

Mycobacterium tuberculosis Kompleksi Suşlarında Duyarlılık Oranları

Beyza Öncel ©
Ayşegül Karahasan ©
Arzu İlki ©
Güner Söyletir ©

Sensitivity Ratios in *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates

öz

Amaç: Tüberküloz tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak halen önemini korumakta, özellikle dirençli suşlarla infekte olan hastalarda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı klinik örneklerden izole edilmiş *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi (MTK) suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçları olan izoniazid (INH), rifampisin (RIF), streptomisin (SM) ve etambutole (ETM) karşı geliştirdikleri direnç oranlarının tespit edilmesidir.

Yöntem: Ocak 2011-Eylül 2017 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 15,172 örnek işleme alınmış, Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile preparatlar hazırlanıp, Löwenstein-Jensen ve Middlebrook 7H9 besiyerlerine ekimi yapılmıştır. MTK olduğu saptanan 251 suşun primer anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılıkları BACTEC MGIT 960 otomatize sistem cihazı ile saptanmıştır. Suşların 181'i (% 72) test edilen tüm ilaçlara duyarlı iken ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur. En az izoniazid ve rifampisine direnç gösteren çok ilaca dirençli MTK suş sayısı 10 (% 4) olarak bulunmuştur.

Sonuç: Tüberküloz hastalığı günümüzde hala önemini korumaktadır. Tüberküloz tanısı koyabilmek ve tedavide direnç gelişimini önlemek için her hastaya kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, verilerin elde edilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, antimikrobiyal ilaç direnci, antitüberküloz antibiyotikler

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis remains a serious public health problem in the world and causes serious morbidity and mortality, particularly in patients infected with resistant strains. The aim of this study was to determine the resistance rates of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) strains isolated from clinical samples against isoniazid (INH), rifampicin (RIF), streptomycin (SM) and ethambutol (ETM) which are primary anti-tuberculosis drugs.

Method: Between January 2011 and September 2017, 15,172 samples were sent to the laboratory. Preparations with Kinyoun and Auramine-Rhodamine staining were prepared and cultivated in Löwenstein-Jensen and Middlebrook 7H9 media. The primary anti-tuberculosis drugs susceptibility of 251 MTC strains was determined by BACTEC MGIT 960 automated system device. While 181 (72 %) of the strains were susceptible to all drugs tested, the total resistance rates for each of the drugs were 20 %, 5.2 %, 9.6 % and 8.2 % for INH, RIF, SM and ETM, respectively. The number of multi-drug resistant MTC strains was 10 (4 %).

Conclusion: Tuberculosis disease still remains important today. In order to diagnose tuberculosis and to prevent the development of resistance in treatment, it is necessary to study the culture and antibiotic susceptibility tests and to obtain data.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, antimicrobial drug resistance, antitubercular antibiotics

Alındığı tarih: 23.11.2018

Kabul tarihi: 14.02.2019

Yayın tarihi: 30.04.2019

Beyza Öncel

Marmara Üniversitesi Pendik EAH
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Fevzi Çakmak Mah., Mimar Sinan Cad.
No:10, Üstkaşnarca, Pendik
İstanbul - Türkiye
✉ beyza.asker1@gmail.com
ORCID: 0000-0002-2857-8635

A. Karahasan 0000-0002-1560-2624

A. İlki 0000-0003-3887-7003

G. Söyletir 0000-0001-5695-731X

Marmara Üniversitesi Pendik EAH
Mikrobiyoloji Laboratuvarı
Fevzi Çakmak Mah., Mimar Sinan Cad.
No:10, Üstkaşnarca, Pendik
İstanbul - Türkiye

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak halen önemini korumaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2018 Global Tüberküloz Raporu'na göre 2017 yılında 10 milyon yeni TB vakası saptanmış, insidans 133/100,000 olarak verilmiştir⁽¹⁹⁾. Tüm dünyada özellikle Asya ve Afrika'da önemli bir hastalık ve ölüm sebebi olan TB, 2017 yılında 1,3 milyon kişinin ölümüne sebep olmuştur. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu'na göre ülkemizde 2015 yılında 8,100'ü (% 55.8) erkek ve 6,400'ü (% 44.2) kadın toplamda 14,500 yeni tüberküloz olgusu kayıtlara girmiştir⁽¹⁶⁾.

Tüberkülozun önlenmesi ve tedavisi için mikobakterilerin hızlı ve doğru tanısı önem taşımaktadır. Tanı için kullanılan yayma mikroskopisi oldukça hızlı ve ucuz bir yöntem olmasına karşın düşük duyarlılığı ve negatif prediktif değeri açısından sınırlı bir değeri vardır. Tanı için altın standart kültürdür⁽¹⁷⁾.

TB tedavisinde birinci seçenek ilaçlar; izoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (ETM) ve streptomisin (SM). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi ve DSÖ tarafından tüberkülozun başlangıç tedavisinde birinci seçenek ilaçların kombine kullanımı önerilmektedir. Ancak, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de birinci seçenek anti-TB ilaçlara direnç önemli bir sorundur⁽⁶⁾.

İlaça direnç süreyansının yapılması tüberküloz kontrol ve tedavi programlarının temelini oluşturur. Bu çalışmada, laboratuvarımızda izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlardan INH, RIF, SM ve ETM'e tekli ve çoklu direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2011-Eylül 2017 tarihleri arasında gelen 8,282 pulmoner ve 6,890 ekstrapulmo-

ner örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik örneklerin N-asetil-L-sistein (NALC) ve sodyum hidroksit (NaOH) ile homojenizasyonu ve dekontaminasyonu yapılırken, steril kabul edilen (plevra sıvısı, beyin omurilik sıvısı gibi) örnekler dekontaminasyona tabi tutulmadan, miktarı yeterli ise santrifüj edilerek ekim işlemine alınmıştır. Örneklerden mikrobiyolojik inceleme için Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile preparatlar hazırlanmıştır. Kültür için işlenmiş örneklerin Löwenstein- Jensen katı besiyerine (Becton Dickinson, ABD) ve içerisinde Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri bulunan MGIT tüplerine (Mycobacterial growth indicator tubes, BD, ABD) üretici önerileri doğrultusunda ekimi yapılmıştır. Katı ve sıvı besiyerine yapılan ekimler sekiz hafta inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreme olmaması durumunda örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir. Üreme olduğunda, aside dirençli basil varlığını saptamak için besiyerinden Kinyoun boyama ile preparatlar hazırlanmıştır. MTK tanımlanması için MPT64 antijenini saptayan immunokromatografik yöntem kullanılmıştır. Duyarlılık testleri, streptomisin, izoniazid, rifampisin ve etambutol (SİRE) kiti kullanılarak nonradyometrik bir yöntem olan BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bir hastanın aynı tür örneğinde birden çok kez üreyen MTK izolatına antibakteriyel duyarlılık testi yapılmış ise bu hastanın ilk izolatu çalışmaya alınmıştır. Duyarlılık testlerinin kalite kontrolünde, denenen ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M.tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu kullanılmıştır. Laboratuvarımızda GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, ABD) testi ile moleküler yöntemlerle MTK varlığı ve rifampisin direnci belirlenmektedir. Mikobakteri kültürü istenen her hastada moleküler test istenmediği için bu veriler çalışmamıza dahil edilmemiştir.

Çalışmanın yapıldığı laboratuvar Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Ulusal antimikrobiyal direnç süreyans programına, NEQAS (National External Quality Assessment Site) ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü dış kalite kontrol programına dahildir.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 15,172 örneğin % 55'inin solunum örneği, % 45'inin solunum yolu dışındaki örnekler olduğu gözlenmiştir. Değerlendirilen 15,172 örneğin 355'inde MTK, 71'inde tüberküloz dışı mikobakteri saptanmıştır. Üreme saptanan bu 426 örneğin 147'sinde (% 34.5) yayma pozitifliği görülmüştür.

Aynı hastaya ait MTK kökenlerinden bir tanesi alınarak toplam 251 örnek için antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Bu suşların 159'u (% 63.3) solunum sistemi, 92'si (% 36.7) solunum sistemi dışı örneklerden izole edilmiştir (Tablo 1).

Table 1. Antibiyotik duyarlılık testleri yapılan *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının izole edildiği örneklerin dağılımı.

	Örnek tipi	Sayı (%)
Solunum sistemi örnekleri	Balgam	72 (28.6)
	Bronkoalveolar lavaj	76 (30.2)
	Trakeal aspirat	4 (1.5)
	Plevra sıvısı	7 (2.7)
Solunum sistemi dışı örnekler	İdrar	6 (2.3)
	Doku-Apse	64 (25.4)
	Steril vücut sıvıları	14 (5.5)
	Açlık mide suyu	8 (0.3)
Toplam		251

Table 2. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izolatlarının tek ve çok ilaca direnç oranları.

	Direnç saptanan antibiyotik	Sayı (%)
Tek ilaca direnç	INH	29 (11.5)
	RIF	4 (1.5)
	SM	6 (2.4)
	ETM	8 (3)
İki ilaca direnç	INH+RIF	2 (0.7)
	INH+SM	7 (2.7)
	INH+ETM	2 (0.7)
Üç ilaca direnç	INH+SM+ETM	4 (1.5)
Dört ilaca direnç	INH+RIF+SM+ETM	8 (3)
Çok ilaca direnç	En az INH ve RIF	10 (4)
Toplam		251

INH: Isoniazid, RIF: Rifampisin, SM: Streptomisin, ETM: Etambutol

İzole edilen MTK suşlarının antitüberküloz duyarlılık testleri sonucunda 181 (% 72) suş test edilen tüm ilaçlara duyarlı bulunurken, 70 suş için bir veya birden fazla ilaca karşı direnç gözlenmiştir. İlaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur. Tek ilaca ve birden fazla ilaca direnç oranları Tablo 2'de gösterilmiştir. En az INH ve RIF'e direnç gösteren çok ilaca dirençli MTK suş sayısı 10 (% 4) olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Günümüzde tüberküloz hala önemini korumakta, özellikle dirençli suşlarla enfekte olan hastalarda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Bu nedenle MTK'in saptanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, uygun tedavi rejimlerinin saptanması büyük öneme sahiptir^(1,12).

Laboratuvarımızda tüberküloz tanısında Kinyoun ve Auramin-Rhodamin boyama ile ARB aranması ve kültür testleri kullanılmaktadır. Mikroskopik inceleme tüberküloz tanısında basit, hızlı, ucuz ve özgül bir yöntem olmasına rağmen düşük duyarlılığa sahiptir⁽¹⁴⁾. Direkt preparat duyarlılığının % 22 ile % 78 arasında olduğu bildirilmiştir⁽⁷⁾. Nitekim çalışmamızda yayma pozitiflik oranı % 34.5 saptanmıştır.

Laboratuvarımızda, kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin sonuçlanma süresini Löwenstein Jensen besiyerine göre daha aza indiren otomatize sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler ile laboratuvarımıza yaklaşık altı yıllık bir süre içinde tüberküloz ön tanısı ile gönderilen örneklerin % 2.8'inde kültür pozitifliği elde edilmiştir. 2011 yılında Kurtoğlu ve ark.'nın⁽¹¹⁾ yaptığı çalışmada tüm örnekler arasında kültürde saptama oranı bizim çalışmamızın sonucuyla benzer olup % 2.8 bulunmuştur. Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ yaptığı çalışmada bu oran % 5.8 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda kültür pozitifliği oranının düşük olması hastanemizin göğüs hastalıkları dal hastanesi olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

Özmen ve ark.'nın⁽¹³⁾ 2014- 2016 yılları arasında Erzurum Bölge Tüberküloz Laboratuvarı'na gelen örneklerden MTK olduğu saptanan 120 suşla yaptığı

çalışmada, suşların 106'sının (% 88.3) her dört antibiyotiğe duyarlı olduğu saptanmıştır. Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ 2005-2010 yılları arasında yaptığı çalışmada 212 kültür pozitif tüberkülozlu hastanın 55'inde (% 26) INH, RIF, SM ve ETM'den herhangi birine karşı direnç saptanmış; ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 17.5, % 5.7, % 13.7 ve % 5.7 olarak bildirilmiştir. Türkiye'nin değişik bölgelerinde son yıllarda yapılan çalışmalarda da tek başına INH, RIF, ve SM ve ETM için direnç oranları % 12-18.2, % 0-10.1, % 4-15.8, % 0-6 arasında değişmektedir^(2,5,8,9,18). Bizim çalışmamızda antibiyogramı yapılan 251 suşun 70'inde (% 28) dört ilacın herhangi birine karşı direnç saptanmış, ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 20, % 5.2, % 9.6 ve % 8.2 olarak bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda en sık tek ilaca direncin INH ve SM'e karşı olduğu bildirilmiştir^(3,13). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde INH ve SM direncinin diğer antibiyotiklere karşı daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle INH direnci yüksekliğinin, bu ilacın hem profilaksi hem de tedavide sıklıkla kullanılması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

İspanya'da 15 yıllık verilerle yapılan bir çalışmada 1,207 suşun 207'sinde (% 17.2) INH, RIF, SM ve ETM'den herhangi birine karşı direnç saptanmış, ilaçların her birine karşı toplam direnç oranları INH, RIF, SM ve ETM için sırasıyla % 5.3, % 1, % 3, % 0.2 olarak bulunmuştur⁽¹⁰⁾. Bu direnç oranları aynı yazarların önceki çalışmalarındaki direnç oranlarından daha düşük bulunmuştur. Bu durum sürveyans çalışmalarının klinik dikkati arttırması ve bölgedeki antitüberküloz ilaç direncine göre doğru tedavi verilmesiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda, 10 (% 4) izolatın en az INH ve RIF'a direnç gösteren çok ilaca dirençli (ÇİD) MTK suşu olduğu tespit edilmiş olup, bu oran ülkemizdeki diğer çalışmalara yakın değerlerdedir. Özmen ve ark.'nın⁽¹³⁾ yaptığı çalışmada ÇİD MTK suş sayısı 4 (% 3.3) olarak saptanmış, Aydın ve ark.'nın⁽⁴⁾ yaptığı çalışmada ÇİD MTK suş sayısı 10 (% 4.8) olarak bulunmuştur. Tüberküloz Laboratuvar Sürveyans Ağı (TuLSA) grubu tarafından 2011 yılında yapılmış olan ve ülke-

mizdeki birçok tüberküloz laboratuvarı ve verem savaş dispanserinin katıldığı çok merkezli çalışmada ise tespit edilen ÇİD MTK oranı % 3.5'tir⁽¹⁵⁾.

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2018 yılı raporuna göre yeni vakaların % 3,5'i tedavi görmüşlerin % 18'i ÇİD tüberküloz olarak belirlenmiştir⁽¹⁹⁾. Küresel Tüberküloz 2016 Raporu ÇİD-TB haritalarında Türkiye'de yeni tüberküloz olgularında Rifampisin dirençli(RD)/ÇİDTB oranı % 3-5.9 aralığında, önceden tedavi görmüş tüberküloz olgularında RD/ÇİD-TB oranı ise % 12-29.9 aralığında verilmiştir⁽¹⁶⁾. Elde edilen bu veriler ışığında, bölgemizde son yıllarda ÇİD MTK oranının ülke ve dünya geneli ortalama ile uyumlu olduğu dikkati çekmektedir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçların primer veya kazanılmış bir direnç olup olmadığı bilinmemektedir. Hasta bilgileri ve klinik seyri hakkındaki verilere laboratuvarında ulaşmak pek mümkün olmamaktadır. Bu husus çalışmanın kısıtlılığı olarak belirtilebilir.

Kullanılan antibiyotiklere karşı oluşan direnç sorunu tedavi protokollerini etkilemekte, hastanın tedaviye uyumunu zorlaştırmakta ve tedavi maliyetlerini artırmaktadır. Bu sebeple tüberküloz tedavisinde direnç gelişimini önlemek ve tedavinin sağlıklı bir şekilde yapılabilmesi için her hastaya kültür ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması, verilerin elde edilmesi gerekmektedir. Bölgesel düzeyde elde edilen bu verilerin sürekli olarak takibi, ülkemizde başarılı bir tüberküloz sürveyans programının uygulanması-na büyük katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Abubakar I, Zignol M, Falzon D, et al. Drug-resistant tuberculosis: time for visionary political leadership. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(6):529-39. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70030-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70030-6)
2. Artan C, Deniz E, Biraderoğlu H, et al. Solunum yolu örneklerinden izole edilen Mycobacterium

- tuberculosis kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılığının değerlendirilmesi. ANKEM Derg. 2013;27(4):179-83.
3. Aslan G, Delialioğlu N, Emekdas G ve ark. *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının izoniazid, rifampisin, streptomisin ve etambutol duyarlılıklarının BACTEC yöntemi ile belirlenmesi. ANKEM Derg. 2005;19(1):43-7.
 4. Aydın F, Kaklıkkaya N. Klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):36-24.
 5. Aydın O, Beğendik Cömert F, Külah C, et al. Zonguldak ilinde izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçlara duyarlılığının BACTEC MGIT 960 sistemi ile belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2008;38(2):61-70.
 6. 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).
 7. Berlin OGW. *Mycobacteria*, "Baron EJ, Finegold SM (eds). Diagnostic Microbiology, Missouri: Mosby Company; 1990:597.
 8. DüNDAR D, Sönmez Taner GG. *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Klimik Derg. 2009;22(2):52-4.
 9. Ekşi F, Zer Y, Karşılıgil T, et al. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının major antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 2009;39(3-4):89-93.
 10. Gutiérrez-Aroca JB, Ruiz P, Vaquero M, et al. Surveillance of drug-resistant tuberculosis in Spain (2001-2015). Microbial Drug Resistance. 2018;24(6):839-43.
 11. Kurtoğlu MG, Yüksekaya Ş, Özdemir M, et al. Bir eğitim ve araştırma hastanesinin mikobakteriyoloji laboratuvarında direkt preparat ve kültür sonuçlarının karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi Tıp Derg. 2011;27(2):69-72.
 12. Nachega JB, Chaisson RE. Tuberculosis drug resistance: a global threat. Clin Infect Dis. 2003;36(Suppl 1):24-30. <https://doi.org/10.1086/344657>
 13. Özmen E, Aslan A, Uçar M, Erzurum bölge tüberküloz laboratuvarında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. ANKEM Derg. 2017;31(2):53-8.
 14. Parrish NM, Carroll KC. Role of the clinical mycobacteriology laboratory in diagnosis and management of tuberculosis in low-prevalence settings. J Clin Microbiol. 2011;49(3):772-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02451-10>
 15. Sezen F, Albayrak N, Özkara Ş ve ark. Ulusal tüberküloz laboratuvar sürveyansına ilk adım; Ankara, 2011. Mikrobiyol Bul. 2015;49(2):143-55. <https://doi.org/10.5578/mb.9170>
 16. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu, Sağlık Bakanlığı, Ankara (2017).
 17. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi, (2014).
 18. Uçar E, Kılıç A, Ceyhan İ ve ark. Ülkemizin yedi farklı bölgesinden 2003-2006 yılları arasında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının majör antitüberküloz ilaçlara direnç oranları. Mikrobiyol Bul. 2010;44(1):11-9.
 19. World Health Organisation. Global Tuberculosis Control: WHO report 2018. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/