

Aktif Akciğer Tüberkülozlu Hastalardan İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Kökenlerinin İlaç Direnç Oranlarının Değerlendirilmesi

Güneş Şenol¹, Meral Coşkun¹, Can Biçmen¹, Onur Fevzi Erer²

Özet: Bu çalışmanın amacı, akciğer tüberkülozlu hastalardan elde edilen *Mycobacterium tuberculosis* kökenlerinin birinci sıra antitüberküloz ilaçlara karşı direnç oranlarını belirlemektir. Altı aylık dönem boyunca (1 Aralık 2002-31 Mayıs 2003) hastanemizin tüberküloz laboratuvarına gönderilen solunum yolu örneklerinin mikroskopi, kültür ve duyarlılık testlerinin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Toplam 11 551 örnekte tüberküloz kültürü çalışılmıştır. Antitüberküloz ilaç duyarlılık testi, isoniazid (H), rifampisin (R), etambutol (E) ve streptomisin (S) için indirekt proporsiyon yöntemi ile yapılmıştır. Kültür ve duyarlılık testi için Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri kullanılmıştır. Tüm kültürlerden 1067 *M. tuberculosis* kökeni izole edilmiştir. Beş yüz doksan iki hastadan izole edilen 996 kökende duyarlılık testi çalışılmıştır. Direnç oranları hasta sayısı üzerinden hesaplanmıştır. Dört yüz yetmiş (%79.3) hastadan izole edilen kökenler tüm ilaçlara duyarlı bulunmuştur. Tekli ilaç dirençleri H, R, E ve S için sırasıyla %4.2, %1.2, %0.2 ve %4.4; herhangi bir ilaca toplam direnç ise %16, %9.9, %3.2 ve %12.6 olarak saptanmıştır. H ve R direncinin birlikte saptandığı çok ilaca dirençli tüberküloz oranı ise %8.2 olarak bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz, ilaç direnci, çok ilaca dirençli tüberküloz.

Summary: Evaluation of drug resistance rates of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from active pulmonary tuberculosis. The aim of this study is to determine the resistance rates of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from pulmonary tuberculosis patients against first line antituberculosis drugs. Respiratory specimens which were sent to Mycobacteriology Laboratory, Izmir Chest Diseases and Surgery Research Hospital were analysed retrospectively during six months (1 December 2002-31 May 2003). Totally 11 551 samples were studied for mycobacterial culture. Antituberculous susceptibility tests were performed by indirect proportional method for isoniazid (H), rifampicin (R), ethambutol (E) and streptomycin (S). Lowenstein-Jensen (LJ) medium was used for culture and AST. One thousand and sixty seven MTB isolates were recovered. ASTs were performed for 996 strains which were isolated from 592 patients. Resistance rates were calculated according to the number of patients. Isolates from 470 patients (79.3%) were susceptible to all drugs. Monoresistance rates were found 4.2%, 1.2%, 0.2% and 4.4% for H, R, E and S. Any resistance of H, R, E and S were 16%, 9.9%, 3.2% and 12.6%, respectively. Multidrug resistant as being both H and R resistance was detected 8.2%.

Key Words: Tuberculosis, drug resistance, multidrug-resistant tuberculosis.

Giriş

Tüberküloz (TB), sağaltımındaki ilerlemelere rağmen yüksek mortalite ve morbidite hızı nedeniyle dünyada ve ülkemizde hâlâ önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Her yıl %95'i gelişmekte olan ülkelerde 8-10 milyon yeni TB olgusu ortaya çıkmakta ve 2 ile 3 milyon arasındaki kişi de bu hastalıktan hayatını kaybetmektedir (1-4).

Türkiye'de TB orta düzeyde endemik bir hastalıktır. Yıllık insidans, resmi verilere göre 26/100 000'dir (2,3). Olguların %22.7'si akciğer dışı tüberküloz olarak bildirilmektedir (5). Çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) olgu hızı %4.8 olarak kestirilmektedir (6,7).

İlaç direnci oranları sağaltım politikasının kalitesini yansı-

tır (6). Yeni ve eski olgulardaki direnç oranlarının bilinmesi önemli olmakla beraber, kombine direnç oran verileri toplumda dolaşan dirençli kökenlerin oranının kestirilmesinde yararlıdır. Bugünün kombine ilaç direnç düzeyleri, yarının primer ilaç direnç prevalansının önemli bir bileşeni olabilir (8). Çalışmamızda, hastanemizde son dönemlerde ulaşılan antitüberküloz ilaçlara direnç oranları bildirilerek, bölgemizdeki direnç sorununa dikkat çekilmek istenmiştir. Direnç oranları eski ve yeni olgular ayrılmadan kombine olarak verilmiştir.

Yöntemler

Bu çalışma, ülkenin batısındaki tek göğüs hastalıkları bölge hastanesi olan ve ülkedeki yeni olguların yaklaşık %20'sinin tanı aldığı ve eski ve yeni tüm TB olgularının toplamının %10'unun yatırılarak tedavi edildiği (2002 yılında 1421 yeni/1983 toplam olgu ve 2003 yılında 1434 yeni/1891 toplam olgu sayısı) İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Mikrobiyoloji Labora-

- (1) İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir
- (2) İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği, İzmir

Tablo 1. Örneklerin Sayısı ve Dağılımı

Örnek	Balgam	Bronş Aspirasyonu	Plevra Sıvısı	BAL*	Yara	Mide Suyu	Gaita	Drenaj Sıvıları	Toplam
Sayı	905	118	10	11	5	14	1	3	1067
(%)	(85)	(11)	(1)	(1)	(0.4)	(1.3)	(0.01)	(0.03)	(100)

*BAL: Bronkoalveolar lavaj.

tuvarı kayıtlarının retrospektif olarak değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmiştir (3,9).

Çalışılan örneklerin %85'i solunum yolu örnekleridir. Tüm örneklerin dağılımı Tablo 1'de izlenmektedir.

Mikroskopik inceleme için Kinyoun boyama yöntemi kullanılmıştır. Mikobakteri kültürü Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde yapılmıştır. Mikobakterilerin tanımlanması için üreme zamanı, koloni morfolojisi, pigmentasyonu ve biyokimyasal yöntem olarak niasin testi kullanılmıştır (10). Antibiyogram için LJ besiyerinde indirekt proporsiyon yöntemi uygulanmıştır. Proporsiyon kritik konsantrasyonlarda üreme yüzdeleri üzerinden değerlendirilmiştir. Kritik konsantrasyon H, R, E ve S için sırasıyla 0.2 µg/ml, 40 µg/ml, 2 µg/ml ve 4 µg/ml; kritik proporsiyon sınırı H, R ve E için %1, S için %10'dur. Kritik konsantrasyonda kritik proporsiyon oranından fazla üreme direnç olarak tanımlanmaktadır (10-12).

ÇİD, en azından H ve R ilaçlarının ikisine birden direnç gösteren kökenlerin direnç profilini tanımlamaktadır. Toplam direnç, o ilacın kendi başına veya diğer ilaçlarla birlikte direnç oranını; tekli direnç ise tek başına bir ilaca ait direnci belirtmektedir (7).

Çalışmamızda direnç oranları hasta sayısı üzerinden hesaplanmıştır. Eski ve yeni olgular birlikte değerlendirilmiştir. Direnç oranları bildirilirken primer ve sekonder olarak ayırım yapılmamıştır. Birden fazla köken izole edilen hastalarda ilk izole edilen kökenin direnç profili çalışmaya alınmıştır. Kültür ve antibiyogram için kalite kontrol kökeni olarak *Mycobacterium tuberculosis* H37 Rv kullanılmıştır.

Sonuçlar

1 Aralık 2002-31 Mayıs 2003 döneminde, 11 551 hasta örneğinin kültürü yapılmıştır. Bin yüz elli bir örneğin mikroskopik bakışı aside dirençli basil açısından olumlu bulunmuştur. Üreyen köken sayısı 1067 olarak saptanmıştır. Üreyen tüm kökenler antibiyograma alınmıştır. Kontaminasyon, yetersiz üreme veya üreme olmaması gibi nedenlerle 996 antibiyogram sonucu değerlendirilmiştir (Tablo 2). Değerlendirilen antibiyogramlar toplam 592 hastaya aittir. Saptanan direnç oranları Tablo 3'te görülmektedir.

İrdeleme

Sonuçlarımız bölgemizdeki hasta popülasyonunda yüksek ilaç direnç oranlarını işaret etmektedir. Ülkemizde son yıllarda yapılan başka çalışmalarda da, kendi aralarında değişkenlik izlense de, hem bu bölgede hem de ülke genelinde yüksek oranlar bildirilmektedir. Sürücüoğlu ve arkadaşları (13) Manisa ve çevresinde yaptığı çalışmada toplam H, R, E ve S dirençlerini %17.1, %12.4, %7 ve %20.2 olarak saptamışlar ve ÇİD-TB

oranını %8.5 olarak bildirmişlerdir. Bildirdikleri direnç oranları bizim sonuçlarımızdan daha yüksektir. Dilber ve arkadaşları (14)'nin çalışmalarında ise E ve S direnç oranları bizim sonuçlarımıza daha yakın görülürken (%4.2 ve %18.3); H ve R dirençleri (%6.7 ve %6.7) biraz daha düşük izlenmektedir. Bengisun ve arkadaşları (8)'nin İstanbul bölgesinde yaptıkları bir çalışmada H direnci %10.5, R direnci %6.9 çıkmış; ancak S direnci %6 ile diğer birçok çalışmada bahsedilen değer in altında izlenmiştir. Buna karşılık ÇİD-TB oranlarını % 5.8 bildirmişlerdir. Kısa ve arkadaşları (15) Ankara bölgesinde H direncini bizim sonuçlarımız kadar olmasa bile, yüksek bulmuşlar (%9.8); ancak daha düşük R (%2.6) ve S direnci (%1.9) bildirmişlerdir. ÇİD-TB oranları (%1.7) da oldukça düşüktür. E direnç (%5.3) oranı ise bizim elde ettiğimiz sonuçların biraz üzerinde kalmıştır. 1994'te yayımlanan bir metaanalizde ise H direnci %9, R direnci %3, E direnci %1 ve S direnci %11 olarak belirtilmiştir (16). Kendi merkezimizde iki sene önceki verilerimizi yayınladığımız çalışmada ise H direnci %8.9, R direnci %9.2, ÇİD kökenlerin oranı %5.8 bulunmuştur (17).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Uluslararası Tüberküloz ve Akciğer Hastalıklarına Karşı Birlik (IUATLD), 1994'te dünya genelinde ilaç direncini saptamak için global bir proje başlatmıştır. Bu projede saptanan sonuçlar ile kendi sonuçlarımız ve diğer yurtiçi yayımlanan sonuçlar karşılaştırılınca kaygı verici bir durum izlenmektedir. Çalışma sonuçlarımızda saptadığımız tüm birinci sıra antitüberküloz ilaçların direnç oranları, kombine ilaç direnci için saptanan medyan değer in (toplam H, R, S, E ve ÇİD-TB için sırasıyla %8.1, %2.2, %6.0, %1.2 ve %2.2) üzerinde kalmaktadır (18-20). Dört ilaca birden direnç oranı çalışmamızda %2.5 olarak saptanmıştır. Yurtiçi yayınlarda bu değer %0.8-%3.1 arasında bildirilmektedir. Global projede dörtlü ilaç direnci medyan değeri %0.6 olarak belirlenmiştir. DSÖ'nün %3'ün üzerinde ÇİD olan ülkeleri sıcak nokta olarak tanımladığı hatırlanacak olursa saptadığımız ve diğer birçok çalışmada alınan sonuçlar bu değer in çok üzerine çıktığımızı yansıtmaktadır (20).

Tüberkülozda ilaç direnci, randomize spontan mutasyonlar ve mutant kökenlerin seçilmesiyle ortaya çıkar. İlaç direnci gelişme olasılığı "P=1-(1-r)ⁿ" formülüyle belirtilir. Formüldeki "P" direnç gelişme olasılığı, "r" spontan dirençli mutant sıklığı, "n" lezyondaki basil sıklığıdır. "r" değeri R için 10⁻⁸; H, E ve S için 10⁻⁶'dır. Aynı anda iki ilaca birden direnç gelişme olasılığı 10⁻¹²-10⁻¹⁴'tür. Üç ilaca birden direnç gelişimi ise çok düşük bir olasılıktır. Ancak tedaviye uyumsuzluk ve uygun olmayan rejimlerin verilmesi durumunda mutantların ortama hakim olma riski artmaktadır (21). Böylece kronik olgular oluşmakta ve ilaç dirençli kökenler topluma yayılmaktadır (7,21).

Direncin nedeni mutasyonlar olsa da dirençli kökenlerin

Tablo 2. Kültür ve Antibiyogram Yapılan Kökenlerin Sayısı ve Oranları

İşlem	Sonuçlar
Kültür	Pozitif: 1067 Negatif: 10 484
Antibiyogram	Değerlendirilen: 996 (%94.4) Değerlendirilemeyen*: 71 (%6.6)

*Kontaminasyon, yetersiz üreme veya üreme olmaması.

Tablo 3. İzolatların Direnç Oranları

	n	(%)
Tüm İlaçlara Duyarlı	470	(79.3)
Toplam Direnç		
İzoniazid (H)	95	(16)
Rifampisin (R)	59	(9.9)
Etambutol (E)	19	(3.2)
Streptomisin (S)	75	(12.6)
Tekli Direnç		
İzoniazid (H)	25	(4.2)
Rifampisin (R)	7	(1.2)
Etambutol (E)	1	(0.2)
Streptomisin (S)	26	(4.4)
Çok İlaç Direnç		
H + R	12	(2)
H + R + E	1	(0.2)
H + R + S	21	(3.5)
H + R + E + S	15	(2.5)
Toplam	49	(8.2)

topluma yayılması, yetersiz TB kontrol programlarının sonucudur. Uygun olmayan tedavi rejimleri ve hasta uyumsuzluğu antitüberküloz ilaç direncinde artışa yol açar. İyi bir TB kontrol programı hastaların hızlı tanısını, hemen tedaviye alınmalarını, gerekli izolasyon önlemlerinin sağlanmasını, bütün bunlar için yeterli mali kaynağın bulunmasını gerektirir. Tıbbi eğitim ve gerekli ekipmanın sağlanması ve birimler arası bilgi akışı da program dahilinde olmalıdır (4,6,7,18,19) .

Sonuçlarımız içinde göze çarpan önemli bir konu R direncinin yüksek oluşudur. Birçok çalışmada da bu durum genellikle göze çarpmaktadır. TB tedavisinin temel taşı olan rifampisin ve türevlerinin tüketiminin kontrol altına alınması ve uygun olmayan amaçlarla kullanılmasının engellenmesi gerektiği düşünülmüştür (22).

Halk sağlığını tehdit eden bir bulaşıcı hastalık olan TB ve özellikle ÇİD-TB olguları bulaştırıcı dönemlerinde mutlaka izole edilmelidir. Bu hastalara hizmet eden kuruluşlar da bu amaç doğrultusunda fiziksel yapılanmalarını planlamalıdır.

İyi bir kontrol programında sağlıklı verilerin elde edilmesi ve birimler arasında ileriye ve geriye dönük bilgi akışının sağlanması esastır. TB ile mücadelede diğer enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi devamlı insidans ve prevalans değerlerinin izlenmesi gerekmektedir. Bu nedenle özellikle ulusal referans laboratuvarı etkin hale getirilmeli ve ülkede izole edilen tüm dirençli kökenlerin direnç profillerinin bu laboratuvarında doğrulanması sağlanmalıdır (12).

DSÖ, 1991'de önce DGTS, daha sonra 1998'de kapsamı genişletilerek, DGTS-artı programlarını tanımlamıştır (23,24). Ülkemizdeki TB insidansı ve ilaç direnci verileri dikkate alınarak, bu uygulamanın ülke genelinde hızla yaygınlaştırılması öncelikli amaçlar içinde olmalıdır.

DSÖ, 1991'de önce DGTS, daha sonra 1998'de kapsamı genişletilerek, DGTS-artı programlarını tanımlamıştır (23,24). Ülkemizdeki TB insidansı ve ilaç direnci verileri dikkate alınarak, bu uygulamanın ülke genelinde hızla yaygınlaştırılması öncelikli amaçlar içinde olmalıdır.

Kaynaklar

1. World Health Organization. Tuberculosis fact sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/who104/en/index.html>
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Control. WHO Report 2003. Geneva 2002. www.int/gtb/publications/globrep03
3. Özkara Ş, Aktaş Z, Özhan S, Ecevit H. *Türkiye'de Tüberkülozün Kontrolü İçin Başvuru Kitabı*. Ankara: Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı, 2003
4. Maher D, Raviglione M. The global epidemic of tuberculosis: a World Health Organisation perspective. In: Schlossberg D, ed. *Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999: 104-15
5. Özkara Ş, Kılıçaslan Z, Öztürk F, Seymenoğlu S, et al. Bölge verileriyle Türkiye'de tüberküloz. *Toraks Derg* 2002; 3: 178-87
6. Loddenkemper R, Sagebiel A, Brendel A. Strategies against multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J* 2002; 20(Suppl. 36): 66-77
7. Dye C, Espinal MA, Watt CJ, Mbiaga C, Williams BG. World-wide incidence of multidrug-resistant tuberculosis. *J Infect Dis* 2002; 185: 1197-202
8. Bengisun SJ, Karnak D, Palabıyıköçlü I, Saygun N. Mycobacterium tuberculosis drug resistance in Turkey, 1976-97. *Scand J Infect Dis* 2000; 32: 507-10
9. İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi. İstatistik birimi kayıtları, 2003
10. Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull World Health Organ* 1969; 41:21-43
11. Gümtüçlü F, Ceyhan İ, Kocagöz T, Sönmez N. *Tüberküloz Laboratuvar Rehberi*. Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, 1998: 45-60
12. Laszlo A, Rahman M, Raviglione M, Bustreo F, WHO/IUATLD Network of Supranational Reference Laboratories. Quality assurance programme for drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis in the WHO/IUATLD Supranational Laboratory Network: first round of proficiency testing. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997; 1: 231-8
13. Sürücüoğlu S, Özkütük N, Kurutepe S, Değerli K, Özbakkaloğlu B. Manisa bölgesinden izole edilen tüberküloz basillerinin primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının incelenmesi. In: 4. *Ulusal Mikobakteri Simpozyumu* (31 Ekim-2 Kasım 2002, Bolu) *Simpozyum Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 2002: P21
14. Dilber E, Göçmen A, Kiper N, Özçelik U. Drug-resistant tuberculosis in Turkish children. *Turk J Pediatr* 2000; 42(2):145-7
15. Kısa O, Albay A, Baylan O, Balkan A, Dogancı L. Drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: a retrospective study from a 2000-bed teaching hospital in Ankara, Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22(4): 465-7
16. Uçan ES. Türkiye'de antitüberküloz ilaçlara direnç sorunu. *Tüberk Toraks* 1994; 42(3): 219-25
17. Şenol G, Kömürçüoğlu B, Kömürçüoğlu A. Drug resistance of

- Mycobacterium tuberculosis in Western Turkey: a retrospective study from 1100 bed teaching hospital. *J Infect* 2005; 50(4): 306-11
18. Pablos-Mendez, Raviglione MC, Laszlo A, *et al.* Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. *N Engl J Med* 1998; 338: 1641-9
 19. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L, *et al.* Global trends in resistance to antituberculosis drugs. *N Engl J Med* 2001; 344: 1294-303
 20. World Health Organization. The WHO/IUATLD Global Project on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. www.who.int/gtb/publications/dritw
 21. Yew WW, Chau CH. Drug-resistant tuberculosis in the 1990s. *Eur Respir J* 1995; 8: 1184-92
 22. Iseman MD. Tuberculosis therapy: past, present and future. *Eur Respir J* 2002; 20(Suppl. 36): 87-94
 23. Raviglione MC, Pio A. Evolution of WHO policies for tuberculosis control, 1948-2001. *Lancet* 2002; 359: 775-80
 24. Farmer P, Kim JY. Community based approaches to the control of multiresistant tuberculosis: introducing "DOTS-plus". *Br Med J* 1998; 317: 671-4