

Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kompleks Suşlarının Major Anti-tüberküloz İlaçlara Duyarlılıkları †

Mustafa Altay ATALAY, Selcan ÇOLAKOĞLU, Safiye DELİCE, Süleyman DURMAZ, A. Nedret KOÇ, Hüseyin KILIÇ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTK) suşlarının major anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 32 MTK suşunun ilk dört seçenek anti-tüberküloz ilaca [izoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETM) ve streptomisin (S)] karşı duyarlılıkları BACTEC TB 460 sistemi ile incelendi.

Bulgular: Tekli ilaca direnç oranları, S için % 15,6, INH için % 18,7 RIF ve ETM için % 0 olarak bulundu. Birden fazla ilaca (INH+S) direnç yalnızca bir (% 3,1) suşa görüldü.

Sonuç: Direnç profilinin tam olarak belirlenmesi için daha çok suşla yapılacak kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğu düşünüldü.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi, tüberküloz, anti-tüberküloz ilaç duyarlılığı

SUMMARY

Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Strains Isolated from Various Clinical Samples to Major Anti-tuberculosis Drugs

Objective: This study was aimed to determine the susceptibilities of the *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from various clinical samples at Mycobacteriology Laboratory of Department of Medical Microbiology, Erciyes University Medical Faculty, Kayseri to major anti-tuberculosis drugs.

Materials and Methods: The susceptibilities of 32 *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from various clinical samples were determined to the four first-line anti-tuberculosis drugs [isoniazid (INH), rifampin (RIF), ethambutol (ETM) and streptomycin (S)] by the BACTEC TB 460 system.

Results: The rates of mono-drug resistance were 15.6 % for S, 18.7 % for INH, 0 % for RIF and 0 % for ETM. Only one strain (3.1 %) was resistant to more than one drug (INH+ S).

Conclusion: Larger scale studies are needed for the determination of the resistance profile of *M. tuberculosis* complex strains to the major anti-tuberculosis drugs in our region.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis* complex, tuberculosis, Anti-tuberculostatic drug susceptibility

GİRİŞ

Tarihin en eski hastalıklarından olan tüberküloz, günümüzde de ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTK) tarafından oluşturulan, sıklıkla akciğerleri

tutan ama tüm sistemleri de etkileyebilen bir hastalıktır ⁽¹⁾. *Mycobacterium* cinsi *Mycobacteriaceae* ailesi içinde yer alan aerob, hareketsiz, sporsuz 0.2-0.6x1.0-10 mm boyutlarında hafif kıvrık veya düz dallanabilen çomaklardır ⁽²⁾. Tüberküloz kuşkulu olguların örneklerinde aside dirençli bakteri görülmesi ve kül-

Alındığı tarih: 03.01.2011

Kabul tarihi: 20.04.2011

Yazışma adresi: Mustafa Altay Atalay, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 38039 Melikgazi, Kayseri

e-posta: altayatalay@gmail.com

†Bu çalışma XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur (7-11 Kasım 2010, Girne KKTC).

türlerinde üremenin olması ile tanı konur. Tüberkülozdan korunmada en etkin yöntem, hastaların erken tanısı ve tedavisidir. MTK'ya karşı ilaç direncinde de son yıllarda ciddi bir artış gözlenmektedir ⁽³⁾.

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen her biri farklı bir hastaya ait, rastgele klinik örneklerden izole edilen MTK suşlarının major anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada 2008-2009 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen, farklı hastalara ait rastgele klinik örneklerden izole edilen 32 yeni olguya ait MTK suşunun anti-tüberküloz ilaçlara direnci (primer direnç) incelenmiştir. Örneklerin 11'i doku, sekizi bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı, sekizi balgam, üçü plevral mayi, biri periton mayi ve biri de beyin omurilik sıvısı (BOS) olup, örneklerin ekiminde Löwenstein-Jensen (LJ) ve radyometrik sıvı besiyerleri (BACTEC 12B; Becton Dickinson, USA) kullanılmıştır. Steril olmayan örnekler homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerini takiben; steril vücut sıvıları ise homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemleri yapılmadan pH'ı ayarlanarak BACTEC 12B şişelerine ve LJ katı besiyerine ekilmiştir. Homojenizasyon ve dekontaminasyon amacı ile örnekler % 2 NaOH ve N-asetil L-sistein ile 15 dakika muamele edilmiş, fosfat tamponlu su eklenerek 3.000 g'de 15 dakika santrifüje edilerek yoğunlaştırılmış, sedimentin pH'sı 6.8'e ayarlanarak ekimleri yapılmıştır. Klinik örnekler BACTEC 12B sıvı besiyerinde 45 gün 37°C, LJ katı besiyerinde 60 gün 37°C ve 25°C de inkübe edilmiştir. BACTEC 12B sıvı besiyerleri inkübasyon süresinin ilk iki haftasında haftada iki kez, sonraki dört haftada ise haftada bir kez sistemde okutulmuştur. LJ besiyerleri haftada bir kez kontrol edilmiştir. Kültürlerde üreme olduğunda, aside dirençli bakteri varlığı aside dirençli boyama yöntemi ile kontrol edilmiş ve subkültürleri yapılmıştır. MTK'nın, *M. tuberculosis* dışı mikobakterilerden (MOTT) ayırımında BACTEC NAP testi kullanılmış ve MTK olarak tanımlanan suşların major anti-tüberküloz ilaçlara direncine ise BACTEC 460 TB

sistemi (Becton Dickinson, USA) ile bakılmıştır. Üreme saptanan besiyerlerinden ayrı ayrı yeni 12B besiyerlerine 6 µ/ml streptomisin (S), 0.2 µ/ml izoniazid (INH), 2 µ/ml rifampisin (RIF) ve 7.5 µ/ml etambutol (ETM) ilave edilerek pasajları yapılarak test edilen ilacın bulunduğu besiyerindeki GI değeri kontrol besiyerindeki GI değeri ile karşılaştırılmış ve üreyen mikobakterilerin ilaç duyarlılıkları belirlenmiştir ⁽⁴⁾. NAP ve anti-tüberküloz duyarlılık testlerinin kalite kontrol işlemleri için ise standart *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) suşu kullanılmıştır.

BULGULAR

Hastanemiz mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli örneklerden izole edilen ve rastgele seçilen 32 MTK suşu çalışmaya alındı. Otuz iki MTK suşunun 10'unda (% 31.25) herhangi bir anti-tüberküloz ilaca karşı direnç saptandı. Toplam ilaç direnç, S için beş (% 15.6), INH için altı (% 18.7) olarak bulundu. RIF ve ETM için ilaç direnci görülmeydi. Birden fazla ilaca direnç, bir suşta (%3.1) görüldü ve bu suş INH ve S'ne dirençliydi. Suşların dokuzu (% 28.1) tek ilaca dirençliydi. Tek ilaç direnç oranı INH ve S için sırasıyla beş (% 15.6) ve dört (% 12.5) olarak bulundu. İki'den fazla ilaca direnç görülmeydi. Çalışılan 32 MTK suşunun anti-tüberküloz ilaç duyarlılıkları Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. *M. tuberculosis* kompleks suşunun anti-tüberküloz ilaçlara direnç durumu.

Anti-tüberküloz ilaç	Dirençli suş sayısı (%)
İsoniazid	5 (% 15.6)
Streptomisin	4 (% 12.5)
Rifampisin	0
Etambutol	0
İsoniazid + Streptomisin	1 (% 3.1)

TARTIŞMA

Tüberküloz uzun yıllardan beri tedavi edilebilen bir hastalık olmasına rağmen, halen insanlığı tehdit eden sağlık sorunları arasında ön sıralarda yer almaktadır ⁽⁵⁾. Tüm dünyada son 15 yıldır giderek artan yoğunlukta bir sağlık sorunu olarak yeniden gündem oluşturan tüberküloz, HIV'e bağlı olarak artış gösteren dirençli, çok ilaca dirençli ve genişletilmiş ilaç

dirençli *M. tuberculosis* ile yalnızca gelişmekte olan ülkelerin değil, gelişmiş ülkelerin de sorunu haline gelmiştir⁽⁶⁾. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSO) verilerine göre dünya çapında 2008 yılında yaklaşık 440.000'den çok ilaca dirençli tüberküloz hastası vardır⁽⁷⁾. Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tüberküloz yıllardan beri ciddi öneme sahip bir hastalıktır. Türkiye genelinde tüberküloz insidansı yüz binde 28.1'dir. Bu oran Avrupa tüberküloz sürveyans raporuna göre yüz binde 27.8 olarak hesaplanmış ve en düşük insidans (yüz binde 14.3) İç Anadolu bölgesinde saptanmıştır⁽⁸⁾. Tüberküloz ile mücadeledeki başarıların değerlendirilmesi, sağlıklı verilerin elde edilmesi, gerçek direnç oranlarının belirlenmesi açısından epidemiyolojik verilerin önemi büyüktür.

BACTEC 460 TB sistemiyle yapılan anti-tüberküloz ilaç duyarlılık testi, proporsiyon yöntemine dayalı olup Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır ve tanı laboratuvarlarında ilk seçenek anti-tüberküloz ilaçlar için kullanılmaktadır. Aktaş ve ark.⁽⁹⁾ 50 *M. tuberculosis* suşunun S, INH, RIF ve ETM'e karşı duyarlılıklarını agar proporsiyon yöntemi (APY) ile araştırdıkları çalışmalarında, S, INH, RIF ve ETM direncini sırasıyla % 30, % 48, % 28 ve % 8 oranında bulmuş ve tüm ilaçlar için APY ile alınan sonuçların BACTEC 460 TB ile %100 uyumlu olduğunu bildirmiştir. Yurtsever ve ark.⁽¹⁰⁾ 238 *M. tuberculosis* suşunun S, INH, RIF ve ETM'e karşı direnç oranlarını BACTEC 460 TB sistemiyle sırasıyla % 19.7, % 42, % 40.8 ve % 18; LJ'de proporsiyon yöntemiyle ise sırasıyla % 22.7, % 38.7, % 37 ve % 15,5 olarak saptanmış ve iki yöntem arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmediğini bildirmiştir. BACTEC 460 TB sistemi kullanarak yaptığımız çalışmada, toplam ilaç direnç oranları S için % 15.6, INH için % 18.7 idi. Birden fazla ilaca direnç % 3.1 oranında görüldü.

Tüberküloz tedavisinde yetersiz ve/veya yanlış uygulamalar anti-tüberküloz ilaçlara karşı dirençli *M. tuberculosis* suşlarının artmasına neden olmaktadır⁽¹¹⁾. Çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB); iki veya daha fazla major anti-tüberküloz ilaca dirençli MTK'nin neden olduğu tüberküloza verilen isimdir. INH-RIF direnci en sık görülen çoklu ilaç direncidir⁽¹²⁾. İstanbul'da beş yıl ara ile yapılan iki ilaç duyarlılık testi sonucu karşılaştırıldığında, en az bir ilaç direnci,

hem yeni hem de tedavi görmüş olgularda azalırken, ÇİD'nin ise yeni olgularda iki katına çıktığı, tedavi görmüş olgularda bu sayının azaldığı belirtilmiştir⁽¹³⁾. Ankara bölge tüberküloz laboratuvarında ise bir yılda ortalama 21 ÇİD-TB tanısı konulduğu vurgulanmaktadır⁽¹³⁾. Zer ve ark.⁽¹⁴⁾ yaptıkları bir çalışmada, herhangi bir ilaca direnç oranını % 23.6 olarak bulmuş ve bu çalışmada da tek ilaç direncinde birinci sırayı INH'in aldığını, çok ilaca direncinin ise % 9.72 oranında olduğunu bildirmiştir. Baylan ve ark.⁽³⁾ yaptıkları benzer bir çalışmada, herhangi bir ilaca direnç oranının % 12.7 olduğunu, tek ilaç direncinde birinci sırayı INH'in aldığını ve çok ilaca direncin ise % 3.2 olduğunu bildirmiştir. Diğer bir çalışmada herhangi bir ilaca direnç oranının % 34 olduğu, INH'in tek ilaç direncinde ilk sırayı aldığı ve çoklu ilaç direnç oranının ise % 5 olduğu bulunmuştur⁽¹⁵⁾. Bu çalışmada bulunan, herhangi bir ilaca ve birden fazla ilaca direnç oranlarına baktığımızda bazı çalışmalarından yüksek olsa da diğer bazı çalışmalardaki oranlara yakın bulunmuştur. Tüm diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da INH, tekli ilaç direnç oranında ilk sırada yer almaktadır.

Sonuç olarak, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *M. tuberculosis* kompleks suşlarının birden çok ilaca direnç oranlarının düşük seviyede olması sevindirici olmakla beraber, herhangi bir anti-tüberküloz ilaca direnç oranı azımsanamayacak ölçüdedir. Çalışılan suş sayısı, gerçek direnç durumunu göstermek için yetersiz olsa da saptanan ilaç direnç oranları, tedaviye doğru yön vermek adına, ilaç duyarlılık testi çalışmalarının yapılması gerektiğini göstermesi bakımından önemlidir. Bölgemizde gerçek ilaç direnç durumu için, daha çok suşla yapılacak daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Kıyan M. *Mycobacteriaceae*. In: Ustaçelebi Ş, ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Birinci baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 419-61.
2. Pfyffer GE. *Mycobacterium*; general characteristics, laboratory detection, and staining procedures. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, YH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington DC: ASM Press, 2003:532-59.
3. Baylan O, Kısa Ö, Albay A, Doğançlı L. Mikobakteriyoloji laboratuvarımızda 2002 yılında tüberküloz olgularından izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşları ve anti-tüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları. *Gülhane Tıp Derg* 2003; 45:256-62.

4. Orhan G, Zer Y, Balcı İ, Bayram A, Korkmaz G. Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2002; 32:225-9.
5. Korkmaz G, Balcı İ, Bayram A, Karşıl T. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks kökenlerinin birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığının saptanmasında BACTEC ve agar proporsiyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2006; 20:7-14.
6. Köksal F. *Mycobacterium tuberculosis*'te direnç problemi. I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, 12-16 Kasım 2011, Antalya: Türkiye. Sayfa 92-4.
7. World Health Organization. Global report on surveillance and response. Geneva: World Health Organization. 2010 [http://www.who.international]. PMID:22090293
8. Albay A. Tüberkülozda son durum. XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı, 21-25 Ekim 2008, Bodrum: Türkiye. Sayfa 211-7.
9. Aktaş E, Özkütük N, Sürücüoğlu S, Gazi H, Çakmak R, Özbakkaloğlu B. *Mycobacterium tuberculosis*'in birinci seçenek anti-tüberküloz ilaçlara karşı duyarlılığının belirlenmesinde dört farklı yöntemin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2008; 22:43-8.
10. Yurtsever SG, Biçmen C, Gündüz AT, Özkütük N, Salman S, Demirci M. Comparison of proportion method in löwenstein-jensen medium with the BACTEC 460 TB system for anti-mycobacterial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45:623-31.
11. Aslan G, Deliagaoğlu N, Emekdaş ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının izoniyazid, rifampisin, streptomisin ve etambutol duyarlılıklarının BACTEC yöntemi ile belirlenmesi. *ANKEM Derg* 2005; 19:43-7.
12. Ekşi F, Zer Y, Karşıl T, Bayram A, Balcı İ. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının major anti-tüberküloz ilaçlara direnç oranları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2009; 39:89-93.
13. Özkara Ş. Dünyada ve Türkiye'de çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB). VI. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu Kitabı, 23-25 Kasım 2006, Ankara: Türkiye. Sayfa 197-204.
14. Zer Y, Çiçek H, Mehli M, Bayıl S, Balcı İ. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2006 yılları arasında tüberküloz hastalarından soyutlanan mikobakterilerin anti-tüberküloz ilaç direnci. *Klinik Derg* 2007; 20:20-2.
15. Dündar D, Sönmez G. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi izolatlarının primer anti-tüberküloz ilaçlara direnç oranları. *Klinik Derg* 2009; 22:52-4.