

MYCOBACTERIUM BOVIS'İN ETKEN OLDUĞU TÜBERKÜLOZ OLGULARI

Gönül ASLAN*, Necdet KUYUCU**, Mukadder ÇALIKOĞLU***, Gülden ERSÖZ****,
Mahmut ÜLGER*, Selami GÜNAL*****, Gürol EMEKDAŞ*

- * Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MERSİN
** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, MERSİN
*** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN
**** Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN
***** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA

ÖZET

Başlıca infekte sütlerle bulaşan *Mycobacterium bovis*'in sebep olduğu tüberküloz; son yıllarda çok önceden alınan etkenlerin endojen reaktivasyonu, HIV-M.bovis ko-infeksiyonu ya da immünsüpre hastalarda fırsatçı enfeksiyon olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada laboratuvarımızda 2008 yılı içinde farklı kliniklerden izole edilen *M.bovis* izolatları irdelenmiştir. Klinik özellikleri, klasik kültürde uzun üreme süresi ve identifikasyonda *Mycobacterium tuberculosis*'den farklılık gösteren üç olguya ait izolatlar spoligotiplendirme yöntemiyle *M.bovis* olarak belirlenmiştir. Tüberküloz etkenlerinin tür düzeyinde ayırımı yapan laboratuvar yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması gerçek *M.bovis* olgu sıklığının ortaya çıkmasına ışık tutacaktır. Multidisipliner klinik yaklaşım gerektiren ve akciğer dışı yerleşen tüberküloz olguları için mikobakteriyoloji laboratuvarının daha etkin kullanılması ve klinik-laboratuvar işbirliğinin erken tanı ve tedavi avantajı sağlayacağı, morbidite ve mortaliteleri azaltacağı düşünülmelidir.

Anahtar sözcükler: moleküler tanı, *Mycobacterium bovis*, yaygın enfeksiyon

SUMMARY

Tuberculosis Cases Caused by *Mycobacterium bovis*

Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* transmitted mainly by infected milk arises in last years by endogenous reactivation of agents taken long before, by co-infection of HIV and *M.bovis* or opportunistic infection in immunocompromised patients. In this study, *M.bovis* strains isolated in our laboratory from different clinics in 2008 were considered. Three isolates from three patients with unusual clinical pictures, grew in longer period in classical culture method and showed different characteristics than *Mycobacterium tuberculosis* were identified as *M.bovis* by spoligotyping. The widespread uses of laboratory assays to differentiate tuberculosis agents in species level will provide the real case frequency of *M.bovis*. For extrapulmonary tuberculosis cases, which requires multidisciplinary clinical approaches, the effective use of mycobacteriology laboratories and cooperation between laboratory and clinics provides advantages in early diagnosis and treatment, and decreases mortality and morbidity.

Keywords: disseminated infection, molecular diagnosis, *Mycobacterium bovis*

Mycobacterium bovis hayvanlarda ve insanlarda tüberküloz hastalığına sebep olan *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTC) içinde yer alan bir patojendir⁽¹³⁾. MTC üyeleri

genellikle konak özelliklerine göre ayrılmaktadır⁽⁸⁾. *M.tuberculosis* ve *Mycobacterium canettii*'in neden olduğu tüberküloz enfeksiyonu primer olarak insanlarda görülmekle birlikte

Yazışma adresi: Gönül Aslan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yenişehir Kampüsü, 33169
Yenişehir, MERSİN
Tel: (0324) 3412815/1576
e-posta: drgaslan@gmail.com

Alındığı tarih: 24.08.2009, revizyon kabulü: 15.10.2009

M.tuberculosis ile infeksiyon, insanlar ile temas eden köpek, kedi ve diğer evcil hayvanlarda da bildirilmektedir. *Mycobacterium africanum*, tropikal Afrika'da insanlarda ve primatlarda tüberküloz etkenidir. Tarla faresi basili olarak bilinen *Mycobacterium microti* küçük kemirgenler, kediler ve domuzlarda tüberküloz nedeni olup, insanlar için de patojendir⁽¹⁶⁾. Sığır tüberkülozu etkeni *M.bovis*, MTC üyeleri içinde en geniş konak aralığına sahip olup^(10,16), hayvanları bazen de insanları infekte etmektedir⁽¹⁰⁾. *M.bovis* BCG ise *M.bovis*'in 13 yıl boyunca 230 kez pasajlanmasıyla elde edilmiş olup, tüm dünyada genellikle aşı suşu olarak kullanılmaktadır^(8,11,12).

M.bovis'in insanlar için en önemli bulaş kaynağı kontamine, pastörize edilmemiş süt tüketimi olmakla birlikte infekte hayvanlar ile direkt temas⁽⁹⁾ veya hasta çiftlik hayvanlarının çıkarttığı infeksiyöz aerosollerin inhalasyonu ile de bulaş gözlenmektedir⁽¹⁰⁾. İnsandan insana bulaş çok nadir olmakla birlikte, özellikle immünsüprese kimseler arasında bu yolla bulaş doğrulanmıştır⁽⁹⁾.

M.bovis'in neden olduğu ekstrapulmoner olgular infekte süt tüketimi ile ilişkili olup, hemen hemen dünyanın her yerinde sütün kaynatılarak tüketilmesi ve süt pastörizasyon tesislerinin gelişmesi ile infeksiyonun sindirim yolu ile bulaşma olasılığı daha az önemli hale gelmiştir. Ancak, et endüstrisi ve kesimhane çalışanları arasında infeksiyonun solunum yolu ile daha sıklıkla bulaşmasından söz edilmektedir⁽¹⁵⁾. Her ne kadar gelişmiş ülkelerde insanlarda *M.bovis* infeksiyonu sütün pastörizasyonu, hayvan bakıcılarının izlenmesi ve çiftlik hayvanlarının tüberkülin testi ile taranması ile kontrol altına alınmış olsa da, son yıllarda rastlanan *M.bovis*'in sebep olduğu insan infeksiyonlarının çok önceden alınan etkenlerin endojen reaktivasyonla ortaya çıkmasına bağlandığı bildirilmektedir. Ayrıca HIV ve *M.bovis* ile ko-infekte kişilerde yapılan çalışmalarla, immünsüprese hastalarda tüberkülozun fırsatçı infeksiyon olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir⁽¹⁴⁾.

Birçok olguda *M.bovis*'in klinik ve patolojik özellikleri *M.tuberculosis* infeksiyonundan ayırt edilememektedir^(3,9,13). Bu nedenle bu hastalarda *M.bovis*'in insidensi bilinmemekte, koruma ve tedavi stratejileri de şekillenememek-

tedir⁽¹³⁾.

Çoklu ilaç dirençli *M.bovis* suşları, pediatrik hastalarda *M.bovis*'in yüksek insidensi ve HIV ile ko-infeksiyonun sıklığı sebebi ile *M.bovis*'e karşı etkin tedavi ve korunma stratejilerinin geliştirilmesine ayrıca önem verilmesi gerektiği vurgulanmaktadır⁽¹³⁾.

Gelişmiş ülkelerde, *M.bovis*'in neden olduğu insan tüberküloz insidensinin, sütün pastörizasyonu ve başarılı sığır tüberkülozu eradikasyon programlarını takiben azaldığı bildirilmektedir. Ancak Amerikan Genel Sağlık Kuruluşu ve Dünya Sağlık Örgütü, Güney Amerika'da her yıl *M.bovis*'in neden olduğu 7,000 yeni insan tüberküloz olgusu bildirildiğini ve gerçek insidensin sekiz kat daha yüksek olduğunun tahmin edildiğini belirtmektedir⁽¹⁶⁾. Çeşitli ülkelerde bildirilen sığır infeksiyonunun taşınmasında insanların da *M.bovis*'in rezervuarı olarak davranabileceği belirtilmektedir. İnsanlarda *M.bovis* infeksiyonunun insidensine yönelik doğru bilginin ise sınırlı olduğu ve verilerin oldukça tartışmalı olduğu bildirilmektedir⁽¹⁶⁾.

Bu çalışma laboratuvarımızda 2008 yılı içinde tüberküloz şüpheli örneklerden izole edilen *M.bovis* izolatlarını irdelenmek, ülkemizde oldukça sınırlı sayıda bildirilen *M.bovis* olgularına dikkat çekmek ve epidemiyolojik araştırmalara katkıda bulunmak amacıyla sunulmuştur.

OLGU 1

Ateş, öksürük ve gelişme geriliği yakınmaları ile gelen bir yaşında erkek bebek kistik fibrozis ön tanısı ile Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne yatırılmıştır. Aşuları düzenli olarak sağlık ocağında yapılmış olan olgumuz dördüncü ayından itibaren öksürük yakınması ile farklı sağlık kuruluşlarında bronşit tanısı ile tedavi görmüş. Hastanın, yapılan laboratuvar testlerinde kistik fibrozis ön tanısından uzaklaşmıştır. Yatışının 12. günü antibiyotik tedavisine rağmen ateşin devam etmesi ve akciğer infiltrasyonlarının olması nedeniyle PPD ve dışkıda aside dirençli bakteri (ARB) araştırılmıştır. PPD negatif bulunmuş, mide açlık suyunda (3 gün arka arkaya) ve dışkıda Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemi ile

ARB pozitifliği tespit edilmemiştir. Dışkıının Löwenstein Jensen (LJ) besiyerine ekiminin beşinci haftasında (38. gün) kültür pozitifliği tespit edilmiştir. Para-nitro benzoik asit (PNB) besiyerinde üreme olmamıştır. Niasin ve nitrat redüksiyon testleri negatif olarak değerlendirilmiştir. İzolatın BACTEC Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) 960 sistemiyle yapılan antitüberküloz ilaç duyarlılık testinde rifampisin, isoniazid,

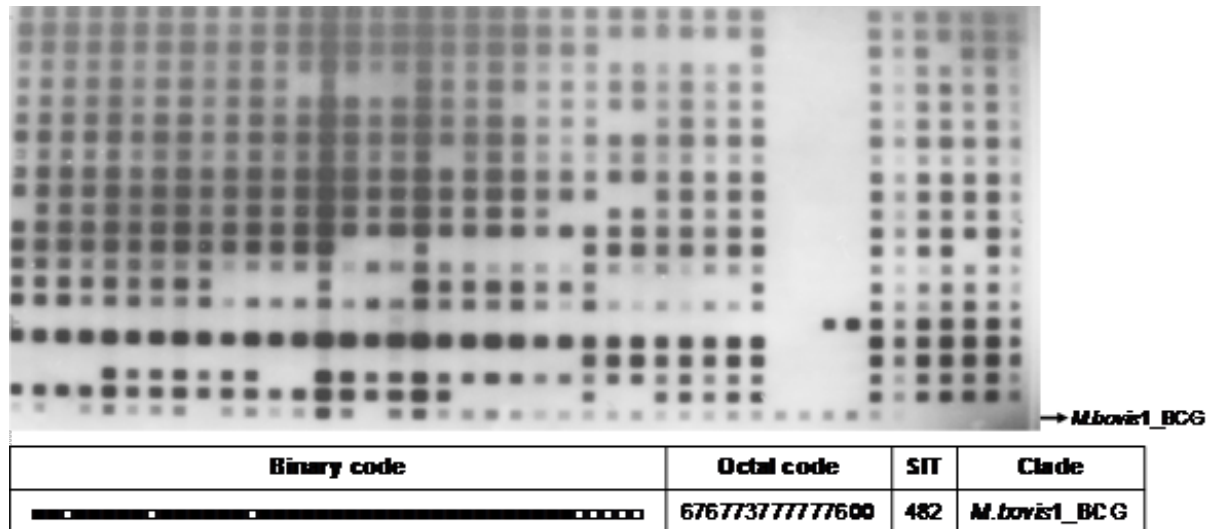
streptomisin ve etambutole duyarlı olduğu belirlenmiştir. Pirazinamid için duyarlılık testleri yapılamamıştır. Kültür pozitifliği kliniğe bildirildiğinde hasta eks olmuştu (Tablo 1).

İzolatın İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan spoligotiplendirmesinde *M. bovis* BCG için karakteristik olan direkt tekrar (direct repeat-DR) lokusları saptanmıştır (Şekil 1)

Tablo 1. *M.bovis* izole edilen olguların klinik ve laboratuvar bulguları.

	1. Olgu	2. Olgu	3. Olgu
Yaş	1	62	33
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Erkek
Özgeçmiş		Üç yıl önce kolon CA nedeniyle operasyon geçirmiş	
Şikayeti	Ateş, öksürük, gelişme geriliği	Ateş, öksürük, balgam	Hemoptizi
Mesleği			Pastörize süt ürünü ticareti
Müracaat ettiği bölüm	Çocuk Hastalıkları	Enfeksiyon Hastalıkları	Göğüs Hastalıkları
Ön tanı	Kistik fibrozis	Üriner enfeksiyon	Pulmoner tüberküloz
Klinik örnek	Dışkı	Balgam	Balgam
ARB	Negatif	Negatif	Pozitif
Kültür	Pozitif	Pozitif	Pozitif
LJ	Pozitif (38. gün)	Negatif	Pozitif (30. gün)
MGIT 960	İstemi yok	Pozitif (10. gün)	Pozitif (5. gün)
İdentifikasyon	<i>M. bovis</i> BCG	<i>M. bovis</i>	<i>M. bovis</i>
Anti-TB ilaç duyarlılığı	HRSE duyarlı		HRSE duyarlı
Tanı	Dissemine tüberküloz	Pulmoner tüberküloz	Pulmoner tüberküloz
Prognoz	eks		HREZ (Z tedaviden çıkarıldı) Kontrol PA AG plevra sıvısında gerileme mevcut, tedavinin altıncı ayında ikili tedavi sürüyor

H: İsoniazid, R: Rifampisin, S: Streptomisin, E:Etambutol, Z: Pirazinamid



Araştırma ve Uygulama Merkezi Acil Servisi'ne hemoptizi yakınması ile başvuran 33 yaşında erkek hastada ayrıca kilo kaybı, ateş, gece terlemesi bulunması üzerine akciğer tüberkülozu şüphesi ile, PA akciğer grafisi, balgamda ARB bakılması istenmiştir. PA akciğer grafisinde solda kaviter lezyon, pleural sıvı ve balgamın EZN yöntemi boyamasında ARB tesbit edilmiştir. Hastaya akciğer tüberkülozu tanısı konularak antitüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları beklenmeden isoniazid, rifampisin, etambutol, pirazinamid tedavisi başlanmıştır. Kültürde BACTEC MGIT 960 sistemi ile 5. günde, LJ besiyerinde 30. günde ARB üremesi kaydedilmiştir. PNB besiyerinde üreme olmamıştır. Niasin ve nitrat redüksiyon testleri negatif olarak değerlendirilmiştir. Pirazinamid için duyarlılık testleri yapılamamıştır. Tedavinin ikinci ayında iki kez ARB bakılmış ve ARB gözlenmemiştir (Tablo 1).

İzolatin İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılan spoligotiplendirmesinde *M.bovis* için karakteristik olan DR lokusları saptanmıştır (Şekil 2) (Tablo 2). Etkeninin *M.bovis* olduğu kesinleşince pirazinamid tedavisi kesilmiştir. Kontrol PA akciğer grafisinde pleural sıvıda gerileme olmuştur. İkinci ayın sonunda ikili tedaviye geçilmiştir ve şu anda tedavinin altıncı ayında ikili tedavi sürmektedir.

TARTIŞMA

M.bovis infeksiyonu insanlarda oldukça ender görülmekle birlikte, *M.bovis*'in fenotipik yöntemlerle tanımlanması oldukça zor olduğu için birçok rutin laboratuvarında identifikasyon sadece MTC olarak bildirilmektedir. Bu sebeple, ülkemizde *M.bovis* ile ilgili insanlarda bildirilen olgulara veya araştırmalara oldukça sınırlı sayıda rastlanmaktadır. Ayrıca, *M.bovis* infeksiyonları genellikle ekstrapulmoner (gastrointestinal sistem, deri, lokalize organ) olduğundan multidisipliner tanı yaklaşımı sergilenmediğinde gözden kaçmaktadır.

Bagatur ve Bayramiçli⁽²⁾ tarafından bir tenosinovit olgusunda *M.bovis*, Çavusoğlu ve ark.⁽⁵⁾ tarafından ise interferon-gama (IFN- γ)

reseptör defekti olan dokuz aylık bir bebekte *M.bovis* BCG aşı suşu izolasyonu bildirmiştir. Ayrıca hastanemizde bir yaşında ciddi malnütrisyonlu bir bebekte dissemine tüberküloz olgusundan *M.bovis* BCG suşu izole edilmiştir.

Ağaçayak ve ark.⁽¹⁾ tarafından yapılan çalışmada tüberküloz şüpheli hastaların balgam örneklerinden tespit ettikleri 60 mikobakteri izolatının PZR ve restriction fragment length polymorphism (RFLP) ile analizi sonrası 44 izolat (% 86.3) MTC üyesi, bunların da 34'ü (% 77) *M.tuberculosis*, sekizi (% 18) *M.bovis*, biri (% 2) *M.microti* ve yine biri (% 2) *M.africanum* olarak değerlendirilmiştir.

Bir tez çalışmasında 18 aylık çalışma sonucu dokuz bölge laboratuvarından 793'ü akciğer ve 34'ü akciğer dışı tüberkülozu olgusundan olmak üzere toplam 827 suş toplandığı ve beş *M.bovis* ve 822 *M.tuberculosis* üretildiği bildirilmiştir. *M.bovis* suşlarından ikisinin çocuk lenfadenitli olgudan alınan biyopsi örneklerinden izole edilen *M.bovis* aşı suşu olduğu bildirilmiştir⁽⁴⁾.

Ülkemizde insanlarda *M.bovis*'in sebep olduğu tüberküloz olguları her ne kadar seyrek gibi görünse de yapılan çalışmalarda *M.bovis*'in sıklığını göstermeye yönelik bir araştırma henüz mevcut değildir. Ancak, tüberküloz patojenlerinin tür düzeyinde ayrımını yapan laboratuvar yöntemlerinin kullanımının yaygınlaşması ile büyük popülasyonları içine alan bölgesel çalışmalar, hiç şüphesiz ki gerçek olgu sayısının ortaya çıkmasına ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Ağaçayak A, Bulut Y, Seyrek A: Elazığ yöresinde tüberkülozlu hastaların balgam örneklerinde mikobakteri tür dağılımının PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi, Mikrobiyol Bült 2007;41(2):203-9.
2. Bagatur E, Bayramiçli M: Flexor tenosynovitis caused by *Mycobacterium bovis*: a case report, J Hand Surg [Am] 1996;21(4):700-2.
3. Baker MG, Lopez LD, Cannon MC, De Lisle GW, Collins DM: Continuing *Mycobacterium bovis* transmission from animals to humans in New Zealand, Epidemiol Infect 2006;134(5):1068-73.
4. Ceyhan İ: Değişik kaynaklardan izole edilen *Mycobacterium bovis* suşlarının moleküler tiplen-

- dirilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara (2003).
5. Çavuşoğlu C, Akıncı P, Söyler İ, Bayran M, Vardar F: Yaygın *Mycobacterium bovis* BCG enfeksiyonunun laboratuvar tanısı, *İnfeksiyon Derg* 2007;21(1):39-44.
 6. <http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIDemo/outilsConsultation.jsp>
 7. Kamerbeek J, Schouls L, Kolk A et al: Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology, *J Clin Microbiol* 1997;35(4):907-14.
 8. Keating LA, Wheeler PR, Mansoor H et al: The pyruvate requirement of some members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex is due to an inactive pyruvate kinase: implications for in vivo growth, *Mol Microbiol* 2005;56(1):163-74.
 9. Lari N, Rindi L, Bonanni D, Tortoli E, Garzelli C: Molecular analysis of clinical isolates of *Mycobacterium bovis* recovered from humans in Italy, *J Clin Microbiol* 2006;44(11):4218-21.
 10. Mignard S, Pichat C, Carret G: *Mycobacterium bovis* infection, Lyon, France, *Emerg Infect Dis* 2006;12(9):1431-3.
 11. Pereira SM, Dantas OMS, Ximednes R, Barreto ML: BCG vaccine against tuberculosis: its protective effect and vaccination policies, *Rev Saude Publica* 2007;41(Suppl 1):59-66.
 12. Ritz N, Hanekom WA, Robins-Browne R, Britton WJ, Curtis N: Influence of BCG vaccine strain on the immune response and protection against tuberculosis, *FEMS Microbiol Rev* 2008;32(5):821-41.
 13. Rodwell TC, Moore M, Moser KS, Brodine SK, Strathdee SA: Tuberculosis from *Mycobacterium bovis* in binational communities, United States, *Emerg Infect Dis* 2008;14(6):909-16.
 14. Romero B, Aranaz A, de Juan L et al: Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals, *J Clin Microbiol* 2006;44(9):3405-8.
 15. Thoen C, Lobue P, de Kantor I: The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis, *Vet Microbiol* 2006;112(2-4):339-45.
 16. Wei CY, Hsu YH, Chou WJ, Lee CP, Tsao WL: Molecular and histopathologic evidence for systemic infection by *Mycobacterium bovis* in a patient with tuberculous enteritis, peritonitis, and meningitis: a case report, *Kaohsiung J Med Sci* 2004;20(6):302-7.