

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2006 Yılları Arasında Tüberküloz Hastalarından Soyutlanan Mikobakterilerin Antitüberküloz İlaç Direnci

Yasemin Zer¹, Hülya Çiçek¹, Murat Mehli², Sibel Bayıl¹, İclal Balcı²

Özet: Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde, tüberküloz tanısı için gönderilen örneklerden mikobakteri üretme ve üreyen suşların antitüberküloz ilaçlara dirençlilik oranlarının belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na tüberküloz tanısı için 1 Ocak 2004-1 Nisan 2006 tarihleri arasında 3831 örnek kabul edilmiştir. Örneklerin Bactec 460 (Becton Dickinson, USA) tüberküloz kültür sisteminde önerilen yönteme uygun olarak kültürleri yapılmış, üretilen mikobakterilerin aynı sistemle antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları saptanmıştır. Örneklerin 216'sından (%5.63) *Mycobacterium tuberculosis* kompleksine ait mikobakteriler, üçünden (%0.078) MOTT basili, bir örnekten de *Nocardia* sp. izole edilmiştir. İzole edilen *M. tuberculosis* kompleksi suşlarının antitüberküloz duyarlılık testleri yapılmış; streptomisin (STR), izoniazid (İNH), rifampisin (RİF) ve etambutol (EMB) duyarlılıkları saptanmıştır. İzole edilen suşların 165'i (%76.38) test edilen her dört ilaca duyarlı bulunurken, 51 suşta (%23.61) bir veya daha fazla ilaca direnç gözlenmiştir. Direnç saptanan suşlardan 21'i (%9.72) çok ilaca dirençli (ÇİD), altısı (%2.77) STR, 13'ü (%6.01) İNH, altısı (%2.77) RİF, beşi de (%2.31) EMB dirençli bulunmuştur. Önceki yıllara oranla laboratuvarımıza gelen materyal sayısında artış olduğu, ancak üreme ve direnç oranlarında artış olmadığı; tespit etmiş olduğumuz direnç oranlarının Türkiye verileri ile benzer olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Mycobacterium tuberculosis*, antitüberküloz direnç.

Summary: Antituberculosis drug resistance in mycobacteria isolated from patients admitted to Gaziantep University Hospital between 2004-2006. The aim of this study was to determine the rates of mycobacterial isolation in samples from patients suspected of tuberculosis at Gaziantep University Hospital and drug resistance in mycobacterial isolates. Between 01.01.2004 and 01.04.2006, 3831 samples were sent to the Microbiology Laboratory for the diagnosis of tuberculosis. The samples were cultured using Bactec 460 (Becton Dickinson, USA) tuberculosis culture system. The susceptibility to antituberculosis drugs of *M. tuberculosis* isolates was investigated. Among the isolates, 216 (5.63%) belonged to *Mycobacterium tuberculosis* complex, three (0.078%) to mycobacteria other than tuberculosis (MOTT) and one to *Nocardia* sp. The susceptibility of *M. tuberculosis* complex isolates to four antituberculosis drugs, streptomycin (STR), izoniazid (INH), rifampin (RIF) and ethambutol (EMB) was studied. Among these, 51 isolates (23.61%) had either single or multiple drug resistance; 21 of them (9.72%) were multidrug resistant (MDR), 6 (2.77%) were resistant to only STR, 13 (6.01%) to INH, 6 (2.77%) to RIF and 5 (2.31%) EMB. The number of samples submitted to our laboratory increased in recent years, however, mycobacterial isolation rate and drug resistance did not increase. Our results were similar to the results obtained by other centers around Turkey, in terms of mycobacterial isolation and antituberculosis drug resistance.

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis*, antituberculosis resistance.

Giriş

Tüberküloz tarihte tüm toplumları etkilemiş olan, insanlık tarihinin en eski ve en çok korkulan hastalıklarından biridir (1). Günümüzde de dünyada ve ülkemizde hâlâ ciddi bir sağlık sorunu olarak önemini devam ettirmektedir (1,2). Tüberküloz hastalığında günümüzdeki sorun iki yönüyle dikkat çekicidir. Bunlardan biri, HIV enfeksiyonu ve diğer bağışık yetmezlikli olguların sayısının artmasına bağlı olarak olgu sayısındaki artış ve epidemiyolojisindeki değişiklikler, diğeri ise çoklu

ilaç direncidir (3). En az izoniazid (İNH) ve rifampisin (RİF)'e karşı dirençli basillerin neden olduğu tüberküloz "Çok İlaç Dirençli" (ÇİD) tüberküloz olarak adlandırılmıştır (4).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre Verem Savaş Dispanserleri'ne kayıtlı hastalar dikkate alınarak hesaplandığında Türkiye'de tüberküloz insidansı yüz binde 27'dir (5). Tüberküloz ülkemizde endemik olarak rastladığımız bir hastalıktır (2).

Tüberkülozdaki diğer önemli sorun olan ilaç direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda da ülkemizde nispeten yüksek oranlarda direnç bildirilmektedir (6-8).

İlimizde mikobakteri izolasyon ve antibiyotik duyarlılığı yapan tek merkez olan laboratuvarımızda incelenen örneklerdeki mikobakteri üreme oranlarının ve izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının antimikobakteriyel ilaç duyarlılıklarının belirlenmesi amacı ile bu çalışma yapılmıştır.

(1) Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı, Gaziantep

(2) Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

5th European Congress of Biogerontology (16-20 Eylül 2006, İstanbul)'de bildirilmiştir.

Tablo 1. Dirençli Suşların Dağılımı

Antibiyotik	Dirençli Suş Sayısı	
	n	(%)
İNH	13	(6.01)
EMB	5	(2.31)
RİF	6	(2.77)
STR	6	(2.77)
İNH-RİF	7	(3.24)
İNH-EMB	1	(0.46)
İNH-STR	4	(1.85)
İNH-EMB-STR	4	(1.85)
İNH-EMB-RİF-STR	5	(2.31)
Toplam	51	(23.61)

Tek ilaca dirençli 30 suş (%13.88) ve ÇİD olan 21 suş (%9.72) bulunmuştur.

Yöntemler

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2004-Mayıs 2006 tarihleri arasında tüberküloz ön tanısı ile gönderilen örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Balgam, açlık mide sıvısı, bronkoalveolar lavaj sıvısı ve pü örnekleri eritme ve dekontaminasyonu takiben; idrar örnekleri 3000xg'de 20 dakika santrifüjle çevrildikten sonra eritme ve dekontaminasyon yapılarak; steril vücut sıvıları ise eritme ve dekontaminasyon yapılmadan pH'sı ayarlanarak Bactec 12B (zenginleştirilmiş Middlebrook 7H12) şişelerine ekilmiştir. Kan örnekleri de direkt olarak Bactec 13A şişelerine ekilmiştir. Eritme ve dekontaminasyon amacı ile örnekler %4 NaOH ve N-asetil L-sistein ile 15 dakika muamele edilmiş, fosfat tamponlu su eklenerek 3000xg'de 20 dakika soğutmalı santrifüjde çevrilerek yoğunlaştırılmış, sedimentin pH'sı 6.8'e ayarlanarak ekimleri yapılmıştır.

Ekim sonrası üreme indeksinin (GI) günlük takibi ile GI 10'u geçtiğinde bu besiyerleri pozitif, altı hafta süresince takip edilip GI'de hiçbir değişiklik olmayan besiyerleri negatif olarak değerlendirilmiştir (9,10). Üreme olan besiyerlerinden, preparat hazırlanarak, aside dirençli boyama yapılmış ve aside dirençli bakteriler görüldükten sonra, *M. tuberculosis* kompleksi ve MOTT basillerini ayırmak için NAP testi yapılmıştır (9,10). Bu şekilde *M. tuberculosis* kompleksi olarak tanımlanan suşların antitüberküloz ilaçlara karşı duyarlılık testleri de Bactec 460 TB cihazı ile çalışılmıştır. Üreme saptanan besiyerlerinden ayrı ayrı, yeni 12B besiyerlerine son konsantrasyonları streptomisin (STR) için 2 µg/ml, İNH için 0.1 µg/ml, RİF için 2 µg/ml ve etambutol (EMB) için 2.5 µg/ml olacak şekilde ilave edilerek pasajları yapılmıştır. Test edilen ilacın bulunduğu besiyerindeki GI değeri kontrol besiyerindeki GI değeri ile karşılaştırılarak üreyen mikobakterilerin ilaç duyarlılıkları belirlenmiştir.

Sonuçlar

Hastanemiz Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2004-Mayıs 2006 tarihleri arasında 3831 örnek tüberküloz ön tanısı ile incelenmiş olup, yıllık incelenen örnek sayısı ortalama 1702.6 olarak bulunmuştur. Bu örneklerin 2011'i (%52.49) balgam, 593'ü (%15.47) plevra sıvısı, 476'sı (%12.42) bron-

koalveolar lavaj sıvısı, 325'i (%8.48) beyin-omurilik sıvısı, 167'si (%4.35) açlık mide suyu, 104'ü (%2.71) idrar, 52'si (%1.35) pü, 26'sı (%0.67) periton, 77'si (%2.01) diğer örneklerden (kan, akciğer biyopsisi, lenf nodu biyopsisi, eklem sıvısı, deri) oluşmuştur. Aynı hastaya ait ardışık örneklerden biri değerlendirmeye alınmıştır.

Örneklerden 216'sından (%5.63) *M. tuberculosis* kompleksi grubuna ait bakteriler, üçünden (%0.078) MOTT basili, bir örnekten de *Nocardia* sp. izole edilmiştir. İzole edilen *M. tuberculosis* kompleksi suşlarının antitüberküloz duyarlılık testleri sonucunda 165 suş (%76.38) test edilen her dört ilaca duyarlı bulunurken, 51 suşta (%23.61) bir veya birden fazla ilaca karşı direnç gözlenmiştir. Direnç saptanan suşların dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

İrdeleme

Tüberküloz çok eski zamanlardan beri bilinen, Türkiye'de ve dünyada hâlâ sık rastlanan bir hastalıktır (2). Dünyada her yıl sekiz milyon kişi aktif tüberküloz enfeksiyonuna yakalanmakta ve her yıl yaklaşık iki milyon kişi de tüberküloz nedeniyle ölmektedir. Tanısı ve tedavisi mümkün olan bu hastalık, halen dünyada en çok ölüme sebep olan hastalıklar arasındadır (3). Bu çalışmanın yapıldığı yaklaşık 2.5 yıllık süre içerisinde 216 örnekte (%5.63) *M. tuberculosis* kompleksi izole edilmiştir. Kliniğimizde daha önce yapılan benzer çalışmalarda bu oran %13.99 ve %8.45 olarak bulunmuştur (11,12). Üreme oranlarında bir miktar düşüş gözlenmekle beraber, istem sayısı önceki yıllara göre çok artmıştır (sırasıyla yaklaşık 355.5 örnek/yıl, 903.3 örnek/yıl, çalışmamızda 1702.6 örnek/yıl). Bu istemlerden bir kısmının klinik şüpheden çok, ayırıcı tanı amaçlı istenmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Türkiye'de benzer çalışmalarda izolasyon oranı %4.85-13.8 olarak bildirilmekte olup, bu oran bizim bulgularımızla uyumlu olarak değerlendirilmiştir (13-15).

Halen bir halk sağlığı sorunu olarak gözlemlenen tüberkülozun kontrolünü tehdit eden iki önemli faktör HIV salgını ve ÇİD olgularının artmasıdır. Ülkemiz için şimdilik HIV enfeksiyonu tüberküloz enfeksiyonları açısından sorun olarak gözlenmemekte, bununla beraber ÇİD tüberküloz olguları dünyada ve ülkemizde öncelikli yerini korumaktadır. Dünyada her yıl yaklaşık 300 000 yeni ÇİD tüberküloz hastası ortaya çıktığı ve bugün dünyada en az 50 milyon ÇİD tüberküloz olgusu olduğu bilinmektedir (3,16). Bu durumdan sorumlu faktörlerin başında ise yetersiz ve/veya yanlış tedavi uygulamaları gelmektedir (16). ÇİD suşların sebep olduğu hastalık tablosunun tedavisinin zor, pahalı ve yan etkisinin fazla olmasının yanı sıra mortalitesinin %40-60 arasında olduğu kaydedilmektedir (3,17).

Çalışmış olduğumuz hastaların 51'inde (%23.61) değişik oranlarda direnç tespit edilmiştir. Bu verilerde birincil ve ikincil ilaç direnci ayrımı yapılmamıştır. Tekli ilaç direnci en fazla İNH'de 13 suşta (%6.01) rastlanmış olup, bunun İNH'nin tedavi ve profilakside en fazla kullanılan ilaç olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Dünya genelinde yapılmış bir çok çalışmada da İNH direnci birinci sırada rapor edilmektedir. Türkiye'de de İNH ve STR direnci ilk sırada bildirilmektedir (17,18).

Olgularımızda tek ilaca direnç oranı %13.88 ve ÇİD oranı da %9.72 olarak bulunmuştur. Orhan ve arkadaşları (12)'nin

laboratuvarımızda yaptığı benzer bir çalışmada bu oran sırasıyla %22.38 ve %18.40 olarak bulunmuş olup, bizim çalışmamızda direnç oranlarında bir miktar düşüş olduğu gözlenmiştir. Söz konusu çalışma ile bizim çalışmamızda kullanılan yöntem ve ekipman aynı olduğu için, örnek sayısındaki artış da göz önüne alınarak duyarlılık testlerinin rutinde daha fazla kullanılmasının ve tedavi protokollerinin duyarlılık testleri sonucuna göre belirlenmesinin bu düşüşte etkisinin olduğu düşünülebilir. Ancak bunun iyimser bir yorum olduğu gerçek olup, bu durumun ispatı daha sonraki yıllarda yapılacak benzer çalışmalarla olmalıdır. Dünya genelinde en az bir ilaca birincil ve ikincil direnç %10.2 ve %18.4, Türkiye’de %14-27 ve %37-66 olarak bildirilmektedir (19-21).

Dirençli suşların oluşumunda en önemli sebep, hastaların tedaviye uyumsuzluğu ve yanlış uygulanan tedavi protokolleridir. ÇİD suşlar ile infekte hastalar bu suşları yayan rezervuar durumundadır. Bunlar göz önüne alınarak, klinik ve radyolojik şüphe varlığında rutin olarak tüberküloz kültürü ve antitüberküloz duyarlılık testleri yapılmalıdır. İki aylık tedaviye rağmen kültürü pozitif olan hastalarda duyarlılık testleri tekrarlanmalıdır (17).

Kaynaklar

1. Çelenk M. Tüberküloz epidemiyolojisi. *Türk Klin Tıp Bilimleri Derg* 1994; 14: 391-403
2. Öztürk R. Tüberküloz epidemiyolojisi. In: *IV. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kursu* (9-11 Aralık 2005, Malatya) *Kurs Kitabı*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2005: 23-40
3. Tahaoğlu K. Ülkemizde çok ilaca dirençli tüberküloz epidemiyolojisi. In: *IV. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kursu* (9-11 Aralık 2005, Malatya) *Kurs Kitabı*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2005: 41-6
4. Tahaoğlu K. Çok ilaca dirençli tüberküloz: genel bakış. In: *4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu* (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant) *Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 127-9
5. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. *Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı*. Ankara: Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı, 2003: 9-10
6. Kartaloğlu Z, Bozkanat E, Öztürkeri H, Okutan O, İlvan A. BAC-TEC yöntemi kullanılarak primer antitüberküloz ilaç direnci saptanan 365 tüberküloz olgusu. *Solunum* 2002; 4: 443-8
7. Oğul Ç, Gür A, Özdemir A. Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesi’nde 1995-1997 yılları arasında yatan tüberküloz olgularında primer ve sekonder ilaç direnç oranları. *Solunum Hast* 1999; 10: 238-44
8. 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. *Klimik Derg* 1998; 11(1): 6-9
9. Berlin OGW. Mycobacteria. In: Baron EJ, Finegold SM, eds. *Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology*. St. Louis: Mosby, 1990: 597-640
10. Siddiqi SH. *Bactec TB System, Product and Procedure Manual*. Maryland: Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, 1989
11. Balcı İ, Bayram A, Filiz A. Mycobacterium tuberculosis’de birinci seçenek ilaçlara direnç. *İnfeks Derg* 1999; 13(4): 512-25
12. Orhan G, Zer Y, Balcı İ, Bayram A, Korkmaz G. Mikobakteriyoloji laboratuvarında incelenen örneklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2002; 33: 225-9
13. Yaman A, Dündar İH, Aksungur P, Apan TZ. Mycobacterium tuberculosis’in izolasyonunda Bactec sistemi ile Löwenstein-Jensen’in kıyaslaması ile ilaç hassasiyetlerinin Bactec ile değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bül* 1994; 28: 189-98
14. Özekinci T, Mete M, Akpolat N, Atmaca S, Gül K. Tüberküloz tanısında Erlich- Ziel-Neelsen, fluorokrom boyama yöntemleri ile Bactec ve Löwenstein-Jensen kültür yöntemlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi. In: *4. Ulusal Mikobakteri Simpozyumu* (31 Ekim-2 Kasım 2002, Abant) *Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: 177
15. Baylan O, Kısa Ö, Albay A, Doğramacı L. Mikobakteriyoloji laboratuvarımızda 2002 yılında tüberküloz olgularından izole edilen Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTC) suşları ve antitüberküloz ilaç duyarlılık sonuçları. *Gülhane Tıp Derg* 2003; 45(3): 256-62
16. Kiraz N. Antitüberküloz ilaçlara direnç mekanizmaları ve yeni ilaçlar. In: *21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu* (11-12 Haziran 2003, Samsun) ve *II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu* (13-14 Haziran 2003, Samsun) *Kitabı*. İstanbul: Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği & Toraks Derneği Samsun Şubesi, 2003: 173-7
17. Aslan G, Delialioğlu N, Emekdaş G, Otağ F, Yıldız Ç, Çalikoğlu M, Özdemir Ö. Mycobacterium tuberculosis suşlarının izoniazid, rifampisin, streptomisin ve etambutol duyarlılıklarının Bactec yöntemi ile belirlenmesi. *Ankem Derg* 2005; 19(1): 43-7
18. Kartaloğlu Z, Bozkanat E, Öztürkeri H, Okutan O, İlvan A. Bactec yöntemi kullanılarak primer antitüberküloz ilaçlara direnci saptanan 365 tüberküloz olgusu. *Solunum* 2002; 4(4): 443-8
19. Durmaz R. Mycobacterium tuberculosis’te direnç sorunu. *Ankem Derg* 2005; 19(2): 107-10
20. Biberoglu K. Tedaviye dirençli tüberküloz. *İnfeks Bül* 1996; 1: 34-7
21. Haşçelik G, Ercis S, Özakın C, et al. Is Mycobacterium tuberculosis still a problem in Turkey? [Abstract]. In: Abstracts of American Society for Microbiology 101th General Meeting, (Orlando, Florida, USA, May 20-24, 2001). Washington, DC: American Society for Microbiology, 2001: 235