

RİFAMPİSİN VE İZONİAZİD KOMBİNASYONLARININ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARINDA İN-VİTRO ETKİSİNİN E TEST İLE ARAŞTIRILMASI*

Ahmet Yılmaz ÇOBAN, Ahmet SANIÇ, Ayhan PEKBAY, Bora EKİNCİ

ÖZET

Rifampisin ve isoniazid kombinasyonunun 44 *Mycobacterium tuberculosis* suşuna in-vitro etkisi Middlebrook 7H11 agarda, E test ile araştırılmıştır. 13 (% 38) suшта sinerji, 14 (% 41) suшта indifferens, 3 (% 9) suшта additif ve 4 (% 12) suшта antagonist etki saptanmıştır.

SUMMARY

Determination of in-vitro effect of rifampicin and isoniazid combination by E test against Mycobacterium tuberculosis strains.

In-vitro effect of rifampicin and isoniazid combination against 44 *Mycobacterium tuberculosis* strains were tested E test in Middlebrook 7H11 agar. Synergy, indifference, additive and antagonist effects were found as 38 %, 41 %, 9 % and 12 %, respectively.

GİRİŞ

İnsanlığın en eski sorunlarından biri olan tüberküloz, tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere karşın, bugün de bütün dünyada, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, yaygın olarak bulunan infeksiyonlardan biridir (3,5).

Son 15 yılda özellikle HIV ile infekte hastalarda çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) olgularının hızla artması, bu olguların % 40'ının ölmesi ve sağaltımın başarısız olması, hastane kaynaklı bulaşların gözlenmesi, primer ve sekonder ilaç direncinin artması tüberküloz kontrol çabalarını sonuçsuz bırakmakta ve tüberküloz tüm insanlık için büyük bir sağlık sorunu olma özelliğini korumaktadır. İlaçlara duyarlı mikobakteriler ile oluşan hastalıklarda uygun ilaç kombinasyonu ile olguların % 88-98'nin sağaltılabilmesine karşın, ÇİD-TB olgularında sağaltım büyük sorun olmaktadır (3,5).

Çalışmada, *Mycobacterium tuberculosis* suşlarına karşı isoniazid (INH) ve rifampisin (RİF)'in tek tek ve kombine olarak etkilerinin E test yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kırkdört *M.tuberculosis* suşu klasik metodlar ile (2) tanımlanmıştır. Löwenstein-Jensen besiyerinde üremiş taze kültürden içerisinde 3 ml Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri ve 3-4 adet cam boncuk içeren tüplere koloniler alınmış ve homojen bir karışımı sağlamak için tüpler 5-10 dakika vortekslenmiş, büyük partiküllerin dibe çökmesi beklenmiş ve sonra üstteki bulanık sıvı başka bir tüpe alınarak McFarland 3 bulanıklığına ayarlanmıştır (6,7).

* 15. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (5-10 Haziran 2000, Antalya).

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun.

Hazırlanan inokülüm bir eküvyon yardımı ile Middlebrook 7H11 agar içeren besiyeri üzerine üç yönlü olarak sürülmüş, petrieler önce 24 saat 35°C'de % 5-10 CO₂'de inkübe edilmiştir. Birer petriye izoniazid ve rifampisin E test stripleri (AB Biodisk) yerleştirilerek inkübasyona devam edilmiştir. Diğer bir petriye izoniazid stripi yerleştirilerek (izoniazid varlığında rifampisin MİK değerinin tespiti için) en az 30 dakika (yaklaşık 1 saat) olacak şekilde inkübe edilmiş ve bu süre içerisinde strip üzerindeki antibiyotiğin besiyerine diffüze olması sağlanmıştır. Daha sonra izoniazid stripi kaldırılarak aynı yere ve strip üzerindeki konsantrasyon değerlerinin üst üste gelmesine özen gösterilerek rifampisin stripi yerleştirilmiş ve inkübasyona devam edilmiştir. Aynı işlem izoniazid için de (rifampisin varlığında izoniazid MİK değerlerinin tespiti için) tekrarlanmıştır. Sonuçlar 7. günde üretici firma (AB Biodisk)'nın belirttiği gibi değerlendirilmiştir (6,7). Fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) ve FİK indeks değerleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmış ve yorumlanmıştır.

$$FİK (İNH) = \frac{MİK İNH (RİF'in varlığında İNH = İNH + RİF)}{MİK İNH (İNH tek başına)}$$

$$FİK (RİF) = \frac{MİK RİF (İNH'in varlığında RİF = RİF + İNH)}{MİK RİF (RİF tek başına)}$$

FİK indeks = FİK (İNH) + FİK (RİF) (≤ 0.5: Sinerji, > 0.5 - 1: Additif, >1 - < 2: İndifferens, ≥ 2 Antagonist)

BULGULAR

Kırkdört suştan tek tek veya kombine şekilde MİK değerleri ≤ 0.016 µg/ml olan 10 suşun FİK değerlerinin hesaplamaları yapılmamıştır. İzoniazid ve rifampisinin herhangi biri ile ya da her ikisi ile yüksek MİK konsantrasyonu veren suşlardaki değerlendirmeler dikkat çekici bulunmuştur. 13 (% 38) suşta sinerji, 14 (% 41) suşta indifferens, 3 (% 9) suşta additif ve 4 (% 12) suşta antagonist etki saptanmıştır.

TARTIŞMA

Tüberküloz, insanlığın en eski sorunlarından biri olan, tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere karşın, bugün bütün dünyada özellikle az gelişmiş olan ülkelerde yaygın olarak bulunan bir enfeksiyondur (5).

1950 ve 1960'lı yıllarda tüberküloz için etkili tedavinin girişi ile çok geçmeden hastalığın kontrol edileceği ve hatta elimine edileceği umutları artmıştır. Endüstrileşmiş ülkelerde insidanda azalma başarılırken, *M. tuberculosis* dünyada enfeksiyöz ölümlerin en büyük nedeni olarak kalmıştır (3,4). Son 15-20 yıldır tüberküloz enfeksiyonlarında artış gözlenmektedir. Özellikle bu artışla paralel olarak da ilaç direncinde toplumu tehdit edici oranda bir artış dikkati çekmektedir. Tüberküloz enfeksiyonunun tedavisi kombine olarak yapılmaktadır. *M. tuberculosis*'te klinik açıdan ilaç direnci primer ya da sekonder gelişmektedir. Hiçbir tüberküloz ilacı ile karşılaşmadığı halde tüberküloz basili toplulukları içinde doğal olarak her 10⁵ - 10⁸ basilde bir oranında tek bir ilaca dirençli mutantlar bulunmaktadır. Bu nedenle tüberküloz olgularının tedavisinde kombine ilaç kullanımı klinik açıdan önem taşımaktadır. Bunun yanında kombine tedavi sırasında ilaçların birbirlerinin antimikobakte-

riyel spektrumlarına in-vivo ve in-vitro etkilerinin bilinmesi önem arz etmektedir.

Çalışmada özellikle dikkati çeken tek tek izoniazid veya rifampisine direnç gösteren (MİK> 256 µg/ml) suşlarda görülen sinerjistik etki idi. Özellikle dirençli suşlarda gözlenen bu sinerjistik etki laboratuvar şartlarında bu ilaçlardan herhangi birine karşı gözlenen direnç durumunda, klinik olarak diğer ilacı destekleyeceği için direnç görünen ilacın etkisiz olacağı anlamına gelmemektedir.

Arian ve ark. (1)'nin yaptığı çalışmada *M.tuberculosis*'e karşı teikoplanin tek başına etkili olmaz iken, etambutol ile kombine edildiğinde birbirleriyle sinerjistik aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

Rastogi ve ark. (4)'nin yaptığı çalışmada, levofloksasinin birinci ve ikinci kuşak anti-tüberkülo ilaçlarla sinerjistik etki gösterdiği belirtilmiştir.

Bu konuda yeterince literatüre rastlanmamıştır. Ancak literatürün genişlemesi konuyu daha iyi aydınlatacaktır.

Sonuç olarak, tek tek in-vitro olarak direnç gözlenen izoniazid ve rifampisinin yine in-vitro kombine kullanımlarında birbirlerinin etkisini arttırdığı gözlenmiştir. Çalışma sayısı ve kapsamı genişletilerek yapılacak olan bu tür çalışmalar tüberküloz gibi kombine tedavi edilen infeksiyonların klinik ilaç kullanım ve etkileşimlerinde yeni bakış açılarının doğmasına neden olabilir.

KAYNAKLAR

- 1- Arian TM, Goldstein BP, Scotti R, Resconi A: Synergic activity of teicoplanin and ethambutol against *Mycobacterium tuberculosis*, *J Antimicrob Chemother* 33: 359 (1994).
- 2- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 9. baskı, s. 590, Mosby-Year Book Inc, St. Louis (1994).
- 3- Çoban AY: *Mycobacterium tuberculosis* ilaç duyarlılığının Löwenstein-Jensen ve Middlebrook 7H10 besiyerinde proportion metod ile karşılaştırmalı olarak araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Samsun (1997).
- 4- Rastogi N, Goh KS, Bryskier A, Devallois A: In vitro activities of levofloxacin used alone and in combination with first- and second-line antituberculous drugs against *Mycobacterium tuberculosis*, *Antimicrob Agents Chemother* 40: 1610 (1996).
- 5- Saniç A, Çoban AY: *Mikobakteriler ve Laboratuvar Tanı*, Ondokuz Mayıs Üniv. Tıp Fak. Mik ve Klin. Mik. ABD, Samsun (1999).
- 6- Saniç A, Günaydın M, Çoban AY, Tokaç MS, Çetin M: *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde E test ve proportion metodun karşılaştırılması. 9. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Infeksiyon Hastalıkları Kongresi*, Program ve Özet Kitabı s. 130, Antalya (1999).
- 7- Wanger A, Mills K: Testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibility of ethambutol, isoniazid, rifampin, and streptomycin by using E test, *J Clin Microbiol* 34: 1672 (1996).