

157909

T.C.

FIRAT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TIP FAKÜLTESİ MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

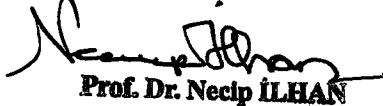
**MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ
MAJÖR ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA
DUYARLILIĞININ BACTEC 460 TB SİSTEMİ İLE
TESBİT EDİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Demet ATALAR (DEMİREL)

ELAZIĞ - 2004

ONAY SAYFASI


Prof. Dr. Necip İLHAN
Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez yüksek lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Danışman

Yüksek lisans sınavı jüri üyeleri

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Doç. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN

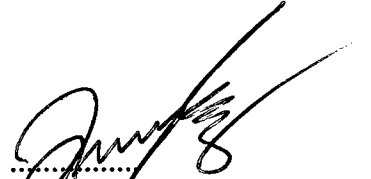
Doç. Dr. Adnan SEYREK

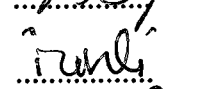
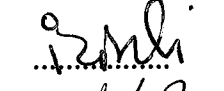
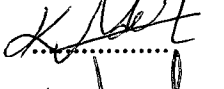
~~Doç. Dr. Ahmet KALKAN~~

~~Doç. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ~~

Yrd. Doç. Dr. Kutbettin DEMİRDAĞ (yedeğe)

Yrd. Doç. Dr. Ahmet KIZIRGİL (yedeğe)


.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

İTHAF

Bu çalışmamı ona her baktığımda bana güç veren oğlum Ata ATALAR'a
ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Öncelikle her zaman değerli bilgilerinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Mustafa Yılmaz'a ve aydınlatıcı bilgileriyle bana ışık tutan anabilim dalı hocalarım Doç. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN'a, Doç. Dr. Adnan SEYREK'e, Yrd. Doç. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ'ye konuyu çalışırken bilimsel anlamda imkânlar sağlayan Yrd. Doç. Dr. Ahmet KİZİRGİL'e, desteklerinden dolayı laboratuvar personeli arkadaşlarım ile ARB mikroskobisinde yardımcı olan Uzman Dr. Yusuf YAKUPOĞULLARI'na ve her türlü fedakârlıklarından dolayı aileme teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1. DÜNYADA VE TÜRKİYEDE TÜBERKÜLOZ	5
3.2. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS'İN HÜCRE YAPISI VE BAKTERİYOLOJİ	12
3.2.1. Hücre Yapısı	12
3.2.2. Bakteriyoloji	14
3.3. TÜBERKÜLOZ TANISI	17
3.4. ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLAR	22
3.4.1. Birincil Seçenek Antitüberküloz İlaçlar	22
3.4.1.1. İzoniazid (INH)	22
3.4.1.2. Rifampin (RMP, RIF)	23
3.4.1.3. Streptomisin (SM,STR)	24
3.4.1.4. Pirazinamid (PZR)	24
3.4.1.5. Ethambutol (EMB)	25
3.4.2. İkincil Seçenek Antitüberküloz İlaçlar	25
3.4.2.1. Para – Aminosalisilik Asid (PAS)	25
3.4.2.2. Etionamid (ETH)	26
3.4.2.3. Protionamid	26
3.4.2.4. Sikloserin	26
3.4.2.5. Terizidon	26

3.4.2.6. Tiasetazon	27
3.4.2.7. Kanamisin, Amikasin, Kapreomisin, Viomisin	27
3.4.3. Tüberkülozda Etkili Oldukları Kabul Edilen, Bir Kısmı Günümüzde Kullanılan Ve Araştırma Döneminde Olan İlaçlar	28
3.4.3.1. Kinolonlar	28
3.4.3.2. Yeni Rifamisinler	28
3.5. M. TUBERCULOSİS'İN ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENÇ MEKANİZMALARI	29
3.5.1. Rifampin (RMP)	30
3.5.2. İzoniazid (INH)	31
3.5.3. Streptomisin(SM)	31
3.6. ÇOK İLAACA DİRENÇLİ TÜBERKÜLOZDA TANI VE TEDAVİNİN ESASLARI	32
3.7. M.TUBERCULOSİS'İN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ	35
3.7.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	36
3.7.1.1. Geleneksel Yöntemler	36
3.7.1.1.1. Absolü Konsantrasyon Yöntemi	36
3.7.1.1.2. Direnç – Oran Yöntemi	37
3.7.1.1.3. Proporsiyon Yöntemi	37
3.7.1.2. Yeni Yöntemler	38
3.7.1.2.1. Kültür veya bakteri varlığına dayalı yöntemler	38

3.7.1.2.1.1. Radyometrik Yöntem (BACTEC)	38
3.7.1.2.1.2. Mikobakteri Büyüme İndikatör	
Tüp Yöntemi (MGIT)	40
3.7.1.2.1.3. Kolorimetrik Yöntem	
(Alamar Mavisi)	40
3.7.1.2.1.4. Modifiye Agar – Dilüsyon Yöntemi	41
3.7.1.2.1.5. Lusiferaz Taşıyıcı Faj Yöntemi	
(LRP)	41
3.7.1.2.1.6. Flow Sitometri Yöntemi	42
3.7.1.2.1.7. Biyoluminesans Yöntem	
(Hücrel ATP Ölçümü)	43
3.7.1.2.1.8. E test (Epsilometer)	43
3.7.1.2.2. Moleküler Yöntemler	44
3.7.1.2.2.1. Tek Zincir Konformasyon	
Polimorfizm (SSCP)	44
3.7.1.2.2.2. Revers Hibridizasyon	44
4. GEREÇ VE YÖNTEM	46
4.1. Gerekli Materyaller	46
4.2. Çalışma Prosüdüğü	47
5. BULGULAR	51
6. TARTIŞMA	56
7. KAYNAKLAR	
8. ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Mycobacterium tuberculosis'in elektro mikroskobu görüntüsü	3
Şekil 2. a. Mycobacterium hücre zarfının elektron mikroskopik görünümü	13
b. Mycobacterium hücre zarfının şematik açıklaması	13
Şekil 3. Mycobacterium hücre duvar yapısının şematik görünümü	14
Şekil 4. Mycobacterium tuberculosis'in ARB görüntüsü (×100)	16
Şekil 5. Mycobacterium tuberculosis'in ARB (pozitif) görüntüsü (×100)	16
Şekil 6. Mycobacterium tuberculosis'in Löwenstein Jensen besiyerindeki kültür görüntüsü	20
Şekil 7. Mycobacterium tuberculosis'in Löwenstein Jensen besiyerindeki kültür görüntüsü	20
Şekil 8. Çalışmada kullanılan Mycobacterium tuberculosis suşlarının direnç paternlerinin grafiği	52
Şekil 9. Çalışmada kullanılan Mycobacterium tuberculosis suşlarının direnç oranlarının grafiği	52
Şekil 10. Farklı araştırmacıların Bactec yöntemiyle bildirdikleri direnç oranlarının çalışmamızla karşılaştırılmasının grafiği	55

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. 1995 ve 2000 yıllarında bölgelere göre tahmini tb insidansı ve HIV’li tüberküloz (tb) olguları	7
Tablo 2. Türkiye’de yıllara göre tüberküloz insidansı	8
Tablo 3. Tüberkülozlu hastalarda bakteriyel direnç ve MDR prevelansı	10
Tablo 4. Birincil seçenek antitüberküloz ajanlarının dozları ve yan etkileri	25
Tablo 5. İkincil seçenek antitüberküloz ajanlarının dozları ve yan etkileri	27
Tablo 6. Mycobacterium tuberculosis’de antibiyotik direnci ile ilgili saptanan mutasyonlar	31
Tablo 7. Çok ilaca dirençli tüberkülozlu hastalar için önerilen tedavi rejimleri	34
Tablo 8. Besiyerindeki son konsantrasyonlara erişmek için yapılacak sulandırımalar	49
Tablo 9. Çalışmada kullanılan Mycobacterium tuberculosis suşlarının direnç ve duyarlılık paternleri	52
Tablo 10. Bir ve birden fazla ilaca dirençli suşların dağılımı	53
Tablo 11. Farklı araştırmacıların Bactec yöntemiyle bildirdikleri direnç oranlarının çalışmamızla karşılaştırılması	54

KISALTMALAR

AMS	: Açlık mide suyu
ARB	: Aside dirençli basil
ATP	: Adenozin Tri fosfat
AMK	: Amikasin
Bactec	: Radyometrik test
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CAP	: Kapreomisin
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CIP	: Siprofloksasin
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E test	: Epsilometer
EM	: Elektron mikroskobu
EMP	: Embden Mayerhoff
EMB	: Ethambutol
ETH	: Etionamit
EZN	: Ehrlich – Ziehl – Neelsen
GI	: Üreme indeksi
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
INH	: İzoniazid
IVATLD	: Tüberküloz ve Akciğer Hastalıkları Uluslar arası Federasyonu
LJ	: Löwenstein Jensen besiyeri
LRP	: Lusiferaz taşıyıcı faj yöntemi

MDR – TB	: Multi Drug Resistans Tuberculosis (Çok ilaca dirençli tüberküloz)
MGİT	: Middlebrook Growth indikatör tüp
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
M.tb	: Mycobacterium tuberculosis
OADC	: Oleik asit – albümin dekstroz – katalaz
PABA	: Para – Aminobenzoik asit
PAS	: Para – Aminosalisilik Asit
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
pH	: Asitlik bazlık derecesi
PZR	: Pirazinamit
RMP, RIF	: Rifampin
RNA	: Ribonükleik asit
SDA	: Zincir ayırma
SM, STR	: Streptomisin
tb.	: Tüberküloz
TCA	: Trikarbonik asit siklusu
TMA	: Transkripsiyona bağlı çoğalma
µm	: Mikrometre

1. ÖZET

Tüberküloz iyileşme süresi uzun süren bir enfeksiyon hastalığıdır. Gelişmekte olan ülkelerde % 95 oranında yeniden ortaya çıkmakta ve dünya popülasyonunun üçte birini etkilemektedir. 1995 - 2005 yılları arasında, bu oranların 8.8 milyondan 11.9 milyona yükselişi geleceği tehdit etmektedir.

Özellikle son 15 yılda tüm dünyada tüberküloz vakalarının sayısında önemli bir artış meydana gelmiştir. Buna paralel olarak da çoklu ilaç direncine sahip *Mycobacterium tuberculosis* suşlarında da belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Bundan dolayı bütün tüberküloz hastalarında, hızlı direnç testleri zorunlu olarak yapılmalıdır.

Bu çalışmada majör antitüberküloz ilaçlardan izoniazit, rifampin streptomisin ve ethambutolün akciğer tüberkülozlu hastaların balgam, BOS, AMS ve idrar örneklerinden izole edilen 27 suşun invitro etkinlikleri Bactec metoduyla araştırılmıştır.

Duyarlılık testlerinde izolatların % 21'i izoniazide, % 25'i rifampine, % 37'si ethambutole ve % 17'si streptomisine dirençli olarak saptanmıştır. Ayrıca 27 suşun 4'ünde en az rifampin ve izoniazide karşı direnç olarak adlandırılan çok ilaca direnç tespit edilmiştir. Bu direnç oranları, bölgemizde çok ilaca dirençliliğin var olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : *Mycobacterium tuberculosis*, majör antitüberküloz ilaçlar, Bactec test yöntemi

2. ABSTRACT

Tuberculosis is a chronic infectious disease that requires long term therapy to recovery. It affects one third of the world's population and 95 % of the diseases burden is borne by developing countries. This situation is likely to deteriorate in future with annual disease expected to be risen from 8.8 and 11.9 million between 1995 and 2005.

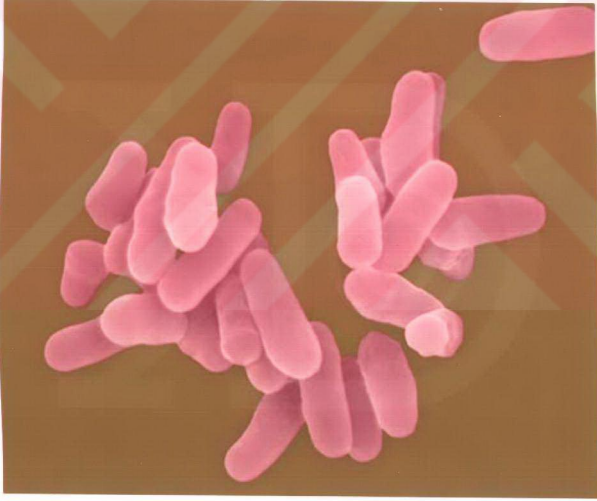
There is significant increase in the number of tuberculosis cases in last 15 years, all over the world. At the same time, multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains have increased significantly. Therefore, rapid antimicrobial susceptibility tests should be used to achieve to efficient and appropriate therapy for all of patients diagnosed with tuberculosis.

In this study, in vitro activities of isoniazide, rifampicin, streptomycin and ethambutole, that are the major antituberculous agents, were investigated with Bactec System for 27 *Mycobacterium tuberculosis* strains, isolated from sputum, CSF, gastric lavage and urine samples of pulmonary tuberculosis patients. Susceptibility tests have yielded that 21 % of the isolates were resistant to isoniazide, 25 % were to rifampicin, 37 % were to ethambutole and 17 % were to streptomycin. Additionally, 4 of 27 (14.81 %) isolates were found to be multidrug resistant that were resistant to at least rifampicin and isoniazide. These resistance patterns showed that *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from the patients who are living in our region, associated with multiple drug resistance.

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, major antituberculosis agents, Bactec test method.

3. GİRİŞ

Tüberküloz (tb), binlerce yıldan beri insan sağlığını tehdit eden, günümüzde de önemini koruyan bir hastalıktır. Hastalığın etkeni olan *Mycobacterium tuberculosis* (M.tbc); 1882 yılında Robert Koch tarafından bulunmuştur(3,4). Tüberküloz; bilinen en eski hastalıklardan birisi olmasına, sebebinin kesin olarak bilinmesine; 50 yıldır tedavisinin mümkün olmasına ve üstelik korunulabilir bir hastalık olmasına rağmen halen dünyada en yaygın ve ölümcül bulaşıcı hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir.



Şekil 1. *Mycobacterium tuberculosis*'in elektron mikroskobu ile görüntüsü

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve tüberküloz ile ilgili diğer uluslararası kuruluşların verilerine göre dünyada yaklaşık 1.7 milyar kişi *M. tuberculosis* ile infektidir. Basil taşıyanların 20 milyonu aktif tüberkülozlu olup bunların yılda 3 milyondan fazlası ölmektedir. Her yıl 8 milyon yeni tüberküloz olgusu ortaya çıktığı bilinmektedir

Ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında, etkili antitüberküloz ilaçların bulunmasıyla, gelişmiş ülkelerde tüberküloz morbidite ve mortalitesinde bir azalma olmuştur. Sonraki yıllarda immunosupresif tedavinin yaygınlaşması ve özellikle HIV enfeksiyonu, tüberküloz olgularında artışa yol açmış ve 1985 – 1995 yılları arasında olgu sayısında yaklaşık % 12 artış olduğu bildirilmiştir (2, 5).

Son yıllarda HIV ile enfekte hastalarda çoklu ilaç dirençli tüberküloz (Multi Drug Resistans Tuberculosis, MDR - TB) olgularının hızla artması, bu olguların % 40'ının ölümle sonlanması ve tedavinin başarısız olması, hastane kaynaklı bulaşların gözlenmesi, primer ve sekonder ilaç direncinin artması gibi nedenler tüberküloz kontrol çalışmalarını sonuçsuz bırakmıştır (40). Bu suşlar en azından önemli antitüberküloz ilaçlar olan rifampin ve izoniazid'e dirençleri ile standart kemoterapi rejimlerini etkisiz bırakmıştır (6).

Mycobacterium tuberculosis de ilaç direnci primer veya sekonder olarak gelişmektedir. Primer direnç, daha önce tüberküloz kemoterapisi almamış olan bir tüberküloz hastasında bir veya daha fazla ajana karşı direncin varlığıdır. Sekonder direnç ise verilen tedavinin seyri sırasında bir ya da daha fazla ilaca direnç gelişmesi olarak tanımlanır (7).

Son yıllarda çoklu ilaç direncine sahip *M.tuberculosis* suşların artması nedeniyle; etkin bir tedavi, uygun kemoterapi rejimi ve uygun kombinasyonların

seçimi; için tüberküloz tedavisine başlamadan önce antibiyotik duyarlılık testleriyle (izole edilen suşun) invitro duyarlılık durumu araştırılmalıdır (8, 9).

Sonuç olarak Türkiye’de de antitüberküloz ilaçlara karşı direnç oranlarını sağlıklı belirleyebilmek için çok merkezli ve geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Yeterli standardizasyon sağlandıktan sonra bizim çalışmamıza benzer çalışmaların, tüberkülozla savaşta önemli katkılar sağlayacağı inancındayız.

3.1. DÜNYADA VE TÜRKİYEDE TÜBERKÜLOZ

1882’de Robert Koch “Bir hastalığın öneminin ölçüsü eğer kurbanlarının sayısı ise, özellikle veba ve kolera gibi çok korku saçan infeksiyon hastalıkları, tüberkülozun çok gerisinde kalır” demiştir. Tüberküloz bugün hala dünyada hayatı tehdit eden en önemli bakteri hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ile Tüberküloz ve Akciğer Hastalıkları Uluslar arası Federasyonu (IVATLD)’nın saptamalarına göre, dünyada yaklaşık bir milyar 700 milyon kişi *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*) ile infektidir. Tüberküloz için bazı önemli noktalar şu şekilde sunulabilir:

- Basili taşıyanların 20 milyonu aktif tb’ludur.
- Bunların yılda üç milyondan fazlası ölmektedir.
- Her yıl sekiz milyon yeni tb, olgusu ortaya çıkmakta ve bunların üç milyonunun bulaştırmacı olduğu sanılmaktadır.
- Coğrafi dağılım düzensizdir. En yüksek hasta sayısı Asya’da bulunmaktadır (5).

19. yy’ın ikinci yarısında kemoterapinin etkisiyle endüstrileşmiş ülkelerde tüberküloz morbidite ve mortalitesinde devamlı bir düşüş olmuştur. Bu olay,

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yılda % 5 – 6 olarak belgelenmiştir. Söz konusu azalma iyimserliğe yol açarak ABD'nde 2010 yılına kadar tb'un yok edilmesi amacıyla hazırlanan bir stratejik plan için temel oluşturmuştur. Ancak 1985'ten beri bu düşüş durmuş ve 1985 – 95 yılları arasındaki olgu sayısında yaklaşık % 12'lik bir artış görülmüştür (12).

Tb ve HIV in birlikte görülmesi, bazı ülkelerde tb insidansında belirgin bir artışa neden olmuştur. Bağışıklık sistemini bozma yeteneğinden dolayı HIV, tb enfeksiyonunun hastalığa dönüşmesinde belirgin bir risk faktörüdür.

Dünyada (çoğu Afrika'da olmak üzere) beş milyon insanın HIV + M. tbc ile infekte olduğu saptanmıştır (13).

Tb insidansı, dünyada büyük farklılıklar göstermektedir. Bugün yılda 10^5 kişi başına yeni olgu sayısı; Güneydoğu Asya'da 250, Orta Afrika'da 220, Doğu Akdeniz'de 170, Doğu Avrupa'da 50 ve gelişmiş ülkelerde (Batı Avrupa, ABD, Kanada, Japonya, Avustralya) 20'dir (Tablo 1). Gelişmekte olan ülkelerde insidans her zaman yüksek olup ve artmaya devam etmektedir. Kentsel alandaki olgularda kırsal alandan daha hızlı bir artış gözlenmektedir. Bu artıştan, HIV epidemisi yanında fakirlik, evsizlik, yüksek tb prevalansı olan ülkelere göç, ilaç ve alkol bağımlılığı, halk sağlığı çalışmalarında bozukluk gibi sosyo – ekonomik faktörler sorumlu tutulmaktadır (5).

Tablo 1. 1995 ve 2000 yıllarında bölgelere göre tahmini tb insidansı ve HIV'li tüberküloz (tb) olguları (50)

Bölge	1995			1996			2000		
	Toplam	Oran ^a	HIV'li	Toplam	Oran ^a	HIV'li	Toplam	Oran ^a	HIV'li
	Tb olguları		Tb olguları	Tb olguları		Tb olguları	Tb olguları		Tb olguları
Güneydoğu Asya	3106000	241	251000	3952000	237	66000	3499000	247	571000
Batı Pasifik	1839000	140	31000	2255000	136	19000	2045000	144	68000
Afrika	992000	242	380000	2079000	191	194000	1467000	293	604000
Doğu Akdeniz	641000	168	16000	870000	165	9000	745000	168	38000
Amerika ^c	569000	123	45000	645000	127	20000	606000	120	97000
Doğu Avrupa ^d	194000	47	2000	210000	47	1000	202000	48	6000
Sanayileşmiş ülkeler ^e	196000	23	13000	211000	23	6000	204000	24	26000
Toplam	7537000	152	738000	10222000	143	315000	8768000	163	141000
1990'dan beri artış			(%8.4)			(% 4.2)			% 13.8)

a: 100000'deki kaba insidans oranı

b: Japonya, Avusturalya ve Yeni Zelanda dışındaki tüm batı Pasifik bölgelerini içerir.

c : ABD ve Kanada dışındaki tüm Amerika bölgelerini kapsar

d : Doğu Avrupa ülkeleri ve eski Sovyetler Birliğinden ayrılan bağımsız ülkeler

e : Batı Avrupa ülkeleri, ABD, Kanada, Japonya, Avustralya ve Yeni Zelanda

Türkiye’de tüberkülozun 1990 – 95 döneminde geçirdiği seyir ile günümüzdeki durumunu anlamada ve son 45 yıldır uygulanan kontrol programının etkinliğini değerlendirmede karşılaşılan en önemli engel yeterli ve güvenilir verilerin bulunmayışıdır. Eldeki veriler var olduğu tahmin edilen tb hastalarının ancak % 50’sinin “Verem Savaş Dispanserleri” tarafından bilindiğini göstermektedir (14). Türkiye de Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı verilerine göre, infekte olgu sayısı yaklaşık 12 milyondur. Bu 12 milyon (nüfusun yaklaşık % 25’i) kişi nedeniyle; Türkiye, büyük bir infeksiyon havuzu oluşturmaktadır ve bu sayının her yıl % 1 – 3’ünün hasta olacağı düşünüldüğünde, sorunun boyutları ortaya çıkmaktadır (7).

Tablo 2. Türkiye’de yıllara göre tüberküloz (Tb) insidansı (50).

Yıllar	Yıllık ortalama nüfus	Bulunan yeni tb sayısı	Tb insidansı (yüzbinde)
1980	44438000	23210	52.2
1981	45540000	25232	55.4
1982	46688000	26457	56.74
1983	47864000	28634	59.8
1984	49070000	27530	56.1
1985	50306000	30960	61.5
1986	51546000	31030	60.2
1987	52845000	30779	58.2
1988	54176000	27884	51.4
1989	55541000	26669	48.0
1990	56000000	2494	44.0
1991	58000000	25166	43.9
1992	60000000	25455	42.9

Son yıllarda tb'daki yeni korku, çoğul dirençli (MDR) M. tbc suşlarının varlığı olmuştur. Bu suşların çoğunluğu en önemli antitüberküloz ilaçlar olan rifampin ve izoniazide dirençlidir (6).

HIV, tb için yeni bir rezervuar yaratmış ve MDR suşlarının ortaya çıkması standart kemoterapi rejimlerini etkisiz bırakmıştır. Önceden MDR – TB yavaş ilerleyici ve genellikle akciğerle sınırlı iken, HIV ile infekte kişilerde, sıklıkla sistemik, çok zor tedavi edilebilen ve erken mortalite gösteren bir şekle dönüşmüştür (5).

MDR – TB prevalansı, standardize edilmiş kemoterapi rejimlerinin kullanılmadığı ülkelerde daha yüksektir. Oysa tb programının iyi ve etkili uygulandığı ülkelerde yeni hastalar arasındaki MDR prevalansı % 1'in altındadır. Tablo 3'de dünyada tb hastaları arasındaki MDR prevalansı gösterilmiştir (5).

Tablo 3. Tüberkülozlu, hastalarda bakteriyel direnç ve MDR prevalansı (50)

Çalışma	Önceden Tedavi Görmüş Hastalar				Tedavi Görmemiş Hastalar			
	Değerlendirilen		Edinilmiş		MDR		Primer	
	Hasta sayısı	Direnç ^a (%)	Hasta sayısı	Direnç ^a (%)	Hasta sayısı	Direnç ^b (%)	Hasta sayısı	Direnç ^b (%)
Nepal (1986-91)	125	73,6	160	48,0	125	2,5	160	2,5
Gujarat, Hindistan (1980-86)	1574	80,2	570	33,8	1574	0,0	570	0,0
New York, ABD (1991)	239	44	227	30,1	239	7,5	227	7,5
New York dışındaki ABD'nde 36 şehir (1991)	192	25,5	2980	6,8	192	3,2	2980	3,2
İstanbul, Türkiye (1992)	260	53,4	525	21,5	260	3,0	525	3,0
Kore (1985 - 1990)	138	49,0	276	18,0	138	0,0	276	0,0
Santa Cruz, Bolivya (1985-88)	372	43,4	636	15,3	372	0,9	636	0,9
Cezayir, Cezayir (1986-92) ^c	581	20,8	1595	12,7	581	0,3	1595	0,3
Tanzanya (1990-94)	1550	18,7	1642	4,2	1550	0,9	1642	0,9
Bati Cape, Güney Afrika	1920	19,3	3928	4,0	1920	1,1	3928	1,1

a : Edinilmiş direnç önceden antibeeetkütloz ilaç almış olan hastalarda görülen bakteriyel dirençtir.

b : Primer direnç daha önce hiç antibeeetkütloz ilaç almamış olan hastalarda görülen bakteriyel dirençtir.

c : Boulahbal F, kişisel görüşme, 1994

MDR – TB’un optimal tedavisini deęerlendiren ileriye dönük klinik çalıřmalar yoktur.

Dünyada tb insidansının azaltılması; yeni, etkili tanı yöntemlerinin, aşıların ve ilaçların bulunmasını gerektirmektedir. Hastaların tedavi hataları ve direnç gelişiminin engellenmesi için, uzun süre dikkatli izlenmesi n koşuldur. Duyarlılık deneyleri sonuçlarının çabuk bildirilmesi, buna göre tedavinin hızla düzenlenmesi, düzenli ve devamlı bir tedavi HIV pozitif olan MDR olgularında bile tedaviye yanıtı ve hayatta kalma oranını artırmaktadır (16).



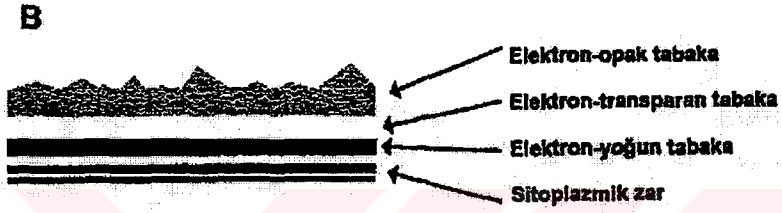
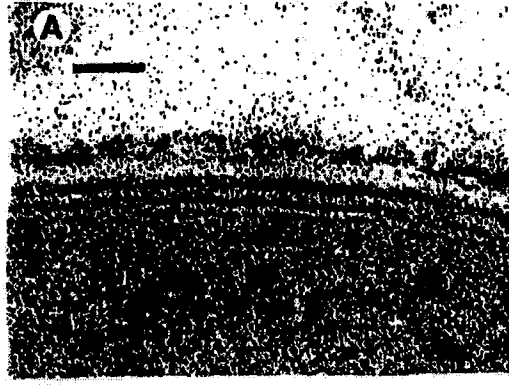
3.2. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS'İN HÜCRE YAPISI VE BAKTERİYOLOJİ

3.2.1. Hücre Yapısı

Tüberküloz hastalığı; çağlar boyunca, tanrıların öfkesi veya kötü hava gibi nedenlere bağlı olduğu düşünülerek; dua etmek, pişmanlık duymak, kuru ve temiz havada yaşam gibi yöntemler ile tedavi edilmeye çalışılmış, 1882 yılında R. Koch'un bakteriyi tanımlaması ile adeta yeni bir çağ başlamış, tanı ve tedaviye yönelik dev adımlar atılmıştır. Bakterinin, dolayısıyla hastalığın anlaşılmasında yol gösterici çalışmaları olan Anderson (1932), tüberküloz hastalığıyla ilgili olan hipersensitivite, koruyucu bağışıklık gibi temel olayların hücre duvarıyla ilişkili olduğuna dikkat çekmiştir (17).

Mycobacterium'lar ile yapılan elektron mikroskobu (EM) çalışmaları, sitoplazma içinde bol miktarda ribozom, polifosfat granülleri, vakuoller, lipid damlacıkları ve kitle şeklinde fibriler bir DNA bulunduğunu, üç katlı plasma membranının üç katlı bir hücre duvarı ile çevrili olduğunu ortaya koymuştur(4).

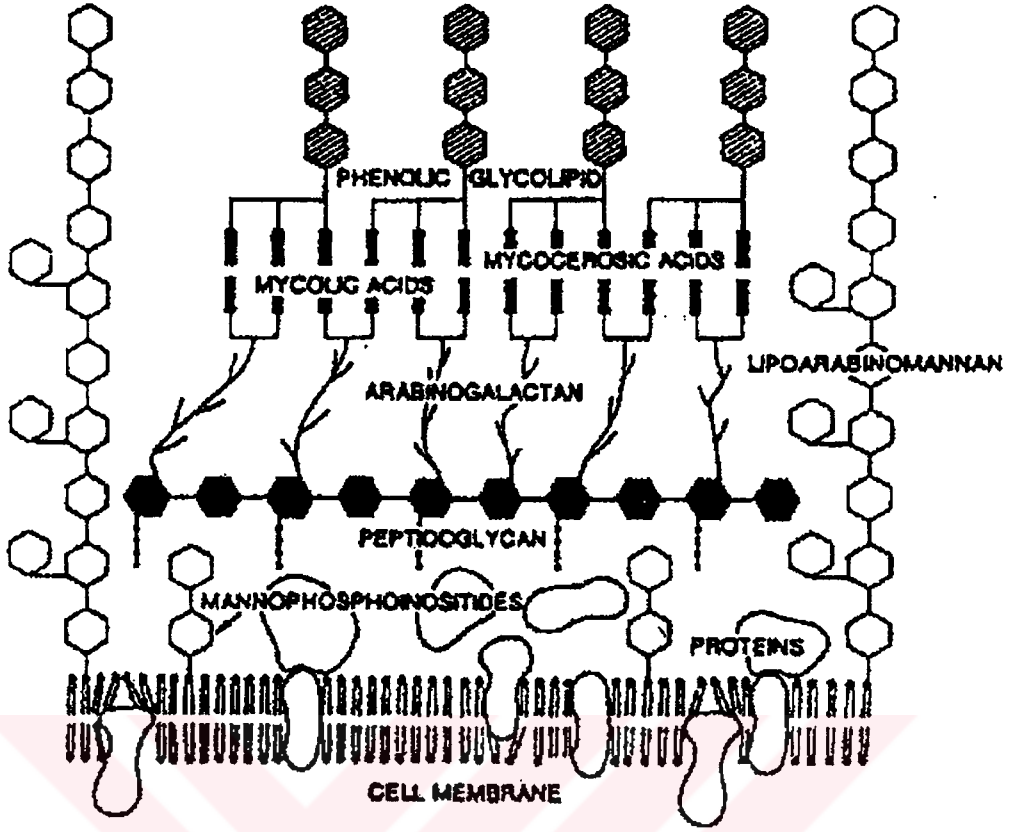
Bazı araştırmacılar *M. tuberculosis*'in sitoplazmik zar ve hücre duvarını birlikte hücre zarfı olarak adlandırmakta ve bu yapı hücre içi basınca karşı bakteriyi korumak ve mekanik destek sağlamak, hücre içine madde giriş çıkışını ayarlamak gibi temel işlevlere sahip olduğunu kabul etmektedirler. Yapısal olarak diğer bakterilerden önemli farklılıkların olması mycobacteria'yı diğer bakterilerden ayırmaktadır (17).



Şekil 2. a) Mycobacterium hücre zarfının elektron mikroskobu ile görünümü

b) Şematik açıklaması

Mycobacteriumların duvar yapısında en içte elektron yoğun tabaka bulunur ve temel yapısı peptidoglikandır. Bilindiği gibi peptidoglikan yapısında N-asetil muramik asitler, N-glikozaminler β -1,4 bağları ile bağlanırlar. Mycobacteria'da ise N – glikolil muramik asit bulunur. Glikolil yapısı nedeniyle bakteri lizozime dirençlidir. Ortada elektron transparan tabaka bulunur ve arabinogalaktan mikolat moleküllerinden oluşan bu yapı koruyucu bariyer görevi görür. Burası EM de kullanılan boyalar ile boyanmadığından elektron transparan görünür. En dışta da elektron opak tabaka bulunur. Bu tabakada da mikolik asitler bulunur. Mikolik asitler değişik lipid, glikolipit ve bazı proteinler ile sonlanmaktadır (4,17).



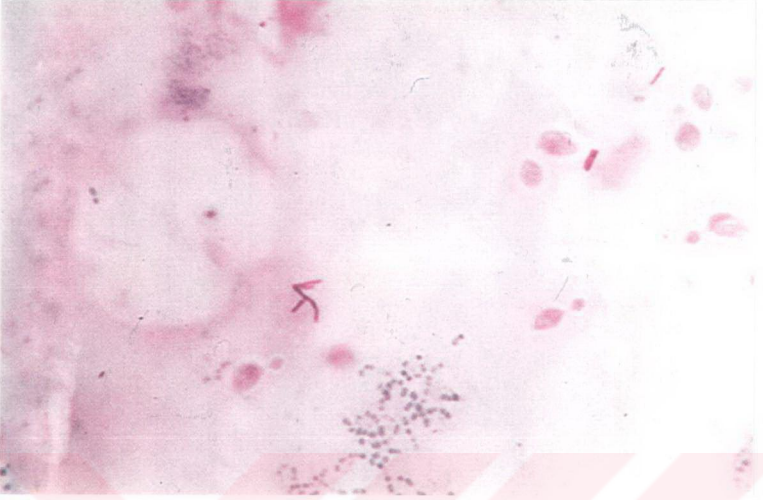
Şekil 3. Hücre duvar yapısının şematik görünüm

3.2.2. Bakteriyoloji

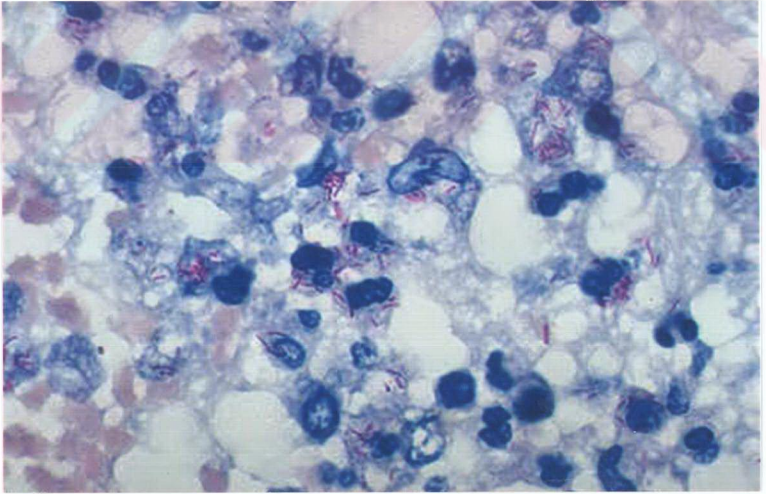
M. tuberculosis hareketsiz, sporsuz, aside dirençli, zayıfça gram (+), çomak şeklinde 2–4/0.3–0.6µm boyutlarında olan bir mikroorganizmadır. Laboratuvarlarda diğer mycobacteriumlardan ayırt etmek için; yavaş ve gecikmiş katalaz aktivitesi ile pozitif niasin testinden yararlanılır. Makrofajlar tarafından fagosit edildiği zaman sindirilemez ve canlılığını korur. Kültürlerde uzun süre canlı kalabilir, buzdolabında yıllarca yaşamını sürdürür. Basilin toksini yoktur fakat parçalandığı zaman, serbest kalan bazı maddeler doku üzerinde toksik etki yapabilir (3).

M. tuberculosis zorunlu aerob bir bakteridir. Sürekli çalkalanarak iyi bir şekilde havalandırılan kültürlerde, üreme seviyesi en üst düzeyde iken, ortamın oksijen miktarındaki küçük bir azalma üreme hızını düşürür. % 5 – 10 CO₂ varlığı üremeyi artırır. Optimal ısı 37°C , pH = 7 dir. Enerji gereksinimlerini basit karbon kaynaklarından sağlarlar. Öncelikli kullanılan enerji yolu EMP dir. Gerekğinde TCA ve pentoz fosfat yollarına da başvurabilir. ***M. tuberculosis***, iyi oksijenlenen organ ve dokulara yerleşip, çoğalma ve hastalık oluşturma eğilimindedir. Bu nedenle tüberküloz en çok akciğer, böbrek, eklem, kemikler, lenf bezleri, larenks, genital sistem, bağırsak ve diğer organlarda görülür (4).





Şekil 4. Mycobacterium tuberculosis'in ARB görüntüsü ($\times 100$)



Şekil 5. Mycobacterium tuberculosis'in ARB görüntüsü (Pozitif görüntüsü) ($\times 100$)

3.3. TÜBERKÜLOZ TANISI

Tüberküloz, infeksiyon kaynağı hasta insan olan bir hastalıktır. Bu nedenle bir toplumda başarılı bir tüberküloz mücadelesi verilmek isteniyorsa bu hasta insanlara bir an önce tanı konulup, tedavilerinin yapılması gereklidir. Bu amaçla bazı araştırmacılara göre; hastaların en az % 70'ine tanı konulabilmeli, tanı konulan hastaların ise en az % 85'i başarılı olarak tedavi edilebilmelidir (18).

Tüberkülozun kesin tanısı, etiyolojik ajanın izolasyon ve identifikasyonu; uygun tedavi planının tasarlanmasına ve antitüberküloz duyarlılık test sonuçlarına bağlıdır (19).

Bir tüberküloz hastasının tanısında yer alan parametreler şunlardır:

- * Öykü (klinik semptomlar)
- * Bakteriyoloji
- * Fizik inceleme
- * Histolojik inceleme
- * Radyoloji
- * Serolojik ve moleküler tanı yöntemleri
- *Tüberkülin testi

Tüberküloz basili rölatif olarak yavaş çoğalan bir mikroorganizmadır.

Tüberküloz basilleri insan vücuduna değişik bölgelerden (deri, solunum, sindirim, konjunktiva) girebilir. Ancak en önemli bulaş yolu inhalasyondur. Her ne kadar ilk yerleştikleri organlar farklı olsa da, meydana gelen patolojik olaylar, daima aynıdır. Bulaş sonrası hastalık oluşup oluşmaması veya hastalık meydana gelip gelmemesi konağın direnci ile bakteriyel virulans arasındaki dengeye bağlıdır (5). Tüberküloza karşı gelişen bağışık yanıtın sonuçları oldukça karışık olup henüz tamamen anlaşılamamıştır. Hastalığın kronikleşmesi ve eradike edilmesiyle ilgili zorluklar basilin fagositoza direnci ile kısmen açıklanabilir. Hücre içi yerleşimli mikobakterilere karşı koruyucu bağışıklık; temelde hücre

immün yanıtı (antijene özgü T lenfositler, aktive makrofajlar ve bunlardan salınan lenfokinlere) bağlıdır (42). Ancak bakterinin virulans faktörleri (kord faktör, sulfatidler ve diğer asidik lipidler gibi) daha ağır basar ve makrofaj aktivitesini yetersiz kalırsa basil, hücre içinde çoğalmaya başlar. *M.tuberculosis*'in duvar yapısında toksik etkiye sahip bazı komponentler olsa da mikroorganizmanın bilinen histolitik enzimleri ve toksinleri yoktur. Bu nedenle konakta ani cevap meydana gelmez.

M.tuberculosis, zorunlu aerob bir bakteri olduğundan iyi oksijenlenen organ ve dokulara yerleşip, çoğalma ve hastalık oluşturma eğilimindedir. Bu nedenle tüberküloz en çok akciğerlerde daha sonra sırasıyla seröz zarlar (plevra, meninks, periton), böbrek, eklem - kemikler, lenf bezleri, larenks, genital sistem (testis, epididim, ovaryum ve uterus), barsak ve diğer organlarda görülür. Parsiyel oksijen basıncı düşük olan karaciğer, dalak, mide ve pankreas gibi organlarda enfeksiyona nadiren rastlanır (5).

Hastalık ilerledikçe klinik bulgular çarpıcı hale gelebilirse de, semptomlar genellikle hafiftir ve hastalar tarafından başka nedenlere bağlanarak geçirilebilir. Bu semptomları; öksürük, ateş, halsizlik, huzursuzluk, terleme gibi sıralayabiliriz (3). Fiziki muayenede çoğunlukla hiçbir patoloji saptanmaz. Bazı vakalarda hastalığa uygun alanlarda ince raller işitilebilir. Radyolojik görünüm ise tüberküloza özgü değildir ve birçok akciğer hastalığında benzer görünümler olabilir bu nedenle de tanıda son söz radyolojinin değildir (18)

Bu indirekt teşhis yöntemleri yol gösterici olsa da kesin tanı, uygun klinik örneklerden basillerin izolasyonu ile olur. Hastalık çeşitli organ ve dokuları

tuttuğu için, materyal seçimine özen gösterilmeli; normal flora üyeleri ile kontemine örnekler incelenirken dikkatli olunmalıdır (4).

Örnek olarak hastalardan balgam, açlık mide suyu, idrar, BOS, dışkı plevral sıvı, abse materyal olarak alınabilir.

Bakteriyolojik incelemenin iki aşaması vardır:

1. Direkt mikroskopik inceleme (yayma preparat)
2. Kültür

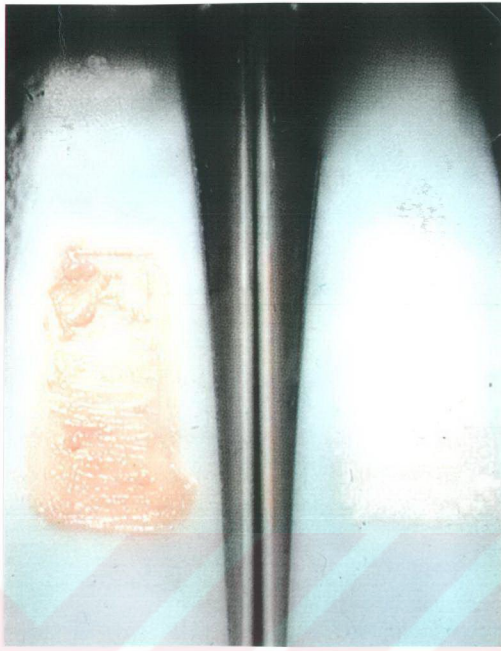
Direk mikroskopi de kullanılan yöntemler;

- Ehrlich – Ziehl – Neelsen(EZN) boyama yöntemi
- Kinyoun boyama yöntemi
- Floresanlı boyalar.

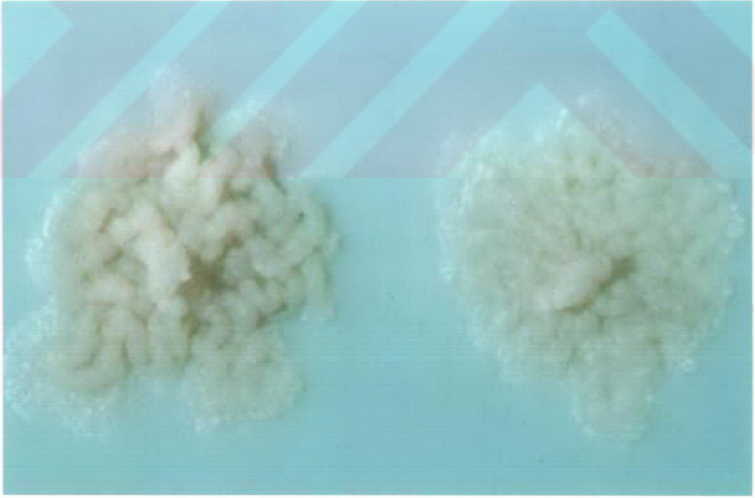
Bu yöntemlerin bazı eksik yanları vardır; yayma preparatta basilin görülebilmesi için balgamın 1 ml'sin de en az 10.000 basil bulunma gereği ve başta atipik mikobakteriler olmak üzere bazı mikroorganizmaların tüberküloz basili gibi boyanıp bakan kişiyi aldatabilmesi her an mümkündür.

Tüberküloz tanısını teyit etmenin en kesin yolu ise kültürde basili üretmektir. **Kültür için kullanılan besiyerleri ise;**

- Löwenstein Jensen besiyeri
- Middlebrook – H10 . – H11 besiyerleri
- Perlegrani besiyeri
- ATS besiyeri
- BACTEC
- MGIT[®] tir (18).



Şekil 6. Mycobacterium tuberculosis'in Löwenstein jensen besiyerindeki kültür görüntüsü



Şekil 7. Mycobacterium tuberculosis'in Löwenstein jensen besiyerindeki kültür görüntüsü

Serolojik ve moleküler yöntemler

- Antijen ve antikorların saptanması
- Adenozin deaminaz (ADA) deneyi
- TMA (transkripsiyona bağlı çoğaltma)
- Nükleik asit problemleri
- PCR, SDA (Zincir, ayırma ve çoğaltma)

Türkiye için de çok önemli bir sağlık sorunu olan tüberkülozun tanısıyla ilgili problemler, bugün hala klinik örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılması aşamasında başlamaktadır. Bu nedenle tanı ile ilgili problemleri;

- Uygun klinik örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılması.
- Preperasyondaki problemler,
- Kültürdeki problemler
- Polimeraz zincir Reaksiyonu (PCR)'nda karşılaşılan problem olmak üzere dört ayrı bölüm olarak incelenebilir(21).

3.4. ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLAR

İnsanlar uzun yıllardır tüberküloz (tb) hastalığından haberdar olmasına karşın etkili kemoterapötiklerin bulunması çok daha yakın zamana rastlamaktadır. Elimizdeki ilaçlar duyarlı bakterilerle infekte olan hastaların çoğunun tedavisinde etkilidir. Bununla birlikte, antimikobakteriyel ilaçların hatalı kullanılması sonucu, dirençli mutantlar ortaya çıkmıştır. Bugün çoğul ilaç dirençli (ÇİD veya MDR) varyantların devrindeyiz ve tb'un tedavisi için etkili, yeni ilaçlara gereksinim vardır. Bunlar için en muhtemel kaynak eldeki ilaçların modifikasyonudur ki, bu hem ilaçların etki mekanizmasını hem de direnç geliştirme yollarının iyi bilinmesini gerektirmektedir.

Antitüberküloz ajanları üç gruba ayırabiliriz:

1. Birincil seçenek antitüberküloz ajanlar
2. İkincil seçenek antitüberküloz ajanlar
3. Tüberkülozda etkili oldukları kabul edilen, bir kısmı günümüzde kullanılan ve araştırma aşamasında olan ajanlar(22).

3.4.1. Birincil Seçenek Antitüberküloz İlaçlar

3.4.1.1. İzoniazid (INH)

Bütün dünyada tb tedavisi ve profilaksisinde kullanılan en güçlü ilaçlardan biridir. Ucuz olması, biyoyararlılığı, mükemmel hücre içi penetrasyonu ve dar etki spektrumu ile ideal bir antimikobakteriyel ilaçtır (23).

Ayrıca *Mycobacterium tuberculosis* bu ilaca karşı yüksek oranda spontan direnç geliştirme özelliğine sahiptir (10^6 da bir).

Akciğer tb'lu hastalarda en fazla basil ($10^7 - 10^9$) kavitelerde bulunmaktadır ve direnç gelişiminden en çok bunlar sorumludur. Hastalığın akciğer içinde yayılmasından ve balgamda basil pozitifliğinden sorumludurlar. INH bu basillere en güçlü bakterisidal etkiyi gösteren ilaçtır. Bu etki tedavinin ilk iki günü sırasında bakteri ölümünü sağlar ki, buna “**erken bakterisidal etki**” adı verilir (24).

INH bir ön ilaçtır, aktivasyonu için Kat G geninin ürünü olan katalaz – peroksidaz enzimine ihtiyaç vardır. Aktif hale geçen INH, *InhA* geninin ürünü olan ve doymuş uzun zincirli yağ asitlerinin sentezinden sorumlu olan enoyl-ACP–redüktaz’ı inhibe eder. Böylece hücre duvarı sentezi için önemli olan mikolat yapımındaki yağ asit uzaması engellenir (25). INH’a direnç gelişimi % 47–58 oranında Kat G geninin, % 21 – 28 oranında *Inh A* geninde mutasyona bağlıdır (26).

Oral yoldan alındıktan sonra tamamen yakın absorbe olur ve 1 – 2 saatte serumda pik duruma gelir. Yarılanma ömrü 1 – 3 saat olup BOS, amniyotik sıvı, anne sütü dahil tüm vücut sıvılarına iyi geçer (22).

3.4.1.2. Rifampin (RMP, RIF)

Rifampin daha çok tb tedavisinde kullanılan ansamisin grubundan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Tedavi rejiminin “kalbi” olarak adlandırılır. Hastalığın nüksünden sorumlu basillere etki ettiğinden “**sterilizan etki**” denilen etkiyi oluşturur. Rifampin *rpoβ* geninin ürünü olan DNA bağımlı RNA polimeraz enzimini, katalitik merkezin bulunduğu beta subünitesine bağlanarak inhibe eder.

Rifampin'e direnç bu gendeki mutasyona bağlıdır. Rifampin direnci, MDR – tb için bir merkez olarak kabul edilmektedir.

Oral ve parenteral şekilleri vardır. Yiyecek varlığında emilimi mümkün olur, 1,5 – 2 saatte serumda pik düzeye ulaşır. Tüm vücut sıvılarına iyi geçmektedir (22, 26).

3.4.1.3. Streptomisin (SM, STR)

Geniş spektrumlu bir aminoglikozit olan streptomisin, tb tedavisinde ilk kullanılan ilaçtır. *M. tuberculosis*'e ekstrasellüler, alkali ortamda bakterisid etkilidir, ancak hücrelere penetre olamaz. Streptomisin bakteri ribozomuna bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Streptomisin direncinden % 80 oranında ribozomal protein S12'yi kodlayan rpsL geni ya da 16SRNA'yı kodlayan rrs genindeki mutasyonlar sorumludur (22).

3.4.1.4. Pirazinamid (PZR)

M. tuberculosis'e asit ortamda, akut inflamasyon alanları ve makrofaj içerisinde bulunan ve sayıları 10^5 'den az olan yavaş çoğalan düşük metabolik aktiviteye sahip basillere etkilidir. Sadece oral şekli bulunur, yarılanma ömrü 23 saattir (24, 29).

3.4.1.5. Ethambutol (EMB)

Bu ilacın etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ethambutol'un etki mekanizmasının hücre duvarının oluşumunda önemli rol olan arabinogalaktan sentezinin inhibisyonu olduğu ileri sürülmüştür (27). Dokuların çoğuna iyi penetre olmasına rağmen meninkslere geçemez. 2 – 4 saatte serum pik düzeyine ulaşır (22).

Tablo 4. Birincil seçenek antitüberküloz ajanların dozları ve yan etkileri (16)

İlaçlar	Günlük düz (mgr/kg)		Maksimum Günlük doz	Yan etkileri
	Erişkin	Çocuk		
İzoiazit	5	10-20	300 mgr	Hepatik enzim yükselmesi, nöropati, hepatif, periferik nörit, aşırı duyarlık
Rifompin	10	10-20	600 mgr	Sekresyonların ve idrarın portakal rengi boyanması, kusma, hepatif, nezleye benzer reaksiyon, purpura (nadir).
Pirazinamit	15-30	15-30	2 gr.	Hepatotoksisite, heperürisemi.
Streptomisin	15	20-40	1 gr.	Ototoksisite, nefrotoksisite
Etambutol	15-25	15-25	2,5 gr	Optik nörit (kırmızı-yeşil ayrımın iyi yapılamaması), görme netliğinin azalması, deri döküntüsü.

3.4.2. İkincil Seçenek Antitüberküloz İlaçlar

Bu ilaçlar, birincil seçenek antitüberküloz ilaçlara dirençli olan olgularda kullanılmaktadır. Bu bileşikler daha büyük toksisite göstermekte ve buna bağlı olarak da daha az tolere edilebilmektedirler(28).

3.4.2.1. Para – Aminosalisilik Asid (PAS)

PAS, para – Aminobenzoik asidin (PABA) strüktürel analogudur. PABA'nın folik aside dönüşmesini (DNA sentezi için gereklidir) kompetitif olarak bloke ederek *M. tuberculosis*'e bakteriyostatik etki yapar.

Bir iki saat içinde serumda pik düzeye ulaşır fakat vücuttan hızlı atıldığından günde 10 – 20 gr gibi yüksek dozda verilir ki; bu da hastanın tedaviye uyumunu negatif yönde etkiler (26).

3.4.2.2. Etionamit (ETH)

INH gibi izonikotinik asit derivesidir. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber mikolik asit senteziyle ilgilidir ve mikobakterilerin aside dirençli boyanma özelliklerini kaldırır. INH ile çapraz direnç saptanmıştır (22).

3.4.2.3. Protionamid

Etionamit ile etki mekanizması aynıdır. INH ile çapraz direnç saptanmamıştır.

3.4.2.4. Sikloserin

Streptomyces orchidaceus kültüründen elde edilmiş olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. D-alanin'in yapısal analogudur. D-alanil–D-alanin dipeptidi mikobakteriyel hücre duvarının biyosentezi için gereklidir. Bu inhibisyon sonucu, hücre üremesinin durması ve lizis ile hücre ölümü olmaktadır.

3.4.2.5. Terizidon

Sikloserin'in bir ön ilacıdır. Sikloserin dışındaki antitüberküloz ilaçlarla çapraz direnci yoktur.

3.4.2.6. Tiasetazon

Bir thio – semikarbozon’dur ve çok ucuz olduğundan, özellikle fakir olan ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Etki mekanizması bilinmemektedir (22).

3.4.2.7. Kanamisin, Amikasin, Kapreomisin, Viomisin

Amikasin ve kamamisin yapısal olarak çok benzemekle beraber aralarında çapraz direnç vardır. 30S ribozomal subünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Viomisin ise aminoacyl-tRNA translokasyonunu bloke eder.

Tablo 5. İkincil seçenek antitüberküloz ajanların dozları ve yan etkileri (16)

İLAÇLAR	Günlük doz (mgr/kg) (Erişkin ve Çocuk)	Maksimum günlük doz	Yan etkileri
Kapreomisin	15-30	1 gr	İşletme ve denge bozukluğu, renal toksisite
Kanamisin	15-30	1 gr	İşitme bozukluğu ve renal toksisite, nadiren denge bozukluğu
Ethionamid	15-20	1 gr	Hepatotoksisite, aşırı duyarlık, gastro-intestinal bozukluklar
Para-aminosalisilik asid	150	12 gr.	Gastrointestinal bozukluklar, aşırı duyarlık
Sikloserin	15-20	1 gr	Psikoz, kişilik değişiklikleri, konfüzyon, döküntü

3.4.3. Tüberkülozda Etkili Oldukları Kabul Edilen, Bir Kısmı Günümüzde Kullanılan ve Araştırma Döneminde Olan İlaçlar

3.4.3.1. Kinolonlar

Florokinolonlar, invitro ve invivo *M. tuberculosis*'e karşı üst düzeyde etkili olup makrofaj içine girme ve burada birikme özelliğine sahiptirler. Tüm florokinolonlar, DNA giraza bağlanarak DNA sentezini inhibe ederler.

M. tuberculosis'e karşı en etkili florokinolonları siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve siprofloksasin olduğu gösterilmiştir. Makrofajlarla yapılan çalışmalarda spar- ve levofloksasin'in ofloksasin ve siprofloksasine göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. Çünkü daha düşük MİC değerine sahiptirler ve DNA giraz'a daha kolay bağlanırlar(30).

3.4.3.2. Yeni Rifamisinler

* Rifabutin

RifamisinS'nin sentetik derivesi olup rifampinden daha iyidir.

Üstünlükleri şunlardır:

1. Rifampin'e dirençli suşların % 30'una etkilidir.
2. Yarılanma ömrü daha uzundur. (32 – 67 saat)
3. İnvitro aktivitesi 2 – 4 kat daha fazladır.

* Rifapentin : Makrofajlarda birikim ekstrasellüler sıvıya göre 60 kat daha fazladır.Rifampin için bu 5 kattır.

* KNR–1648: Post antibiyotik etkisi rifampinden daha uzundur.

* Klofazomin: Mikobakterilere karşı toksik oksijen metabolitleri oluşturarak etki ettiği düşünülmektedir.

Bu ilaçların dışında, metronidazol, klorpromazin, oksazolidanlar, poloksamer surfaktanlar, gengamisin, K-130, makrolitler ve 2'2' bipyridil analogları tuberculosis'in tedavisinde kullanılmak üzere halen araştırılan ilaçlardır (22).

3.5. M. TUBERCULOSIS'İN ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARA DİRENÇ MEKANİZMALARI

Tüberküloz tedavisinde modern dönem 1946 yılında streptomisin (SM) in tedavi programına alınması ile başlamış, INH ve RMP ile gelişmiş ve yeni ilaçların da eklenmesi ile tüberküloza karşı büyük başarı elde edilmiştir (31).

19. yy.'da gelişmiş ülkelerde tüberküloz morbidite ve mortalitesinde bir azalma olmuş, sonraki yıllarda da immunosupresif tedavinin yaygınlaşması ve özellikle HIV enfeksiyonu, tüberküloz olgularında artışa yol açmıştır. 1985 – 1995 yılları arasında olgu sayısında yaklaşık % 12 artış olduğu bildirilmiştir.

Son yıllarda tüberküloz ile ilgili en önemli problem, çoğul dirençli *M. tuberculosis* suşlarının ortaya çıkması olmuştur. Bu suşlar en azında önemli antitüberküloz ilaçlar olan rifampin ve izoniasid'e dirençli olup standart kemoterapi rejimlerini etkisiz bırakmıştır (6).

Mycobacterium tuberculosis'in tüberküloz ilaçlarına karşı geliştirdiği dirençprimer veya sekonder olabilir (7);

1. **Primer (inisyal) Direnç:** Dirençli hastanın basilleri ile infekte olmuş ve hiç tedavi görmemiş kişilerde görülen dirençtir. Bu direncin gelişmesinde etkili bazı risk faktörleri vardır.

* Dirençli tüberküloz olgusu ile temas.

* Dirençli tüberküloz prevelansı yüksek bir bölgeden olmak,

* Toplumda primer ilaç direncinin > % 4 olması (7).

2. **Sekonder (Kazanılmış) Direnç:** Antimikrobiyal tedavi sonucu, duyarlı basillerin ortadan kalkarak, dirençli mutata basillerin çoğalması ile gelişen dirençtir.

Rezistan mutantlar ortalama olarak; rifampin de (RMP) 10^8 de 1, izoniazit (INH), ethambutol (EMB), para – aminosalisilik asit (PAS), kanamisin, streptomisin (SM)'e 10^6 da 1, etionamit (ETH)'e 10^3 de 1 görülmektedir. Bu rezistans olayı, bakteriler antibiyotikle karşılaşmadan oluşmaktadır (31).

Son yıllarda INH ve RMP'e karşı *M. tuberculosis*'in direnç kazandığı bu durumun uygun olmayan tedavisi sonucunda geliştiği gözlenmektedir. İyi oksijenlenmiş kazeöz lezyonlarda $10^7 - 10^9$ ve makrofajlarda $10^4 - 10^8$ basil olduğu gözönüne alınırsa ortamda bu ilaçlardan birine dirençli mutant suş bulunma şansı vardır. Antibiyotik tedavisi sonucunda duyarlı basiller öldürülmekte veya suprese edilmekte ve sonuçta dirençli basil rahatlıkla çoğalabilmektedir.

Basilde oluşan mutasyon antitüberküloz ilaçların etki alanındaki birden fazla geni etkileyebilir, sonuçta primer hedef değişebileceği gibi ilaçların spesifik transport sistemleride etkilenebilir.

Aşağıda en fazla incelenen RMP, INH ve SM'e karşı direnç mekanizmaları açıklanmıştır:

3.5.1. Rifampin (RMP)

Aktif olarak replike olan basile bakterisidal etkisi vardır. Antibakteriyel etkisini DNA'ya bağımlı RNA polimerazın β subünitesine bağlanıp RNA

sentezini inhibe ederek gösterir. β subunitesi rpoB geni tarafından kodlanmaktadır.

RMP direncinde mutasyonların özellikle de RMP'e geçirgenliğin değişmesi ve RNA polimerazın diğer subunitelerinde olabilecek mutasyonların etkili olduğu bildirilmiştir.

3.5.2. İzoniazid (INH)

M. tuberculosis suşlarının INH'e dirençlerinin moleküler temeli Kat G genindeki ve *InhA* lokusundaki regülatör sekans mutasyonlarına bağlı gözükmemektedir, ancak INH'e dirençli suşların hepsinde bu genlerde mutasyon saptanmamıştır. Dolayısıyla ileri biyokimyasal ve genetik çalışmalarla mekanizmaların araştırılması gerekmektedir.

3.5.3. Streptomisin (SM)

M. tuberculosis'de SM direnci ile ilgili mutasyonlar iki bölgede tanımlanmıştır.

- a. rrs (16 SrRNA'yı kodlayan gen)
- b. rpsL (ribozomal S12'yi kodlayan gen) (31)

Tablo 6. *M.tuberculosis*'de antibiyotik direnci ile ilgili saptanan mutasyonlar (36)

Antibiyotik	Gen	Büyükölük (bp)	Ürün
RIF	RPOb	3.534	RNA polimeraz'ın b subunitesi
INH	katG	2.205	Katalaz-peroksidaz
INH-ETH	inhA lokusu	810 (inhA)	envM analoğu+3-ketoaçil-açil taşıyıcı protein redüktaz analoğu
STR	rpsL	372	Ribozomal protein S12
STR	rrs	1.464	16S rRNA

3.6. ÇOK İLACA DİRENÇLİ TÜBERKÜLOZDA TANI VE TEDAVİNİN ESASLARI

Tüberkülozda ilaç direnci, kemoterapi dönemi ile birlikte insanoğlunun ortaya çıkardığı bir sorundur (7). Köttü kontrol programları, özellikle rifampisinin denetimsiz kullanımı, sorunun çözümünü çok zor bir noktaya taşımıştır. Bu olay en az INH ve RMP'nin her ikisine de direnç olarak tanımladığımız “Çok İlaça Dirençli Tüberküloz (MDR- TB)”durumunu ortaya çıkarmıştır (33).

Son 15 yılda özellikle HIV ile enfekte hastalarda çoklu ilaç dirençli tüberküloz olgularının hızla artması, bu olguların % 40'ının ölmesi ve tedavinin başarısız olması, hastane kaynaklı bulaşların gözlenmesi, primer ve sekonder ilaç direncinin artması gibi nedenler tüberküloz kontrol çalışmalarını sonuçsuz bırakmıştır.

Modern kemoterapi ile altı aylık bir sürede ucuz ve toleransı kolay ilaçlar ile iyileşecek bir hastalık, yanlış ve yetersiz kemoterapi uygulamaları ile yerini köttü prognozlu, tedavisi çok uzun süren, toksik, pahalı ilaçlar ve cerrahi müdahale ile tedavi yapılabilen fetal bir hastalığa bırakmıştır (34). MDR - TB tedavisi özel merkezlerde, hastaların uzun süre haspitalizasyonunu sağlanarak, doğrudan gözetim altında, bu konuda deneyimli uzmanlar tarafından yapılmalıdır (35). Bu hastalarda tedavi başarı oranının düşüklüğü, toplumda tedavi edilmeyen tüberkülozluların önemli bir bölümünün, dirençli basillere bulaştırmıcılıklarını sürdürmekte olduğunu gösterir. Bulaşmayı sağlayan edinsel dirençli hasta sayısının artması, artan primer direnç oranları ve tedavi başarısızlığı kısır döngüsü, tüberküloz kontrol programlarının yeniden gözden geçirilmesini gerektirmektedir.

Çünkü bir ülkede edinsel dirence sahip hastaların sıklığı geçmişte uygulanan tedavi programlarının başarısıyla doğrudan ilgilidir (24).

DSÖ'nün tüberküloz kontrolü için önerdiği strateji; doğrudan gözetim altında kısa süreli kemoteropi olarak adlandırılan DOTS tedavisidir. MDR-TB'un varolduğu toplumlarda sadece DOTS uygulaması yetersiz kalacaktır. Bunun için DOTS'a ek olarak ikinci sıra ilaçlarla MDR-TB olgularının tedavisine başlanmalıdır ki, buna da DOTS-plus denir (35).



Tablo 7. Çok ilaca dirençli tüberkülozlu hastalar için önerilen tedavi rejimleri (21)

Direnç	Önerilen tedavi	Süre	Cerrahi tedavi
INH (±) SM	RIF+PZA+EMB+AMK	6 - 9 ay	Cerrahi gereksiz
INH + EMB (±) SM	RIF + PZA + CIP + AMK	6 – 12 ay	Cerrahi gereksiz
INH + RIF (±) SM	PZA + EMB + CIP + AMK	18 – 24 ay	Düşünülebilir
INH + RIF + EMB (±) SM	PZA + CIP + AMK + 2 diğer ilaç	Kültür (-) den sonra 24 ay	Düşünülebilir
INH + RIF + PZA (±) SM	EMB+CIP+AMK+2 diğer ilaç	Kültür (-) den sonra 24 ay	Düşünülebilir
INH-RIF+PZA+EMB(±)SM	CIP + AMK + 3 diğer ilaç	Kültür (-) den sonra 24 ay	Mümkünse evet

RIF : Rifampisin, INH: İzoniazid, PZA: Pirazinnamit, EMB : : Ethambutol, SM: Streptomisin, CIP: Siprofloksasin veya Ofloksasin,

AMK: Amikasin, Diğer ilaç: Etiyonamit, Sikloserin veya PAS. Eğer emikasin, kanamisin ve streptomisin'e direnç varsa kapreomisin kullanılır.

3.7. M.TUBERCULOSİS'İN ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

1985'lerden itibaren HIV epidemileri ile birlikte MDR-TB olgularının ve bu dirençli basillerle infekte primer dirençli olguların artması, *M. tuberculosis*'in tanı ve antibiyotik duyarlılık testlerinin çok zaman alması, hastalığın sağaltım ve kontrolünde başarı oranını düşürmektedir. Sözü edilen sorunlar, bu konuda daha hızlı ve güvenilir tanı, sağaltım ve antibiyotik duyarlılık saptama yöntemleri geliştirilmesi konusunda yoğun çalışmalara neden olmuştur (36).Tüberküloz sağaltımında başarı, 40 yılı aşkın süredir geliştirilen çeşitli prensiplere dayanır. Bu prensipler:

1. *M. tuberculosis*'de spontan mutasyonlar sonucu ilaca dirençli suşların ortaya çıkışını önlemek amacı ile sağaltımda mutlaka en az iki ilacın birlikte kullanılması zorunluluğu
2. Başarılı bir sağaltım için aside dirençli basil (ARB) pozitif hastalarda tedavinin, balgamda ARB (-) oluncaya kadar sürdürülmesi,
- 3.Tüm hastalarda gelen ilk örneklerde bile antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasının gerekliliğidir.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından yapılan bu öneride; üç aylık tedavi sonrasında hala kültür pozitifliği saptananlarda antibiyotik duyarlılık testlerinin yinelenmesi ve sonuçlar gelinceye kadar dördü ilaç tedavisine başlanması öngörülmektedir.

Tüberkülozun etkin şekilde sağaltımı; uygun kemoterapi modellerinin seçimi ve uygun kombinasyonların yeterli süre kullanımına bağlıdır. Uygun

ilaçların seçimi ise standardize edilmiş, hızlı ve doğru yorumlama kriterlerine sahip in vitro duyarlılık yöntemlerine dayanır (9).

Tüberküloz basilinin kemoterapötik ilaçlara duyarlılığını saptamada kullanılan labaratuvar testleri üç amaca hizmet eder. Birincisi hastaya verilecek ilk kemoterapötik kombinasyonun seçiminde yardımcı olması, ikincisi hasta tedaviye yeterli bir bakteriyolojik cevap vermediğinde ilaç direnci oluştuğunun doğrulanması ve buna bağlı olarak farklı ilaç tedavisi rejimlerin seçimi ve üçüncü olarak toplumdaki primer ve edinilmiş ilaç direnci prevalansının belirlenmesidir. Bu nedenlerden dolayı antibiyotik duyarlılık testlerini yaparken güvenilir bir teknik kullanımının önemi büyüktür (9,35).

3.7.1. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Bu testleri iki bölümde incelemek olasıdır:

3.7.1.1. Geleneksel Yöntemler

- Absolü konsantrasyon yöntemi
- Direnç – oran yöntemi
- Proporsiyon yöntemi(9)

3.7.1.1.1. Absolü Konsantrasyon Yöntemi

Bu yöntemde örnek, ilaçların belli konsantrasyonlarını içeren besiyerleri ile ilaçsız kontrol besiyerine ekilir. Spesifik ilaç konsantrasyonunda (genelde 20 koloni) belli sayıda koloniden fazla üreme saptanması direnç olarak değerlendirilir.

3.7.1.1.2. Direnç – Oran Yöntemi

Aynı genel prensipleri içerir. Farklı yanı, kontrol için standart bir suş olan H37Rv'nin de ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekilmesidir. Direnç; bilinmeyen suşun minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIC), kontrol suşun MIC'a oranı olarak tanımlanır. Bu oran $\geq$ ise suş dirençli kabul edilir.

3.7.1.1.3. Proporsiyon Yöntemi

Agar proporsiyon yöntemi 1960'lı yılların başlarında geliştirilmiş olup, günümüzde de sık kullanılan bir yöntemdir. Çeşitli modifikasyonları yapılan bu yöntem NCCLS tarafından standart bir yöntem olarak önerilmektedir. Besiyeri olarak oleik asit – albümin dekstroz –katalaz (OADC) eklenmiş Middlebrook 7H10 veya 7H11 agar, antimikobakteriyel ilaç olarak da referans toz ilaçlar veya ilaç emdirilmiş diskler kullanılır. Antibiyogram için yumurtalı besiyerleri; gerek pişirilme sırasında ilaçların potens kaybı, gerekse besiyerindeki fosfolipitler, proteinleri ve bazı aminoasitler tarafından etkilendikleri için uygun değildir. İnokulum ya ARB (+) hasta örneğinden direkt olarak veya kültürden indirekt olarak hazırlanır. İnokulumun belli dilüsyonları ilaçlı ve ilaçsız kontrol besiyerine 0,1 ml miktarında inoküle edilir. Testin geçerli olabilmesi için test suşunun veya kontrol suşun ilaçsız besiyerinde en az 50 – 150 koloni oluşturması gerekli olup bu plaklar değerlendirilir. Üç haftada bazı besiyerinde 50'den az koloni olursa test yenilenmelidir.

$$\text{Direnç yüzdesi} = \frac{\text{İlaçlı besiyerindeki koloni sayısı}}{\text{Kontrol besiyerindeki koloni sayısı}} \times 100$$

olarak hesaplanır.

Elde edilen sayı % 1'e eşit ve büyükse, izolat test edilen konsantrasyon-daki ilaca dirençli olarak rapor edilir. Dirençli kökenlerin yüzdesi, terapötik etkinliğin indikatörü olarak kullanılır.

CDC tüm ilaçlar için kritik proporsiyon olarak % 1'i önermektedir.

3.7.1.2. Yeni Yöntemler

A. Kültür veya bakteri varlığına dayalı yöntemler

- Radyometrik yöntem (BACTEC)
- Mikobakteri büyüme indikatör tüp yöntemi (MGIT)
- Kolorimetrik yöntem (Alamar Mavisi)
- Modifiye agar – dilüsyon yöntemi
- Lusiferaz taşıyıcı faj yöntemi (LRP)
- Biyoluminesans yöntem (Hücrel ATP ölçümü)
- Flow sitometri yöntemi
- E test (Epsilometer)

B. Moleküler Yöntemler

- Tek zincir konformasyon polimorfizm (SSCP)
- Revers hibridizasyon

3.7.1.2.1. Kültür veya Bakteri Varlığına Dayalı Yöntemler

3.7.1.2.1.1. Radyometrik Yöntem (Bactec Yöntemi)

NCCLS tarafından standart bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Besiyeri olarak; C14 işaretli palmitik asit içeren Bactec 12B şişeleri kullanılır.

Üreyen mikobakteriler bu substratı primer karbon ve enerji kaynağı olarak kullanarak $^{14}\text{CO}_2$ açığa çıkarır. Metabolik son ürün olarak oluşan $^{14}\text{CO}_2$ sıvı besiyeri üzerindeki boşlukta birikir. Bactec 460 cihazı, şişelerde oluşan radyoaktiviteyi ölçer, her şişede ortaya çıkan radyoaktivite 0 – 999 sınırları içinde bir sayı olarak belirlenir. Bu sayılar üreme indeksidir (GI). Oluşan $^{14}\text{CO}_2$ miktarı üreme ile doğru orantılıdır.

Örnekler bilinen yöntemlerle dekontaminasyon ve konsantrasyon işleminden sonra tüberkülin enjektörü ile 0,5 ml olarak 12B şişelerine ekilip 37°C de inkübe edilir. Ortalama üreme süresi 7 – 12 gündür. Şişeler 24 saatlik aralarda en az 4 gün GI yönünden kontrol edilir ve kontrol şişesinin GI'i 30 olana kadar sürdürülür. GI > 10 ise örnek pozitif olarak kabul edilir. GI 30 olduğunda her şişe için bir önceki güne göre GI farkı hesaplanır ve bu fark ΔGI olarak değerlendirilir.

Kontrol ΔGI > ilaçlı ΔGI = duyarlı

Kontrol ΔGI < ilaçlı ΔGI = dirençlidir.

Kontrol ΔGI = ilaçlı ΔGI = kısmi dirençli

olarak değerlendirilir.

Bu yöntemde öncelikle 1. kuşak tüberküloz ilaçlarına karşı duyarlılık test edilir ve sonuçlar 3 – 5 günde alınır. Bu yöntemin en önemli dezavantajları, dirençli basillerin oranını belirleyememesi ve radyoaktif madde kullanılmasıdır. Ancak sonuçların agar proporsiyon yöntemiyle % 90 uyumlu olması yanısıra hızlı ve güvenilir bir yöntem olması nedeni ile NCCLS tarafından standart bir yöntem olarak önerilmekte ve birçok merkezde kullanılmaktadır(3, 40).

3.7.1.2.1.2. Mikobakteri Büyüme İndikatör Tüp Yöntemi (MGIT):

Klinik örneklerden mikobakteri izolasyonu gerçekleştiren hızlı ve duyarlı bir yöntemdir. Her MGIT tüpü 4 ml modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri ve % 0,25 gliserol içerir. Tüpün dip kısmında ise oksijene duyarlı bir floresan indikatör bulunur. Klinik örnekler, içinde belli konsantrasyonlarda ilaç içeren tüplerle birlikte ilaçsız kontrol tüplerine de inoküle edilir. Üreme olursa; üreyen bakteriler O_2 kullanacağından, O_2 'ne duyarlı floresan indikatör 365 nm dalga boyunda UV ışığı altında veya Wood lambasında parlak portakal renginde floresans verir (8, 3).

İlaçlı tüplerde; duyarlı bakteriler inhibe olacak, dirençli bakteriler ise üreyerek floresans vereceklerdir. Oluşan floresans derecesi antibiyotiksiz negatif kontrol ve % 0,4 lük sodyum sülfat içeren pozitif kontrol tüpleri ile karşılaştırılarak değerlendirilir. Elle uygulanan ve non – invazif bir yöntem olup 5 – 6 gün gibi kısa bir sürede üremeyi saptar (52).

3.7.1.2.1.3. Kolorimetrik Yöntem (Alamar Mavisi)

Alamar mavisi, üreme indikatörü olarak kullanılan bir oksidasyon – redüksiyon boyasıdır. Bakteriyel metabolizma ve üreme sonucu pembeye dönüştür (4) Bu yöntemde Middlebrook 7H9 sıvı besiyerinde üretilen *M. tuberculosis* kültüründen McFarland 1'e göre bir süspansiyon hazırlanır ve bunun 1 : 5 dilüsyonu yapılır. Test edilecek antibiyotikler de 7H9 sıvı besiyerine konur. Bunun üzerine dilüe edilmiş kültür süspansiyonundan eklenir. Tüplerdeki son bakteri konsantrasyonu 6×10^5 CFU/ml'dir. Aynı şekilde üç ilaçsız kontrol tüpüne de ekim yapılır ve tüm tüpler 35°C de inkübe edilir. İlaç içeren tüplerin test edilmeye hazır olup olmadığını anlamak için kontrol tüpleri 7, 10 ve 14 .

günlerde test edilir. Bunun için kontrol tüpüne 0,02 ml. Alamar mavisi solüsyonu ile 0,05 ml % 5 Tween 20 veya Tween 80 eklenir ve iki saat 50°Cde inkübe edilir. Bu süre sonunda eğer renk maviden pembeye dönerse, ilaçlı besiyerlerine de aynı maddeler eklenerek yine iki saat 50°C de inkübe edilir. Renk değişimini önleyen ilaç konsantrasyonu MIC olarak değerlendirilir. Bu yöntem hızlı, kantitatif ve non-radyometrik bir yöntem olup, sonuçlar 7 – 10 günde alınır. Yorumlar proporsiyon yöntemiyle % 97 oranında uyumludur (3).

3.7.1.2.1.4. Modifiye Agar – Dilüsyon Yöntemi (Mikrokoloni Saptama):

Middlebrook 7H11 Agar ve % 10 OADC içeren katı besiyerinde mikrokoloni oluşumunun gözlenmesi ile ilaçlara karşı hızlı duyarlılık saptanabilir. Klinik örneklerde hazırlanan inokulum belli konsantrasyonlarda ilaç içeren ve kontrol için ilaç içermeyen ince dökülmüş 7H11 agar besiyerlerine ekilir. Ekili plaklar mikroskop altında x4 – x100 büyütmede her iki günde bir mikrokoloni oluşumu yönünden kontrol edilir. Sonuçlar 10 – 12 günde elde edilir. Hızlı, pratik ve ucuz bir alternatif yöntemdir (3).

3.7.1.2.1.5. Lusiferaz Taşıyıcı Faj Yöntemi (LRP):

Bu yöntemde ateş böceğinin lusiferaz genini taşıyan bir mikobakteri fajı kullanılmaktadır. Bilindiği gibi, fajlar kendilerine özgü canlı bakterileri infekte ederler. Lusiferaz geni taşıyan bir faj ile infekte olan mikobakterilerde lusiferaz geninin transkripsiyonu ve faj çoğalması ile bol miktarda lusiferaz eksprese edilir.

Ortama lusiferaz enziminin substratı olan lusiferin eklendiğinde, mikobakteri hücre duvar ve membranını hızla geçen reaksiyon sonucunda oksilusiferine dönüşür ve ışık oluşur. Oluşan ışık bir luminometre veya fotometre ile ölçülebilir. Oluşan ışığın miktarı faj infeksiyonu ve hücresel ATP miktarına yani ortamdaki canlı mikobakteri sayısına bağlıdır. Antitüberküloz ilaçlara duyarlı bakteriler ışık oluşturmaz iken; dirençli olanlar ışık oluşturmaya devam ederler. Hızlı bir yöntem olup fajla infeksiyondan birkaç dakika sonra ışık üretimi saptanabilir ve iki saat içinde 100 kat artış gözlenir. Özellikle yeni ilaçların geliştirilmesinde büyük umutlar vaat eden bir yöntemdir (52, 3).

3.7.1.2.1.6. Flow Sitometri Yöntemi

Flow sitometri, bir sıvı akımı içinde tek tek geçmekte olan hücreler veya biyolojik partiküllerin, fizik ve kimyasal özelliklerini sensörler aracılığıyla ölçebilen bir işlemdir. Bu yöntemin esası, *M. tuberculosis*'in floresan diasetat (FDA) ı serbest floreseine hidrolize etmesi ve böylece oluşan floresanı mikobakterilerin flow sitometrik analiz ile saptanmasına dayanır.

Antimikobakteriyel ajanlara karşı duyarlılık tesbiti için, ilaçsız kontrol besiyerleri ve çeşitli ilaç konsantrasyonları içeren süspansiyonlar da 24 – 48 saatlik inkübasyonlardan sonra, yaşayan mikobakteri sayısı tespit edilerek yapılmaktadır Bakteri üremesi gerekmediği için 24 saat gibi kısa bir sürede sonuç alınır (30).

3.7.1.2.1.7. Biyoluminesans Yöntem (ATP ölçümü)

Yaşayan tüm canlılarda ATP varlığına dayanan bir yöntem olup, bakteriyel kültürlerde ATP ekstraksiyonu ve ölçülmesi ile yapılır. Duyarlık tayini için anti-mikrobiyal ajanlar uygun konsantrasyonlarda 2,5 ml Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içinde konur. Mikobakteri kolonileri 0,5 Mc Farland bulanıklık olacak şekilde süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyondan 0,5 ml ilaç içeren tüplere eklenir. İlaç içermeyen kontrol tüpleri ile birlikte 35°C'de 10 gün inkübe edilir (9,11). Daha sonra bu kültürden alınan bir miktar sıvı, 0,1µl TRİS tamponu ve EDTA içeren cam tüplerde 5 dakika kaynatılarak hücreler parçalanır ve oda ısısında soğutulur. Üzerine ATP monitörize edici madde eklenerek ışık üretimi yönünden luminometre ile incelenir. Oluşan ışık miktarı hücresel ATP ile doğru orantılıdır. Duyarlı olanlar ışık üretimi yapmaz. ATP aktivitesinin, kontrol suşuna göre % 40 veya daha altına inmesi, o ilaca karşı duyarlılığı gösterir. Sonuçlar ortalama bir haftada alınır. (3)

3.7.1.2.1.8. E – test (Epsilometer)

Daha çok hızlı üreyen mikrobakteriler için kullanılmakta ise de son zamanlarda *M. tuberculosis* ve *M. avium – intracellulare* içinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu yöntemde besiyerinde üremiş ve Mc Farland 3'e göre bulanıklığı ayarlanmış bakteri süspansiyonu agar yüzeyine yayılır. Üzerine değişen oranlarda antimikobakteriyel ilaç içeren E test şeritleri konur. Plaklar 5 – 7 gün süre ile 37°C de inkübe edilir. Üremenin kuvvetle inhibe olduğu çizginin E-test şeridini kestiği nokta MIC değerini verir. Uygulaması kolay, ucuz ve tümit veren bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda E test ile agar dilüsyon yöntemleri arasında iyi bir paralellik saptamıştır.

3.7.1.2.2. Moleküler Yöntemler

M. tuberculosis suşlarında çeşitli antimikobakteriyel ajanlara direnç, o ilaçların bağlandığı hedef bölgeleri kodlayan genlerdeki mutasyonlarla ilişkilidir. Moleküler tekniklerle bu mutasyonların gösterilmesi amaçlanmaktadır.

3.7.1.2.2.1. Tek Zincir Konformasyon Polimorfizm (SSCP)

Bu yöntemin esası tek zincirli bir DNA'nın sekonder yapısının herhangi bir baz değişikliği sonucu değişmesinin, non – denatüre jel elektroforezi ile saptanmasına dayanır. Normal ve mutant zincirlerin jeldeki hareketi farklı olmaktadır.

Çift sarmallı DNA denatüre edilerek ve tek sarmal halde non – denatüre poliakrilamid jelde yürütülür. SsDNA'nın hareketi uzunluğuna, molekül ağırlığına ve konformasyonuna bağlıdır. Konformasyon, zincir içi baz çiftleşmeleri ve diğer kuvvetlerle stabilizasyonu sağladığı sekonder bir yapıdır. Birbirine komplementer olan tek zincirler jelde farklı bantlar olarak görülür. SSCP fragmanları 100 – 500 baz çifti ile sınırlıdır (3).

3.7.1.2.2.2. Revers Hibridizasyon

İşaretlenmiş hedef bölgenin PCR tekniğiyle amplifiye edilmesinden sonra, önceden spesifik oligonükleotit problemlerin emdirildiği nitrosellüloz membran striplerde hibridizasyon yapılır. Eğer işaretli amplifiye ürün, bilinen spesifik oligonükleotidlerle problemlerle hibridize olmuşsa ortama konan substrat ve konjugat sonucu striplerde renk değişimi gözlenir. Hedef bölgede mutasyon varsa hibridizasyon gerçekleşmez. (50).

Tuberk lozun etkin Şekilde kontrolü ile başarılı sağaltımı için erken tanı yöntemleri ile hızlı duyarlılık testlerine gereksinim duyulmaktadır. Gerek kültüre veya bakteri varlığına dayanan gerekse her geçen gün yenileri eklenen moleküler teknikler, bu gereksinimleri karŐılamaya çalıŐmaktadır. Ancak sözü edilen tüm yöntemlerin bazı avantajları bulunmakta olup en hızlı ve en güvenilir olana ulaŐmak amacı ile halen yoğun çalıŐmalar yapılmaktadır.



4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 1999 - 2004 yılları arasında Fırat Üniversitesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Labaratuvarına tüberküloz kültürü yapılmak üzere başvuran 202 hastadan izole edilen Mycobacterium cinsi bakteri incelemeye alınmıştır. Bu hastaların 137 'inde kültür ve ARB testleri negatif bulundu. Kültürde Mycobacterium izole edilen 65 suşun 1'i *M.specium*, 64 'ünün ise üreme süreleri, koloni morfolojileri, pigment yapıları, semikantitatif katalaz testleri, niasin toplanması ve nitrat redüksiyonu testleri ile *M.tuberculosis* oldukları kanıtlanmıştır. 64 *M.tuberculosis* suşunun 45 tanesi münferit hasta olup, bunlardan yapılan kültürlerden hazırlanan yayma preperatların incelenmesi sonucu kültüründe *M.tuberculosis* üreyen 38(%85) hastanın ARB değerlendirmesi de pozitif , kültürde *M.tuberculosis* üreyen 3 (%7) hastanın örneğinde ise ARB görülememiştir.Ayrıca 4 hastada (%9) konteminasyon tespit edildiğinden çalışma kapsamına alınmamıştır.

Bu araştırma indirekt duyarlılık yöntemiyle ve Bactec çalışma talimatlarına göre yapılmıştır.

4.1. Gerekli materyaller:

A.Besiyerleri ve miyarlar(saklama ısıları,şirket adı)

1. Bactec 12B besiyeri(20ml)'lik cam viyalde 4ml sıvı besiyeri) (22-25 °C , Becton Dickonson ,USA)
2. Bactec dilüsyon sıvısı(DF) (22-25 °C , Becton Dickonson ,USA)
- 3.Antibiyotikler (ethambutol izoniazit, rifampin ve streptomisini liyofilize formda içeren Bactec SIRE kiti) (2-8 °C , Becton Dickonson , USA)
- 4.Kanlı agar plağı (2-8 °C)

B.Rutin Labaratuvar Malzemeleri

1. Bakterisidal ve mikobakterisidal dezanfenktan
2. Alkol
3. Pamuk veya gazlı pedler
4. Mc Farland 0.5 ve1.0 bulanıklık standardı
5. Farklı hacimde steril serolojik pipetler
6. Disposabl tüberkülin enjektörü ve 5ml lik enjektör

C. Cihazlar

1. Bactec 460
2. Vorteks karıştırıcı
3. $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ etüv
4. Güvenlik kabini

4.2. Çalışma Prosüdürü

Klinik örneklerin bütün tipleri (AMS, BOS, idrar) klasik izolasyon prosedürlerine benzer tarzda işleme tabi tutuldu. Balgam örnekleri ise önce N-acetyl -L-cysteine(NALC) ile beraber % 4'lük NaOH örnek miktarına eşit hacimde 50ml'lik santrifüj tüplerine bırakılarak vortekslendi ve 15-20 dakika beklendi. Bu şekilde eritme ve dekontaminasyon işlemleri yapıldıktan sonra pH = 6.8 fosfat buffer'ı tüpün 50 ml çizgisine kadar ilave edildi ve karıştırıldı. 15 - 20 dakika süreyle 2000 - 3000 devirde hızla santrifüj edilerek örnek yoğunlaştırıldı. Santrifüjden sonra üstteki sıvı dikkatlice dökülerek, daha sonra üzerine 1-2 ml fosfat buffer ilave edilerek sediment yayıldı. Ekim yapmadan önce pH değerinin nötral pH'a yakın olmasına dikkat edildi.

BOS, plevra sıvısı sinovyal sıvı ve diğer kontemine bakterilere sahip olmaması beklenen vücut sıvıları ise dekontemine edilmeden ekildiler. Ekim yapmadan önce her örnekten yayma preperat hazırlandı. Yaymalar tamamen havada kurutulduktan sonra birkaç defa alevden geçirilerek fikse edildi. Örneklerle CARBOL FUCHSİN boyası döküldü ve 5 dakika beklendi. Musluk suyunda nazikçe yıkandıktan sonra 2 dakika asit alkol ile muamele edildi. Tekrar musluk suyuyla yıkandı ve 1 dakika METİLEN MAVİSİ ile boyandı. Musluk suyuyla yıkanıp havada kurumaya bırakıldı ve daha sonra mikroskopik olarak ARB taraması (x100) yapıldı. Kùltürleri için de iki adet LJ ,iki adette Middlebrook 7H12(B12) besiyerlerine ekim yapıldı. B12 şişelerine ekim yapmadan önce PANTA antibiyotik karışımından (polimiksin B, nalidiksik asit, trimethoprim, amfoterisin B, azlosilin) 0.1ml ilave edildi. $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de inkübe edildi ve günlük olarak Bactecte üreme indeksleri kontrol edildi. *M.tuberculosis*, L J de 2.-3. haftalarda kabarık pùrtüklü, deve tüyü renginde, sarımsı beyaz koloniler oluşturur. (Şekil 7) Niasin testinin pozitif, katalaz aktivitesinin negatif olması *M.tuberculosis*'i diğer mikobakterilerden ayırır. *M.bovis* ise TZH (tiofen-2-karboksilik asit hidrazit)'e duyarlıdır. Çalışmamızda kullanılabilir özellikte olan 38 suş majör antitüberküloz ilaçlara duyarlılık durumlarının incelenmesi için Bactec duyarlılık test yöntemine uygun olarak hazırlanarak antibiyograma alındı. Öncelikle Bactec SIRE kitinden SM, EMB, RMP ve İNH'in stok solüsyonları aşağıdaki tabloda gösterilen konsantrasyonlarda hazırlandı.

Tablo 8.Besiyerindeki son konsantrasyonlara erişmek için yapılacak sulandırım lar

İlaç	Flakon	Stok solusyon Konsantrasyonu	Sulandırım	Final	B12 deki son konsantrasyon
Streptomisin	1.2 µg	240 µg/ml	5ml, sonra 1:3dilüsyon	80 µg	2 µg
İzoniazit	0.02 µg	4 µg/ml	5ml	-	0,1 µg
Rifampin	0,4 µg	80 µg/ml	5ml	-	2 µg
Ethambutol	1,5 µg	300 µg/ml	5ml,sonra 1:3 dilüsyon	100 µg	2,5 µg

İlaçları hazırladıktan sonra her bir duyarlılık testi için beş adet 12B şişe ve bir adet dilüsyon sıvısı şişesi hazırlandı, üzerlerine hasta kültür numaraları yazılarak biri kontrol, diğer dördü ise çalışılacak antibiyotikler için kullanıldı.

Dört antibiyotigin her birinden 0,1 ml alınarak kendi şişelerine bırakıldı. GI değeri ≥ 800 ise, süspansiyon 1:1 dilüe edilerek, inokulum olarak kullanıldı. Kontrol olarak antitüberküloz ajan içermeyen besiyerleri kullanıldı. İlaç içeren şişelerin her birine 0,1 ml dilüe edilmemiş süspansiyondan bırakıldı, birkaç damla inokulum süspansiyonu bir adet kanlı agar plağına ekilerek konteminasyon kontrolü sağlandı. Şişeler 37 °C de karanlıkta inkübe edildi.

Antimikobakteriyel inhibisyon olmadığında mikobakteriler ürer ve besiyerindeki ^{14}C işaretli substratı kullanır. Böylece substrat dekarboksile olarak $^{14}\text{CO}_2$ oluşur ve Bactec'te kantitatif olarak ölçülür. Duyarlılık sonuçları kontrol ve ilaç şişelerinin günlük programa göre; her gün aynı saatte yorumlandı ve düzenli olarak Ek-1'deki tabloya işlendi. GI değeri ≥ 30 olduğunda bir önceki güne göre büyüme indeksindeki fark hesaplanır. Ortalama üreme süresi 7-12 gündür.

Kontrol $\Delta GI > \text{ilaçlı } \Delta GI = \text{duyarlı}$

Kontrol $\Delta GI < \text{ilaçlı } \Delta GI = \text{dirençlidir.}$

Kontrol $\Delta GI = \text{ilaçlı } \Delta GI = \text{kısmi dirençli}$

olarak değerlendirilmiştir. (40)



5. BULGULAR

Fırat Üniversitesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Labaratuvarına (1999 - 2004) yılları arasında başvuran 202 hastadan izole edilen Mycobacterium cinsi bakteri incelemeye alınmıştır. Bu hastaların 137 'inde kültür ve ARB testleri negatif bulundu. Kültürde Mycobacterium izole edilen 65 suşun 1'i *M.specium*, 64 'ü ise *M.tuberculosis*'ti. 64 *M.tuberculosis* suşunun 45 tanesi münferit hasta olup, bunlardan yapılan kültürlerden hazırlanan yayma preperatların incelenmesi sonucu kültüründe *M.tuberculosis* üreyen 38(%85) hastanın ARB değerlendirmesi de pozitif, kültürde *M.tuberculosis* üreyen 3 (%7) hastanın örneğinde ise ARB görülememiştir.Ayrıca 4 hastada (%9) konteminasyon tespit edildiğinden çalışma kapsamına alınmamıştır.

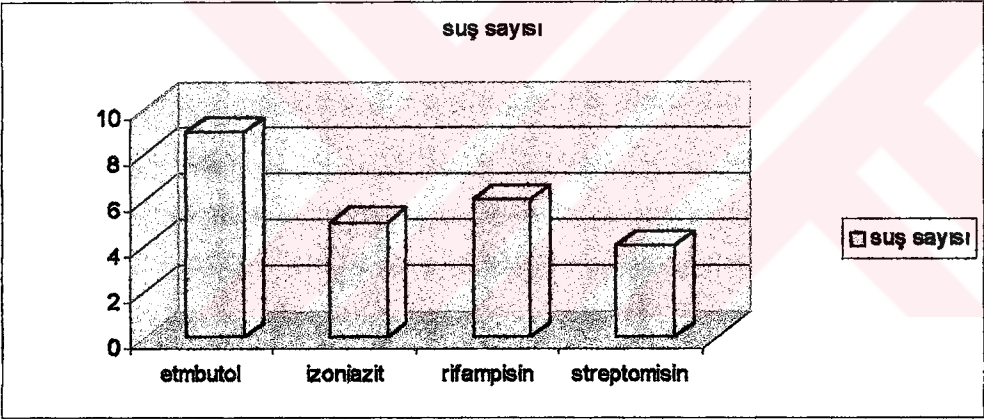
M.tuberculosis üreyen ve yayma preperatlarında ARB görülen 38 hasta çalışma kapsamına alınmış olup; bu hastaların 21 'i (%55.3) kadın ,17'si (%44.7) erkektir.

Çalışmaya uygun olan 38 hasta örneği duyarlılık tespiti için;Bactec prosedürlerine uygun olarak hazırlanarak antibiyogram işlemlerine tabi tutulmuştur.38 hastanın 27'sinde (%71.1) üreme indeksi (GI) ortalama 7-12 günde>30'u geçmiş olduğundan değerlendirmeye alınmıştır.

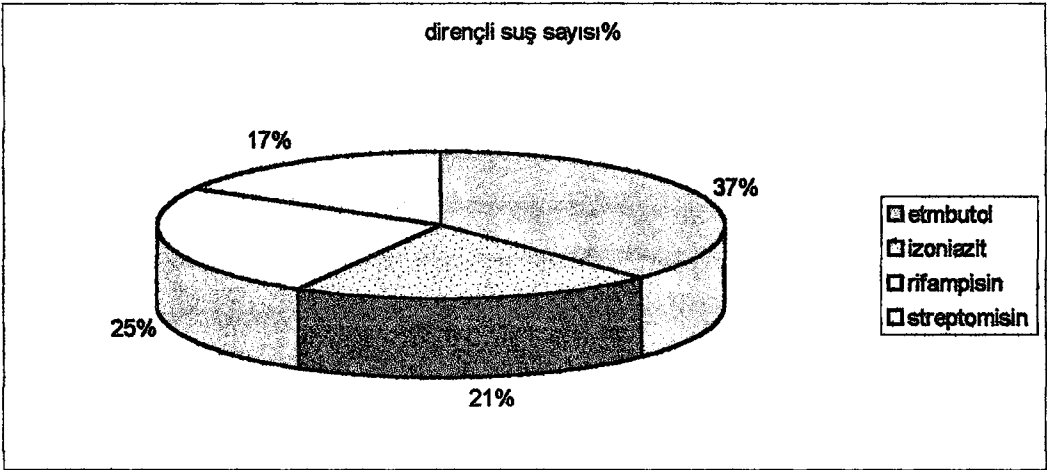
Değerlendirmeye alınan 27 *M.tuberculosis* suşundan 17'si (%63) tüm antitüberküloz ilaçlara duyarlı bulunmuştur. Diğer 10 suşun direnç paternleri ve direnç oranları sırasıyla şöyledir: Ethambutole karşı 9 (%37) izolat dirençli, 18 (% 63) izolat duyarlı; izoniazite karşı 5 (% 21) izolat dirençli, 22 (%79) izolat duyarlı; rifampisine karşı 6 (% 25) izolat dirençli, 21 (% 75) izolat duyarlı ve streptomisine karşı 4 (% 17) izolat dirençli, 23 (% 83) izolat duyarlı olarak bulunmuştur. (Tablo 9 ve Şekil 8-9)

Tablo 9. Çalışmada kullanılan suşların direnç paternleri ve oranları

İlaç	Dirençli suş sayısı	Yüzde(%)	Duyarlı suş sayısı	Yüzde(%)
Ethambutol	9	37	18	63
İzoniazit	5	21	22	79
Rifampisin	6	25	21	75
Streptomisin	4	17	23	83



Şekil 8. Çalışmada kullanılan suşların direnç oranları



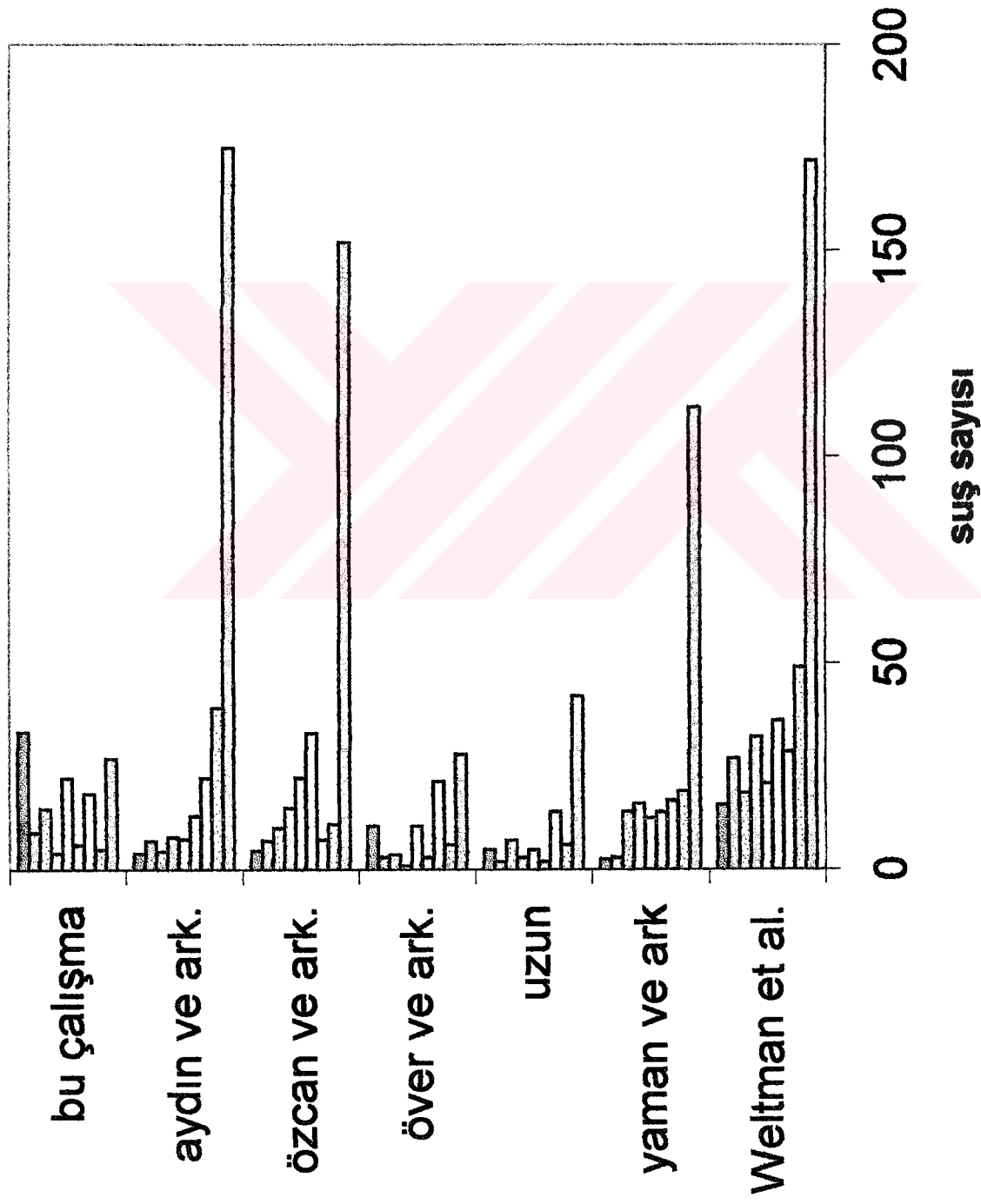
İzole edilen suşların 4 (% 14.81) ü yalnız bir ilaca dirençli olup bunların 3 (% 75)'ü ethambutole, 1 (% 25)'i izoniazide dirençlidir. İzole edilen suşların 6'sı (% 22.2) birden fazla ilaca dirençli olduğu saptanmıştır. Birli, ikili, üçlü ve dördlü ilaca direnç oranları ve suş sayıları Tablo 10 ve Şekil 5'te gösterilmiştir. EMB+İNH'ye 4 (%14.81), EMB+RMP'ye 6 (%22.2), EMB+SM'ye 4 (%14.81) İNH+RMP ye 4 (%14.81), İNH+SM'ye 4 (%14.81), RMP+SM'ye 4 (%14.81) şeklindedir. Üçlü ilaç dirençleri ise EMB + İNH + RMP'ye 4 (%14.81) EMB+İNH+SM'ye 4 (%14.81) İNH+SM+RMP'ye 4 (%14.81), RMP+SM+EMB'ye 4 (14.81) olup dört ilaca direnç oranı 4 (%14.81) olarak saptanmıştır.

Tablo 10. Bir ve birden fazla ilaca dirençli suşların dağılımı

antitüberküloz ilaç	dirençli suş sayısı	100 suşdaki dağılım%
tek ilaç		
EMB	3	75
İNH	1	25
SM	-	-
RMP	-	-
iki ilaç		
EMB+İNH	4	% 14,81
EMB+RMP	6	% 22,22
EMB+SM	4	% 14,81
İNH+RMP	4	% 14,81
İNH+SM	4	% 14,81
RMP+SM	4	% 14,81
üç ilaç		
EMB+İNH+RMP	4	% 14,81
EMB+İNH+SM	4	% 14,81
İNH+RMP+SM	4	% 14,81
RMP+SM+EMB	4	% 14,81
dört ilaç		
EMB+RMP+İNH+SM	4	% 14,81

Tablo11: Farklı araştırmacıların Bactec yöntemiyle bildirdikleri direnç oranlarının çalışmamızla karşılaştırılması (34).

Araştırmacı	Suş sayısı	İzoniazit		Rifampin		Streptomisin		Ethambutol	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Weltman et al.	172	49	28.5	36	20.9	32	18.6	27	15.7
Yaman ve ark.	112	19	16.9	14	12.5	16	14.2	3	2.6
Uzun	42	6	14.2	2	4.8	3	7.2	2	4.8
Över ve ark.	28	6	21.4	3	10.7	1	3.6	3	10.7
Özcan ve ark.	152	11	7.3	33	22.2	15	10.1	7	4.6
Aydın ve ark.	175	39	22.2	13	7.4	8	4.5	7	4
Bu çalışma	27	5	18.5	6	22.2	4	14.8	9	33.3



6. TARTIŞMA

Tüberküloz insanlığın en eski sorunlarından bir olup tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere karşın, bugün bütün dünyada özellikle de az gelişmiş ülkelerde yaygın olarak bulunan bir enfeksiyondur. 1950-1960'lı yıllarda kullanılan etkili tedavi yöntemleri hastalığın kısa sürede kontrol edilerek elimine edilebileceği konusundaki umutları artırmıştır. Ancak endüstrileşmiş ülkelerde insidansta azalma başarılırken, *M.tuberculosis* dünyada enfeksiyöz ölümlerin en büyük medeni olarak kalmıştır. (14, 46)

Son 15 yılda özellikle HIV ile enfekte hastalarda çoklu ilaç dirençli tüberküloz olgularının hızla artması, hastane kaynaklı bulaşların gözlenmesi, primer ve sekonder ilaç direncinin artması gibi nedenler tüberküloz kontrol çalışmalarını sonuçsuz bırakmıştır. İlaçlara duyarlı mikobakteriler ile oluşan hastalıklarda uygun ilaç kombinasyonu ile olguların %88-98'inin sağaltılabilmesine karşın, MDR-TB olgularının sağaltımı bugün büyük sorun yaratmaktadır (14).

Direnç sorunu, yeni saptanan hastanın yeterli süre ile düzenli ilaç kullanmasını sağlayamayan tüberküloz kontrol programı ve sağlık alt yapısından kaynaklanmaktadır. Çoğul ilaç dirençli kökenlerde infekte hastalar daha uzun süre yayma pozitif kaldıklarından, daha fazla kişiyi infekte edebilirler. Bu durum primer ilaç direnci oranlarının yükselmesine ve uzun vadede tüberküloz tedavisinin olanaksızlaşmasına yol açmaktadır (32).

Türkiye tüberküloz yönünden hiperendemik ülkeler grubuna girmektedir. Son yıllarda tüberküloz sıklığının artışı yanında çoklu ilaç direncide önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ancak tüberküloz duyarlılık testlerinin standardizasyonun-

daki güçlükler ülkemizdeki gerçek ilaç direnç oranları konusunda kuşkular yaratmaktadır.

Farklı laboratuvarlarda farklı yöntemlerle direnç testleri yapılmaktadır ve bu sonuçların da güvenilirliği bugün tartışma konusudur (32). Direnç oranları ülkeden ülkeye ve aynı ülke içinde sosyo-ekonomik düzey ile yakından ilişki göstermektedir (14). Ayrıca gelişmekte olan ülkelerde tüberkülozun giderek artmasında farklı ülkelerden göçün etkili olduğu ve bundan dolayı da göçmenlerin gelişmiş, hızlı tarama testleriyle takip edilmelerinin gerekliliği ortaya çıkmıştır. Ülkemizde de farklı yöntemler kullanılarak direnç çalışmaları yapılmaktadır (49).

Koç ve ark'ın B12 ve LJ besiyerlerinin her ikisinde üreyen 102 *M. tuberculosis* suşunu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada *M.tuberculosis*'in izolasyonu için Bactec TB sistemi ile alışılmış yöntemleri karşılaştırmışlardır. *M.tuberculosis*'in izolasyonu için gerekli ortalama zamanı, LJ de 21.7 gün, Bactec TB sistemi ile 11,6 gün olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada Bactec TB sisteminde kontaminasyon (% 80), LJ kültür sisteminden (% 4,3) daha çok görülmüştür ve sonuç olarak Bactec TB sistemi kontaminasyon oranının yüksek olması dışında, daha duyarlı, daha pratik ve izolasyon için daha az zamana gereksinim gösteren bir sistem olarak bulunmuştur. (28).

Bizim çalışmamızda da LJ'da ve B12'de üreyen *M.tuberculosis* izolatları kullanılmış olup B12'de ki ortalama üreme süreleri 7 – 11 gündür.

Öztürkeri, *M.tuberculosis*'in antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını saptamada LJ besiyeri ile Middlebrook 7H10 besiyerlerinin etkinliklerini, modifiye proporsiyon yöntemi ile karşılaştırdığı çalışmasında; rifampin, izoniazidin iki farklı konsantrasyonu ve ethambutolün yüksek konsantrasyonunda

LJ ile M7H10 arasında mükemmel bir uyum tespit etmiş, Streptomisin duyarlılık testinde, iki ve ethambutolün düşük konsantrasyon testinde ise bir suş M7H10 besiyerinde duyarlı, LJ besiyeri ile dirençli bulmuştur. M7H10'da dirençli olup, LJ'da duyarlı olan herhangi bir suş görülmediğinden; her iki besiyeri arasındaki uyumu % 98,9 olarak saptamıştır (33).

Duyarlılık çalışmalarında dilüsyonların hazırlanmasının güç olması ve özellikle LJ besiyerinin duyarlılık testi için bazı dezavantajlarının (ısıtılarak katılaştırılması ve çok fazla protein içermesi) olması sonuçları etkiliyor olabilir (14). Ancak Bactec sistemi dışındaki direnç oranı verilerini yadsımak büyük ölçüde veri kaybı anlamına gelecektir. Bu nedenle iki yöntemi karşılaştıracak çift kör çalışmaların düzenlenmesi ve rutine sokulması önemli bir sağlık problemi olan tüberkülozun etkin tedavisinde yardımcı olacağı bildirilmiştir (32).

Çoban ve ark. 50 *M.tuberculosis* suşunun antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarını proporsiyon (orantı) yöntemiyle araştırmışlar ve suşların 45 'ini (% 90) tüm antitüberküloz ilaçlara duyarlı bulmuşlardır. Buna karşın dirençli olduğu saptanan 5 suşun her biri farklı bir direnç paterni göstermiştir(yalnız İNH, yalnız EMB, RMP+ EMB, İNH+RMP+EMB ve İNH+SM+EMB).İlaçlara direnç oranlarını ethambutole %8, izoniazide %6, rifampisine %4 ve streptomisine %2 olarak saptamışlardır (14).

Otkun ve ark. 1996 da Trakya Üniversitesi Hastanesine başvuran tüberkülozlu olgulardaki direnç sorununu proporsiyon yöntemiyle araştırmışlar; çalışılan 70 suşun 39'u en az bir ilaca dirençli bulunmuş olup bunların 21'i İNH'e, 5'i İNH+RMP ye dirençlidir. Ailesinde tüberküloz bulunan 27 hastanın 20

sinde; ailesinde tüberküloz bulunmayan 43 hastanın 19'unda en az bir ilaca karşı direnç saptamışlardır.

Araştırmacılar kendi çalışmalarını değerlendirirken; **Özcan ve Kibaroglu** ile **Biberoğlu ve Uçan**'ın çalışmalarından yararlanmış. Bu çalışmalardaki direnç oranlarını; **Özcan ve Kibaroglu** için; en az bir ilaca direnci % 47,5, INH direncini % 30, INH+RMP direncini % 17,5 olarak; **Biberoğlu** için INH direncini % 14 – 35, RMP direncini % 7 – 25 olarak; **Uçan**'ın 67 Türkçe kaynağın istatistik değerlendirmesini yaptığı çalışmasının sonuçlarını da INH direncini % 35.9 ve RMP direncinin % 28,6 olarak aktarmışlardır (32).

Öztürkeri ve ark.nın 206 *M.tuberculosis* suşunu kullanarak yaptıkları ve Bactec yöntemini kullandıkları çalışmada ;izolatların %33.9'u izoniazide, %20.3 rifampine ,%19.9'u ethambutole ve %13.5'i streptomisine dirençli bulmuşlardır. Bu izolatların 102'si (%49.6), antitüberkülozlardan bir ile dört arasında değişmek üzere ,en az birine dirençli bulunmuştur.Bunların 50'si (%24.3) sadece tek bir ilaca ,29'u (%14) iki ilaca, 19'u(%9.2) üç ilaca , 4'ü (%1.9) dört ilaca birden dirençlidir. Olguların 36 sı ise (%17.4) rifampin ve izoniazidin en az ikisine birden dirençlidir.

Öztürkeri ve arkadaşlarının çalışmalarını karşılaştırdıkları duyarlılık testlerinin sonuçlarını;

Aydın ve ark.'nın dört farklı majör antitüberküloz ilaca karşı duyarlılığının indirekt duyarlılık test yöntemiyle çalıştıkları araştırmada ;suşların %74.9 unu tüm antitüberküloz ilaçlara duyarlı %25.1'ini ise bir ya da birden fazla ilaca dirençli bulmuşlardır.Yazarlar izoniazidi %22.2 ile direnç oranı en yüksek ilaç olarak saptarken, bunu %7.4 lük oranla rifampin, % 4.5'luk oranla

streptomisin ve %4'lük oranla ethambutol izlemiştir. **Özcan ve arkadaşlarının** çalışmasında ise, izoniazit için % 7.3'lük bir direnç oranı bildirirken, direnç oranı en yüksek antibiyotiğin % 22.1'lik oranla rifampin olduğu bildirilmiştir (34).

Yüce ve ark. ları 63 suş üzerinde yaptıkları incelemede proporsiyon yöntemi kullanılarak toplam % 41 oranında primer ilaç direnci bulunurken bunun ilaçlara göre dağılımı ise; izoniazide %9 ,ethambutole %3,streptomisine %32,rifampisine %27 olarak verilmiştir (51).

Oğuz ve ark. edinsel çok ilaca dirençli ,(RMP)40 ve İNH 1 µg/ml'ye dirençli 32 *M.tuberculosis* suşun majör ve minör antitüberküloz ilaçlara duyarlılığını proporsiyon yöntemiyle araştırmışlar ve suşların 22(%68.7)'sinde SM4 ve 16(%50)'sında SM8 µg/ml 'ye ,15(%46.8)'inde EMB2 ve EMB3 µg/ml'ye , 13(%40.6)'ünde PZR100 µg/ml'ye , 21(%65.6) ETH20 ve 18(%56.2)'inde ETH40 µg/ml'ye ,3(%9.3)'ünde K20 ve K30 µg/ml'ye 6(%18.7)'inde SKL30 ve 5(%15.6)'inde SKL40 µg/ml'ye ,4(%2.5)'ünde CAP20 ve 2(%6.2)'inde CAP40 µg/ml'ye karşı direnç saptanmıştır (31).

Sürücüoğlu ve ark. 52 izolatin ikinci seçenek bir florokinolon olan levofloksasine karşı duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada, levofloksasini tüm izolatlara etkili olarak saptamışlardır.Bu da bize dirençli ya da yan etkiler nedeniyle birincil seçenek ilaç kullanılamayan hastalarda rahatlıkla kullanılabileceğini ortaya koymuştur (41).

Seyfikli ve ark. 200 M.tbc suşunun ofloksasin ve siprofloksasin'e duyarlılıklarını proporsiyon yöntemiyle test etmişler ve sonuç olarak 1 ve 2 µg/ml'de ofloksasine suşların tümü duyarlı iken, siprofloksasine aynı

konsantrasyonda %13 direnç olduğu, 4 µg/ml’de ise dirençli suşun olamadığı saptanmıştır (39).

Akçalı ve ark.nın ise *M.tuberculosis* suşlarının fusidik aside duyarlılığını standart proporsiyon yöntemiyle inceledikleri çalışmalarında 100 suşun tamamının ilaca duyarlı olduğunu ve tedavide etkili bir ilaç olabileceğini saptamışlardır (1).

Saydam ve ark’ın LJ besiyerinde izole ettikleri *M.tuberculosis* suşlarının amoksisilin-klavulanik asit ve klaritromisine invitro duyarlılıklarının E test yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada; 71 *M.tuberculosis* izolatının 12’si (% 17) klaritromisine dirençli, amoksisilin ve klavulanata karşı 27(% 38) si ise dirençli bulunmuştur (38).

Yurt dışındaki ülkelerde de yapılan duyarlılık çalışmalarında *M.tuberculosis* suşların antitüberküloz ilaçlara karşı direnç oranlarının farklı olduğu göze çarpmaktadır.

Öztürkeri’nin yayınında da yer alan 1994’te ABD’de Weltman ve ark’ın 172 *M.tuberculosis* suşunun Bactec sistemiyle antibiyotik duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında; İzoniazide % 28,5 , rifampine % 20,9, ethambutole % 15,7 ve streptomisine % 18,6 oranında direnç saptamışlar. Araştırmacılar tek ilaç direnci olarak izoniazide direnci % 8,1, rifampine drenci % 2,3 olarak bulmuşlar. Ayrıca çoklu ilaç direnci için bir kriter olan rifampin ve izoniazidin en az ikisine birden direnç oranını % 17,4 olarak tespit etmişlerdir (34).

Bemer ve ark’nın 2002 yılında Bactec ve MIGIT 960 sistemini kullanarak yaptıkları çalışmada 100 *M.tuberculosis* suşunu değerlendirmeye almışlar ve bu suşların 7 (% 6,4)’ni Bactec MIGIT 960 sistemiyle izoniazite

dirençli; Bactec 460 TB ile duyarlı – 1 (% 0,9)’inin Bactec MIGIT 960 ile rifampisine dirençli; Bactec 460 TB sistemiyle duyarlı; 7 (% 6,4)’nin 6’sını Ethambutole Bactec MIGIT 960 ile dirençli ve Bactec 460 TB ile duyarlı 1’ni ise Bactec MIGIT 960 ile duyarlı; Bactec 460 TB ile dirençli ve 19(% 17,3)’nu da Bactec MIGIT 960 ile dirençli Bactec 460 TB sistemiyle duyarlı olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmanın sonucunda Bactec MIGIT 960 sisteminin özellikle streptomisin için % 89,8 ve rifampisin için de % 100 ve ilaçların 4’ü için de % 100 daha hassas olduğunu belirlemişler. Yine her iki sistemi karşılaştırdıklarında ortalama duyarlılık tespit süresinin Bactec MIGIT 960 için 6,5 gün ve Bactec 460 TB sistemi için de 7 gün olduğunu saptamışlar. Bütün bu verilere dayanarak M.tbc suşlarına hızlı duyarlılık çalışmaları yapabilmek için tam otomatik ve nonradyometrik bir sistem olan Bactec MIGIT 960 sistemi kullanılmalıdır kanısına varmışlardır (8).

Bartfal ve ark.’nın Macaristan’ın üç bölgesinden topladıkları proporsiyon yöntemiyle test edilmiş 29 rifampin dirençli suşun 27’sinde 81-bp (26 suş) bölgesinde ya da N-terminal bölgesinde (1 suş) bir mutasyon varken, iki suшта mutasyon saptamamışlar. Daha sonra bu 29 suşun proporsiyon yöntemiyle duyarlılıklarını araştırmışlar. Çalışmada 29 suşun sadece ikisi (% 6,9) yalnızca rifampine dirençli, 26 (% 62,1) si aynı zamanda izoniazid de dirençli, 18(% 62,1)’i ethambutole ve 9’u da (%31) streptomisine dirençli çıkmış 29 suşun 20’si (% 70.0) 4 ilaçtan en az 3’üne dirençli olarak saptanmış. Sonuçta DNA sekans analizleriyle dirençli bölgeleri ortaya çıkarmak için rutin taramalarda moleküler yöntemlerin önemi ortaya çıkmıştır (6)

Hanan ve ark.'nın yaptıkları çalışmada *M. tbc* kompleks suşlarında Pirazinamit monoresistansı Bactec yöntemiyle 1436 izolat DNA analizleri yapılarak incelenmiş; 24'ün PZA dirençli olduğunu, bunların da 10'un en azından PZA içeren 2 ilaca dirençli ve 14'ünün de PZA'ya monoresistant olduğunu belirlemişler. 11'inde yapılan standart duyarlılık testleri ile 6 PZA duyarlı, 5 PZA monoresistant suş tespit edilmiş (20).

Çalışmamızda tek ilaca dirençli 4 suş saptanmış olup ,bu sayı çalışılan 27 izolatın %14.81'ini oluşturmaktadır. Tek ilaca dirençte streptomisin ve rifampisine karşı direnç bulunmazken, ethambutol %75'lik oranıyla direnç oranı en yüksek ilaç olarak saptanmıştır. Çalışmamızda iki ilaca direnç oranı %7.4,üç ilaca direnç oranı %14.81,dört ilaca direnç oranı ise %14.81 dir. Rifampin ve izoniazidin en az ikisine birden toplam 4 çoklu antibiyotik dirençli suş (%14.81)saptanmış olup; bunların 4'ü (% 14.81) rifampin + izonizaide 4'ü rifampin + izoniazit + ethambutole ,4'ü (% 14.81) rifampin + izoniazit + streptomisine ve yine 4'ü (% 14.81) çalışılan ilaçların tümüne birden dirençli bulunmuştur.

Bu çalışma Doğu Anadolu Bölgesinde ki ilaç paternlerini tanımlamak için ilk girişimdir. Ancak çalışmanın düzenlenmesindeki bazı sınırlamalar nedeniyle sonuçların yorumlanmasında dikkatli olunmalıdır.Çalışma grubunu oluşturan hastalar yalnızca hastanemize başvuran hastalar oldukları için bölgesel ilaç direnci paternlerini tam olarak yansıtmayabilir.

Saptanan yüksek direnç oranlarının nedenleri tüberküloz ajanlarının serbestçe satılıyor olması,yeterli kayıt,ihbar ve denetleme sisteminin kurulmamış olması ,tüberkülozlu hastaların takip ve tedavilerinin yetersizliği ,tüberküloz kontrol çalışmalarının birinci basamak sağlık örgütlenmesi ile bütünleşmesinin gerçekleşmemiş olmasıdır (32).

Bu durum basil üretebilen tüm olgularda direncin araştırılması ve tedavinin alınacak sonuca göre yönlendirilmesi gerektiği ortaya koymaktadır. Ayrıca bu direnç sorunları, ülkemizde tüberküloz izolatlarında yüksek sıklıkta çoklu ilaç direnci olduğunu göstermiştir.

Bu çalışma sonucunda saptanan yüksek direnç oranları Doğu Anadolu bölgesinin tümünü kapsayacak bir çalışma gereksinimini ortaya koymuştur. Yine *M.tuberculosis*'te antitüberküloz ilaçlara direnç aktarılabilir nitelikte olmayıp kromozomal mutasyonlara bağlıdır. Bu durumda yüksek direnç oranlarının bölgemizde bazı klonların yayılması ile ilgili olabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak *M.tuberculosis* izolatları arasındaki genetik bağlantıyı ayırt edecek çalışmaların ve antitüberküloid ilaçlara direncin daha geniş çaplı uygulamalarla yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Ek-1: Bactec radyometrik proporsiyon testi kayıt formu

Hasta adı soyadı :

Hasta No :

Örnek :

İnokulasyon tarihi :

İnokulum kaynağı :

İnok. GI değeri :

Parop tarihi :

Test yöntemi :

Okuma programı :

	GI														ΔGI	Sonuç
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Kontrol																
İzoniazid																
Rifampin																
Streptomisin																
Ethambutol																

7. KAYNAKLAR

1. Akçalı S, Sürücüoğlu S, Özbakkaloğlu, B(2002) *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Fusidik Aside İn vitro Duyarlılıkları, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 1-2 (32): 75-77.
2. Akhan A. S, Hayran M (1996). Tüberküloz. İnfeksiyon Bülteni, 1:5-8.
3. Alp A. (1996) *Mycobacterium tuberculosis*'in Antimikobakteriyel Ajanlara Karşı Duyarlılık Tesbitinde Yeni Yöntemler. Mikrobiyoloji Bülteni. 30: 409-417.
4. Anđ Ö. Erturan Z (1996). Tüberkülozun Dönüşü ve Direnç Sorunu, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 17-25.
5. Anđ Ö. Erturan Z., Uzun M. (1997). Dünyada ve Türkiye'de Tüberküloz, İnfeksiyon Dergisi, 11(4): 1-5.
6. Bartfal Z, Somoskövi A, Ködman C, Szabo EP, Kosztolányi L, Farago E, Mester J, Parsons LM, Salfinger M (2001) Molecular Characterization of Rifampin – Resistant Isolates of *Mycobacterium tuberculosis* from Hungary by DNA Sequencing and the Line Probe Assay. J. Of Clinical Microbiology, 39 (10): 3736-3739.
7. Bayındır Ü. (1990). Akciğerlerin İnfeksiyon Hastalıkları: Tüberküloz, İç Hastalıklar. Özbek A. 4. Baskı. s. 425-435
8. Bemer P, Palicova F, Rüsch-Gerdes S, Drugean HB; Pfyffer GE (2002), Multicenter Evulation of Full Automated BACTEC Mycobacteria Growth İndicator Tube 960 System for Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology 40(1): 150-154.

9. Collins FM (1993). Tuberculosis : The return of an old enemy. Crit Rev Microbiology. 19: 1-16.
10. Cole ST Telenti A (1996). Drug Resistance in Mycobacterium Tuberculosis. Eur Respir J (Supple 20): 701-13
11. Curtis AB, McGray S, McKenna M, Onorato IM, (2001). Completeness and timeliness of tuberculosis case reporting AMJ Prev Med. 20: 108-112
12. Çavuşoğlu C, Saydam C Ç, Burhanoglu, D, Bilgiç A, Özkalay N (2000). M.tuberculosis'in Fusidik Aside Karşı Duyarlılığının Proporsiyon Dilüsyon Yöntemi ve E-test ile Karşılaştırılması. Enfeksiyon Dergisi. 14 (2): 201-204
13. Çavuşoğlu C, Saydam C Ç. Sipahi O. R, Bilgiç A (2000), *Mycobacterium tuberculosis* Kökenlerinde Hızlı Rifampin Direnci Saptanmasında Fast – Plaque Tb-RIF'in Değerlendirilmesi, Enfeksiyon Dergisi. 15 (3): 329-333.
14. Çoban AY, Saniç A, Eroğlu C, Günaydın M, Durupınar B. (2000). *Mycobacterium Tuberculosis* Suşlarının Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılıkları, Mikrobiyoloji Bülteni, 34: 279-284.
15. Eriş F.N (2000) Tüberküloz İmmünolojisi. Enfeksiyon Dergisi, 14 (3): 421-428.
16. Erturan Z (1997) Antitüberküloz İlaçlar. Enfeksiyon Dergisi. 11 (4): 35-41.
17. Farmer P, Kim YJ (1998). Community based Approaches to the Control of Multidrug Resistant Tuberculosis: Introducing “DOST-plus” BMJ: 317-671.
18. Greowitt SH (1995). On The development of mycobacterial infections Zbl Bakt. 283: 5-13.
19. Gedikoğlu S (1997). *Mycobacterium tuberculosis*'in Hücre Yapısı. Enfeksiyon Dergisi. 11(4): 13-18.

20. Hannan MM, Desmond EP, Marlock GP, Mazurek GH, Crawford JT (2001). Pyrazinamide – Monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* in the United States Journal of Clinical Microbiology. 39 (2) : 647-650.
21. HartCA, Beeching NJ, Duarden BI, (1996) Tüberküloz into the next century, J. Medical Microbiology. 44:1-34.
22. İdigaros P, Trallero EP, Alcarta M, Gutierrez C, Baraja IM (1995). Rapid detection of tuberculosis and non tuberculous mycobacteria by microscopic observation of growth on Middlebrook 7H11 Agar. Eur. J. Clin. Microbiology Infect Dis. 14: 6-10.
23. Jacobs RP (1994). Multiple – drug resistant tuberculosis. Clin. Infect. Dis. 19: 1-10.
24. Kam KM, Yip CW, Tse LW, Leung OC, Sin LP, Chan MY, Wong WS. (2002). Trends in Multidrug – Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in relation to sputum smear positivity in Hong Kong, 1989-1999. Clinical Infectious Disease. 34 (324-9).
25. Kıyan M (1999). Mycobacteriaceae. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ustaçelebi S (ed). Güneş Kitabevi, Ankara. 419-457.
26. Kocabaş A (1996). Akciğer Tüberkülozu, Enfeksiyon Hastalıkları, Willke – Topcu A, Söyletir G, Doğanay M. (ed). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 396-443.
27. Kocagöz T (1997). Yeni Laboratuvar Yöntemleri ile Tüberküloz Tanısı. Enfeksiyon Dergisi. 11(4): 29-33.

28. Koç AN; Özcan M, Özbal Y, Fazlı EA (1996). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Mycobacterium Tuberculosis*'in İzolasyonu İçin Bactec Tb Sistem Ve Alışılmış Yöntemlerin Karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 10 (1) : 65-67.
29. Mikosova K, Slayden RA, Besra GS, Breman PJ. (1995). Biogenesis of the mycobacterial cell wall and side of action of ethambutol. *Antimicrob Agents Chemother*. 39: 2484-9
30. Norde MA; Kurzynski TA; Bawnds SE; Callister SM, Schell RF (1995). Rapid Susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by flow cytometry *J. Clin. Microbiology* . 33: 1231-37.
31. Oğuz VA, Akbal H, Sarıbaş S, Karagöz T, Öztürk R. (2000). Edinsel Çok İlaça Dirençli *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının Majör ve Minör antitüberküloz İlaçlara duyarlılığı, *İnfeksiyon Dergisi*. 14(3): 383-386.
32. Oktun M, Akata F, Karabay O, Tabakoğlu E, Tuğrul M, Dündar V (1997). Trakya Üniversitesi Hastanesine 1996 Yılı İçinde Başvuran Tüberkülozlu Olgularda Antitüberküloz İlaçlara Direnç Sorunu. *İnfeksiyon Dergisi*. 11 (3): 191-196.
33. Öztürkeri H (1988), *Mycobacterium tuberculosis*'in Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılığını saptamada Löwenstein – Jensen Besiyerinin Etkinliğinin, Middlebrook 7H10 besiyeri ile Karşılaştırılmalı olarak modifiye proporsiyon yöntemi ile araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 32: 177-184.
34. Öztürkeri H., Emekdaş G, Kocabeyoğlu Ö, Gözüaçık A (1999). İzoniazid, Rifampin, Streptomisin ve Ethambutolun Tüberküloz Basillerine Invitro Etkinlikleri: Bactec Test Yöntemi ile Alınan Sonuçlar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. 29: 58-60.

35. Rieder H (1994). Drug resistant tuberculosis. Issues in epidemiology and Challenges for public health. *Tuber Lung Dis*, 75: 321.
36. Rota, Ş (1997). *Mycobacterium tuberculosis*'in antitüberküloz İlaçlara Direnç Mekanizmaları. *İnfeksiyon Dergisi*. 11(4): 43-45.
37. Sacchetth JC, Blanchard JJ (1996). The Structure and function of the isoniazid target in N. The Res. Microbiology. 143: 36-43.
38. Saydam CÇ, Çavuşoğlu C, Burhanoglu D, Özkalay N, Bilgiç A (2000). *Mycobacterium Tuberculosis*'in Amoksisilin – Klavulanik Asit Ve Klaritromisine Karşı İnvitro Duyarlılığının E-Test İle Araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*. 14(4): 485-489.
39. Seyfikli Z, Ünsal M, Yener O, Dursun G. Yalçın AN (1994). *Mycobacterium tuberculosis*'in Ofloksasin Ve Siprofloksasine İnvitro Primer Direnci. *İnfeksiyon Dergisi*. 8(3-4): 99-102.
40. Sıddıqi: SH (1992). Radiometric (Bactec) test for slowly growing Mycobacteria. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD. (ed). P.5.14. Amer Soc. Microbiology. Washington DC.
41. Sürücüoğlu S, Akçalı S, Kurutepe S, Soydan C, Özkütük N. Özbakkaloğlu B, (2000). *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının levoflaksasine invitro duyarlılığı. *İnfeksiyon dergisi*. 14(4): 197-200.
42. Şipit T (2001). Tüberküloz Tanısı. *Ankem Dergisi*. 15(3): 316-320.
43. Tahaoğlu K. (2001). Çok İlaça Dirençli Tüberkülozda Tanı ve Tedavinin Esasları. *Ankem Dergisi*. 15(3): 330-334.

44. Tenover FC, Grawford JT, Hueber RE, Geiter LJ, Horsburgh CR, Good RC (1993). The resurgence of tuberculosis: Is your labarotory ready? J. Clinical Microbiology. 31: 767-70.
45. Turett GS, Telzak EE; Torian LV. (1995). İmproved out comes for patients with multi drug-resistant tuberculosis. CID. 21: 1238.
46. Uzun M (1997). Tüberkülozun laboratuar Tanısında Karşılaşılan Problemler. İnfeksiyon Dergisi. 11(4): 23-27.
47. Von Scay RE, Will kowske CJ (1992). Antitüberculosis agents. Mayo Clin. Proc. 67: 179-87.
48. Walters SB, Hane BA (1996). Testing of susceptibility of M.tbc to izoniazid and rifanpin by mycobacterium growth indicator tube method. J. CVClin. Microb. 34: 1565-67.
49. Yüce A., Abedi M. Okuyan M. (1988). *Mycobacterium tuberculosis* Suçlarının tüberkülostatlere duyarlılıkları ve total direnç oranları. İnfeksiyon Dergisi. 2(3): 351-359.
50. Yüce A (1994). *Mycobacterium tuberculosis*'te antibiyotik direnç mekanizmaları. Ankem Dergisi. 8 (3): 203-206.
51. Yüce A, Hatipoğlu O, Uçan ES, Kırdar S, Akkoçlu A (1994). Tüberküloz İlaçlarına Primer Direnç. 8(3-4): 95-98.
52. Yüce A (1997). Mikobakterilerde anitbiyotik duyarlılık testleri. İnfeksiyon Dergisi. 11(4): 47-51.

ÖZGEÇMİŞ

19.08.1978 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ Atatürk İlkokulu, Elazığ Mezre Ortaokulu ve Elazığ Mehmet Akif Ersoy Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1996 yılında Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdim. 2000 yılında buradan mezun oldum. Aynı yıl Elazığ Özel Harput Kolejinde Biyoloji Öğretmeni olarak çalışmaya başladım. 2001 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü'nde Yüksek Lisans yapmaya başladım.

Halen Elazığ iline bağlı Palu ilçesinin Karasalkım köyünde öğretmen olarak çalışmaktayım. Yabancı dil olarak ileri derecede İngilizce bilmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.