

HIZLI SONUÇ VEREN BACTEC TB SİSTEMLE MYCOBACTERİUM TUBERCULOSİS SUŞLARININ ANTİTÜBERKÜLOTİKLERE KARŞI İN VİTRO DİRENÇ DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ*
Evaluation of in vitro resistance of Mycobacterium tuberculosis strains against antituberculotics by using Bactec TB system

Mustafa Özcan¹, A Nedret Koç¹, M Sait Yıldırım², Şir Ahmet Fazlı³, Yusuf Özbal³

Patojen mikobakteriler genellikle çok yavaş üreyen mikroorganizmalardır. Katı bir besiyerinde klinik örneklerden bu mikroorganizmaları izole etmek uzun zaman alır. İzole edilen mikroorganizmaların ilaç duyarlılık testlerini yapmak bu süreyi daha da uzatır. İzolasyon ve ilaç duyarlılık test sonuçları için gereken süreyi kısaltmak, kliniğe daha kısa sürede sonuç vermek ve tedaviyi başlatmak son derece önemlidir (1,2).

Son zamanlarda, klasik metotlardan daha kısa süre gerektiren yöntemler rutine girmiştir. Bu yöntemlerden biri de radyometrik Bactec TB sistemidir. Bu yöntemin esası, Middlebrook 7H12 besiyeri (Bactec B) içinde bulunan 14C ile işaretli palmitik asiti mikobakterilerin kullanması sonucu açığa çıkan 14CO₂'in radyometrik olarak Bactec 460 (Becton and Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Towson, MD) cihazında ölçümüne dayanır. Ölçümlerde açığa çıkan 14CO₂ miktarı 0-999 arasında sayısal bir indeks verir. Buna Growth Index (GI) (üreme indeksi) denir. Üremeye bağlı olarak üreme indeksi artmaktadır (1-4). Bu yöntemle izolasyon ve duyarlılık testlerini kısa sürede yapmak mümkündür. Bu sayede, ilaç duyarlılık testlerini yapmak kolaylaşmakta ve bir hafta gibi kısa sürede sonuç verilebilmektedir (2-5).

Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen mikobakterilerin direnç durumunun Bactec TB sistemi ile incelenmesi amaçlandı.

*XII. Gevher Nesibe Tıp Günleri Kongresi 11-14 Mayıs 1994, Kayseri

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ
 Mikrobiyoloji. Uzm.Dr.¹, Araş.Gör.², Prof.Dr.³.

Geliş tarihi: 17 Ağustos 1994

MATERYAL VE METOD

Ocak-Mart 1994 tarihleri arasında, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Nuh Naci Yazgan Göğüs Hastalıkları Hastanesinde, değişik klinik örneklerden izole edilen 31 M. tuberculosis suşu çalışmaya alındı. Denenen antitüberkütotik ilaçların Bactec 12B besiyerindeki konsantrasyonları tablo 1'de görülmektedir (1,6).

Bactec radyometrik duyarlılık testinin yapılışı: Klinik örnekler 12B besiyerine ekildi ve rutin olarak (haftada 2-3 defa) Bactec 460 cihazında üreme indeksi yönünden test edildi. Üreme indeksleri 300-500'e ulaşan suşlar indirekt duyarlılık testine alındı. Antitüberkütotikli 12B besiyerlerini hazırlamak için liyofilize stok ilaçlar tablo 1'deki konsantrasyonlarda olacak şekilde besiyerlerine eklendi. Bu şekilde, INH, SM, RMP ve EMB olmak üzere dört ayrı antitüberkütotikli 12B besiyeri hazırlandı. Bu ilaçlı besiyerlerine GI 300-500 olan kültürden 0.1'er ml ekim yapıldı. Ayrıca kontrol olarak besiyerine özel dilüsyon sıvısı ile, 1/100 oranında sulandırılarak 0.1 ml ekim yapıldı. Yapılan ekimler 37°C de enkübe edildi. Her gün olmak üzere toplam 5 gün Bactec 460 cihazında test edildiler. Her günkü GI'ler kaydedildi. Beşinci gün ile dördüncü gün arasındaki GI farkı ΔGI olarak ifade edildi. Antitüberkütotikli besiyerindeki ΔGI kontrol besiyerindeki ΔGI'den büyükse mikobakteri dirençli, küçükse hassas olarak değerlendirildi (1,6).

Kontrol ΔGI > ilaç ΔGI = Duyarlı
 Kontrol ΔGI < ilaç ΔGI = Dirençli
 Kontrol ΔGI = ilaç ΔGI = Sınırdaki

BULGULAR

Test edilen 31 *M. tuberculosis* suşunun antitüberkütötiklere (INH, SM, RMP, EMB) karşı olan direnç durumu; radyometrik ilaç hassasiyet testi ile ortalama beş günde belirlendi. Bu testler sonucu; INH'e karşı 8 (%25.8), SM'e 2 (%6.5), RMP'e 7 (%22.6) EMB'e 2 (%6.5) suş dirençli bulundu (Tablo II).

Tablo I. Antitüberkütötik ilaçların besiyerindeki konsantrasyonları

İlaç	Konsantrasyon (mcg/ml)
Streptomycin	6.0
Isoniazid	0.2
Rifampicin	2.0
Ethambutol	7.5

Tablo II. Suşların antitüberkütötiklere karşı duyarlılığı

İlaç	Dirençli		Hassas		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Streptomycin	2	6.5	29	93.5	31	100
Isoniazid	8	25.8	23	74.2	31	100
Rifampicin	7	22.6	24	77.4	31	100
Ethambutol	2	6.5	29	93.5	31	100

TARTIŞMA

Klasik yöntemler ile *M. tuberculosis* ve diğer mikobakterilerin izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık testlerinin yapılmasında daha çok zaman gerekmektedir. Buna karşın, Bactec TB sistem ile bu süre kısaltılarak daha erken rapor verilebilmektedir. Bu yüzden, Bactec TB sisteminin kliniğe katkısı ve duyarlılığı birçok araştırmacı tarafından gösteril-

miştir (3,5,7). Bactec TB sistemle yapılan bu çalışmada; izolasyon, identifikasyon ve duyarlılık test sonuçları kısa sürede tesbit edildi.

Çalışmada, antitüberkütötiklerin tablo 1'de bildirilen konsantrasyonlarına karşı test edilen *M. tuberculosis* suşları; INH'e %25.8, SM'e %6.5, EMB'ye %6.5, RMP'e %22.6 oranında dirençli bulundu. Bactec TB sistemle yapılan diğer çalışmalarda ise; Rastogi ve ark (8), INH'e %43, SM'e %40, RMP'e %31.5 EMB'ye %20; Siddigi ve ark (4), INH'e %54.3, SM'e %20.5, RMP'e %27 ve EMB'e %27.4 oranında dirençli bulmuşlardır.

Klasik (L-J besiyerinde) yöntemle yapılan çalışmalarda ise; Özcan (9), INH'e %47.6, SM'e %38.1, RMP'e %19.0, EMB'e %16.7; Yüce ve ark (10), INH'e %42.3, SM'e %45.8, RMP'e %45.0, EMB'e %3.4; Osmanlıoğlu ve ark (11); INH'e %34.2, SM'e %30.6, RMP'e %23.9, EMB'e %8.9 ve Frieden ve ark (12) INH'e %26, SM'e %13, RMP'e %22, EMB'e %8 oranında dirençli bulmuşlardır.

Bactec TB sistemle yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi, tek ortak nokta, bu sistemle izolasyon ve duyarlılık test sonuçlarının daha kısa sürede verilmesi ve kliniğe olan katkısıdır. Bactec ve klasik yöntemlerle yapılan duyarlılık test sonuçları karşılaştırıldığında farklı sonuçlar bulunmuştur. Her iki yöntemle yapılan çalışmalarda en yüksek direnç sırasıyla INH, RMP ve SM'e karşı, en düşük direnç ise EMB'e karşı bulunmuştur. Direnç özellikle INH ve RMP'e karşı gittikçe artmaktadır. Çalışmalar arasındaki dirençlik farklılıkları; daha önce alınan antitüberkütötik tedavi, hastanın tedaviye uyumu, yaşadığı yer ve göç ettiği bölgedeki kalış süresine bağlı olabileceği düşünülmektedir (5,13).

Sonuç olarak, Bactec TB sistemle izole edilen suşların antitüberkütötiklere karşı direnç durumu, klasik yöntemlere göre daha kısa sürede saptanarak tedavinin çok daha erken yönlendirilmesi sağlanmış olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Hawkins JE, Wallace RJ, Brown BA. Antibacterial susceptibility tests: Mycobacteria. In: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. American Society of Microbiology, Washington. DC 1991 pp 1138-1152.
2. Rayner A, Harris G, Croughan M, et al. Use of a radiometric technique for rapid sensitivity testing of Mycobacteria in Scotland: The first year's experience. *Scottish Medical Journal* 1990; 35:142-144.
3. Roberts GD, Goodman NL, Heifets L, et al. Evaluation of the Bactec radiometric method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis from acid-fast smear-positive specimens. *J Clin Microbiol* 1983; 18:689-696.
4. Siddigi SH, Hawkins JE, Laszlo A. Interlaboratory drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis by a radiometric procedure and two conventional methods. *J Clin Microbiol* 1985; 22:919-923.
5. Pfaller MA. Application of new technology to the detection, identification, and antimicrobial susceptibility testing of mycobacteria. *Am J Clin Pathol* 1994; 101:329-337.
6. Siddigi SH. Bactec TB System. Product and procedure Manual. Becton-Dickinson Diagnostic instrument System, Towson 1989, pp 1-70.
7. Muebner RE, God RC, Tokars JI. Current practice in Mycobacteriology: results of a survey of state public health laboratories. *J Clin Microbiol* 1993; 31:771-775.
8. Rastogi N, Goh KS, David HL. Drug susceptibility testing in tuberculosis: a comparison of the proportion methods using Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H10 and 7H11 agar media and a radiometric method. *Res Microbiol* 1989; 140:405-417.
9. Özcan M: Bronş lavaj mayiinden mikobakterilerin izolasyonu, tip tayini, antitüberkütötlere duyarlılıkları. Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1992, Kayseri.
10. 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* 1988; 2: 351-359.
11. Osmanlıoğlu G, Atay N. 1972-1984 yılları arasında memleketimizde tüberküloz ilaçlarına karşı rezistans durumumuz. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1989; 37:273-280.
12. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, et al. The emergence of drug resistant tuberculosis in New York City. *N Engl Med* 1993; 328:521-526.
13. Yazıcıoğlu S. Tüberküloz teşhis ve tedavi. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayın No 21, 1981, ss 185-186.