktadır.

Basit hızlı ve ucuz olmakla birlikte duyarlılığı, balgamdaki basil miktarı ve uygulayan kişinin tecrübesi gibi faktörlerden etkilenir. Ülkemizde de en yaygın kullanılan

ARB yöntemi EZN'dir. Soğuk boyama olarak da bilinen Kinyoun ve floresans yöntemine dayalı Auramin Rodamin (AR) yöntemleri de kullanılmaktadır (17).

Lam üzerinde geniş bir alana yayılmış yaymalar, birim alana düşen basil sayısının azalması ve mikroskopik tarama alanının artmasına neden olur. Dolayısıyla yalancı negatif sonuçlara ya da derecelendirme hataları oluşabilir (19).

Florokrom yönteminde lam 250x veya 450x büyütme ile incelenmekte, ENZ ve Kinyoun boyama ile ise 1000x büyütme ile inceleme yapılmakta olduğundan florokrom yönteminde EZN ve kinyoun boyamaya göre daha geniş bir alan daha kısa zamanda incelenebilmektedir. Florokrom yönteminin dezavantajı zaman içinde floresans azalması olduğundan örnekler 24 saat içinde incelenmelidir. Bu metot çok fazla örnek kabul eden laboratuvarlara önerilmekte ancak gelişmekte olan ülkelerde maliyetinin fazla olmasından dolayı fazla uygulanamamaktadır.

Tablo 3. EZN boyama yöntemi için derecelendirme kriterleri.

DERECELENDİRME KRİTERLERİ	RAPOR
≥10 ARB/100 alan	(+++)
1-10 ARB/100 alan	(++)
10-99 ARB/100 alan	(+)
1-9 ARB/100 alan	(...ARB/100 alan yeni bir örnek ile tekrar)
ARB/100 alan	Negatif

Kültüre Dayalı Yöntemler: Mikobakterilerin ikiye bölünmesi için geçen süre 12-18 saat olduğundan kültür yöntemleri geç sonuç verir. Yayımadan daha duyarlıdır ve bakterilerin canlılıklarının doğrudan gösterilebildiği için TB'un kesin tasını sağlar. Kültür aynı zamanda izolasyon ve identifikasyon için gereklidir. Kültüre dayalı yöntemler, ilaç duyarlılık testlerinin yapılarak hastaların doğru tedavi edilebilmesine imkân sağlar. Çoğaltılan izolatlar daha sonraki araştırmacılar için saklanabilir ve epidemiyolojik verilerin elde edilebilmesine olanak sağlar. Bunun için kültüre dayalı yöntemler TB tanısında halen altın standart olmaya devam etmektedir.

Mikobakteri kültür yöntemlerini klasik katı besiyerleri ve hızlı kültür sistemleri olarak ikiye ayırmak mümkündür.

Klasik katı besiyerleri: Katı besiyerlerinde kültürün negatif olduğunu söyleyebilmek için 6-8 hafta beklemek gerekir. Dolayısıyla uzun ve zahmetlidir. Kültürde

yalnızca basilin varlığı değil identifikasyon ve ilaç direnci de test edilebilir. Katı besiyerleri yumurta ve agar bazlı besiyerleri olmak üzere ikiye ayrılır:

a)Yumurta bazlı besiyerleri: Löwenstein-Jensen (LJ), Petragnani, American Trudeau Society (ATS)'dir. En yaygın kullanılanı LJ besiyeridir. Kolonilerin görünür hale gelişi 18-24 günü bulmaktadır. Ucuz ve güvenilir yöntemlerdir.

b)Agar bazlı besiyerleri: Middlebrook 7H10 ve 7H11 agar en çok tercih edilenleridir. Besiyerleri şeffaf olduğundan ekim yapıldıktan 10-12 gün sonra mikrokoloniler görülebilir. Ancak pahalı ve raf ömrü kısa besiyerleridir.

Hızlı kültür sistemleri: Bu yöntemlerin esasını sıvı besiyerleri oluşturur. 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.

a) Otomatize hızlı kültür yöntemleri:

- **MGIT 960** (Mycobacterium Growth Indicator 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.Ş., İstanbul): TK Medium, TK SLC (selektif), TK PNB, TK İNH-RİF-STR-EM, MYCOLOR TK.

b)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.

c) Manuel hızlı kültür sistemleri:

- **MB Redoks** (Biotest Diagnostics Corp., NJ, ABD) : Modifiye Kirchner besiyeri içerir.

- **SeptiChek AFB** (BD Biosciences) : Sıvı (Middlebrook 7H9) ve üç tip katı (LJ, Middlebrook 7H11, çukolatamsı agar) besiyerini birlikte içeren bifazik bir sistemdir.
- **MGIT**: Modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren ve cihazsız olarak mikobakterilerin üretilmesine dayalı bir yöntemdir. Wood lambası veya transilluminator dışında başka özel donanımına gerek yoktur. Bu besiyerlerine bazı antibiyotikler eklenerek seçici besiyerleri hazırlanabilmektedir (34).

2.8. Antimikobakteriyel Duyarlılık Test Yöntemleri

Klinik örneklerden izole edilen *M. tuberculosis* suşlarına duyarlılık testlerinin uygulaması, en etkili antitüberküloz ilacın seçilmesi ve hastanın uygulanan tedaviye verdiği cevabın değerlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. *M. tuberculosis* suşlarının antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını belirlemek amacıyla direkt ve indirekt olmak üzere iki 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 (35).

İndirekt yöntemde ise, klinik örneklerden saf kültür halinde aside dirençli bakteri izole edilir. Uygun inokulum hazırlanarak ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekim yapılır (35). Mikobakterilerin duyarlılık deneylerinde, oleik asit-albümin-dekstroz-katalaz (OADC) ile zenginleştirilmiş Middlebrook 7H10 ve 7H11 besiyerleri ile yumurta temelli L-J 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 beş yöntem tarif edilmiştir.

2.8.1. Orantı (Proporsiyon) Yöntemi

Canetti, Rist ve Grosset tarafından 1963'te tanımlanmıştır. Referans suş gerektirmez. Uzun yıllar test edilmiş, metodolojik çalışmalar yapılmış ve uluslararası komitelerce onaylanmış bir yöntemdir. Mutant bakteri proporsiyonunun kantitatif olarak hesap edilmesini sağlar (36).

Bu yöntemde basiller ilaç içeren ve ilaç içermeyen agar temelli besiyerlerine ekilip üç 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.

Proporsiyon yönteminde sıklıkla Middlebrook 7H10 ve L-J besiyerleri kullanılmaktadır. Middlebrook 7H10'un kullanıldığı agar proporsiyon yöntemi NCCLS tarafından önerilirken, L-J besiyerinin kullanıldığı agar proporsiyon yöntemi ise ekonomik olması nedeniyle DSÖ tarafından önerilmektedir (37).

2.8.2. Mutlak Konsantrasyon Yöntemi

Bakterinin Minimal İnhibitor Konsantrasyon (MİK) değerini tespit etme temeline dayanır. İlaç içeren ve ilaç içermeyen kontrol besiyerlerine 2×10^3 - 2×10^4 cfu/ml bakteri içeren mikobakteri solüsyonu belirli konsantrasyonlarda ekilir. Üreme olmayan besiyerindeki ilaç konsantrasyonu o suşun MİK değeri olarak kabul edilir (35).

2.8.3. Nispi Direnç Yöntemi

Mutlak konsantrasyon yöntemi gibi çalışılır. Bu yöntemde standart H37Rv *M. tuberculosis* suşunun MİK değeri de bulunur. 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 (35).

2.8.4. Radyometrik Yöntem

BACTEC 460TB: DSÖ ve NCCLS tarafından standart olarak önerilir. Proporsiyon yöntemini temel alır. Primer antitüberküloz ilaçların duyarlılık testleri yapılabilmektedir. Günlük iş yükü fazlalığı ve radyoaktivite içeren atıkların olması dezavantajdır. Geleneksel yöntemlerle ortalama 21 günde sonuç alınırken, bu sistem ile sonuçlar 5-7 günde alınmaktadır.

Diğer radyometrik kültür sistemleri:

Floresan Kültür Sistemi (MGIT 960): Üreme oranı ve zamanı BACTEC 460TB ile aynıdır. Radyoizotop kullanılmaması avantajıdır (18).

Kolorimetrik Kültür Sistemi (MB/BacT ALERT MB): Testlerin sonuçlanma süresi BACTEC 460TB'den daha uzundur. Etambutol için duyarlılığı düşüktür (18).

Karbondioksit oluşumunu saptayan sistem (ESP II): Mikobakterilerin oluşturduğu gaz ve oluşan basıncı ölçerek üreme test edilir. Tam otomatik, radyoaktif olmayan, bilgisayar destekli bir sistemdir. Primer antitüberküloz ilaçların duyarlılığı test edilebilmektedir (18).

E-Test (AB BIODISK): Mikobakteri türünün MİK değerini ölçen bir yöntemdir. Belli konsantrasyonda ilaç içeren plastik şerit, inoküle edilmiş agar plağına yerleştirilir. Kesişim yerlerinde konsantrasyon okunur. Maliyetinin yüksekliği yaygın kullanımını engellemektedir. E-test yöntemiyle ilaç duyarlılık sonuçları 7-10 günde alınmaktadır (38-39).

2.8.5. Moleküler Yöntemler

- 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,
- DNA microarray, sayılabilir (35).

2.9. Tüberküloz Tedavisi ve Antitüberküloz İlaçlar

TB tedavisinin amacı, TB hastalığından kür sağlamak, aktif TB'den ya da TB'nin geç etkilerinden ölümü önlemek, TB nüksünü önlemek, TB'un başkalarına bulaşmasını azaltmak ve tedavi ile oluşan ilaç direncinin gelişmesini önlemektir (30).

Antitüberküloz ilaçların bakterisidal aktivite, sterilize edici aktivite ve ilaç direncini önleme olarak üç özelliği vardır. Temel antitüberküloz ilaçlarda, bu özellikler değişik derecelerde bulunur (30).

TB tedavisinde kullanılan ilaçlar genel olarak **birinci seçenek ve ikinci seçenek** olarak gruplandırılabilir (40).

Birinci seçenek ilaçlar: INH, RIF, SM, PZA ve EMB birinci seçenek antitüberküloz ilaçlardır (40). TB tedavisinde yan etki veya direnç durumu söz konusu değilse daha etkili ve yan etkileri açısından diğer antitüberküloz ilaçlara göre daha güvenilir olduklarından birinci seçenek ilaçlar kullanılır. DSÖ Standart Tüberküloz Tedavisine göre, INZ ve RIF en güçlü bakterisidal ilaçlardır. PZA sadece asit ortamda etkilidir. Bütün TB basil topluluklarına karşı etkilidir. RIF, var olan en güçlü sterilize edici ilaçtır. SM, hızla çoğalan TB basillerine karşı bakterisidaldir. EMB, dirençli basillerin ortaya çıkışını önlemek için, daha güçlü ilaçlarla birlikte kullanılır (30).

İkinci seçenek ilaç olarak geçen, PAS, etionamid, tiasetazon, sikloserin, kanamisin, kapreomisin, amikasin, ofloksasin ve siprofloksasin gibi ilaçlar direnç varlığında; ilk seçenek ilaçların ciddi yan etkileri görüldüğünde veya ortaya çıkabilecek istenmeyen durumların varlığında tedavide kullanılır. Tiasetazonun hem etkisinin az olması hem de etionamid ve protionamid ile aralarında çapraz direnç olması nedeniyle klinik kullanımı çok azdır. SM'e dirençli TB, diğer aminoglikozidlere duyarlı olabilir. Sikloserin ile terizidon ve ofloksasin ile siprofloksasin arasında çapraz direnç vardır.

Deneysel olarak bazı ilaçların (klaritromisin, azitromisin, rifabutin, rifapentin, amoksisin+klavunat) potansiyel antitüberküloz etkinliği vardır. Ancak bunların henüz rutin klinik kullanımları yoktur.

Tablo 4. ÇİD-TB hastalarında tedavide kullanılacak ilaçlar (40).

Grup 1	Birinci sıra oral antitüberkülozlar: İzoniazid, Rifampisin, Etambutol, Pirazinamid	Mümkün olanların hepsi
Grup 2	Parenteral antitüberkülozlar: Streptomisin, Kanamisin, Amikasin, Kapreomisin, Viomisin	Bir ilaç
Grup 3	Fluorokinolonlar: Siprofloksasin, Ofloksasin, Levofloksasin, Moksifloksasin, Gatifloksasin	Bir ilaç
Grup 4	Oral bakteriostatik ikinci sıra ilaçlar: Etionamid, Protionamid, Sikloserin, Terizidon, PAS, Tiasetazon	Kullanmadığı dört ilaca kadar
Grup 5	Etkinliği Şüpheli İlaçlar: Klofazimin, Amoksisilin-klavulonat, Klaritromisin, Linezolid	Kullanmadığı dört ilaca kadar

2.10. Tüberküloz İlaçlarında Direnç Sorunu

Antitüberküloz ilaçlar tek başlarına kullanıldıklarında başlangıçta klinik yanıt alınmasına rağmen, ortalama üç aylık bir süre içinde direnç ortaya çıkar. Bunun nedeni doğal mutasyonla o ilaca karşı duyarlı olan basil popülasyonunun tedavi sonrası hızla yok olmasına karşın, dirençli basillerin seleksiyona uğrayıp ortama hâkim olmalarıdır. Kullanılan ilaca göre değişmekle birlikte ortalama 10^6 basil içerisinde dirençli bir basil bulunabileceği hesaplanmaktadır. Dolayısıyla direnç gelişimi, dokudaki basil sayısının düşük olduğu olgularda daha az bir olasılıktır. Ancak primer ilaç direncinin yüksek olduğu yörelerde doğal mutasyon olasılığını aşan bir sıklıkla direnç gelişimi beklenmelidir. Bu tür olgularda basil sayısının az olacağı varsayımıyla standart tedavi yaklaşımından ödün verilmemelidir (41).

Antitüberküloz ilaçlara karşı direnç gelişimine yol açan en önemli tedavi yanlışı, tedavi başarısızlığında tedaviye tek ilaç eklenmesidir. Bu durum, tekrarlandıkça bütün antitüberküloz ilaçlara karşı direnç geliştirmiş, tedavi edilemez basiller ortaya çıkarmaktadır. Bunun dışında; yetersiz doz, sayı ve kombinasyonda ilaç kullanımı, antitüberküloz ilaçların düzenli olarak temin edilememesi; yetersiz hasta eğitimi; hastaların iyi takip edilememesi; antitüberküloz ilaçların başka endikasyonlarda reçetelenmesi ve dirençli olguların tedavisinde kullanılan alternatif TB ilaçlarının piyasada serbest satılması gibi faktörler ilaç direncinden sorumludurlar (41). TB ilaçlarına karşı gelişen başlıca direnç mekanizmaları:

INH Direnci: TB tedavisi ve profilaksisinde yaygın olarak kullanılan güçlü, ucuz, biyoyararlanımı yüksek, dar etki spektrumlu bir ilaçtır. Ancak *M. tuberculosis* bu ilaca yüksek oranda spontan direnç geliştirme özelliğine sahiptir. Etkisini mikobakteri duvarının önemli yapı taşı olan mikolik asit sentezini önleyerek yapmaktadır. Bir ön ilaç olan INH, *M. tuberculosis* tarafından alındıktan sonra mikobakteriyel katalaz-peroksidaz enzimi tarafından okside edilerek aktif ara ürünlere parçalanır. INH'nin aktif metabolitleri mikolik asit sentezinde rol alan ve *inhA* geni tarafından kodlanan bir enzim olan enoil acil carrier protein redüktazı (enoil ACP redüktaz) inhibe etmektedir. Böylece hücre duvarı sentezi için önemli olan mikolat yapımındaki yağ asidi uzaması engellenmiş olur. Bakteriyi koruyucu katalaz peroksidaz enziminin izoniazid tarafından inhibe edilmesi de diğer bir etki mekanizmasıdır (42).

RIF Direnci: TB tedavisinde yaygın olarak kullanılan bu ilaç *rpoB* geninin ürünü olan DNA'ya bağımlı RNA Polimeraz enzimine bağlanarak mRNA sentezini inhibe eder. Rifampisine direnç % 95-97 oranında *rpoB* genindeki mutasyonla meydana gelmektedir (35).

SM Direnci: SM bakteri ribozomuna bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Dirençten, % 50 oranında ribozomal protein S12'yi kodlayan *rpsL* geninde, % 20 oranında da 16S ribozomal RNA'nın bir bölgesini kodlayan *rrs* geninde meydana gelen mutasyonlar sorumludur.

EMB Direnci: EMB hücre duvarı sentezi sırasında, arabinozil transferazı inhibe ederek arabinogalaktan ve lipoarabinomannan hücre duvarına taşınmasını engeller. Arabinogalaktan mikobakteriyel hücre duvarının en önemli polisakkarididir. Dirençten, arabinozil transferaz enzimini kodlayan *embB* geninin ekspresyonundaki artış sorumludur.

PZA Direnci: Etki mekanizması tam olarak bilinmeyen pirazinamid, pirazinamidaz enzimi tarafından aktif formu olan pirazinoik aside çevrilir. Pirazinamide dirençli kökenlerin % 72-97'sinde pirazinamidaz enzimini kodlayan *pncA* geninde çeşitli tipte mutasyonların olduğu bilinmektedir (43).

Siprofloksasin: Florokinolon grubundan olup, bakterideki DNA giraza bağlanarak DNA sentezini inhibe ederler. Mikobakterilerdeki DNA giraz, *gyrA* ve *gyrB* genlerinde kodlanmaktadır. Bu gruptaki ilaçlara karşı ortaya çıkan dirençten *gyrA* geninde meydana gelen mutasyon sorumludur (43).

Amikasin: Aminoglikozid yapıda ilaçtır. Kanamisin-kapreomisin, kanamisin-viomisin, kanamisin-amikasin arasında çapraz direnç görülebilmektedir. Streptomisin de amikasin gibi aminoglikozid olmalarına rağmen kanamisin ve amikasinin streptomisin ile arasında çapraz direnç yoktur (35).

Rifabutin: Rifampisin'nin sentetik türevidir. Rifampisin-rifabutin arasında çapraz direnç bulunmaktadır ve bu direnç *rpoB* mutasyonları ile ilişkilidir (35).

Tiasetazon-etionamid: Arasında *etaA* mutasyonuna bağlı olarak değişen oranlarda (% 29 - 79) çapraz direnç mevcuttur.

2.11. Ülkemizde İlaç Direnci Durumu

Ülkemizde 2005 yılından beri Türkiye Ulusal Tüberküloz Sürveyans Araştırması verileri yayınlanmaktadır. TB direnci ile ilgili özellikle çok ilaca dirençli TB için oldukça yüksek seviyeler bildirilmektedir (31-44).

Türkiye’de 2005, 2006, 2007 ve 2008 yıllarında İlaç Direnç Tedavi sonuçları incelendiğinde ilaç direnç oranlarında önemli bir değişiklik olmadığı görülmektedir. İlaç direnç oranı yeni olgularda 2005 yılında % 3,1; 2006 yılında % 3,2; 2007 yılında % 2,9 ve 2008 yılında % 3,0 oranında görülür. ÇİD olguların 2005 yılında % 5,1; 2006 yılında % 5,1; 2007 yılında % 4,9 ve 2008 yılında % 5,3 olduğu belirtilmiştir (4-31-44-45).

Türkiye genelinde, 2005 ve 2006 yıllarında en az 3 ilaca dirençli suşların oranı yeni olgularda % 2,5-% 2,4; tedavi görmüş olgularda % 13,3-% 13,3; tüm olgularda ise % 4-% 4,1 bulunmuştur (11).

Diğer araştırmalar incelendiğinde, ülkemizde ilaç direnci oranlarının çok yüksek olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte ilaç direnci uzun yıllar devam etmektedir. İlaç direnci hem tedavi rejiminin oluşturulmasında hem de tek tek hastaların tedavilerinin planlanıp yürütülmesinde dikkate alınması gerekliliği vardır (11).

Ülkemizde ilaç direnci ile ilgili bir tarama yapılmamıştır. Var olan verilere göre her yıl 250 civarında ÇİD-TB hastası saptanmakta ve tedaviye alınmaktadır. Bağışıklığı baskılanmış hastalar için bir kayıt yoktur (46).

Tablo 5. İlaç duyarlılık testi (İDT). Çalışılan hastalarda olgu tanımına göre her bir TB ilacı için toplam direnç sonuçları*, 2005-2008(4)

	2005**		2006		2007		2008	
	Dirençli Sayı	Oran%	Dirençli Sayı	Oran %	Dirençli Sayı	Oran %	Dirençli Sayı	Oran %
Yeni Hastalar	(n=3.237)		(n=4.135)		(n=4.142)		(n=4.221)	
INH	291	9,0	444	10	492	11,9	479	11,3
RIF	144	4,4	185	4,5	202	4,9	166	3,9
EMB*	97	3,0	147	3,6	115	2,8	143	3,4
SM*	227	7,0	348	8,4	296	7,1	275	6,5
ÇİD	101	3,1	131	3,2	120	2,9	125	3,0
Tedavi görmüş hastalar	(n=508)		(n=711)		(n=775)		(n=742)	
INH	139	27,4	169	23,8	214	27,6	207	27,9
RIF	107	21,1	141	19,8	145	18,7	162	21,8
EMB*	51	10,0	94	13,2	64	8,3	71	9,6
SM*	77	15,2	121	17,0	107	13,8	96	12,9
ÇİD	90	17,7	118	16,6	120	15,5	138	18,6
Tüm hastalar	(n= 3.745)		(n=4.846)		(n=4.917)		(n=4.963)	
INH	430	11,5	613	12,6	706	14,4	686	13,8
RIF	251	6,7	326	6,7	347	7,1	328	6,6
EMB*	148	4,0	241	5,0	179	3,6	214	4,3
SM*	304	8,1	469	9,7	403	8,2	371	7,5
ÇİD	191	5,1	249	5,1	240	4,9	263	5,3

*Her bir ilaç için toplam dirençli hasta sayısı belirlenirken, diğer ilaçlara dirençli ya da duyarlı olması dikkate alınmamıştır.

** 2005 yılında EMB için 3 yeni, 1 tedavi görmüş; SM için 1 yeni, 1 tedavi görmüş hastanın İDT sonucu bulunmamaktadır. 2006 yılı için 2 yeni hastada EMB, 1 yeni 1 nüks hastada SM için İDT sonucu yoktur (4).

Tablo 6. İlaç Duyarlılık Testi (İDT) Çalışılan hastalarda olgu tanımına göre tekli ve çoklu ilaç direnci dağılımları, 2008(4)

	Yeni hasta (n=4.201**)		Tedavi görmüş (n=730**)		Tüm hastalarda (n=4.931**)	
	Sayı	Oran	Sayı	Oran	Sayı	Oran
DUYARLI	3.509	83,5	482	66,0	3.991	80,9
DİRENÇLİ	692	16,5	248	34,0	940	19,1
INH dirençli	261	6,2	47	6,4	308	6,2
RIF dirençli	27	0,6	20	2,7	47	1,0
SM dirençli	137	3,3	19	2,6	156	3,2
EMB dirençli	39	0,9	7	1,0	46	0,9
TOPLAM TEK İLAÇ	464	11,0	93	12,7	557	11,3
INH+RIF dirençli	47	1,1	59	8,1	106	2,1
INH+SM dirençli	53	1,3	11	1,5	64	1,3
INH+EMB dirençli	24	0,6	6	0,8	30	0,6
RIF+SM dirençli	4	0,1	2	0,3	6	0,1
RIF+EMB dirençli	7	0,2	1	0,1	8	0,2
EMB+SM dirençli	4	0,1	0		4	0,1
TOPLAM İKİ İLAÇ	139	3,4	79	10,8	218	4,4
INH+RIF+SM dirençli	20	0,5	24	3,4	44	0,9
INH+RIF+EM dirençli	16	0,4	14	1,9	30	0,6
INH+SM+EMB dirençli	13	0,3	4	0,5	17	0,3
RIF+SM+EMB dirençli	2	0,05	0	-	2	0,1
TOPLAM ÜÇ İLAÇ	51	1,2	42	5,8	93	1,9
INH+RIF+SM+ EMB dirençli	38	0,9	34	4,7	72	1,5

Dört ilaç için de duyarlılık testi yapılmış olup, hastaların dirençli olduğu ilaç ya da ilaçlar dışında kalan diğer ilaçlara duyarlı olduğu gösterilmiştir.

** Dört ilaç için de duyarlılık testi yapılan hasta sayısı. Yeni hastalarda 20, daha önce tedavi görmüşlerde 12, toplamda 32 hastada dört ilaç direncine birden bakılamaması sebebiyle toplamlar tablo 36'dan farklıdır.

2.12. Dünyada Tüberküloz İlaç Direnci

Günümüzde DSÖ, TB ile ilgili olarak yıllık raporlar hazırlanmaktadır. DSÖ TB konusunda rehberler hazırlamış, tedaviler için teknik ve ekonomik destek sağlamış, ilaç temini sistemi kurmuştur. Ayrıca dünya genelinde birçok ülkeyi kapsayan dört ayrı direnç sürveyansı çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalarda laboratuvar kurmuş ve bunlar bir kalite kontrol sistemi yürütmeye başlamışlardır. Kalite kontrolünde bir suşun belli bir ilaca dirençli olduğu kararı, laboratuvarların çoğunluğunun görüşü ile belirlenmektedir.

1997, 2000, 2004 ve 2008 yıllarında dünyada ilaç direncini gösteren dört rapor yayımlanmıştır (9). 1997'de 35; 2000'de 58; 2004'te 77 ve 2008'de 93 ülke ya da bölgede yapılmış ilaç direnç testi sonuçları yer almaktadır. 2008 raporunda 81 ülkeden 93 bölgedeki 91.577 hastanın İDT sorunu vardır. 1994-2007 dönemini kapsayan dört rapor, 116 ülkeden 138 bölgede yapılmıştır. Dünya nüfusunun % 48'ini, TB olgularının % 46'sını, tedavi görmüş TB hastalarının % 39'unu ve ülkelerin % 55'ini temsil etmektedir(8).

Tablo 7. Küresel ilaç direnci surveyansında 1994-2007 arasında çalışma yapılan ülkelerde INH, RIF, SM, EMB, ilaçları için ağırlıklı ortalama ilaç direnci (8).

	Yeni Olgu	Tedavi görmüş olgu	Tüm olgular
Ülkeler	105	94	114
Yerler	127	109	138
INH direnci	10,3 (8,4-12,1)	27,7 (18,7-36,7)	13,3 (10,9-15,9)
RIF direnci	3,7 (2,8-4,5)	17,5 (11,1-23,9)	6,3 (4,7-7,8)
SM direnci	10,9 (8,0-13,7)	20,1 (12,2-28,8)	12,6 (9,3-16,0)
EMB direnci	2,5 (1,7-3,2)	10,3 (5,0-15,6)	3,9 (2,6-5,2)
Herhangi bir ilaca direnç	17,0 (13,6)	35,0 (24,1-45,8)	3,9 (16,1-23,9)
ÇİD	2,9 (2,2-3,6)	15,3 (9,6-21,0)	5,3 (3,9-6,6)

2008 DSÖ raporuna göre tahmini ÇİD-TB vaka sayısı 500.000, saptanan ÇİD-TB 23.353'tür. Bunun yarısından fazlası Avrupa'da görülmüştür.

Yüksek olgu yükü olan 22 ülke, dünyadaki TB hastalarının % 80'ini barındırmaktadır. DSÖ bu ülkeleri özel olarak ele almakta ve epidemiyoloji, altyapı, insan kaynakları, bütçe açısından TB kontrolü her biri için tek tek değerlendirilmektedir (47). Bu 22 ülkeden Nijerya, Bangladeş, Pakistan ve Afganistan ile ilgili İDT surveyans verisi yoktur. Hindistan, Rusya Çin, Kenya, Uganda, Kongo DC, Endonezya hakkında ülkenin belli bölgelerine ait İDT surveyans verisi vardır. Tüm ülkedeki olguları kapsayan İDT verisi ise Güney Afrika, Etiyopya, Filipinler, Vietnam, Tanzanya, Brezilya, Tayland, Mozambik, Myanmar, Zimbabwe ve Kamboçya'da vardır (11).

3.MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Ocak 2007-Ocak 2011 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoroloji Laboratuvarında izole edilen 46 hastanın klinik örneklerinden üretilen *M. tuberculosis* complex suşları çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu klinik örneklerin SM, INH, ETB ve RIF'e karşı duyarlılıkları BACTEC-MGIT 960 yöntemi sistemi ile belirlenmiştir.

Bir hasta için sadece bir örnekten izole edilen suş çalışmaya dâhil edilmiştir. Daha önce tiplendirmesi yapıp saklanan *M. tuberculosis* complex suşları yeni bir LJ besiyerine pasajlanmış, üç hafta içerisinde üreyen suşlar çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.2. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması

Antibiyotikler besiyerlerine eklenmeden önce stok konsantrasyonlardan çalışma konsantrasyonları hazırlanır ve besiyerlerine uygun miktarlarda eklenir. Bir mikobakterinin belirli bir antitüberküloz ilaca duyarlı ya da dirençli olduğunu belirlemek için o ilacın kritik konsantrasyonunu bilmek gerekir. Mutant suşların üremesini etkilemeksizin tüm yabani suşların üremesini inhibe eden ilaç miktarı olarak tanımlanan kritik konsantrasyon değerleri uzun ve zahmetli çalışmalar sonucunda belirlenip standardize edilmektedir.

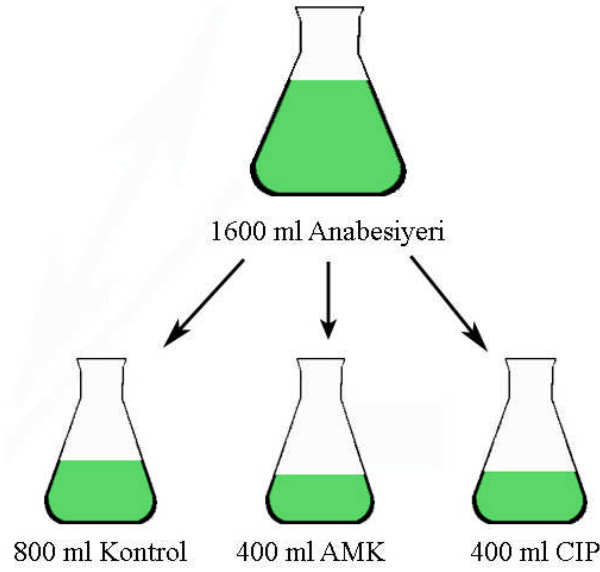
Tablo 8. Tüberküloz tedavisinde kullanılan antitüberküloz İlaçların kritik konsantrasyonları ve kritik proporsiyonları.

Antitüberküloz ilaç	7H10		LJ	
	KK (µg/ml)	KP (%)	KK(µg/ml)	KP (%)
İzoniazid (INH)	0.2	1	0.2	1
Rifampisin (RIF)	1.0	1	40	1
Streptomisin (SM)	2.0	1	4.0	10
Etambutol (EMB)	5.0	1	2.0	1
Pirazinamid(PZA)	25-50	1	100.0	10
Amikasin (AMK)	4.0	1	30	1
Kapreomisin (KAP)	10.0	1	40	1
Kanamisin (KAN)	5.0	1	20	10
Etionamid (ETH)	5.0	1	20	10
Sikloserin (CYC)	30.0	1	30	10
Ofloksasin (OFL)	2.0	1	2	1
PAS	2.0	1	0.5	1
Siprofloksasin (CIP)	2	1	2	1

3.3. İlaçlı ve İlaçsız Agar Besiyerinin Hazırlanması

Üretici firmanın (Merck 1.05400) önerilerine uyularak besiyer hazırlanmıştır. Balon joje içine dehidre besiyeri 37,5 g/600 ml olacak şekilde damıtık su içinde çözülür. 600 ml bazal besiyeri için 12 ml gliserol ilave edilip, otoklavda 121°C'da 15 dakika sterilize edilir. Otoklavdan alınan tuz solüsyonu çalkalayıcıya konulup 50°C' ye kadar soğuması sağlanır. 25 adet temiz, taze, iri boy yumurta sabunlu su ile iyice fırçalanarak temizlenir. Yumurtalar geniş bir kap içinde 15 dk. % 70'lik etanolde bırakılır. Pamuklu bir kumaşla yumurtaların dış yüzeyi silinir ve yumurtalar kırılmadan önce alkolün kuruması beklenir. Sonra büyükçe, ağzı kapatılabilen, steril bir balona steril huni yardımı ile kırılarak konur. Homojen oluncaya kadar kuvvetlice çalkalanır. Yumurta sıvısı bir mezür içine, iki katlı gazlı bezden geçirilerek 1000 ml olacak şekilde süzülür. Filtre edilen yumurtalar içinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde tuz solüsyonunun bulunduğu balonun yan duvarından dökülür. Karışım hava kabarcığı oluşmayacak şekilde hafifçe çalkalanır. Yüzeyde oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi için 30 dk beklenir. Böylece 1600 ml ana LJ besiyeri elde edilmiş olur.

Ana besiyerden 400 ml amikasin içeren ilaçlı besiyer için, 400ml siproflaksasin içeren besiyer için ayrılır. Hazırlanacak ilaçlı besiyerine göre uygun oranı sağlayacak miktarda ilaç çözeltileri hazırlanır. Ana besiyerinden ayrılan 400 ml besiyere amikasin içeren besiyer hazırlamak için 30 µg/ml olacak şekilde amikasin ilave edilir. Ana besiyerinden ayrılan 400 ml besiyere siproflaksasin içeren besiyer hazırlamak için 2 µg/ml olacak şekilde siproflaksasin ilave edilir. Böylece istenen konsantrasyonda antibiyotik içeren besiyer hazırlanmış olur. Kalan 800ml besiyer kontrol için kullanılır.



Şekil 3. Anabesiyeri ve ilaçlı besiyerler.

Üzerleri etiketlenmiş steril vidalı tüplere 6-7 ml kadar hava kabarcığı kalmayacak şekilde yan duvardan dökülür. Tüpler yarı yatık pozisyonda sporlara yerleştirilirler. Eğer hava kabarcığı gözlenirse hava kabarcıkları kaybolana kadar tüpler hafifçe sallanır. Tüpler koagülatörde 78–80°C’de 1 saat (veya 85°C’de 45 dk) koagüle edilir. Koagülasyondan sonra 18–24 saat 37°C’de sterilit kontrolü yapılır. Buzdolabında 2–8°C’de dik olarak bir ay saklanabilir (10-19-48-49).

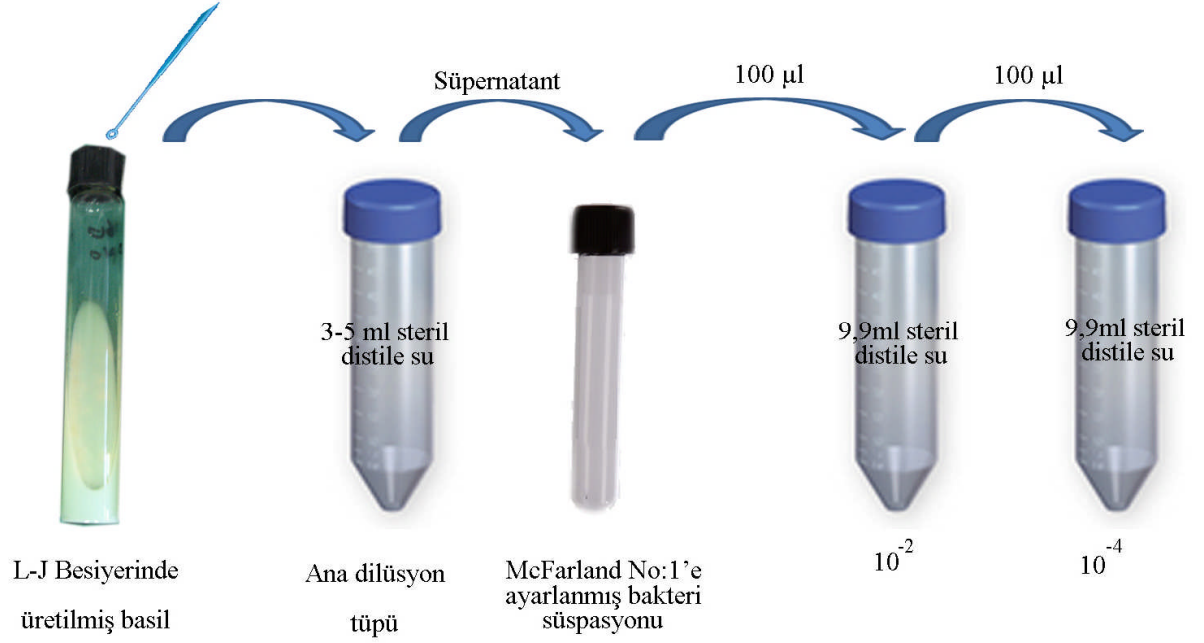


Şekil 4. Üzerleri etiketlenmiş vidalı tüplere dökülmüş kontrol, AMK ve CIP içeren besiyerler.

3.4. İnokulum Hazırlanması

Agar proporsiyon yönteminde standart bir inokulumun hazırlanması önemlidir. Bu yüzden çalışmada LJ besiyerinde üretilmiş ve 3-5 haftalıktan daha eski olmayan koloniler kullanılır. Her bir klinik örnek için biri ana bakteri süspansiyon tüpü, diğer ikisi dilüsyon tüpleri olmak üzere 3 adet tüp (50 ml'lik, konik tabanlı, burgu kapaklı, polipropilen yapıda tüp) alınır. Tüplerin üzerine protokol numarası yazılır. Birinci tüplere ana süspansiyon, ikinci tüplere 10^{-2} ve üçüncü tüplere 10^{-4} yazılır. Birinci tüpe 8-10 adet 3-5 mm çaplı steril cam boncuk ve 3-5 ml steril distile su konur. Diğer 2 Falcon tüpün her birine sadece 9,9 ml steril distile su konur. LJ besiyerinde üremiş kolonilerden, bir öze yardımıyla, besiyerden almamaya dikkat ederek bol miktarda kazınarak alınır. Ana süspansiyon tüpüne aktarıldıktan sonra tüpün kapağı sıkıca kapatılır. Tüp en az 2 dk (2-5 dk) vortekslenir. Büyük partiküllerin dibe çökmesini sağlamak için 20-30 dk oda sıcaklığında bekletilir. 20-30 dk. bekletilen bakteri süspansiyonunun üstteki sıvısı başka bir tüpe aktarılıp üzerine distile su eklenerek bulanıklığı McFarland No:1 standardına eşitlenir. Vortekslelendikten sonra 100 μ l alınıp 10^{-2} dilüsyon tüpüne aktarılır. 10^{-2} dilüsyonda bakteri süspansiyonu elde edilir. 10^{-2} dilüsyon tüpü en az 30 sn vortekslelendikten sonra, tüpten 100 μ l bakteri

süspansiyonu alınıp 10^{-4} dilüsyon tüpüne aktarılır. 10^{-4} dilüsyonda bakteri süspansiyonu elde edilir (19-50).



Şekil 5. Dilüsyonların hazırlanması

3.5. İnokulasyon ve İnkübasyon

10^{-2} dilüsyon tüpünden 10^{-2} kontrol tüplerine ekim yapılır. Ayrıca 10^{-2} dilüsyon tüpünden amikasinli besiyer tüpüne ve siproflaksasinli besiyeri tüpüne 200'er µl hacimlerde ekim yapılır. 10^{-4} dilüsyon tüpü en az 30 sn vortekslenir. Buradan 10^{-4} kontrol tüplerine 200 µl hacimlerde ekim yapılır. Ekimlere en düşük dilüsyondan başlanarak yapılmalıdır. Aynı klinik örneklere ait tüm seri ekimler aynı pipet ile ve aynı miktarda yapılmalıdır. Aksi takdirde değerlendirme hataları ortaya çıkabilir. Ekimler bittikten sonra, ekilen sıvıların besiyeri yüzeylerine tamamen yayılması sağlanır. Ekilen besiyerleri 37°C 'lik etüve, besiyeri yüzeyleri yere paralel, yatık şekilde yerleştirilir. İnkübasyon süresi 28-40 gündür (19).

Kontaminasyon yönünden inceleme için 10^{-2} ve 10^{-4} dilüsyon tüplerinden kanlı agar petri kutuları ikiye ayrılarak 200 µl hacimlerde ekim yapılır.

3.6. Sonuçların Değerlendirilmesi

İnkübasyonun ilk 7 günü kontaminant bakteri varlığı yönünden kanlı agarda incelenir. Kontaminasyon saptanırsa, test tekrar edilir. Antibiyotiksiz kontrol tüpleri üç hafta boyunca her hafta incelenir.

3-4 haftalık inkübasyon sonunda 10^{-2} 'lik kontrol tüpünde 100 koloniden fazla ya da 10^{-4} 'lük kontrol tüpünde 50 koloniden fazla üreme olduğunda tüm tüpler okunur. İlk okumada hassas olduğu hesaplanan suşlar 6. haftada tekrar okunarak değerlendirmeye alınır ve sonuç rapor edilir. İki farklı konsantrasyonda bakteri süspansiyonundan ekim yapılmasındaki amaç, sayılabilecek sayıda koloni elde etmek ve böylece kontrol ile ilaçlı besiyerlerindeki üremeyi kıyaslayabilmektir. Kontrol ve ilaçlı besiyerlerindeki koloniler sayılır ve not edilir. İlaçlı besiyerlerinde üreyen koloni sayısının, KK-KP tablosuna göre, üremesine izin verilen sınır içinde mi, yoksa sınırın üzerinde mi olduğu kontrol edilir. Oran % 1'in altında ise duyarlı, üzerinde ise dirençli olarak rapor edilir.

$$\text{Direnç Oranı(\%)} = \frac{\text{İlaçlı bölmedeki koloni sayısı} \times 100}{\text{Kontrol bölmesindeki koloni sayısı}}$$

Eğer 10^{-2} dilüsyon ekim yapılmış kontrol bölmesinde sayılamayacak kadar koloni varsa (+3,+4) ve 10^{-4} dilüsyon ekim yapılmış kontrol bölmesinde 50'den az koloni varsa, 10^{-4} dilüsyon ekim yapılmış kontrol bölmesindeki koloni sayısı 100'le çarpılıp 10^{-2} dilüsyon ekim yapılmış kontrol bölmesindeki koloni sayısı hesaplanabilir. Tüm kontrol bölmelerinde koloni sayımının 4+ olduğu dilüsyonlar dikkatle değerlendirilmelidir. Bu durumda mikroorganizma tüm antibiyotiklere duyarlı ise, sonucu bildirilir, herhangi bir antibiyotiğe direnç söz konusu ise, yoğun bir inokulum kullanılmış olabilir, test tekrar edilir (51-19).

3.7. Gerekli Malzeme ve Teçhizat

1. Biyolojik güvenlik kabini sınıf II (AES Laboratoire , Fransa)
2. Vorteks (IKA Laboratory Equipment, USA)
3. Pastör Fırını (Nüve, Türkiye)
4. $36 \pm 1^\circ \text{C}$ inkübatör (Heraeus, Almanya)

5. Bactec MİGT 960 (Becton, Dickinson and Company, USA)
6. Çalkalayıcı (Nüve, Türkiye)
7. Amikasin (Amikozit 500mg, Zentiva SağlıkÜrünleri, Türkiye)
8. Siprofloksasin (Ciproxin 200, Bayer HealthCare AG, Almanya)
9. LJ besiyeri (Merck USA)
10. Yumurta
11. Gliserol
12. Steril distile su
13. 1 adet 2 lt erlenmeyer
14. 1 adet 1 lt erlenmeyer
15. 6 adet 500 ml'lik balon , 2 adet 1 lt'lik balon , 100 ml'lik balonlar
16. İnsülin enjektör
17. 3 adet 500 ml'lik ölçekli mezür.
18. 1 adet 1000 ml'lik ölçekli mezür.
19. L-J tüpleri
20. Steril öze
21. 1.0 Mc Farland bulanıklık standardı tüp
22. 1,5 ve 10 ml'lik steril serolojik pipet ve pipet pompası veya ayarlanabilir otomatik pipet ve steril uçları
23. Maske
24. Eldiven steril
25. Huni- Tülbent (gazlı bez) steril.

4. BULGULAR

Ocak 2007-Ocak 2011 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoroloji Laboratuvarında izole edilen 46 hastanın klinik örneklerinden üretilen *M. tuberculosis* complex suşları çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu klinik örneklerin SM, INH, ETB ve RIF'e karşı duyarlılıkları BACTEC-MGIT 960 sistemi ile belirlenmiştir.

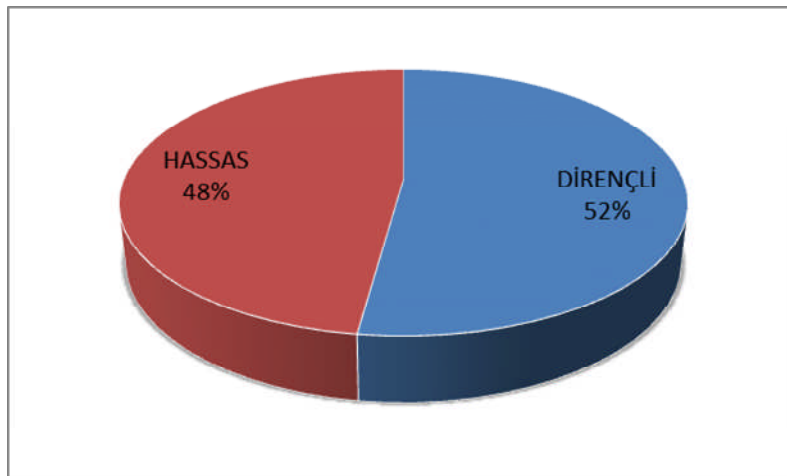


Şekil 6. BACTEC-MGIT 960

Tablo 9. Çalışmada kullanılan suşların primer antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumları

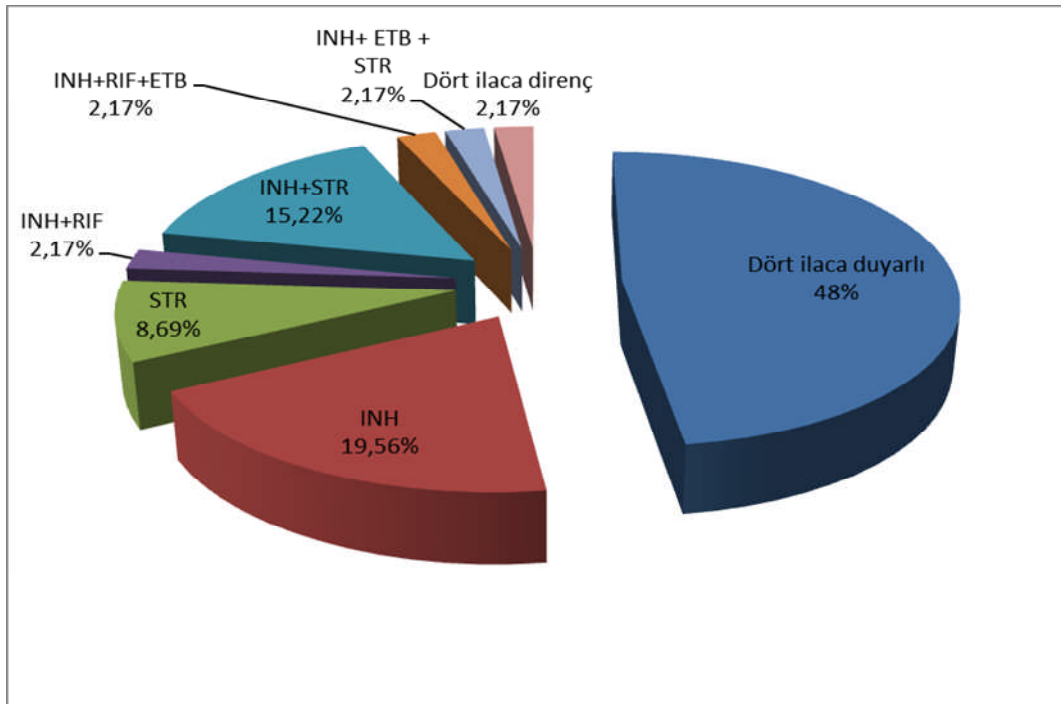
Sıra No	Çalışma No	SM	INH	RIF	ETB
1	D3	H	D	D	H
2	D15	H	D	H	H
3	D101	H	D	D	D
4	D102	D	D	H	H
5	D41	D	H	H	H
6	D43	D	D	H	H
7	D44	D	D	H	H
8	D45	D	H	H	H
9	D46	H	D	H	H
10	D47	D	H	H	H
11	D48	H	D	H	H
12	D50	D	D	D	D
13	D51	H	D	H	H
14	D53	H	D	H	H
15	D54	D	D	H	D
16	D57	D	H	H	H
17	D58	D	D	H	H
18	D59	H	D	H	H
19	D60	H	D	H	H
20	D61	D	D	H	H
21	D63	D	D	H	H
22	D64	D	D	H	H
23	D65	H	D	H	H
24	D66	H	D	H	H

SM: Streptomisin INH: İzoniazid RIF: Rifampisin ETB: Etambutol H: Hassas D: Dirençli



Şekil 7. Çalışmaya alınan suşların direnç yüzdeleri.

Grafikte de görüldüğü gibi LJ kültüründe üreme saptanan 46 olgunun 24'ü antitüberküloz ilaçlara karşı dirençli, 22'si antitüberküloz ilaçlara hassastır. Çalışmaya alınan suşların tek ilaca direnç durumu INH için 9 (% 19,56), STR için 4 (% 8,69); iki ilaca direnç durumu INH+RIF 1 (% 2,17), INH+STR 7 (% 15,22); üç ilaca direnci INH+RIF+ETB 1 (% 2,17), INH+ ETB + STR 1 (% 2,17); dört ilaca direnç(INH+RIF+STR+ETB) 1 (% 2,17)'dir. Toplam INH direnci 18 (% 39,13), toplam RIF direnci 3 (% 6,52), toplam SM direnci 3 (% 6,62) ve toplam ETB 13 (% 28,26)'dır.



Şekil 8. Çalışmaya alınan suşların primer antitüberküloz ilaçlara karşı direnç yüzdeleri

“İnokülosyonları yapılan tüpler üç hafta boyunca her hafta incelendi. 10^{-2} , 10^{-4} kontrol tüplerinde üremeler kontrol edildi. İnkübasyon sonunda tüplerdeki koloniler sayıldı. Sonuçlar kaydedildi.

“Direnç Oranı % = İlaçlı tüpteki koloni sayısı x 100/Kontrol tüpündeki koloni sayısı” formülü dikkate alınarak dirençli suşlar belirlendi. Karşılaştırmalar aynı dilüsyonlar arasında yapıldı. Direnç oranı %1'den büyük ve eşit olanlar dirençli; direnç oranı %1'den küçük olanlar ise hassas kabul edildi.

Tablo 10. Agar plaklarındaki mikobakteri kolonilerinin üreme yönünden kantitasyonu.

Koloni Sayısı	Kantitasyon
0-50	Gerçek koloni sayısı
50-100	1+
100-200	2+
200-500	3+
>500	4+



Şekil 9. Sırasıyla 10^{-2} , 10^{-4} , CIP ve AMK tüplerinde *M. tuberculosis* suşlarında üreme.

Resimde 10^{-2} ve 10^{-4} kontrol tüplerinde üreme vardır. Aynı zamanda siprofloksasin içeren tüpte üreme görülmektedir. Siprofloksasin içeren tüpteki üreme 10^{-2} kontrol tüpü ile orantılandığında oranın 1'den büyük olduğu görülmektedir. Bu suş siprofloksasine dirençlidir. Amikasin bulunan tüpte üreme olmamıştır. Bu suş amikasine hassastır.

Çalışmaya alınan 46 *M. tuberculosis* complex suşuna antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumları tabloda gösterilmiştir. Suşların hiçbirinde amikasine karşı direnç saptanmamıştır. Klinik örneklerden izole edilen 46 suştan 42 (% 91,3)'sinde

siprofloksasine karşı direnç belirlenememiştir. 4 (% 8,7) suşta siprofloksasine direnç saptanmıştır. Siprofloksasin direnci saptanan dört suşun ikisi tüm primer antitüberküloz ilaçlara karşı hassas, bir suş yalnızca streptomisine dirençli, bir suşa tüm primer antitüberküloz ilaçlara dirençlidir.

Tablo 11. 46 *M.tuberculosis* suşunda antitüberküloz ilaçlara direnç.

Primer antitüberküloz ilaç direnci	n (%)	AMK(30µg/ml) direnci	CIP (2µg/ml)direnci
Dört ilaca duyarlı	22(47,83)	0	2(4,35)
Tek ilaca direnç			
INH	9	0	0
STR	4	0	1(2,17)
Toplam	13(28,26)	0	0
İki ilaca direnç			
INH+RIF	1	0	0
INH+STR	7	0	0
Toplam	8(17,39)	0	0
Üç ilaca direnç			
INH+RIF+ETB	1	0	0
INH+ ETB + STR	1	0	0
Toplam	2(4,35)	0	0
Dört ilaca direnç	1(2,17)	0	1(2,17)
Toplam dirençli suş	24(52,17)	0	4(8,7)

AMK: Amikasin CIP: Siprofloksasin SM: Streptomisin RIF: Rifampisin ETB: Etambutol INH: İzoniazid

Tablo 12. *M.tuberculosis* suşlarında toplam primer antitüberküloz ilaçlara dirençleri.

	n (%)	AMK(30µg/ml) direnci	CIP (2µg/ml) direnci
Toplam INH direnci	18(39,13)	0	1
Toplam RIF direnci	3(6,52)	0	1
Toplam STR direnci	3(6,52)	0	2
Toplam ETB direnci	13(28,26)	0	1

AMK: Amikasin CIP: Siprofloksasin SM: Streptomisin RIF: Rifampisin ETB: Etambutol INH: İzoniazid

5. TARTIŞMA

M. tuberculosis complex suşlarında primer ilaç duyarlılık testleri yapılmakta ve tedavi rejimleri buna göre planlanmaktadır. Hastanın tedaviye uyumsuzluğu, primer ilaçların ciddi yan etkileri görüldüğünde ve ÇİD-TB’da yalnızca primer ilaç direncinin bilinmesi tedavinin yönlendirilmesi için yeterli olmayacaktır. Bu durumlarda tedaviye sekonder ilaçların eklenmesi düşünülür. Ancak bu ilaçlara direnç oluşmuş olabilir. Tedavide bu ilaçların kullanılması için sekonder ilaç testleri yapılmalı ve uygun olan ilaç tedaviye eklenmelidir. Bununla birlikte bu ilaçların yan etkileri daha fazla, tedavi süreleri daha uzun ve daha pahalıdır (52).

DSÖ sekonder ilaç duyarlılık testlerinin güvenilir olması için primer ilaç direnç testlerini uygulayan, deneyimli ve yeterliliği olan laboratuvarlar tarafından yapılmasını önermektedir (52). Üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde bulunan laboratuvarımızda primer antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri yapılmaktadır. Ayrıca çalışmamızda DSÖ önerileri doğrultusunda L-J besiyeri ve proporsiyon yöntemi kullanılmıştır (52). Primer ilaç dirençleri MGIT 960 ile belirlenen *M. tuberculosis* complex suşlarının L-J besiyerinde üremeleri için 3-4 hafta beklenmektedir. 3-4 haftada üremeyen suşlar çalışmaya alınmamaktadır. Sekonder ilaç direncinin belirlenmesi için 3-4 hafta bir süre gerekmektedir. Olgunun laboratuvara gelmesi, homojenizasyon ve dekontaminasyon primer ilaç direncinin belirlenmesi için geçen süreyle birlikte sekonder ilaç direncinin belirlenmesi 10-13 haftalık bir süreci kapsamaktadır. Bu süre oldukça uzundur. Primer ilaç direnciyle birlikte sekonder ilaç direncinin çalışılmasıyla bu süre kısaltılabilir ancak laboratuvarların işi yükünü ve maliyeti ciddi ölçüde artıracığı düşünülmektedir.

Amikasin yarı sentetik bir türevidir. Amikasine direnç % 5 altında olduğu belirtilmektedir. Mersin bölgesinde Gönül Aslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada amikasin direncini % 2,2 olarak bildirilmiştir (53). Bizim yaptığımız çalışmada amikasine dirençli suş bulunamamıştır. 2003 yılında Edirne’de Otkun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada en etkili sekonder ilaç amikasin olarak belirtilmiştir. Amikasine direnç

bulunmamıştır (54). Bu durum çalışmamızla örtüşmektedir. Bizim çalışmamızda da en etkili sekonder antitüberküloz amikasinidir. Amikasine dirençli sus bulunmamıştır.

Florokinolon grubu ilaçlardan olan siprofloksasin DNA-giraz enzimini inhibe ederek DNA'nın süpersarmal yapısını bozar, replikasyonunu engeller ve bakteri ölümü gerçekleşir. Siprofloksasinin üriner ve solunum yolu enfeksiyonlarında son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Siprofloksasine dirençli suşların çoğunun ÇİD-MT olduğu belirtilmektedir (55). Mersin bölgesinde Gönül Aslan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada siprofloksasin direnci %1,1 olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada siprofloksasine dirençli tek suşun tüm primer antitüberküloz ilaçlara duyarlı olduğu belirtilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada siprofloksasine dirençli dört suştan ikisi tüm primer antitüberküloz ilaçlara duyarlı biri dört primer antitüberküloz ilaca da dirençli ve biri streptomisine dirençlidir. Dört primer antitüberküloz ilaca dirençli suşun siprofloksasine dirençli olması, amikasine duyarlı olması anlamlıdır.

Balabanova ve arkadaşları Rusya Samara'da yapmış oldukları çalışmada 69 ÇİDTB izolatının ikinci kuşak antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarını araştırmış, amikasin direncini 5 (% 7,2) ve siprofloksasin direncini 3 (% 4,3) izolatta belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda siprofloksasin direnci 4 (% 8.70) olarak belirlenmiştir.

Hindistan'da Muralidhar ve Srivastava 75 klinik izolatın primer antitüberküloz ilaçlara ve siprofloksasine duyarlılığını iki farklı proporsiyon metodu (LJ ve Middlebrook7H11 agar) ve E test metodu ile karşılaştırmışlar, üç metoduyla 3 izolatta (% 4), LJ proporsiyon metodu ile 5 izolatta (% 6,7) direnç saptamışlardır.

Avkan Oğuz ve arkadaşları streptomisin için % 68,7, kanamisin için % 9,3, kapreomisin için % 12,5; Tansel ve arkadaşları ÇİDTB suşlarında amikasin için % 21, kapreomisin için % 52, siprofloksasin için % 16 direnç bildirmişlerdir (53).

Tablo 13. Yapılan çalışmalarda amikasin direnci (56).

	Suş sayısı	MIC (µg/ml)	Dirençli suş oranı (%)
Gangadharam	20	6,6	0
Seyfikli	200	8	15,5
Aysev	49	6	20,4
Ökten	100	8	3

ÇİD-TB olgularının tedavisinde başarı oranlarının çok düşük olduğu belirtilmektedir. Tahaoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında ÇİD-TB başarı oranı % 77 olarak bildirilmiştir. Antitüberküloz duyarlılık testleri ÇİD-TB olgularının tedavisinde uygulanan DGTS'nin en önemli kriteridir (53).

M. tuberculosis complex suşlarımızın % 52'ü bir ya da birden fazla ilaca dirençli suşlar, % 6,52'si ÇİD olan suşlardan oluşmasına rağmen, ÇİD olan izolatlarımızın tümü amikasin duyarlı olarak tespit edilmiştir. ÇİD suşlardan birinde siprofloksasine direnç belirlenmiştir. Bu suşların hiç birinde amikasin direnç belirlenmemesini bölgemiz açısından avantaj olduğunu düşünmekteyiz. Ülkemizde yapılan diğer dirençlilik testleriyle bizim çalışmamızın sonuçlarını uyumludur.

TB tedavisinde, ilaç direncinin giderek artması tedavi başarısının önündeki engellerden biridir. TB tedavisinin düzenli, yeterli yapılmadığında ve tedavi edilemediğinde, TB hastalarının önemli bir bölümünün dirençli basillerle bulaştırıcılıklarını sürdürmekte olduklarının bir göstergesi olabilir. Bu nedenle bu olguların tespiti ve tedavisi için duyarlılık testlerine daha fazla önem verilmelidir. Dirençli olgularda kullanılacak antibiyotik tercihleri için duyarlılık testleri önemlidir.

İlimizde ve ülkemizde dirençli olguların varlığı bilinmekte ve yüksek oranlarda olduğu görülmektedir. Antitüberküloz ilaç direncinde ülkeler ve hatta bölgeler arasında farklılıklar saptanabilmektedir. TB tanı, takip ve tedavisinde her ülke kendi direnç özellikleri gözden geçirerek güncel epidemiyolojik verilerle tedavi protokollerini yenilemesi gerekmektedir. Çoklu ilaç direnci bulunan olgular için sekonder ilaç duyarlılığın bilinmesi tedavinin yönlendirilmesinde önemli avantaj sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları şu şekilde sıralayabiliriz.

1. Çalışmaya alınan 46 suşun 24'ü herhangi bir primer antitüberküloz ilaca karşı dirençli; 22'si primer antitüberküloz ilaçlara karşı hassastır.
2. Çalışmaya alınan suşların hiçbirinde amikasine direnç saptanmamıştır.
3. Çalışmaya alınan suşların 4'ünde siprofloksasine direnç belirlenmiştir. Bunların ikisi primer antitüberküloz ilaçlara hassas suş, biri dört primer antitüberküloz ilaca da dirençli suş ve biri streptomisine dirençli olan suşlardır.
4. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçlar genel olarak uyumlu bulunmuştur.
5. DOTS-Plus stratejisi uygulaması ve tedavi başarısının artırılması için ÇİD-TB tedavisinde sekonder ilaç direncinin bilinmesinin bu hastaların tedavi yönlendirmede gereklidir. Ülkemizde sekonder ilaç direncini belirlemek için bölgesel çalışmaların dışında daha kapsamlı bir çalışma yapılabilir.
6. Direnç oranlarındaki artışın önlenmesi ve sekonder ilaç direncini daha kısa sürede belirlemek için güvenilir, ucuz ve kısa sürede sonuç verecek testler rutin olarak uygulanabilir.
7. Ülke genelinde sekonder antitüberküloz ilaç direncinin belirlenmesi için tüberküloz tanı, takip ve tedavisinde görev alan kurum ve hekimlerin işbirliği ve iletişim kurması gerekmektedir.

7. ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Ocak 2007-Ocakt 2011 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarında izole edilen *M. tuberculosis* complex suşlarında amikasin ve siprofloksasine direnç oranlarının belirlenmesidir. Primer antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı (22) ve bir ya da daha fazlasına dirençli (24) *M. tuberculosis* izolatlarının amikasine ve siprofloksasine in-vitro duyarlılıkları agar proporsiyon yöntemi ile belirlenmiştir. Siprofloksasin için direnç oranı % 8,7 bulunmuş, amikasine dirençli suş belirlenememiştir. ÇİD-TB suşlarının oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde sekonder ilaç direncinin bilinmesi ÇİD-TB hastaların tedavi protokollerinin planlanması, tedavi başarısının artırılması için bir zorunluluk olduğunu düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Mycobacterium tuberculosis* complex; direnç; amikasin; siprofloksasin

8. ABSTRACT

Investigation the Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex Strains Isolated from Clinical Specimens Against Secondary Antituberculosis Drugs by using Agar Proportion Method.

The aim of this study was to investigate ciprofloxacin and amikacin resistance rates of *M. tuberculosis* complex strains isolated from clinical specimens in the Mycobacteriology Laboratories of Karadeniz Technical University Hospital between January 2007 January 2010. In vitro susceptibility for amikacin and ciprofloxacin of 22 *M. tuberculosis* isolates susceptible to all primary antituberculosis drugs and of 24 isolates resistant to one or more primary antituberculosis drugs was determined by agar proportion method. The rates of resistance to ciprofloxacin was found to be 8,7 %, amikacin-resistant strains could not be identified. As it is important to know the resistance rates to secondary drugs for the treatment of MDR-TB, for planning of treatment protocols of MDR-TB patients, improving treatment success.

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis* complex; resistance; amikacin; ciprofloxacin.

9. KAYNAKLAR

1. Çelenk, M.: Tüberküloz epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 14(6): 391-403, 1994.
2. Global tuberculosis control 2009. Epidemiology strategy financing WHO/HTM/TB/2009.411.Geneva, 2009.
3. Aydın, F.:Klinik örneklerden izole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleks suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. Mikrobiyoloji Bülteni, 45(1): 36-42, 2011.
4. Türkkani, M.H., Musaonbaşıoğlu, S., Güllü, Ü., Yıldırım, A., Baykal, F., Özkara, Ş.: Türkiye’de verem savaş 2010 raporu. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı, Ankara, 2010.
5. De Rossi, E., Aínsa, J.A., Riccardi, G.: Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: an unresolved question. FEMS Microbiol Rew, 30(1): 36-52, 2006.
6. Jarlier, V., Nikaido, H.: Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. FEMS Microbiol Left, 123(1-2): 11-18, 1994.
7. Heym, B., Honoré, N., Truffort-Pernot, C.: Implications of multidrug resistance for the future of short-course chemotherapy of tuberculosis: A molecular study. Lancet, 344(8918):293-298, 1994.
8. Brosch, R., Vincent, V.: Cutting-edge science and the future of tuberculosis control. Bulletin of the World Health Organization. 85: 410-412, 2007.
9. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. The Who/Iuatld Global Project On Anti-tuberculosis. Drug Resistance Surveillance 2002-2007, WHO/HTM/TB/2008.394
10. Seber, E.: Tüberküloz laboratuvar tanı yöntemleri Löwenstein Jensen besiyeri ile antitüberküloz duyarlılık testi (Modifiye Orantılama Dilüsyon Testi) 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Samsun, 467-471, 2003.
11. Özkara, Ş.: Dünyada ve Türkiye’de ilaç direnci ve ilaç direnci olan hastaya yaklaşım. Trabzon Mikobakteri Günleri, 61-65, 2009.
12. Durmaz, R.: *Mycobacterium tuberculosis*’de direnç sorunu. Ankem, 19(2):107-10, 2005.

13. Özkara, Ş.: Sağlık kurumlarında tüberküloz bulaşması ve alınması gereken önlemler, sağlık kurumlarında tüberküloz. Türk Toraks Dergisi, 3(1): 89-97, 2002.
14. Leblebicioğlu, H.: AIDS ve tüberküloz. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Samsun, 156-162, 2003.
15. Kılıçarslan, Z.: Dünyada ve Türkiye’de tüberküloz epidemiyolojisi ve kontrolü infeksiyon hastalıkları serisi: 4(2): 5-13, 2001.
16. Palomino, J.C., Leão, S.C., Ritacco, V.: Tuberculosis 2007 from Basic Science to Patient Care. 1st Ed.2007, p.31
17. Durupınar, B.: Mikobakteriler ve çevre koşullarına dayanıklılıkları. OMÜ Tıp Dergisi, 13(4): 297-304, 1996.
18. Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G.: Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6 th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006, pp. 1065-1126.
19. Ceyhan, İ.: Tüberkülozda bakteriyolojik tanı laboratuvar teknikleri serisi. Mikobakteriyoloji Teknik Seri., RSHM.LAB.TB.01
20. Özlü, T.: Akciğer tüberkülozu ve tedavisinin izlenmesinde kullanılan parametreler Trabzon Mikobakteri Günleri, 36-46, 2009.
21. Ryan, K.J., Ray, C. G.: Sherris Medical Microbiology (4th ed.). McGraw Hill, 2004, pp. 439-450.
22. Aslan, Z.: Tüberküloz hastası ile temaslı çocuklarda, INH profilaksisinin elispot yöntemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Heybeliada Sanatoryumu Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2005.
23. Özgüneş, N.: HIV, tüberküloz ve sıtma: enfeksiyon riski nasıl azaltılır? 1. Tropikal ve Seyahat İlişkili Enfeksiyonlar Kongresi Adana HiltonSA, 5-8, 2010.
24. Demir, T.: Tüberküloz epidemiyolojisi. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Erişkin ve Çocukta Tüberküloz Sempozyumu, 9-13, 1999.
25. Özkara, Ş.: Sağlık kurumlarında tüberküloz bulaşması ve korunma. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 243-250, 2003.
26. Harries, A., Maher, D., Graham, S.: TB/HIV a clinical manual. Second Edition World Health Organization Geneva, WHO/HTM/TB/2004.329.
27. Oğuz, V. A.: Tüberküloz basilinin bulaş yolları ve konaktaki seyri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 48-58, 2003.

28. Sünbül, M.: Tüberküloz infeksiyonunda risk faktörleri ve bulaşıcılık. O.M.Ü Tıp Dergisi, 13(4):305-312, 1996.
29. Öngen, G.: Tüberküloz tedavisinin ilkeleri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Erişkin ve Çocukta Tüberküloz Sempozyumu, 61-70, 1999.
30. Treatment Of Tuberculosis Guidelines for National Programmes Third Edition, Geneva, WHO/CDS/TB/2003.313.
31. Gümüşlü, F., Özkara, Ş., Özkan, S., Baykal, F., Güllü, Ü.: Türkiye’de verem savaşı, 2007 raporu. Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Ankara, 2007.
32. Özkara, Ş., Aktaş, Z., Özkan, S., Ecevit, H.: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı, Türkiye’de Tüberküloz Kontrolü İçin Başvuru Kitabı Ankara, 2003, s.69.
33. Karataş, M.: 2007 Yılında hastanemizde tüberküloz tanısıyla yatırılarak tedavi edilen 1753 hastanın değerlendirmesi.Uzmanlık tezi, Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları Ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, 2008.
34. Tüberküloz hastalarının tanı-tedavi ve izlenmesi. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı, Ankara, 1998, s.6.
35. Özışık, N. Ç.: Çok ilaca dirençli tüberküloz hastalarında BACTEC ve agar proporsiyon yöntemleri ile saptanan etionamid direncinin klinik önemi. Uzmanlık tezi, Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları Ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2006.
36. <http://www.rshm.gov.tr/index.php?option=comcontent&task=view&id=218&Itemid=254> (10 Temmuz 2011).
37. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae and Other Aerobic Actinomycetes; approved standard. NCCLS document, M 24-A Vol.26 No.23.
38. Karabulut, N. A.: Mycobacterium tuberculosis kompleks suşlarının primer ilaçlara duyarlılığının MGIT, E-Test ve agar proporsiyon yöntemleri ile araştırılması. Uzmanlık tezi, Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2008.
39. Varma, M., Kumar. S., Kumar, A., Bose, M.: Comparison of E test and agar proportion method of testing drug susceptibility of M. tuberculosis. Ind. J Tub., 490:217-220, 2002.
40. Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. WHO/HTM/TB/2006.361.
41. Duman, D.: DOTS-Plus uygulanamayan ancak tedavisi tek merkezden yönetilen çok ilaca dirençli tüberküloz olgularında tedavi sonuçları. Uzmanlık tezi, Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2007.

42. Telenti, A.: Genetics of drug resistance in tuberculosis. *Genetics and pulmonary medicine* 5, Thorax, 53:793–797, 1998.
43. Çavuşoğlu, C.: *Mycobacterium Tuberculosis*'de moleküler antibiyotik duyarlılık test yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 369-377, 2003.
44. Bozkurt, H., Türkkani, M. H., Musaonbaşıoğlu, S., Güllü, Ü., Baykal, F., Hasanoğlu, H. C., Özkara, Ş.: Türkiye'de verem savaşı 2009 raporu. Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Ankara 2009.
45. Gümüştü, F., Özkara, Ş., Özkan, S., Funda, B., Güllü, Ü.: Türkiye'de verem savaşı 2008 raporu. Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Ankara 2008.
46. Özkara, Ş.: Tüberkülozda güncel durum. XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, Ankara, 34-39, 2010.
47. World Health Organization, global tuberculosis control surveillance, planning, financing, WHO Report 2008, WHO/HTM/TB/2008.393.
48. Canetti G., Fox W., Khomenko A., Mahler H.T., Menon N.K., Mitchison D.A., Rist N., Smelev N.A.: Advances in Techniques of Testing Mycobacterial Drug Sensitivity, and the Use of Sensitivity Tests in Tuberculosis Control Programmes. *Bull. Org. mond. Sante; Bull. Wld Hlth Org.* 41:21-43,1969.
49. Aktaş, E., Özkütük N., Sürücüoğlu, S., Gazi H., Çakmak R., Özbakkaloğlu B.: *Mycobacterium tuberculosis*'in birinci seçenek antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılığının belirlenmesinde dört farklı yöntemin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 22 (1): 43-48, 2008.
50. Oğuz, V. A., Akbal H., Sarıbaş S., Taragöz T., Öztürk R.: Edinsel çok ilaca dirençli mycobacterium tuberculosis suşlarının major ve minör antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 14 (3):383-386, 2000.
51. Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardiae and Other Aerobic Actinomycetes; approved standard. NCCLS document, M 24-T Vol.15 No.16.
52. Guidelines for drug susceptibility testing for second-line antituberculosis drugs for DOTS-plus. WHO/CDS/TB/2001.288.
53. Aslan, G., Direkel Ş., Otağ F., Akdenizli E., Emekdaş G.: Mersin Bölgesinde izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarında amikasin ve siprofloksasin duyarlılığı. *Ankem Derg*, 20(3):164-168, 2006.
54. Otkun, M., Tansel Ö., Akata, F., Otkun, M. T.: Çoğul dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında sekonder ilaçlara direnç ve epidemiyolojik takip. *Tübitak-SBAG-2334*, 2003.

55. Bozeman, L., Burman, W., Metchock, B., Welch, L., Weiner, M.: Tuberculosis trials consortium: fluoroquinolone susceptibility among *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the United States and Canada, *Clin Infect Dis.*, 40(3):386-91,2005.
56. Ökten, F., Ertürk, A., Mutlu, A., Çalışır, H., Yener, O., Öğretensoy M.: *Mycobacterium tuberculosis*'in streptomisin, kanamisin ve amikasinine karşı in vitro duyarlılığı ve bu ilaçlar arasındaki çapraz direnç ilişkisi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 50(1): 44-47, 2002.

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Akçaabat'ta tamamladı. 1988 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans eğitimine başlayarak 1992 yılında lisans eğitimini tamamladı. 1994 yılında Doğubeyazıt YİBO'da öğretmen olarak göreve başladı. 1996-1997 yılları arasında Trabzon 24 Şubat İlköğretim Okulu, 1997-2001 Akçaabat Kamara İlköğretim Okulu'da görev yaptı. 2001 yılında göreve başladığı Akçaabat Atatürk İlköğretim Okulu'nda halen görevine devam etmektedir. 1993 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında başladığı yüksek lisans eğitimine çeşitli nedenlerle iki kez ara vermek zorunda kaldı. 2009 yılında yüksek lisans eğitimine tekrar başladı.