

SOLUNUM YOLU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* KOMPLEKSİ İZOLATLARININ PRİMER ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DUYARLILIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ*

Cem ARTAN¹, Esmâ DENİZ¹, Hüseyin BİRADEROĞLU², Ali ATAN², Müge OĞUZKAYA ARTAN³

¹Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Kliniği, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, KAYSERİ

²Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Kliniği, Göğüs Hastalıkları Servisi, KAYSERİ

³Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, KAYSERİ

ÖZET

Tüberkülozda antitüberküloz ilaçlara direnç süreyansı, bu hastalığın kontrol programının önemli bir parçasıdır. Bu çalışmada, laboratuvarımızda 2009-2012 yılları arasında izole edilmiş *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara (izoniazid, rifampisin, etambutol ve streptomisin) duyarlıklarının değerlendirilmesi ve direnç paternlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Mikobakteri kültürü ve duyarlılık testleri BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. 2009 yılında 88, 2010 yılında 49, 2011 yılında 84 ve 2012 yılında 54 suş olmak üzere toplam 275 suş değerlendirmeye alınmıştır. Suşların 205'i (% 74.5) ilaçların tümüne duyarlı, 70'i (% 25.5) en az bir ilaca dirençli ve üçü (% 1.1) ilaçların tümüne dirençli bulunmuştur. Değerlendirmeye alınan suşlar için genel direnç oranları; izoniazid % 14.9, rifampisin % 6.2, etambutol % 7.9, streptomisin % 9.5 ve çok ilaca direnç (ÇİD) % 4 olarak belirlenmiştir. Antitüberküloz ilaçlara direncin belirlenmesi, direnç gelişimi ve yayılımının önlenmesi ve uygun ve zamanında tedaviye başlanması, tedavi giderlerinin azaltılması ve ÇİD tüberküloz yayılımının önlenmesinde son derece önemlidir.

Anahtar sözcükler: antitüberküloz ilaç, BACTEC MGIT 960 sistemi, çok ilaca dirençli tüberküloz, *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi

SUMMARY

Evaluation of Primer Antituberculosis Drug Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Strains Isolated from Respiratory Tract Samples

Surveillance of drug resistance in tuberculosis is an important component of the tuberculosis control program. The aim of this study was to determine the susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates to primary antituberculous (anti-TB) drugs and their resistance patterns. BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, USA) system was used for mycobacterial culture and susceptibility testing according to the manufacturer's recommendations. Of the 275 isolates evaluated: 88 isolated in 2009, 49 in 2010, 84 in 2011 and 54 in 2012. A total of 205 (74.5 %) were susceptible to all the drugs tested, 70 (25.5 %) were resistant to at least one drug and three were 1.1 % resistant to all tested drugs. The total resistance rates for isoniazid, rifampicin, ethambutol and streptomycin were 14.9 %, 6.2 %, 7.9 % and 9.5 %, respectively. Multiple-drug resistance (MDR) was 4 %. The prompt detection of anti-TB drug resistance is essential for controlling the development and spread of MDR-TB because detection facilitates the appropriate and timely delivery of anti-TB therapy, reduces the overall cost of treatment, minimizes the risk of developing further resistance and limits the spread of MDR-TB.

Keywords: antituberculous drugs, BACTEC MGIT 960 system, multidrug resistant tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis* complex

İletişim adresi: Müge Oğuzkaya Artan. Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, KAYSERİ
Tel: (0352) 437 52 79

e-posta: martan38@gmail.com

Alındığı tarih: 03.07.2013, Yayına kabul: 07.11.2013

*28. ANKEM Kongresi'nde Poster No.32 (22-26 Mayıs 2013, Antalya) ve Meeting of Academic Respiratory Society and Georgian Respiratory Association Asthma and Allergy sunulmuştur (6-9 Haziran 2013 Batum/Gürcistan).

GİRİŞ

Tüberküloz tarihin en eski hastalıklarından biri olup, günümüzde de ciddi sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTK) tarafından oluşturulan, sıklıkla akciğerleri tutan ama tüm sistemleri de etkileyebilen bir hastalıktır⁽⁹⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün verilerine göre 2010 yılında dünyada 6.2 milyon yeni tanı almış olguya birlikte toplam 8.8 milyon tüberküloz olgusu bulunmaktadır ve 1.1 milyon insan bu nedenle hayatını kaybetmiştir⁽¹⁴⁾. Türkiye'de Verem Savaşı 2011 raporuna göre 2009 yılı itibarıyla ülkemizde 17,402 kayıtlı tüberküloz olgusu bulunmaktadır. Bunların 15,943'ü (% 91.6) yeni olgudur⁽¹³⁾.

Tüberkülozdan korunmada en etkili yöntem, hastaların erken tanısı ve tedavisidir. Gelişmekte olan ülkelerde uygulanan tüberküloz ile mücadele programlarının çok ilaca dirençli tüberküloz prevalansının yüksek olduğu bölgelerde başarısız olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle standart tedavi protokolü yerine her hastaya antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre özgün tedavi düzenlenmesi ve gerektiğinde ikincil seçenek ilaçların kullanılması önerilmektedir. Primer antitüberküloz ilaçları izoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETM), streptomisindir (SM). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) ve DSÖ tarafından tüberkülozun başlangıç tedavisinde primer ilaçların kombine kullanımı önerilmektedir. Ancak ilaç dirençli önemli bir sorundur. Primer antitüberküloz ilaçlarından öncelikle INH ve RIF'e karşı birlikte görülen dirençli gösteren suşlar çok ilaca dirençli (ÇİD) olarak tanımlanmaktadır⁽⁵⁾.

Bu çalışmada Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Kliniği'ne başvuran hastalardan 2009-2012 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2009-Kasım 2012 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs

Kliniği Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneklerden izole edilmiş 275 MTK suşu çalışmaya alınmıştır. Laboratuvarımızda mikobakteri kültürü ve duyarlılık testleri için bu tarihler arasında BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi, identifikasyonda ise BD MGIT-TBc İdentifikasyon Testi ("TBc ID", BD Diagnostics, Sparks, MD, USA) kullanılmıştır. Ayrıca tüm örnekler Löwenstein-Jensen besiyerine de ekilmiştir. Primer antitüberküloz ilaçlara (INH, SM, ETM, RIF) duyarlılık durumu BACTEC MGIT 960 sistemi ile araştırılmıştır. Örneklerin homojenizasyon ve dekontaminasyonu için N-Asetil-L-Sistein (NALC)+Sodyum hidroksit (NaOH) yöntemi kullanılmış ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda ekimler yapılmıştır. Hazırlanan preparatlar Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile değerlendirilmiştir. En az izoniazid ve rifampisine birlikte dirençli olan izolatlar ÇİD olarak kabul edilmiştir.

Kalite kontrol

Duyarlılık testlerinin kalite kontrolünde, denenen ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu kullanılmıştır. Ayrıca laboratuvarımız 2010 yılından itibaren CAP (College of American Pathologists) ve sonrasında da CAP ve Türkiye Halk Sağlığı Kurumunun dış kalite kontrol programına dahildir.

BULGULAR

Ocak 2009-Kasım 2012 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Kliniği Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneklerden izole edilen 275 MTK suşu çalışmaya alınmıştır. İzole edilen suşların primer antitüberküloz ilaçlara karşı belirlenen direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir. Suşların 205'i (% 74.5) primer antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı iken, 70 suş (% 25.5) en az bir ilaca dirençli bulunmuştur. Bunlardan 14'ü (%5) birden çok ilaca dirençli (ÇİD dışı), 11'i (% 4) ÇİD suş olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Antitüberküloz ilaçlara toplam direnç durumu Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İzole edilen suşların gösterdiği direnç profilleri [n (%)].

	2009	2010	2011	2012	Toplam
Tüm ilaçlara duyarlılık	60 (68)	33 (67)	65 (77)	47 (87)	205 (74.5)
Saptanan direnç					
INH	5	6	2	5	18 (6.5)
RIF	1	1	2	1	5 (1.8)
ETM	4	3	6	1	14 (5.0)
SM	6	1	1	0	8 (2.9)
INH+RIF (ÇİD)	1	1	2	0	4 (1.4)
INH+ETM	1	1	0	0	2 (0.7)
INH+SM	7	1	2	0	10 (3.6)
SM+RIF	1	0	0	0	1 (0.4)
SM+ETM	1	0	0	0	1 (0.4)
INH+RIF+ETM (ÇİD)	0	1	0	0	1 (0.4)
INH+RIF+SM (ÇİD)	1	1	1	0	3 (1.1)
INH+RIF+SM+ETM (ÇİD)	0	0	3	0	3 (1.1)
Toplam	88	49	84	54	275

INH: izoniazid, RIF: rifampisin, ETM: etambutol, SM: streptomisin ÇİD: çok ilaca dirençli

Tablo 2. Antitüberküloz ilaçlara toplam direnç durumu [n (%)].

Direnç	2009	2010	2011	2012	Toplam
INH	15	11	10	5	41 (14.9)
RIF	4	4	8	1	17 (6.1)
ETM	6	5	9	1	21 (7.6)
SM	16	3	7	0	26 (9.4)

TARTIŞMA

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de primer antitüberküloz ilaçlara direnç önemli bir sorundur. Tüberkülozda ilaç direncinin nedeni nokta mutasyonlar sonucu kromozomal DNA’nın değişikliğe uğraması olup, bu olasılık 10^{-5} - 10^{-8} ’dir. Direnç aktarılabılır nitelikte olmadığından yayılım ancak dirençli suşlarla enfekte kişiler aracılığı ile olur. Tüberkülozda ilaç direnci tedavide ve tüberküloz kontrol programında yapılan hatalara bağlıdır^(5,6). Ülkemizdeki direnç durumunu ortaya koymak için geniş kapsamlı çalışmalar bulunmamaktadır. Olan çalışmalarda da yöntemlerin ve verilerin sunuş biçimindeki farklılıklar yüzünden karşılaştırmada problemler yaşanmaktadır⁽⁴⁾.

Hızlı ve doğru tanı ile duyarlılık testine dayalı uygun ilaç tedavisi hastalığın kontrolünde büyük öneme sahiptir. INH ve RIF en az yan etkiye sahip en etkili antitüberküloz ilaçlardır. Ancak son yıllarda INH ve RIF’e karşı direncin birlikte bulunduğu ve ÇİD olarak tanımlanan

suşların ortaya çıkması, tüberküloz tedavisinde karşılaşılan önemli bir sorundur^(1-4,6,10,11). Çalışmamızda en yüksek oranda direncin INH’a (% 14.9) (Tablo 2) karşı geliştiği görülmüş ve suşların % 25.5’inde en az bir ilaca direnç saptanmıştır. Birden fazla ilaca dirençli suş sayısı (ÇİD dışı) 14 (% 5), ÇİD ise 11 (% 4) suşta belirlenmiştir. İlimizde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarı’nda rastgele klinik örneklerden izole edilen 32 suş ile yapılan bir çalışmada test edilen antitüberküloz ilaçlardan en az birine dirençli suş oranı % 31.25 iken, birden fazla ilaca direnç sadece bir (% 3.1) suşta görülmüş ve bu suş INH+SM’e dirençli bulunmuştur⁽²⁾. Bu çalışmada ÇİD-MTK suşu bulunmaması sevindirici olmakla birlikte çalışmada araştırılan suş sayısının az olması nedeni ile çalışmamızdan farklı veriler elde edilmiş olabilir⁽²⁾. Türkiye’nin çeşitli bölgelerde yapılan direnç çalışmalarında ÇİD-tüberküloz oranları % 2.2-14.4 olarak bildirilmiştir^(1,4,6,7). Çalışmamızdaki oran ülkemizden bildirilen direnç oranları ile uyumlu bulunmuştur. Aydın ve ark.⁽⁶⁾ Zonguldak ilinde yaptıkları çalışmada 125 suş incelemişler ve ÇİD suş oranını % 8.0 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacıların çalışmasında da en yüksek direnç oranı INH’da (% 23.2) gözlenmiştir. Öz ve ark.’nın⁽¹¹⁾ Eskişehir’de yaptıkları çalışmada 284 suş incelenmiş ve ÇİD-MTC oranı % 4.6, test edilen antitüberküloz ilaçlardan

en az birine dirençli suş sayısı 50 (% 17.6) olarak bildirilmiştir. Sivas'ta yapılan çalışmada toplam INH direnci % 14.5, SM direnci % 9.2, ETM direnci % 6.9 ve RIF direnci % 5.3 olarak bildirilmiştir⁽⁷⁾. Karadeniz Teknik Üniversitesi Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada 212 MTK suşunun % 74.5'i tüm primer antitüberküloz ilaçlara duyarlı bulunurken en az bir ilaca dirençli suş oranı % 25.9 olarak bulunmuştur. Tek ilaç direnci sırasıyla: INH, RIF, SM, ve ETM için % 6.1, % 0.5, % 5.2, % 2.4 olarak bildirilmiştir⁽³⁾. Çalışmadaki oranlar bizim çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (Tablo 1).

Yapılan çalışmalarda INH direncinin yüksekliği görülmektedir. Bu yüksekliğin bu ilacın hem profilaksi hem de tedavide daha sıklıkla kullanılması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir⁽⁶⁾.

Dünyada da farklı ülkelerden farklı bildirimler yapılmıştır^(1,8,10,12). Kenya'da 286 suşta yapılan çalışmada test edilen ilaçlardan en az birine direnç oranı % 30.0 olarak bildirilirken INH direnci % 12.9 olarak bildirilmiştir. ÇİD-MTK ise % 2.9 oranındadır⁽¹⁰⁾. Orta Asya'da yapılan çalışmada en az bir antitüberküloz ilaca direnç oranı % 30.5 olarak bildirilmiştir⁽⁸⁾. Suudi Arabistan'da yapılan çalışmada konvansiyonel agar proporsiyon metodu ile 80 suşta antitüberküloz ilaçlara duyarlılık çalışılmış ve herhangi bir ilaca direnç % 38.2 olarak gösterilmiştir. ÇİD ise suşların 14'ünde (% 20.6) bildirilmiştir⁽¹⁾. Bangladeş'te yapılan çalışmada 95 suş değerlendirilmeye alınmış ve % 31'inde test edilen ilaçlardan herhangi birine direnç saptanmış, direnç oranları sırasıyla SM % 18, INH % 23, R % 2, ETM % 10 ve ÇİD % 2 olarak bulunmuştur⁽¹²⁾. Ülkeler arasında farklı direnç oranlarının görülmesi tedavi protokollerinde ve özellikle tedavi izlemlerindeki aksaklıklara bağlı olabilir⁽¹⁰⁾.

Ülkemizde ve dünyanın farklı bölgelerinde tüberküloz konusunda çalışan araştırmacılar tüberkülozda direnç gelişimi ve yayılımının önlenmesi için duyarlılık testi sonuçlarına uygun, uluslararası kabul görmüş tedavi rejimlerinin uygulanması, gözetim altında tedavi uygulaması için gereken çabanın gösterilmesi ve tüberküloz olgularında daha iyi epidemiyolojik sürveyans çalışmalarının yapılması konusunda hemfikirdir.

KAYNAKLAR

1. Asaad AM, Alqahtani JM. Primary anti-tuberculous drugs resistance of pulmonary tuberculosis in Southwestern Saudi Arabia, *J Infect Public Health* 2012;5(4):281-5.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2012.03.005>
PMid:23021650
2. Atalay MA, Çolakoğlu S, Delice S, Durmaz S, Koç AN, Kılıç H. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleks suşlarının major antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları, *Türk Mikrobiol Cem Derg* 2011;41(2):57-60.
3. Aydın F, Kaklıkkaya N, Bayramoğlu G, Ozkul G, Buruk K, Dinç U, Köse T, Dede R. Resistance rates of Mycobacterium tuberculosis complex strains isolated from clinical specimens, *Mikrobiyol Bul* 2011;45(1):36-42.
PMid:21341157
4. Aydın O, Beğendik Cömert F, Külah C, Aktaş E, Sümbüloğlu V. Zonguldak ilinde izole edilen Mycobacterium tuberculosis suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını BACTEC MGIT 960 sistemi ile belirlenmesi, *Türk Mikrobiol Cem Derg* 2008;38(2):61-70.
5. Babacan F, Hasdemir U. Mycobacterium tuberculosis kompleks, "Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds.) Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Etkenlere göre Enfeksiyonlar Cilt 2, 3. baskı" kitabında s.2283-2302, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2008).
6. Dündar D, Sönmez-Tamer G. Mycobacterium tuberculosis kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları, *Klimik Derg* 2009;22(2):52-4.
7. Gonlugur TE, Gonlugur U, Hasbek M. Antituberculous drug resistance in a Turkish state hospital with national data, *Acta Microbiol Immunol Hung* 2007;54(4):421-31.
<http://dx.doi.org/10.1556/AMicr.54.2007.4.8>
PMid:18088014
8. Hellen S, Juan D, Roy M et al. Multidrug resistance in Central Asia, *Emerg Infect Dis* 2004;10:1210-15.
9. Kıyan M. Mycobacteriaceae, "Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. baskı" kitabında s.419-461, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
10. Ndung'u PW, Kariuki S, Ng'ang'a Z, Revathi G. Resistance patterns of Mycobacterium tuberculosis isolates from pulmonary tuberculosis patients in Nairobi, *J Infect Dev Ctries* 2012;6(1):33-9.
PMid:22240426
11. Öz Y, Aslan M, Akşit F, Durmaz G, Kiraz N.

- Mycobacterium tuberculosis kompleks izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının değerlendirilmesi, *ANKEM Derg* 2012;26(1):20-4.
12. Storla DG, Rahim Z, Islam MA et al. Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in the Sunamganj District of Bangladesh, *Scand J Infect Dis* 2007;39(2):142-5.
 13. Türkiye'de Verem Savaşı 2011 Raporu, T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı (2011).
 14. World Health Organization, Global tuberculosis control: WHO Report, WHO, Geneva (2011).
- <http://dx.doi.org/10.1080/00365540600951242>
PMid:17366031