

**MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENCİ: TRAKYA ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NİN İKİ YILLIK SONUÇLARI**

RESISTANCE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES TO ANTITUBERCULOUS AGENTS: RESULTS OF THE LAST TWO YEARS IN TRAKYA UNIVERSITY HOSPITAL

Özlem TANSEL      Pelin YÜKSEL      Figen KULOĞLU      Filiz AKATA

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne

**Anahtar Sözcükler:** *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, antitüberküloz ilaç direnci, BACTEC 460

**Key Words:** *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, resistance to antituberculous agents, BACTEC 460

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Trakya Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Kasım 1999-Kasım 2001 tarihleri arasında gönderilen örneklerde *Mycobacterium tuberculosis* kompleks üreme oranını ve bu suşların antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılıklarını belirlemek, atipik mikobakteri türlerinin oranı konusunda bilgi edinmektir. Bu amaçla 3816 örneğe BACTEC 460 yöntemiyle tüberküloz kültürü yapılmıştır. Bu örneklerden 134'ünde (%96.4) *M. tuberculosis* kompleks, beşinde (%3.6) atipik mikobakteri üretilmiştir. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks suşlarının izoniazit, rifampisin, streptomisin ve etambutole karşı direnç oranları sırasıyla %9, %4.5, %2.2 ve %1.5 olarak saptanmıştır. En az bir ilaca direnç %6, aynı anda izoniyazit ve rifampisin direnci %3'dür. Dört major antitüberküloz ilacın hepsine duyarlı suş sayısı 119 (%88.8)'du. Sonuçlar, Türkiye genelinde ve Trakya Bölgesi'nde daha önce yapılan çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

## SUMMARY

The aim of this study was to determine the rates of *Mycobacterium tuberculosis* complex and their resistance to anti-tuberculous agents from the specimens accepted to the Microbiology Laboratory, Trakya University Hospital, between November 1999 and November 2001. In the study, also the isolation rates of nontuberculous mycobacteria were investigated. For this purpose, 3816 specimens were examined using BACTEC 460 method and *M. tuberculosis* complex was identified in 134 (96.4%) of them and nontuberculous mycobacteria were identified in five (3.6%). Resistance rates of *M. tuberculosis* complex isolates were 9%, 4.5%, 2.2% and 1.5% for isoniazid, rifampin, streptomycin and ethambutol, respectively. Resistant rate to at least one agent was 6%, and to both isoniazid and rifampin was 3%. The number of the isolates sensitive to four major antituberculous agents was 119 (88.8%). The results obtained were compared with the results of the previous studies in the Trakya Region and Turkey.

## GİRİŞ

Türkiye'de tüberküloz tanısı konulmasında önemli sorunlar vardır. Tüberkülozun kesin tanısının bakteriyolojik olduğu, yalnız radyoloji ile tüberküloz tanısı konulamayacağı

önemle belirtilmektedir (1, 2). Ayrıca daha önce en az bir ay tüberküloz tedavisi gören, dirençli tüberküloza sahip bir hasta ile temas öyküsü bulunan, üç aylık tedaviden sonra yayma ve kültür pozitifliği devam eden, yüksek

ilaç direnci bulunan (primer izoniazit direnci %4'ten fazla) bölgelerde yaşayan, HIV ile infekte olup kaviter lezyonları bulunan, düşük sosyo-ekonomik koşullarda bulunan tüberküloz hastalarının kesinlikle direnç varlığı yönünden incelenmesi önerilmektedir (2).

Türkiye'de 1981-82 yıllarında yapılan bir çalışmaya (3) göre, tüberküloz prevalansı binde 3.58 olup, aynı çalışmada Trakya bölgesinde ise binde 3.97 olarak saptanmıştır. Bu tarihten sonra da prevalans çalışması yapılmamıştır (2, 3).

Bu çalışmanın amacı, Kasım 1999-Kasım 2001 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tüberküloz kültürü için gelen klinik örneklerde *Mycobacterium tuberculosis* kompleks üreme oranını görmek, bu suşların antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılıklarını saptayarak Edirne İli'ndeki direnç oranlarını belirlemek, sonuçları önceki çalışmaların sonuçları ile karşılaştırmak ve atipik mikobakteri türlerinin oranı konusunda bilgi edinmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Trakya Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kliniklerden, Edirne Göğüs Hastalıkları Hastanesi ve diğer hastanelerden gönderilen örnekler BACTEC 460 yöntemiyle tüberküloz kültürü yapılmıştır. Zenginleştirilmiş Middlebrooke 7H9 sıvı besiyeri içeren BACTEC 12 B şişelerine PANTA (Polimiks B, Nalidiksik asit, Trimetoprim, Amfoterisin B, Azlosilin) eklendikten sonra, %4'lük sodyum hidroksit-sodyum sitrat solusyonuyla dekontamine edilen örneklerden 0.5 ml ekim yapılmıştır. Flora içermeyen örnekler dekontamine edilmeyip BACTEC 12B şişelerine 1 ml olarak konulmuştur. Hepsisi etüvde 37° C'de inkübe edilmiştir. İlk üç hafta haftada iki kez, son üç hafta haftada bir kez aygıtta okutulmuştur. Üreme indeksi (Growth Index = GI) ≥10 olan şişe pozitif kabul edilip her gün test edilmiştir.

Üreme indeksi 50-100 olduğunda Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemiyle boyama yapıp basil varlığı ve kort oluşturma özelliğine bakılmış, kanlı agara ekim yapılmıştır. Kanlı agarda kontaminasyon olmadığı gösterildikten sonra 1 ml alınıp NAP (p-nitro-alfa-asetil-amino-beta-hidroksi-pionat) içeren şişeye aktarılmıştır. Bu madde, *M. tuberculosis* kompleksin üremesini inhibe edip atipik mikobakterilere etki etmez, bu şekilde tür identifikasyonu yapılabilir. Üreme indeksi 500-800 olduğunda, streptomisin 2.0 µg/ml, izoniyazit 0.1 µg/ml, rifampisin 2.0 µg/ml, etambutol 2.5 µg/ml içeren BACTEC 12 B şişelerinde antibiyogram yapılmış, 37 ± 1° C'de inkübe edilmiştir. İlaç içermeyen kontrol şişesinde GI: 30 ve üstü olduğunda sonuçlar değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Kasım 1999-Kasım 2001 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tüberküloz kültürü yapılması için 3816 örnek gönderilmiştir. Bunların 139'unda (%3.6) üreme olmuştur. Bu örneklerden 134'ünde (%96.4) *M. tuberculosis* kompleks, beşinde (%3.6) atipik mikobakteri saptanmıştır. Üremenin olduğu 139 örneğin 67'sinde (% 48.2) EZN negatif bulunmuştur. Üreme indeksi 50-100 olduğunda EZN boyama ile kort oluşumu saptanan 134 örneğin hepsinin NAP testi ile *M. tuberculosis* kompleks olduğu gösterilmiştir. Örneklerin 87'si (% 65) Trakya Üniversitesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları Servisi'nden, 13'ü (%10) Dahili Bilimler, sekizi (%6) Cerrahi Bilimler servislerinden, 24'ü (%18) Edirne Göğüs Hastalıkları Hastanesi'nden, ikisi (%1) diğer hastanelere gönderilmiştir. Bunların 110'u (%82) balgam, sekizi (%6) diğer solunum yolu örnekleri, 12'si (%9) steril vücut sıvısı, dördü (%3) biyopsi örneği idi. İzole edilen 134 *M. tuberculosis* kompleksin 12'sinde (%9) izoniyazit, altısında (%4.5) rifampisin, üçünde (%2.2) streptomisin, ikisinde (%1.5) etambutol direnci saptanmıştır. En az bir ilaca direnç %6, aynı anda izoniyazit ve rifampisin direnci %3'tür. Dört major antitüberküloz ilacı hepsine duyarlı suş sayısı 119 (%88.8)'dur.

## TARTIŞMA

Bir toplumda tüberküloz savaşındaki başarının değerlendirilmesi epidemiyolojik verilere göre yapılır. Tüberküloz tedavi programlarının önemli göstergelerinden biri de tüberküloz ilaçlarına karşı toplumdaki primer ve sekonder direnç oranlarıdır (4).

Edirne İli'nde, Otkun ve ark. (5) tarafından 1996 yılında yapılan ilk çalışmada, Trakya Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen 1260 klinik örneğin 94'ünde (%7.5) Löwenstein-Jensen besiyerinde *M. tuberculosis* üretilmiştir. Gerekli bilgiler elde edilemediği için *M. tuberculosis* üreyen 24 hasta çalışma dışı bırakılmış ve antibiyotik duyarlılık testleri Middlebrook 7H10 besiyeri kullanılarak proporsiyon yöntemiyle yapılmıştır. Geleneksel yöntemlere göre daha hızlı üreme olduğu, NAP testiyle identifikasyon olanağı sağladığı, antibiyotik duyarlılık sonuçlarını standart ve güvenilir bir şekilde verdiği için son iki yıldır laboratuvarında BACTEC 460 yöntemi kullanılmaktadır. Kasım 1999-Kasım 2001 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 3816 örnek gelmiş ve 134'ünde (%3.5) *M. tuberculosis* üremiştir.

Çalışmada atipik mikobakteri oranı %3.6 olup Otkun ve ark. (5) tarafından yapılan çalışmada %3 olarak saptanmıştır. Bazı bölgelerde tüm mikobakteri infeksiyonlarının %0.5'i atipik mikobakterilerle meydana gelirken bazı bölgelerde aynı oran %30'a kadar çıkabilmektedir (6).

Pozitif BACTEC 12B şişesinden hazırlanan, EZN yöntemiyle boyanan preparatlarda aside dirençli bakterilerin kordonlar oluşturacak şekilde görülmesine "kort oluşturma" denir ve özellikle *M. tuberculosis* kompleksin hücre duvarında bulunan trehaloz-6,6'-dimikolat maddesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Çeşitli araştırmalarda *M. tuberculosis* kompleks türlerinin %23-95 duyarlılık, %95-100 özgülükle sıvı besiyerinde kort oluşturduğu gösterilmiştir (7). Bu çalışmada, EZN boyamayla kort oluşumu saptanan 134 örneğin hepsinin NAP testiyle *M. tuberculosis* kompleks olduğu gösterilmiştir. Edirne İli'nde tüberküloz kuşku olgularında izole edilen atipik mikobakterilerin oranı önemsenecek düzeyde değildir. Bu nedenle, pozitif kültürlerde tür identifikasyonu amacıyla, NAP testine göre daha ucuz olması, kısa zamanda sonuç vermesinden dolayı kort oluşumu değerlendirilebilir.

1999-2001 yılları arasındaki verileri kapsayan bu çalışmada; toplam direnç oranları izoniyazit, rifampisin, streptomisin, etambutol için sırasıyla %9, %4.5, %2.2, %1.5 olup, en az bir ilaca direnç %6 olarak saptanmıştır. Otkun ve ark. (5)'nin çalışmasında, toplam direnç oranları izoniyazit, rifampisin, streptomisin, etambutol için sırasıyla %30, %11, %39, %13 olup, en az bir ilaca direnç %56 olarak saptanmıştır. Bu çalışmanın yapıldığı tarihte Edirne İli'nde ilk kez antitüberküloz ilaçlara karşı direnç testi yapıldığından hastaların bir kısmını, tedavisinde sorun olanlar oluşturmaktaydı. Her iki çalışmanın sonuçları da Edirne İli'nin merkezindeki hasta popülasyonunu kısmen yansıtmaktadır. Bu iki çalışma arasındaki direnç oranı farkının kullanılan yöntem ve seçilen hasta gruplarındaki farkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Karabay ve ark. (8) tarafından Ekim 1994-Mayıs 1997 tarihleri arasında Edirne, Tekirdağ, Kırklareli Verem Savaş Dispanserleri'ne kayıtlı hastalardan izole edilen 214 *M. tuberculosis* izolatında Middlebrook 7H10 besiyeri kullanılarak proporsiyon yöntemiyle saptanan direnç oranları izoniazit, rifampisin, streptomisin, etambutol için sırasıyla %27.1, %21.5, %29, %10.3 olup, en az bir ilaca direnç %49 olarak saptanmıştır. Bu çalışma her üç ilden örneklem grubu seçilerek yapılmış olup Trakya Bölgesi'ndeki antitüberküloz ilaçlara karşı direnç durumunu yansıtmaktadır. Yolsal ve ark. (9) Türkiye'de tüberküloz ilaçlarına direnç sorununu ortaya koymak amacıyla 1984-1989 yılları için 11 ve 1990-1995 yılları için 12 araştırmayı karşılaştırarak meta-analiz yapmışlardır. Bu çalışmada; 1984-1989 yılları arasında toplam direnç oranı izoniyazit, rifampisin, streptomisin, etambutol için sırasıyla %27.8, %22.3, %22.5, %7.8 olup en az bir

ilaca direnç %17.8 olarak saptanmıştır. 1990-1995 döneminde toplam direnç oranları izoniyazit, rifampisin, streptomisin, etambutol için sırasıyla %23.8, %22.1, %17.9, %7.7 olup en az bir ilaca direnç %14.1'dir. Meta-analiz yapılan bu araştırmalardaki bulgular arasında istatistiksel olarak ileri derecede önemli farklar görülmüştür.

İzoniazit direncinin %4'ten fazla olduğu bölgelerde tedaviye başlamadan önce mutlaka direnç testlerinin yapılması ve tedaviye en az dört ilaçla başlanması önerilmektedir (5, 10). Bu çalışmada Edirne İli'nde toplam izoniyazit direnci %9 olarak saptanmıştır. 1996 yılında yapılan çalışmada ise %30'dur (5). Edirne İli'nde dört primer ilaca duyarlı suş oranı yüksek olmakla birlikte izoniyazit direncinin %4'ten fazla oluşu nedeniyle, Türkiye genelinde olduğu gibi en az dört ilaçla tedaviye başlanması önerilmektedir.

İki veya daha fazla tüberküloz ilacına dirençli *M. tuberculosis* suşlarıyla oluşan tüberküloz, çok ilaca dirençli tüberküloz olarak tanımlanır, klinik olarak en önemlisi izoniyazit ve rifampisine direncin birlikte bulunduğu durumdur. Çünkü bu direnç kalıbında tedavi başarı oranı %56 gibi düşük düzeydedir (2). Bu çalışmada, toplam izoniyazit + rifampisin direnci %3 olup, 1996 yılında Edirne'de yapılan çalışmada %7 olarak saptanmıştır (5). Türkiye'de 1990-1994 yılında yapılan, üç büyük ilin eğitim hastanelerinde yatan 4289 hastayı kapsayan bir çalışmada primer izoniyazit + rifampisin direnci %1-7, sekonder izoniyazit + rifampisin direnci %8-42 olarak bulunmuştur (2). Çok ilaca dirençli tüberkülozlu hastaların ortaya çıkışı uygulanan tedavi programlarının yetersizliğini, yeni saptanan her hastanın altı ay süreyle düzenli olarak ilaç kullanmasının sağlanamadığını göstermektedir. Bu hastaların tedavileri zor ve pahalıdır, daha uzun süre hastanede yatıp ilaç kullanmalarını gerektirmektedir (2).

Türkiye'deki çalışmalarda incelenen hasta gruplarının seçiminde, kullanılan duyarlılık test yöntemlerinde ve ilaç konsantrasyonlarındaki farklılıklar nedeniyle çelişkili sonuçlar elde edilebilmektedir. Sağlıklı verilerin elde edilebilmesi, gerçek direnç oranlarının belirlenebilmesi, dolayısıyla uygun tedavi protokollerinin seçilebilmesi için laboratuvarlar arasında kullanılan yöntem ve ilaç konsantrasyonları açısından standardizasyon sağlanmalıdır. Direnç oranları arasında değişik illerde, hatta aynı ilde değişik yıllarda yapılan çalışmalarda önemli farklılıklar vardır. Uygun örneklem seçilerek Türkiye genelinde, tüberküloz prevalansı ve antitüberküloz ilaçlara direnç oranları ile ilgili çalışmalar yapılması gereklidir.

## KAYNAKLAR

1. **American Thoracic Society.** Current approaches to the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* **1995**; 149: 264-7.
2. **Kocabaş A.** Akciğer tüberkülozu. Topçu-Willke A, Söyletir G, Doğanay M, ed. *İnfeksiyon Hastalıkları*'nda. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **1996**: 396-443.
3. **Öger O, Karagöz T.** *Tüberküloz Epidemiyolojisi ve Ülkemizdeki Durumu* Türkiye Ulusal Verem Savaş Dernekleri Federasyonu Başkanlığı Yayını. İstanbul: Erol Ofset, **1992**.
4. **Arseven O, Eraksoy H, Uzun Y ve ark.** Doğu Karadeniz bölgesinde tüberküloz ilaçlarına direnç durumu. *KLİMİK Derg* **1995**; 8: 63-7.
5. **Otkun M, Akata F, Karabay O, Tabakoğlu E, Tuğrul M, Dündar V.** Trakya Üniversitesi Hastanesi'ne 1996 yılı içinde başvuran tüberküloz olgularda antitüberküloz ilaçlara direnç sorunu. *İnfek Derg* **1997**; 11: 191-6.
6. **Kıyan M.** Mycobacteriaceae. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyolojide*. Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 419-55.
7. **Attori S, Dunbar S, Clarridge JE.** Assessment of morphology for rapid presumptive identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium kansasii*. *J Clin Microbiol* **2000**; 38: 1426-9.
8. **Karabay O, Otkun M, Akata F, Karlıkaya C, Tuğrul M, Dündar V.** Trakya Bölgesinde antitüberküloz ilaç direnci ve ilişkili risk faktörleri. *İnfek Derg* **1999**; 13: 43-50.
9. **Yolsal N, Malat G, Dişçi R, Örkün M, Kılıçaslan Z.** Türkiye'de tüberküloz ilaçlarına direnç sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 yılları için karşılaştırılması: meta-analiz. *KLİMİK Derg* **1998**; 11: 6-9.
10. **CDC.** Initial therapy for tuberculosis era of multiagent resistance: Recommendations of Advisory Council for the elimination of tuberculosis. *MMWR* **1993**; 42 (R-7): 001.