

**MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ BAZI
ANTİTÜBERKÜLOTİKLERE İN-VİTRO RESİSTANS DURUMU**
The in-vitro rezistance of mycobacterium tuberculosis strains
to some antituberculosios

Mustafa Özcan¹, Ramazan Demir², İnci Gülmez³, Mustafa Özesmi², Şir Ahmet Fazlı⁴

Tüberküloz tedavisinde en önemli sorunlardan birisi rezistans problemidir. Tüberkülozda, primer sekonder ve çapraz olmak üzere üç türlü rezistansın mevcut olduğu bildirilmektedir. Daha önce hiç tedavi görmemiş hastaların materyallerinden üretilen basillerin antitüberkülotiklere dirençli olması primer rezistansdır. Kısa veya uzun bir süre tedaviden sonra, bu ilaçlara rezistan suşların gelişmesi ile sekonder rezistans oluşur. Bir ilaca dirençli mikobakterilerin, o ilaca kimyasal ve biyolojik bağlantısı olan, başka ilaçlara da direnç göstermesi çapraz rezistans olarak adlandırılmaktadır (14,17). Aslında rezistansı, primer ve sekonder diye ayırmak yapay bir sınıflandırma olmaktadır. Çünkü, primer rezistans bulunan bir hastanın, daha önce sekonder rezistans kazanmış basille enfekte birinden enfeksiyon alması mümkündür. Bu da dolaylı bir sekonder rezistans olmakla birlikte, dış görünüş itibarıyla primerdir.

Biz bu çalışmada, yöremizde izole ettiğimiz mikobakterilerin tiplendirilmesini ve en çok kullanılan tüberküloz ilaçlarına karşı rezistans durumlarını belirlemeyi amaçladık.

METODLAR

1992-1993 yıllarında, EÜ Gevher Nesibe Hastanesi ile Nuh Naci Yazgan Göğüs Hastanesi tüberküloz tanımlı hastaların değişik örneklerinden üretilen ve tür tayini yapılan 205 adet M.tuberculosis suşunun

antitüberkülotiklere karşı hassasiyeti proporsiyon yöntemiyle incelendi (12,14).

a. Antitüberkülotikleri ihtiva eden Lowenstein-Jensen (L-J) besiyerinin hazırlanması: Tüberküloz tedavisinde bugün en çok kullanılan antitüberkülotikler L-J besiyerine aşağıdaki konsantrasyonlarda ilave edildi.

Kullanılan ilaçlar	Besiyerindeki mcg/ml	İlaç konsantrasyonu mcg/ml
1. İzoniazid (INH)	0.2	1.0
2. Streptomisin (SM)	4.0	8.0
3. Rifampin (RMP)	20.0	40.0
4. Ethambutol (EMB)	5.0	10.0

b. Basil süspansiyonunun hazırlanması ve ekim: L-J besiyerinde üreyen kültürden MC Farland-I bulanıklık tüpüne göre kıyaslanarak basil süspansiyonu hazırlandı, sonra tekrar 10^{-4} lük bir süspansiyon hazırlandı, bu süspansiyondan antitüberkülotikli ve kontrol olarak hazırladığımız L-J besiyerlerine steril şartlarda 0.2 ml ekim yapıldı. Ekimler ilk hafta yatık, daha sonra dik pozisyonda 37 °C'de 4 hafta enkübe edildi.

c. Rezistans testlerinin değerlendirilmesi: Değerlendirme kontrol tüpüne kıyaslanarak yapıldı. Kontrol tüpünde üreyen koloni sayısı 100 koloninin üzerinde ve test besiyerinde üreyen koloni sayısı 50'den fazla ise rezistan, 50-20 arasında ise az hassas, 20-1 arası hassas, hiç ürememiş ise yüzde yüz hassas olarak değerlendirildi.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ
Mikrobiyoloji. Uzm.Dr.¹, Prof.Dr.⁴. Göğüs Kalp ve Damar
Cerrahisi. Prof.Dr.², Y.Doç.Dr.³.

Geliş tarihi: 25 Nisan 1994

BULGULAR

Bu çalışmada değişik klinik örneklerden izole edilen mikobakterilerin morfolojik ve biyoşimik özellikleri incelenerek tür ve grup ayırımları yapıldı. Üretilen 205 adet suşun tamamı 37 °C'de 4-6 haftada üredi. Hepsinde niasin, nitrat redüksiyon, inhibisyonuz katalaz ve peroksidaz testleri pozitif, inhibisyonlu katalaz ve peroksidaz aktivite testleri ise negatif bulundu. Bu morfolojik ve biyoşimik özellikler, M.tuberculosis'in tanı kriterlerine uyduğu için M.tuberculosis olarak kabul edildi.

Üretilen 205 adet M.tuberculosis suşunun rezistans oranları tablo 1'de verildi. Antitüberkülotiklerin ortalama ilaç konsantrasyonlarına göre İzoniazid'in 0.2 mcg/ml'sine 53 (% 25.8), Streptomisin'in 4

mcg/ml'sine 77 (% 37.6), Rifampin'in 20 mcg/ml'sine 54 (% 26.3) ve Ethambutol'ün 5 mcg/ml'sine 9 (% 4.4) suş dirençli bulundu.

Çoklu direnç incelendiğinde, test edilen tüm antitüberkülotiklere 87 (% 42.4) duyarlı suş bulunurken; ayrı ayrı test edilen bu ilaçların tümüne 6 (% 2.9) ve INH, SM ve RMP'nin üçüne birden ise 18 (% 8.8) dirençli suş saptandı.

Antitüberkülotiklerin ortalama ilaç konsantrasyonlarına göre en etkili Ethambutol, ikinci İzoniazid, üçüncü olarak Rifampin bulundu. Streptomisin'in daha az etkili olduğu saptandı (Tablo 1).

Beklendiği gibi, ortamda bulunan antitüberkülotiklerin konsantrasyonları arttıkça, rezistans azalmakta, duyarlılık oranları artmaktadır.

Tablo 1. M.tuberculosis suşunun, bazı antitüberkülotiklere karşı in-vitro duyarlılığı

Antitüberkülotikler	İlaç konsantrasyonu mcg/ml	Duyarlı		Dirençli	
		n	%	n	%
Streptomisin ¹	4.0	128	62.4	77	37.6
	8.0	145	70.7	60	29.3
İzoniazid ²	0.2	152	74.2	53	25.8
	1.0	175	85.4	30	14.6
Rifampin ³	20.0	151	73.7	54	26.3
	40.0	180	87.8	25	12.2
Ethambutol ⁴	5.0	196	95.6	9	4.4
	10.0	199	97.1	6	2.9

Tablo 2. Değişik yıllarda yapılan çalışmada, antitüberkülotiklerin ortalama ilaç konsantrasyonlarına göre mikobakterilerin in-vitro direnç oranları

Antitüberkülotikler	L-J'deki ilaç miktarı mcg/ml	Araştırmanın yapıldığı yıllar			
		1982 n=76 %	1986 n=80 %	1992 n=42 %	Bu çalışmada n=205 %
SM ¹	4.0	26.4	28.8	38.1	37.6
INH ²	0.2	19.8	45.0	47.6	25.8
RMP ³	20.0	9.3	5.0	19.0	26.3
EMB ⁴	5.0	17.2	2.5	16.7	4.4

¹Streptomisin, ²İzonikotinic Asit Hidrazit, ³Rifampin, ⁴Ethambutol

Tablo 3. Antitüberklotiklere karşı dirençlilik bulgularımızın diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılması

Araştırmacılar	Tarih	Antitüberklotikler					
		INH %	SM %	RMP %	EMB %	TH %	PZA %
Akçakaya (1)	1983	27.2	23.6	-	-	2.1	-
Durmak ve ark (2)	1988	14.3	8.6	8.6	4.3	4.3	-
Göral ve ark (3)	1989	23.8	16.6	6.7	4.1	3.6	-
Gül ve ark (4)	1983	23.6	19.5	0.4	0.6	-	-
Kavak ve ark (8)	1982	19.8	26.4	9.3	17.2	-	-
Karagöz ve ark (7)	1988	3.6	4.4	2.0	0.0	-	0.4
Osmanlıoğlu (9)	1972	55.8	47.6	4.3	2.8	25.6	-
Osmanlıoğlu (9)	1984	34.2	30.6	23.9	8.9	8.2	-
Öncel ve ark (10)	1968	57.8	31.0	-	-	-	-
Öncel ve ark (10)	1974	22.0	16.8	-	-	-	-
Erenköy ve Sanator	1970	51.5	37.1	-	-	-	-
Erenköy ve Sanator	1974	20.6	16.2	-	-	-	-
Özcan ve ark (11)	1986	45.0	28.8	5.0	2.5	0.0	-
Özcan (12)	1992	47.6	38.1	19.0	16.7	-	38.1
Gürsel ve ark (5)	1968	54.7	42.3	-	-	-	-
Gürsel ve ark (6)	1972	53.6	48.7	0.0	0.0	5.9	6.9
Saygun ve ark (14)	1976	10.98	4.6	5.9	-	-	-
Saygun ve ark (14)	1981	5.0	9.3	0.7	-	-	-
Yılmaz (18)	1983	16.5	6.4	2.4	4.8	-	-
Yılmaz (18)	1989	25.0	11.0	6.0	4.0	-	-
Yüce (19)	1988	42.3	45.8	45.0	3.4	-	-
Vidinel (16)	1988	13.6	20.3	4.9	-	-	-
Çalışmada	1993	25.8	37.6	26.3	4.39	-	-

TARTIŞMA

Tüberküloz, gelişmekte olan ülkelerde önemini hala muhafaza etmektedir. Sosyo-ekonomik ve kültürel gelişmelere paralel olarak direnç konusunda ülkeler arasında da farklılıklar görülmektedir (19).

Mikroskopik incelemede görülen ve kültürde üretilen mikobakterilerin tiplerinin tayin edilmesi epidemiyolojik ve terapötik açıdan önemlidir (13,15). Morfolojik ve biyosimik özelliklerine göre, izole edilen suşların tamamı insan tipi tüberküloz basili (*Mycobacterium tuberculosis*) olarak belirlendi.

Çalışmada, antitüberklotiklerin ortalama ilaç konsantrasyonlarına göre, test edilen 205 *M.tuberculo-*

sis suşunun 53 (% 25.8)'ü INH'e, 77 (% 37.6)'si SM'e, 54 (% 26.3)'ü RMP'e ve 9 (% 4.4)'u EMB'e dirençli bulundu (Tablo 1).

Bu çalışmayı daha önceki yıllarda yaptığımız çalışmalar (11,12) ile mukayese ettiğimizde, Streptomisin'e ve rifampine karşı direncin yıllar itibariyle gittikçe arttığı, İzoniazid'e karşı direncin oldukça düştüğü, Ethambutol'e karşı direnç ise inişler-çıkışlar göstermesine rağmen, en az olduğu bulunmuştur (Tablo 2).

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, antitüberklotiklere karşı belirlenen dirençlilik bulguları ile bulgumuzu mukayese ettiğimizde, bulgularımız bazı araştırmacıların bulgularından düşük, bazısından

ise yüksek bulunmuştur (1-10,16,18) (Tablo 3).

Bu literatür verilerinde görüldüğü gibi, birbirinden son derece farklı rezistans oranları bildirilmektedir. Çalışılan bölgeye, araştırmacılara ve yıllara göre oranlar değişik bulunmuştur. Bu değişikliğin sebebi suşların fenotipik ve genotipik özelliklerindeki değişikliklerden kaynaklanabileceği gibi, az da olsa teknik sebeplerden dolayı da etkilenmiş olabilir.

1992 yılında yaptığımız çalışmada INH'e % 47.6, SM'e % 38.1, Rifampin'e % 19.0 ve Ethambutol'e % 16.7 oranında dirençlilik bulunmuştur (12). Görüldüğü gibi son yaptığımız çalışmada rezistans oranlarında RMP hariç bir düşme görülmektedir. Bu da son yıllarda, tüberküloz tedavisinin daha

sağlıklı yapıldığını göstermekte ve ilaçlara karşı rezistans suşların giderek azalacağı kanaatini uyandırmaktadır.

Bu nedenle hastalar önceden tedavi olmuş olsun ya da olmasın, tüberküloz tedavisinde kesinlikle tüberküloz antibiyogramı yapılmalıdır (19,20).

Sonuç olarak, Sağlık Bakanlığı, Üniversite hastaneleri ve medya işbirliği içine girerek hastalıklara karşı halkımıza daha çok eğitici programlar hazırlanmalı, bilgili ve bilinçli bir toplum oluşturulmasına yardımcı olunmalıdır. M.tuberculosis dışında diğer mikobakterilerin görülmemesi ve bölgemizde rezistans oranlarının genelde yüksek görülmesi nedeniyle üç ya da daha iyisi dört ilaçtan müteşekkil rejimlerle tedaviye başlanması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akçakaya M: 1975-1983 yılları arasında tedavi gören, Kayseri ve yöresi Tüberküloz hastaları ve antitüberküloz rezistanları. Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1984, Kayseri.
2. Durmaz R, Durmaz B, Gürel M: Ocak 1986-Mayıs 1988 tarihleri arasında hastalardan izole edilen mikobakterilerin antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumları. 2.Ulusal Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, p 23.20-22, Eylül 1988, İstanbul.
3. Göral G, Aydın Ö: Bursa bölgesinde 1982-1989 yılları arasında izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının antitüberküloz ilaçlara total direnç durumu. İnfeksiyon Dergisi 4:61-68, 1990.
4. Gül K, Bingöl R, Arıkan E ve ark: Tüberküloz ön tanılı hastalardan Mycobacterium tuberculosis suşlarının izolasyonu, izolasyon oranları ve tip tayinleri. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 10:371-375, 1983.
5. Gürsel A, Gürdağ G, Kılıçoğlu G ve ark: Türkiye'de majör antibiyotik ve antibakteriyellere mikobakterilerin halihazır durumu. Tüberküloz ve Toraksiyon Dergisi 17: 25-35, 1968.
6. Gürsel A, Gürdağ G, Atay N ve ark: Türkiye'de majör ve minör tüberkülostatiklere karşı direnç durumu ve 1971 yılı mukayeseli çalışma sonuçları. Tüberküloz ve Toraksiyon Dergisi 20:267-278, 1972.
7. Karagöz T, Gürkan S: Süreyyapaşa göğüs hastalıkları merkezinde primer rezistans durumu. Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları 37:61-65, 1989.
8. Kavak M, Fazlı ŞA, Özbal Y: Kayseri ve yöresinde üretilen mikobakterilerin tipleri ve tüberkülostatiklere duyarlılıkları. İnfeksiyon Dergisi 2:135-143, 1988.
9. Osmanlıoğlu G, Atay N: 1972-1984 yılları arasında memleketimizde tüberküloz ilaçlarına karşı rezistans durumumuz. Tüberküloz ve Toraksiyon Dergisi 37:273-280, 1989.
10. Öncel İ, Keleşoğlu N: 1965-1974 yılları arasında üretilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının INH, STRP, PAS'a karşı rezistan vakası. Türkiye Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 6:24-29, 1976.
11. Özcan M, Fazlı ŞA, Özbal Y: Tüberküloz ön tanılı olan ve olmayan hastalardan izole edilen 80 adet Mikobakteri suşunun tüberküloz-

- tatiklere karşı direnç durumlarının araştırılması. Türkiye Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No 10, s 298-301, 1986 Sivas.
12. Özcan M: Bronş lavaj mayii'nden mikobakterilerin izolasyonu, tip tayini ve antitüberklotiklere duyarlılıkları. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1992, Kayseri.
 13. Roberts GD, Koneman EW, Kim YK: *Mycobacterium; Manuel of Clinical Microbiology*. Washington DC, 1991, pp 1138-1162.
 14. Saygun N, Durmaz G, Özdemir İ: 1978-1981 yıllarında (6 yıl) laboratuvarımızda üretilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının rifampisine primer ve sekonder direnç durumları. *Tüberküloz ve Toraksiyon Dergisi* 1:228-33,1983.
 15. Sommers HM, Mc Clatchy JK: *Laboratory Diagnosis of the Mycobacterium*. Cumitech 16, American Society for Microbiology, Washington DC, 1983, pp 1-18.
 16. Vidinel İ, Çolpan N: Ege bölgesindeki tüberküloz basillerinde primer ve sekonder ilaç direnci. *İnfeksiyon Dergisi* 2:33-37,1988.
 17. Yazıcıoğlu S: Tüberküloz teşhis ve tedavi. *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları* No 21, 1981, ss 185-186.
 18. Yılmaz V: Tüberkülozda rezistans problemleri. *Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları* 38:68-71,1990.
 19. Yüce A, Ebedi M, Okuyan M: Eylül 1986-Nisan 1988 tarihleri arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının tüberkülostatiklere duyarlılıkları ve total direnç durumları. *İnfeksiyon Dergisi* 2: 351-359,1988.
 20. Yüce K: Antibiyotikler ve *İnfeksiyon* hastalıklarında tedavi prensipleri. *Bilgehan Basımevi*, 1988, ss 83-86, İzmir.