

T. C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROBakterilerin İdentifikasyonu ve Tüberkülostatiklere  
Karşı Rezistans Durumu

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Mustafa ÖZCAN

KAYSERİ — 1985

## GİRİŞ

Tüberküloz hastalığı insanlığın tanıdığı en eski hastalıklardan biridir. Nitekim milattan 4000 yıl önce Batı Avrupa'da yaşayan insanların zamanımızda yapılan kazılarından elde edilen neolitik iskeletleri ile Mısır mumyalarının iskeletlerinde kemik tüberkülozu lezyonlarına tesadüf edilmiştir. Tüberküloz ile ilgili ilk yazılı belgeler MÖ 2700 yıllarında Çin'de Huang-Ti'nin efsanevi hikâyelerinde, yine MÖ 2000 yıllarında Dicle ve Fırat bölgelerinde hüküm süren Akkad'luların sağlıkla ilgili belgelerinde görülmektedir. Akkad'lı Naran Sin'in MÖ 2260 yıllarında Diyarbakır'ın Pirhüseyn köyünde kayaya işlettiği steli ve yazdırdığı çivi yazısı Anadolu'nun en eski yazılı belgesidir.

Büyük Türk bilgini İBN-İ SİNA asırlar önce El kanun Fi't Tıb Kitabı'nın 4.cildinde akciğer ve diğer organlarda meydana gelen tüberküloz çeşitlerinden bahsederek bulaşıcı

ninin çok değişik tip ve varyantlarda olduğu tesbit edilmiş, bu arada atipik basiller, saprofitler ve diğer mikobakteriler de bulunmuştur. Bugün için tüberküloz etkeni mikobakteriler Actinomycetales takımı, Mycobacteriaceae familyası, mycobacterium cinsine bağlıdırlar(2,3,4,5).

## GENEL BİLGİLER

Tüberküloz hastalığına sebep olan mikobakteriler morfolojik olarak ince, bazen hafifce kıvrık, sporsuz, kapsülsüz, hareketsiz hayvan dokuları içinde yaklaşık olarak 0.4-3 mikrometre ( $\mu$ ) büyüklüğünde düz basiller biçiminde görülür. Besiyerlerinde uzun, nadiren koka benzeyen şekilleri bulunabilir. Patolojik materyalde tek tek kümeler halinde, bazen birbirine paralel, ya da (X-V-L) harflerine benzer görünüşte olabilirler. Besiyerlerindeki kültürlerinden yapılan preparatlarında ise çoğunlukla büyük kümeler halinde görülürler. Mikroskopik olarak görünüşlerindeki değişikliklerin çokluğu nedeniyle mikobakterileri tiplerine ayırmak imkânsızdır. Bunlar diğer bakteriler gibi bazik boyalarla kolayca boyanmazlar. Yapılarında ve zarlarında fazla miktarda bulunan balmumu maddeleri boyanmayı güçleştirir. Boyandıktan sonra da asit-alkol gibi renk giderici maddelerle boyalarını bırakmazlar(2,3,5).

## MİKOBAKTERİLERİN KİMYASAL YAPISI

Mikobakterilerin bünyesinde bugüne kadar lipidler, proteinler, karbonhidratlar, enzimler, vitaminler, mineraller ve su gösterilmiştir. Solunum enzimleri olarak sitokrom, oksidaz, katalaz, peroksidaz ve dehidrogenaz enzimleri bulunmuştur. Rezistans Koch basillerinde bazı enzimatik değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir(5).

### Kültür Özellikleri:

Basilin tiplendirilmesinde kültür özellikleri önemli rol oynamaktadır. Gliserin ilave edilmiş besiyerlerinde, insan tipi basiller bol üreyerek (Ögonik) kenarları düzensiz, koloni meydana getirmesine rağmen, sığır tipi basiller geç ürerler. Gliserinin bu özelliği iki basili birbirinden ayırd edebilmektedir. Mikobakteriler kültür özelliklerine göre tiplendirilmeye çalışılmış, Löwenstein-Jansen besiyerinde insan tipi mikobakteriler, bir kaç haftada çapı 12 mm, yüksekliği 4 mm, kuru, sarı pigmentli, vasata sıkıca yapışık ve tuzlu suda kolayca süspanse olmayan rough (R) tipi koloni meydana getirirler. Sığır tipi ise gliserinli yumurtalı vasatlarda daha geç, gliserinsiz vasatlarda daha iyi üreyen küçük, pigment yapmayan vasata yapışık, kolayca süspanse olan smooth (S) tipi koloniler yaparlar(6). Fragnan ve Smith, mikobakterilerin tipleri ile koloni şekilleri arasında bir ilişki görerek, koloni görünümüne göre sınıflandırmıştır(7).

**Pigment Durumu:**

M.tüberkülozis'in kolonileri devetüyü veya krem renginde olup, bunlar üzerinde ışık hiç bir renk değişikliği meydana getirmemektedir. Gürsel(8), atipik olarak bulduğu suşların ekserisinde pigment teşkil etmiş ve bu pigment, ışığın rengine maruz kalma müddetine ve üreme zamanına göre değişiklikler göstermiştir. Bu mikobakteriler dört grupta incelenirler; Grup I (Fotokromojen) mikobakteriler, bir saat kadar ışığa maruz bırakıldıktan sonra 24 saat karanlıkta bırakılırsa portakal sarısı renginde bir pigment yaparlar. Grup II (Skotokromojen) mikobakteriler, karanlıkta ve ışıkta sarı portakal renginde pigment yaparlar. Grup III (nonkromojenler) mikobakteriler, pigment yapmazlar, kolonileri daima açık sarı renktedir. Bu üç grup mikobakterilerde üreme 7. günden sonra olur. Grup IV (Çabuk üreyen) mikobakteriler ise pigmentsiz veya çok az pigmentlidir. Bunlarda üreme 1-5 gün içinde olur.

**Mikobakterilerin Metabolik Özellikleri:**

Asit nikotinic metabolizması (Nikotinic asit biyosentezi); en önemli yeri işgal etmektedir. Geçen 20-25 yıl zarfında mikobakterilerin vitamin sentezi pek çok tecrübi araştırmalara konu olmuştur(9). Nikotinic asit sentezi şimik niasin testi ile ortaya çıkartılır(10,11). Mikobakteriler, glutamik asit, aspartik asit, pürüvik asit, alanin ve bazı mineraleri ihtiva eden vasatlarda üredikleri zaman, nikotinic asiti

sentezlerler(12).

#### **Nitrat Redüksiyonu:**

Virtanen(13) bazı mikobakterilerin nitrat redüksiyon kabiliyetinin mevcut olduğunu ve bunun sınıflandırmada rol oynayacağını; Bonicke(14) nitrat redüksiyon aktivitesinin genç kültürlerde maksimal olduğunu bildirmiştir.

#### **Katalaz Aktivitesi:**

Uzun zamandan beri mikobakterilerin hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ), oksijen ve su ( $O_2 + H_2O$ ) moleküllerine parçalayan ve demir porfinin ihtiva eden katalaz enzimini meydana getirdiği biliniyor. Bu enzimin aktivitesi 68-70 °C'de 15 dakikada kaybolmaktadır. Katalaz aktivitesi izoniazid (INH) hassasiyeti ile yakından ilgilidir. Bakterilerde katalaz enzimi negatif ise INH'a rezistans olması çok muhtemeldir (2, 5,15).

#### **Peroksidaz Aktivitesi:**

Mikobakterilerde katalaz enzimi yanında peroksidaz enzimi de vardır. Bu enzimin optimal pH'da tesir ettiğini, rezistansın katalaz aktivitesinden ziyade peroksidaz aktivitesi ile ilgili olduğunu göstermiştir(15).

#### **Kord Faktörü:**

Middlebrook ve arkadaşları(16), mikobakterilerin mor-

folojik karakterleri ile virülanları arasındaki alakayı tesbit etmişlerdir. Bütün virülan basillerin likid besiyerlerindeki kültürlerinin mikroskopisinde basiller kord'un uzun ekseni boyunca paralel sıralanmış, sık yilankâvi şeritler biçiminde görülürler. Kord faktörü patojenite ile ilgili olup, avirülanlarda görülmez. Kord teşekkülüne neden, basillerin sathında bulunan lipidlerdir. Bloch(17) kord teşekkülüne neden olan bu lipidlerin patojenite ile ilgilerini tesbit etmiştir. Wayne(18) fotokromojenlerle, nonkromojenlerin ve diğer tiplerin kord teşkil etmediklerini bildirmiştir.

**Mikobakterilerin Tüberkülostatlara Karşı Rezistans Durumu:**

Tüberkülozda, tüberkülostatlara karşı rezistans konusunu ilk defa streptomisin keşfi ile birlikte görmekteyiz. Waksman ve Shatz (1944'de) streptomisin tüberküloz basiline etkisini gösterdiler. Aynı araştırmacılar streptomisinle tedavi edilen bazı hastaların, tedavi olmayıp basil çıkardıklarını 1946'da müşahade ettiler. Bu hastaların basillerinin yüksek streptomisin konsantrasyonunda dahi ürediklerini tesbit ettiler. Daha sonra keşfedilen tüberkülostatikler de aynı akibete uğradılar(19). Gerek tedavi, gerekse mikobakterilerin tiplendirilmesinde, basillerin anti-tüberkülostatlara karşı hassasiyetlerinin bilinmesi çok önemlidir(20).



## MATERYAL VE METOD

### A- MATERYAL

#### I. Numunelerin Alınması:

Kayseri ve yöresinden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneşi poliklinik ve servislerine, Verem Hastanesi'ne ve diğer sağlık kuruluşlarına müracaat eden hastalardan alınan patolojik materyaller şunlardır:

a) **İdrar:** Sabah ilk veya 24 saat aralıklarla en az üç günlük, mümkün olduğu kadar temiz kaplara alınan idrar numuneleri.

b) **Balgam:** Sabah ilk çıkarılan balgam tercih edildi. Hastanın uykudan uyanınca ağzını serum fizyolojikle(SF) gargara ettikten sonra steril veya temiz kaplara çıkarttığı en az üç günlük balgam numuneleri.

c) **Açlık Mide Suyu (AMS):** Balgamını yutan küçük çocukların midesine mide sondası ile 150-200 ml steril distile su verilerek 5 dakika sonra tekrar enjektörle alınan yıkama suyu.

d) **Mayiler:** (Parasentez, Torasentez, Ascites, Periton, vb) steril tüplere alınarak laboratuvarımıza gönderilen numuneler.

e) **Beyin Omurilik Sıvısı (BOS):** Lomber ponksiyonla antikoagülanlı steril tüplere alınarak laboratuvarımıza gönderilen numuneler.

f) **Cerahat:** (Sıcak apse, soğuk lezyon) Dispozible enjektörlerle kapalı apseden veya ekiviyonla açık apseden alınmıştır.

## II. Kültür Vasatları:

a) Gliserinli ve gliserinsiz Löwenstein-Jansen(L-J) besiyeri kullanıldı.

### Vasatların Hazırlanması:

Löwenstein-Jansen besiyeri iki grup halinde hazırlandı. Hazır besiyerinden 37.2 gr, 600 ml steril distile su içerisinde 60 °C'de eritildi. pH'sı 7.2'ye ayarlandı. Bir gruba 12 ml gliserin ilave edildi, diğer bir gruba ise ilave edilmedi. Vasatlar otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize

edildi. Besiyerinin ısısı 45-60 °C'ye düşünce aseptik şartlarda hazırlanmış ve homojenize edilmiş günlük 24-25 yumurtadan 1000 ml ilave edilerek karışım sağlandı. Bu besiyerinden burgulu ve kapaklı steril tüplere, tüpün büyüklüğüne göre 6-10 ml konularak 85 °C'lik koagülatörde her gün bir saat olmak üzere iki gün koagüle ve sterilize edildi. Koagülatörden çıkarılan besiyerlerinin kontrolü için bütün vasatlar oda sıcaklığında 24 saat, 37 °C'lik etüvde 48 saat bekletilerek steril olup olmadıkları kontrol edildi. Hazırlanan vasatlar bir ay içinde kullanıldı.

**b) Tüberkülostatikleri İhtiva Eden Löwenstein-Jansen Besiyerleri:**

Tüberkülostatik olarak bugün en çok tedavide uygulanan major ve minör ilaçlar şu konsantrasyonlarda rezistans testlere tabi tutulmak üzere besiyerine ilave edildi.

Isonicotinik acit hidrazide (INH)	0.1	0.2	1 mcg/ml
Streptomisin Sulfat (SM)	2	4	8 "
Rifampicin (RMP)	10	20	40 "
Ethambutol (EMB)	2.5	5	10 "
Thiacetazone (TH)	2	4	6 "

Yukardaki oranlarda hazırlanan tüberkülostatikli besiyerleri tüplere 6-10 ml steril şartlarda tevzi edilerek koagülatörde 80 °C'de her gün bir saat olmak üzere üç gün koagüle edildi. Tüberkülostatiklerin besiyerine ilavesi homojenize yumurta ile birlikte yapıldı.

**III. Kimyasal Maddeler Ve Solüsyonlar:****a) Niacin Testinde Kullanılan Solüsyonlar:****1. Solüsyon-A'nın Hazırlanması:**

Potasyum Siyanür (KCN)	5 gr
Steril distile su	500 ml

**2. Solüsyon-B'nin Hazırlanması:**

Chloramin-T	25 gr
Steril distile su	500 ml

**b) Nitrat Redüksiyon Testinde Kullanılan Solüsyonlar:****1. Solüsyon-A'nın Hazırlanması:**

Sodyum nitrat	0.085 gr
Di sodyum fosfat-H <sub>2</sub> O	0.485 gr
Mono potasyum fosfat	0.117 gr
Steril distile su	1000 ml

(Bu solüsyon 22 x 220 mm'lik tüplere taksim edildi, 110 °C'de sterilize yapıldıktan sonra uzun süre buzdolabında muhafaza edildi.)

**1. Solüsyon-B:** (HCl) Hidroklorik Asit

**2. Solüsyon-C :** % 2'lik sulfanilamid solüsyonu

**3. Solüsyon-D :** % 1'lik Chlorhydr N.Naphtel-propylen diamine

(Her test için taze olarak hazırlandı.)

**b) Homojenizasyon ve Kùltür:** Direkt mikroskopisinde basil görùlmeyen patolojik materyaller homojenizasyona tabi tutuldu. Teksifi yapılacak numune üzerine hacminin 1-2 misli % 4'lük sodyum hidroksit ilave edildi. Belirli aralıklarla çalkalanarak 37 °C'lik etüvde 30-60 dakika bekletildi. 2000-3000 dev/dak'da santrifüj edildi.Çöküntü fazla alkalen olduğu için steril distile su ilave edilerek tekrar aynı devirde santrifüj edildi. Üst sıvı dökülerek dipteki çöküntüden preparat hazırlandı. Geri kalan 1 ml numune ekim için kullanıldı. Bu ekim sıvısı üzerine bir damla bromtimol indikatöründen eklendi.Sonra çöküntüye damla damla renk turuncu veya çağla yeşili oluncaya kadar % 3'lük HCl asit süsyonundan ilave edildi. Böylece nötr bir reaksiyon elde edildi. Bu numuneden ikişer adet (L-J) besiyerine gliserinli ve gliserinsiz olarak ekimi yapıldı.İki numune siyah kağıda sarılmış,iki numune de olduğu gibi etüvde 37 °C'de bir buçuk-iki ay bekletilerek her 5 günde bir kontrol edildi. Koloniler belirince bunlardan yayma preparatlar hazırlanıp aside rezistans bakteri (ARB) arandı. Üreyen ARB'nin üreme zamanı, renk teşekkülü ve koloni şekline bakılarak siyah kağıda sarılmış olanlarda üreme mevcutsa normal ışııkta 24 saat bırakılarak pigment teşekkül edip etmedikleri, incelenerek kaydedildi. Löwenstein-Jansen besiyerine pasajları yapıldı. Böylece çabuk üreyenler, geç üreyenler,fotokromojenler, skotokromojenler ve nonkromojenlerin ayırte dilmesine çalışıldı. Ekilen numuneler iki ay etüvde bekletildi.Bu sü-

re zarfında üreme göstermeyenler menfi kabul edilerek atıldı.

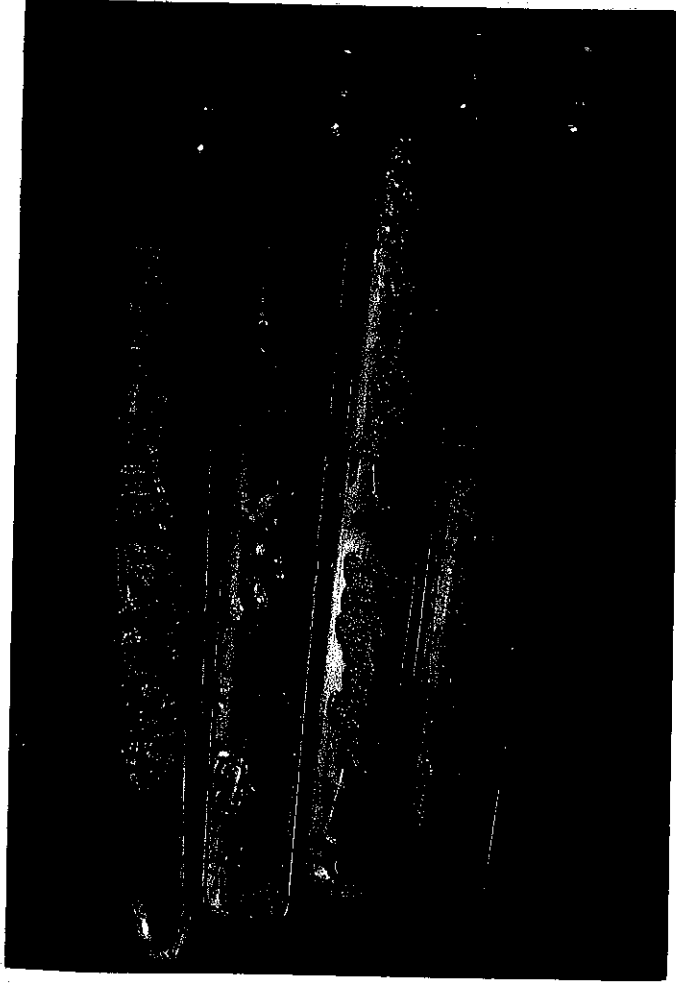
## 2. Biyokimyasal Testler:

Gliserinli ve gliserinsiz L-J besiyerinde üreyen mikobakterilerin üreme zamanları, koloni şekli ve büyüklüğü, ışıktta ve karanlıkta pigment meydana getirme durumları tesbit edildikten sonra, ileri tetkiklere geçildi. İleri tetkiklerde şu testler kullanıldı:

### A- Morfoloji

#### a) Koloni Rengi ve Şekli, Üreme Zamanı ve Isısı:

b) Boyama (Kord Faktörü): İnsan ve hayvan tipi tüberküloz basilleri yilankâvi şeritler oluşturmalarına rağmen avirülan basillerde ve saprofitlerde şeritler görülmez. Fotokromojenlerin bazılarında gevşek ve zayıf şeritler görülebilir. Kord faktörü araştırdığımız kültürlerden öze ile L-J besiyerine az miktarda ekim yapıldı. Kültür dik pozisyonda 37 °C'de bir hafta enkübe edildi, sonra besiyerinin kondensasyon sıvısından bir öze ile kültür dikkatlice alındı. Şayet besiyerinde su yoksa 0.5 ml SF ilave edildi, kültürü yaymaksızın temiz bir lam üzerine kondu, havada kurutulduktan sonra ısı ile tesbit edildi ve Z-N boyama metodu ile boyanarak mikroskop altında incelendi. Sonuç olarak pozitif bir testte değişen uzunluk ve kalınlıkta yilankâvi şeritler görülmesi pozitif, görülmemesi ise negatif olarak ka-



Şekil 1: Çeşitli Mikobakterilerin Koloni Görünümü ve Pigmentasyonu: a) Fotokromojen, b-d) M. tüberkülozis, c) Skotokromojen.

**TABLO 1:** Direkt Tetkik ve Kültür Sonuçlarına Göre Bulguların Analizi.

Tetkik Edilen MATERYALLER	D İ R E K T Materyal Sayısı	T E T K İ K A R B		Kültür-Üreme	
		+	%	+	%
İdrar	820	110	13.4	180	22.0
Balgam	615	42	6.8	74	12.0
AMS *	260	12	4.6	34	13.0
Mayiler	200	6	3.0	29	14.5
BOS **	71	6	8.4	18	25.3
Cerahat	34	4	11.7	10	29.4
<b>TOPLAM</b>	<b>2000</b>	<b>180</b>	<b>9.0</b>	<b>345</b>	<b>17.2</b>

**TABLO 2:** Direkt Bakı ve Kültür Yüzdeleri Arasındaki Pozitiflik ve Negatiflik Oranlarının Analizi.

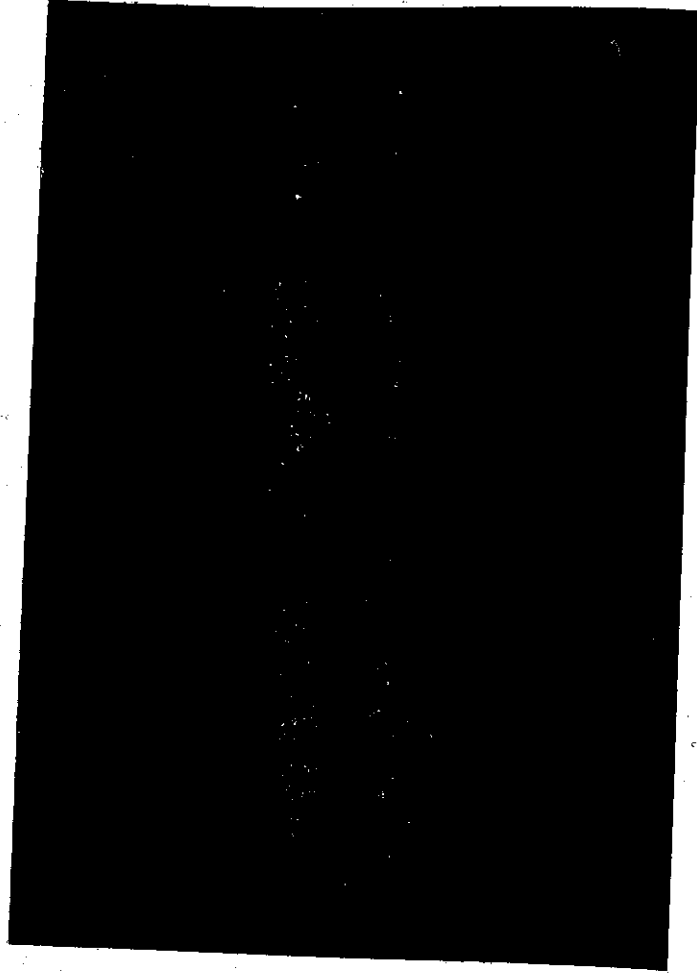
Tetkik Edilen MATERYALLER	Materyal Sayısı	Direkt(-) Kültür(-)		Direkt(-) Kültür(+)		Direkt(+) Kültür(-)		Direkt(+) Kültür(+)	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
İdrar	820	580	70.7	130	16.0	60	7.3	50	6.0
Balgam	615	533	86.7	40	6.5	8	1.3	34	5.5
AMS *	260	220	84.6	28	11.0	6	2.3	6	2.3
Mayiler	200	169	84.5	25	12.5	2	1.0	4	2.0
BOS **	71	50	70.5	15	21.1	3	4.2	3	4.2
Cerahat	34	24	70.6	6	17.6	-	-	4	11.8
<b>TOPLAM</b>	<b>2000</b>	<b>1576</b>	<b>78.8</b>	<b>244</b>	<b>12.2</b>	<b>79</b>	<b>4.0</b>	<b>101</b>	<b>5.0</b>

\* Açlık Mide Suyu

\*\* Beyin Omurilik Sıvısı



Kord faktörü, niasin, nitrat redüksiyon, inhibisyonsuz katalaz ve peroksidaz aktivite testleri pozitif, inhibisyonlu katalaz ve peroksidaz aktivite testleri negatif ise **M.tü - berkülozis**, kord faktörü pozitif, uyguladığımız diğer kimyasal testler negatif ise **M.bovis**, gevşek bir kord faktörü teşkil etmiş nitrat redüksiyon testi bazı suşlarda zayıf, diğer testler negatif ise 37 °C'de üreyen suşları ışığa maruz bırakılınca kolonileri sarı bir renk almışsa (pozitif foto indüksiyon) **atipik grup I** (fotokromojen), inhibisyonlu ve inhibisyonsuz katalaz testi pozitif, diğer testler negatif ve 37 °C'deki kültürü ışığa bırakıldığında renk değişikliği tesbit edilmemişse (negatif foto indüksiyon) **atipik grup II** (skotokromojen), uyguladığımız bütün testler negatif ise **atipik grup III** (nonkromojen), gevşek bir kord faktörü oluşturmuşsa, nitratı zayıf olarak redüklemişse inhibisyonlu ve inhibisyonsuz katalaz aktivitesi pozitif diğer testler negatif ise 1-5 gün arasında üremiş ise **grup IV** (Çabuk üreyen) olarak değerlendirildi (Tablo 4).



Şekil 2: M.Tüberkülozis'in Koloni Görünümü.

TABLO 6: Mycobacterium Tiplerinin İlaç Konsantrasyonlarına Göre Rezistan Durumları.

İLAÇLAR	İlaç Konsant-rasyonu (mcg/ml)	M Y C O B A C T E R İ U M		T İ P L E R İ		G r u p I V	
		M.humanis Adedi %	M.bovis Adedi %	Grup I Adedi %	Grup II Adedi %	Grup III Adedi %	Grup IV Adedi %
* INH	0.1 0.2 1.0	37 67.1 25 45.4 6 11.0	9 75.0 5 41.6 2 16.6	4 66.6 3 50.0 1 16.6	1 50.0 1 50.0 -	1 100.0 1 100.0 1 100.0	2 50.0 1 25.0 -
** SM	2.0 4.0 8.0	33 60.0 15 27.2 7 12.7	4 33.3 2 16.6 1 8.3	6 100.0 2 33.3 2 33.3	2 100.0 2 100.0 1 50.0	- - -	3 33.3 2 50.0 1 25.0
*** EMB	2.5 5.0 10.0	3 5.4 2 3.6 -	1 8.3 - -	2 33.3 - -	1 50.0 - -	- - -	5 25.0 - -
**** RMP	10.0 20.0 40.0	13 23.6 4 7.2 -	3 25.0 - -	1 16.6 - -	1 50.0 - -	- - -	- - -
***** TH	2.0 4.0 6.0	4 7.2 - -	- - -	1 16.6 - -	- - -	- - -	- - -

\* Izonikotinik asit hidrazid

\*\* Streptomisin

\*\*\* Ethambutol

\*\*\*\* Rifampisin

\*\*\*\*\* Thiacetazone

ğer araştırıcılar tarafından değişik nisbetlerde bulunmuştur. Farklılıklar, numune sayısının selektif graplardan alınmış olmasına bağlı olabilir. Direkt mikroskopide Gürses ve arkadaşları(24) % 9.7; Gürsel ve arkadaşları(25) % 13.8; Akkaynak(26) % 2.2; Gül ve arkadaşları(27) % 5.7; Kavak (28) bundan 3 yıl önce aynı yerde aynı şartlarda yaptığı çalışmada % 6.0 bulmuştur. Bizim oranımız ise % 9'dur. Bu farklılık eğer numune sayısından ileri gelmiyorsa hastalığın tırmanış yaptığı kanaati hasıl olmaktadır.

Direkt muayenesi yapılan 2000 adet patolojik materyalin L-J besiyerine ekimleri yapıldı. Kültür sonucunda idrarda % 22.0 (180), balgamda % 12.0 (74), AMS'da % 13.0 (34), mayilerde % 14.5 (29), BOS'da % 25.3 (18), cerahatte % 29.4 (10) oranındaki ARB üredi (Tablo 1).

Direkt mikroskopisi ve kültürü yapılan 2000 adet patolojik materyalin pozitiflik ve negatiflik oranı řu şekilde bulunmuştur; Direkt negatif-Kültür negatif materyaller % 78.8 (1576), Direkt negatif-Kültür pozitif materyaller % 12.2 (244), Direkt pozitif-Kültür pozitif materyaller % 5 (101), Direkt pozitif-Kültür negatif materyaller % 4 (79) oranında bulundu. Menemenli ve arkadaşları(29) 1977-1978 yıllarında buna benzer bir çalışma yapmışlar ve aşağıdaki bulguları elde etmişlerdir. Üzerinde çalıştıkları toplam 17766 numunede

Teksif negatif - Kültür negatif % 85.5 (15194)

Teksif negatif - Kültür pozitif % 6.3 (1116)

Teksif pozitif - Kültür pozitif % 6.2 (1119)

Teksif pozitif - Kültür negatif % 2 (337)

oranında bulmuşlardır. Bizim çalışmamız buna yakın benzerlik göstermektedir (Tablo 3).

Doğan ve arkadaşları(30) kesin tüberküloz tanısı konmuş hastaların idrarında % 57 oranında basil izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çintan ve arkadaşları(31) çeşitli materyallerden % 28.2'lik bir izolasyon sağlamışlardır.Özesmi ve arkadaşları(32) tüberküloz menenjit ön tanılı hastaların BOS materyallerinde % 9, Çetiner ve arkadaşları(33) % 8, Saygun(34) BOS'da % 11.3, idrarda % 3.8, pleura mayisinde % 3.1, cerahatte % 15.2; Kavak(28) çalıştığı değişik materyallerden balgamda % 6.8, idrarda % 7.1, BOS'da % 4.3, cerahatte % 6.2, AMS'de % 2.9 ve toplam neticesi itibari ile % 6.3 oranında basil izole etmiştir. Bizim çalışmamızda ise, toplam materyalin 345(% 17.2)'de kültürel ve % 9'da ise direkt muayene ile aside rezistans basil izole edildi.Böylece direkt mikroskopi ile kültür sonucu arasında % 8.2 oranında kültür lehine bir fark elde edilmiştir.Bu durum kültürün daha sağlıklı sonuç verdiğini göstermektedir.Bu farkın şu nedenlerden ileri geldiğini düşünüyoruz:

1. mm<sup>3</sup>'deki basil sayısı az olabilir,
2. Direkt muayenede basil ihtiva eden kısımdan preparat hazırlanmamış olabilir.

Direkt mikroskopisinde gördüğümüz fakat kültürde üre-

### **Peroksidaz Aktivitesi**

Mikobakterilerde bulunan peroksidaz enzimi brencatechin solüsyonu ile açığa çıkarıldı. Gürsel ve arkadaşları(42), Gül ve arkadaşları(27), Tezok ve arkadaşları(20) M.tüberkülozis olarak tesbit ettikleri suşlarda inhibisyonsuz peroksidaz testlerini pozitif, inhibisyonlu peroksidaz testlerini ise negatif bulmuşlardır.

Biz de çalışmamızda teste tabi tuttuğumuz, M.tüberkülozis tipi suşlarda, inhibisyonsuz peroksidaz aktivitesini pozitif, inhibisyonlu peroksidaz aktivitesini negatif olarak bulduk. Diğer bütün mikobakterilerde inhibisyonlu ve inhibisyonsuz peroksidaz aktivitesini negatif olarak tesbit ettik (Tablo 4).

### **Kord Faktörü**

Bloch(17) 1960'da mikobakterilerin kord faktörünü, virülan tüberküloz basillerinden saf olarak elde etmiştir. Mikobakterilerin üzerini kaplayan lipidler kord'un teşekkülünü sağlamaktadır diye tarif etmiştir. Çalışmalarında bu faktörün sadece virülan mikobakterilerde bulunduğunu göstermiştir. Kord faktörünün Trehaloso-6, 6-D myolate yapısında olduğunu ve moleküldeki D maddesinin durumu bakterinin tipine göre değiştiğini bildirmiş, balmumunun yarısını mikolik asit ve yarısını da poliyozit teşkil ettiğini avirülanlarda bunun görülmediğini ve virülan olanlarda bulunduğunu bildirmiştir.

Gürsel(43) bu faktörü % 98, Kavak(28) % 76.3 oranında tesbit etmişlerdir. Biz çalıştığımız 80 suşun % 91.2'sinde pozitif bulduk (Tablo 4).

#### **Mikobakterilerin Tüberkülostatiklere Karşı Rezistans Durumu**

Nasıl ki; antibiyotiklerin tedaviye girmesi ile bakterilerde rezistans suşlar oluşmuşsa, tüberkülostatiklerin tedaviye girmesi ile de mikobakterilerde rezistans suşlar oluşmuştur.

Akkaynak(26) 1970'de tüberküloz epidemiyolojisi üzerine yaptığı çalışmalarda izole ettiği humanis tipi basil-lerin majör ilaçlara karşı dirençlilik durumlarını araştırmış, INH'de % 30.5, SM'ne % 22.0; Selroos(44) 1965'de Finlandiya'da INH'de % 47.0, SM'ne % 26.0; Gül ve arkadaşları (27) 1983'de Diyarbakır'da INH'de % 23.6, SM'ne % 19.5, RMP'ne % 0.4, EMB'le % 0.6; Kavak(28) 1982'de Kayseri'de INH'de % 19.8, SM'ne % 26.4, RPM'ne % 9.3, EMB'le % 17.2; Gürsel ve arkadaşları(45) 1971 yılında "Nuh Naci Yazgan Verem Hastanesi" nce gönderilen suşlarda INH'de % 40.5, SM'ne % 31.8 oranında rezistans suş tesbit etmişlerdir. TH'na ise bütün suşlar hassas bulunmuştur.

Çalışmamızda teste tabi tutulan suşların, INH'ın 0.2 mcg/ml'de % 45.0, SM'nin 4 mcg/ml'sinde % 28.8, EMB'lün 5 mcg/ml'de % 2.5, RMP'nin 20 mcg/ml'de % 5 oranında rezistans

suş tesbit ettik, TH'un 4 mcg/ml'de ise rezistans suş tesbit edemedik. Bulgularımız yukarda bildirilen rakamlardan oldukça farklılık göstermektedir. Bulgular ilaçlara karşı rezistanslık durumunun gittikçe arttığını ifade etmektedir. Bununla beraber çalışmamızda ilaç konsantrasyonlarının artırılması ile rezistanslık durumunun azaldığını da tesbit ettik (Tablo 5, 6). Tedavide ilaç konsantrasyonunun arttırılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.

Çalışmamız bölgemizde tüberküloz tedavisinde izoniazid ve streptomisinden ziyade thiacetazone, ethambutol ve rifampisin kullanılmasının zorunlu olduğunu göstermektedir (Tablo 5).



## SONUÇ

Kayseri ve yöresi sağlık kuruluşları ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakóltesi poliklinik ve servislerinden tüberküloz ön tanılı olan ve olmayan 2000 adet patolojik materyal çalışıldı. Bu numunelerin direkt mikroskopisi ve Löwenstein-Jansen besiyerine kültürü yapıldı. Kültürde üreyen mikobakterilerin morfolojik (üreme zamanı, üreme ısısı, pigment durumu, koloni şekli) ve kimyasal özellikleri araştırılarak tiplendirmeye çalışıldı. Ayrıca tüberkülostatlara karşı dirençlilik ve hassasiyet durumları araştırıldı.

Direkt mikroskopisi ve kültürü yapılan patolojik materyalin % 9'unda direkt mikroskopi ile, % 17.2' sinde ise kültürle aside dirençli bakteri tesbit edildi. Direkt mikroskopi ve kültür sonuçları ile ilgili bulguların analizi Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir. Mikobakterilerin tüberkülostatlara rezistans durumu Tablo 5 ve Tablo 6'da özetlendi.

Tüberküloz prevalensi ailelerin sosyo-ekonomik, sosyo-kültürel durumlarıyla yakından ilgilidir. Bu cümleden olarak sosyo-ekonomik ve sosyo-kültürel düzeyi düşük olan ailelerde tüberküloz prevalensi daha yüksektir.

Tüberkülostatiklere karşı yaptığımız antibiyogram sonucunda, izoniazid ve streptomisin gibi klâsik tüberkülostatikler ya yüksek dozda uygulanmalı veya izoniazid ve streptomisinle tedavilerde başka bir tüberkülostatik daha verilmelidir. Çalışmamızda thiacetazone'a karşı rezistans suş tespit etmedik. Buna göre bölgemizde birinci derecede etkili tüberkülostatığın thiacetazone, ikinci derecede, ethambutol ve üçüncü derecede rifampisin bulunmuştur. Bulguların analizi Tablo 5 ve Tablo 6'da özetlendi.

## ÖZET

Ağustos 1984-Ağustos 1985 tarihleri arasında Kayseri ve yöresinde hastalardan alınan 2000 adet patolojik materyal aside dirençli bakteri yönünden direkt mikroskopi ve kültür yöntemleriyle incelendi. Direkt mikroskopi ile % 9 kültür yöntemleriyle % 17.2 oranında aside dirençli bakteri tesbit edildi. Üreyen mikobakterilerin ve tiplendirmeye tabi tutulan 80 adet mikobakteri suşunun üreme zamanı, üreme ısısı, pigment durumu ve koloni şekilleri incelenerek kord faktörü, niasin, nitrat redüksiyon, inhibisyonlu ve inhibisyonsuz katalaz ve peroksidaz gibi morfolojik ve kimyasal testlere tabi tutularak identifikasyonu yapıldı.

80 adet mikobakteri suşunun 55(% 68.7)'i M.tüberkülozis, 12(% 15)'si M.bovis, 6(% 7.5)'sı Grup I (fotokromojen) 2(% 2.5)'si Grup II (skotokromojen), 1 (% 1.3)'i Grup III

(nonkromojen) ve 4(% 5)'ü Grup IV (çabuk üreyen) olarak bulunmuştur.

Ayrıca, 80 adet mikobakteri suşunun majör ve minör tüberkülostatiklere karşı hassaslık oranları ortalama ilaç konsantrasyonuna göre şöyle bulunmuştur.

INH'din 0.2 mcg/ml'deki konsantrasyonunda	% 55
SM'nin 4 mcg/ml'sindeki konsantrasyonunda	% 71.2
RMP'nin 20 mcg/ml'sindeki konsantrasyonunda	% 95.0
EMB'nin 5 mcg/ml'sindeki konsantrasyonunda	% 97.5
TH'nin 4 mcg/ml'sindeki konsantrasyonunda	% 100

oranında hassasiyet elde edilmiştir (Tablo 5).

#### KAYNAKLAR

1. Buhler, V.B., and Pollak, A.: Human infection with atypical fast organisms, Am.Clin.Path., 23, 363, 1953.
2. Öktem, Z.: Mycobacterium, Tıbbi bakteriyoloji, İstanbul Üniv.Yayınları, No:836, 2, 621, 1955.
3. Serter, F., Bilgehan, H.: Mycobacteriaceae, Klinik Mikrobiyoloji, Ege Üniv.Yayınları, Bornova, s:315, 1978.
4. Fazlı, A.Ş.: İbn-i Sina Tababetinde hastalık etkeni Mikroorganizmalar Hümorale Patoloji ve İmmüno-  
loji, İBN-İ SİNA, Erciyes Üniv.Yayınları, Kayseri, s:109, 1984.
5. Yazıcıoğlu, S.: Tüberküloz teşhis ve tedavi, Diyarbakır Üniv.Tıp Fak.Yayınları, No:21, 1981.
6. Gürsel, A.: Enstitümüzde tecrit olunan tüberküloz şuş-  
larında tıp tayinleri, Türk Hij.ve Tec.Biol.  
Derg., 15/1:32, 1955.

7. Fregnan, G.B., Smith, O.W.: Description of various colony forms of mycobacteria, *J.Bact.*, 83:819, 1962.
8. Gürsel, A.: Türkiye'de izole edilen atipik AAR tüberküloz mikobakterisi adını alan suşların bakteriyolojik, sitolojik ve bioşimik karakterleri ile laboratuvar tecrübe hayvanlarında patojeniteleri, *Türk Hij. ve Biol.Derg.*, 10/3, 367, 1960.
9. Pope, H., et Smith, D.T.: Synthesis of B-Complex vitamins by tübercle bacilli when grown on synthetic media, *Am.Rev.Tbc.*, 54, 559, 1946.
10. Konno, K.: Niacin metabolism in mycobacteria, *Am.Rev. Res.Dis.*, 91:383, 1965.
11. Bönicke, R., Lisboa, B.P.: Neura chemische verfahren zum nachweis der niacin bildung der tuberkul-bakterien und ihre bedeutung für die typen differenzierung, *Der Tüberküloze Arzt*, 12:380, 1968.
12. Estrada, R.C., and Patino, H.: Nikotin acide bio synthesis by mycobacterium tübercülosis, *J.Bact.*, 81:871, 1962.
13. Virtanen, S.: Biochemical reactions a study of nitrat redüction test in the identification of mycobacteria, *Acta Tuber.Scand.*, 48:365, 1960.
14. Bonicke, R.: L' identification des mycobacteries a L' aide des methodes biochimiques, *Bull de L' - union internation ale centre Lu tübercülosis*, 32/1:34, 1962.

15. Dusbar, I.P., Mc Alister, E., Jefferies, M.B.: Catalase and Peroxidase activities of isoniazid susceptible and rezistant strains of M.tüberküloz, Am. Rev.Tbc., 79:669, 1959.
16. Middlebrook, G., Dubos, R., and Pierce, C.: Virülance and morphological characteristics of mammalian tubercle bacilli, J.Experm.Med., 86:175, 1947.
17. Bloch, H.: Enzimatik characteristic of suspançion of different mycobacteria, Am.Rev.Tub., 61:270, 1950.
18. Wayne, L.G., Krasnow, I., Huppert, M.: Characterization of atypical mycobacteria and of nocardia species isolated from clinical specimens. T.characterization of atypical mycobacteria by means of the microcolonial test, Am.Rev.Tbc., 76: 451, 1957.
19. Ülgenalp, I.: Rezistans ve Tüberküloz basili, VIII.Türk Tüberküloz Kongresi, 15-18 Mayıs 1967, Diyarbakır, Ongun Kord Matbaası, s:57, 1969.
20. Tezok, F.: Tüberküloz 'da rezistans problemleri, Tüb. ve Tor., 14:527, 1966.
21. Gürdağ, G.: Tüberkülozun bakteriyolojik teşhisinde hatalara sebep olan mikobakterilerin kati identifikasyonu üzerine yapılan çalışmalar, Ankara Üniv.Tıp Fak., 1968.
22. Gürsel, A.: Tüberkülozda bakteriyolojik teşhis, Türk Hij. Tec.Biol.Derg., 15-2:230, 1954.

23. Jawetz, E., and et al.: Mycobacteria, Tıbbi Mikrobiyoloji, (çevirenler; M. Akman, E. Gülmezoğlu) Hacettepe Üniv. Yayınları, s:225-285, 1976.
24. Gürses, H., Biltay, Ü., Ayaş, G.: 165 primer tüberkülozlu ve çevresi, Tüb. ve Tor., 19:260, 1971.
25. Gürsel, A., Gürdağ, G.: Tüberküloz mücadelesinde bakteri-yoloji laboratuvarının teşhis ve tedavi yönün-den değeri ile bölge laboratuvarımızda yapı-lan çalışmalara göre muhtelif teşhis usulle-rinin hassasiyet dereceleri üzerine bir etüd, Tüb. ve Tor., 17:14, 1969.
26. Akkaynak, S.: Yozgat ili tüberküloz tedavi projesi uy-gulanan ve uygulanmayan bir kısım köylerinde tüberküloz epidemiyolojisinin mukayeseli araş-tırması, Tüb. ve Tor., 18:439, 1970.
27. Gül, K., Bingöl, R., Arıkan, E., Mete, Ö., Sarnıç, H.: Tüberkü-loz ön tanılı hastalardan Mycobacterium tüber-cülosis suşlarının izolasyonu, izolasyon oran-ları ve tip tayinleri, Dicle Üniv. Tıp Fak. Derg., 10:3-4;371, 1983.
28. Kavak, M.: Kayseri ve yöresinden izole edilen mikobak-terilerin kimyasal yöntemlerle tiplendirilme-si ve tüberkülostatiklere karşı hassasiyeti, Kayseri Üniv. Gevher Nesibe Tıp Fak., 1982.
29. Menemenli, N., Saygun, N., Beder, S., Ata, G.: Tüberküloz ta-nımında ARB kültürünün değerlendirilmesi, Tüb. ve Tor., 27-4:181, 1979.
30. Doğan, R., Özesmi, M., Barış, I., Fat, Z.: Üriner sistem tü-berkülozu, Tüb. ve Tor., 20:298, 1972.



31. Çintan, B., Öncel, İ.: Erenköy senatoryumunda son iki yıl içinde yapılan bakteriyolojik muayene sonuçlarının klinik ve tedavi gruplarında gösterdiği değişiklikler, Tüb. ve Tor., 20:320, 1966.
32. Özesmi, M., Barış, İ.: Çocuklarda milyer ve menenjit tüberküloz, Tüb. ve Tor., 19:92, 1971.
33. Çetiner, M., Yalçın, C., Fıratlı, T., Fincancıoğlu, K.: 1965-1969 yılları arasında Atatürk senatoryumu çocuk bölümüne yatan menenjit tüberküloz vakalarının değerlendirilmesi, Tüb. ve Tor., 19:98, 1971.
34. Saygun, N.: 1968-1971 yıllarında A.Ü.Tıp Fak.Göğüs Hastalıkları kliniği bakteriyoloji laboratuvarında değişik materyallerden izole edilen mikobakteri oranı, tüberkülostatiklere direnç durumları ve tipleri, Tüb. ve Tor., 21:491, 1973.
35. Unat, E.K.: Mycobacterium cinsi, Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Yayınları, 312-361, 1982.
36. Ogawa, T. et. Otani, N.: Niacin test for differentiation of M.tüberküloz var.humanus from other acid fast bacili. III.effect of length of culture, Bull. Inst.Past., 62-7:1891, 1964.
37. Gürsel, A., Atay, N.: Mikobakterilerde Nikotik asit metabolizması ve bunun identifikasyon ve klasifikasyondaki değeri, Tüb. ve Tor., 18:155, 1970.
38. Wayne, L.G., Boubek, J.R.: Classification and identification of mycobacteria. II.test Employing Nitrat and Nitrit as a substrate, Am.Rev.Resp. Dis., 91:738, 1967.

39. Kubica, G.P., Jones, W.D., Abbott, V.D., Beam, R.E., Kilburn, J.O., Jerome, C., and Cater, J.R.: Differential identification of mycobacteria, I. test on catalase Activity, Am.Rev.Resp.Dis., 94:400, 1966.
40. Gürsel, A.: Mycobakterilerde katalaz aktivitesi, Tüb.ve Tor., 7/1-2:105, 1959.
41. Van Liew, R.M.: Observations on the catalase activity of tubercle bacilli, Am.Rev.Tbc., 76:1007, 1957.
42. Gürsel, A., Gürdağ, G., Biçen, E., Atay, N.: Son üç yıl zarfında (1969-1971) laboratuvarımızda izole edilen veya izole edilmiş olarak gelen mikobakteri suşlarının identifikasyon sonuçları, Tüb. ve Tor., 21/4'den "ayrı baskı", Yeni Desen Matbaası, Ankara, 1973.
43. Gürsel, A.: Türkiye'de tarafımızdan izole edilen mikobakterilerin bio ve sitoşimik olarak klasifikasyonu üzerinde bir etüd, Tüb. ve Tor., 10/3-4:117, 1962.
44. Selroos, O.: Drug susceptibility in pulmonary tuberculosis, Excep.Med.Mic., 96:231, 1965.
45. Gürsel, A., Atay, N., Gürdağ, G., Biçen, E.: Türkiye'de major ve minor tüberkülostatlere karşı direnç durumu, Tüb. ve Tor., 20:267, 1972.