

**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÖREMİZDE İZOLE EDİLEN MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS SUŞLARINDA DİRENÇ PROFİLİ**

ESRA ZORLUER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AKGÜN YAMAN**

ADANA-2010

**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÖREMİZDE İZOLE EDİLEN MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS SUŞLARINDA DİRENÇ PROFİLİ**

ESRA ZORLUER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. AKGÜN YAMAN**

Bu çalışma TF2009YL2 nolu proje olarak Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

TEZ NO:.....

ADANA-2010

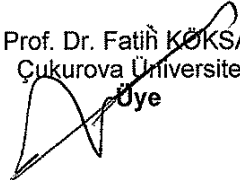
KABUL VE ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan
“yöremizde izole edilen M.tuberculosis'in direnç profili”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 01./09/2010

TEZ SINAV JÜRİSİ


Prof. Dr. Akgün YAMAN
Çukurova Üniversitesi
Başkan


Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Çukurova Üniversitesi
Üye


Prof. Dr. Yeşim TAŞOVA
Çukurova Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı
kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil Kasap
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
KABUL VE ONAY	II
İÇİNDEKİLER	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİ	2
2.1 Tüberküloz Hastalığının Tarihçesi ve Dünya’da Tüberküloz	2
2.2 Türkiye’de Tüberküloz	4
2.3.Adana’ da Tüberküloz	8
2.4.Mikobakteriler	8
2.4.1.Mikobakterilerin Genel Özellikleri	9
2.4.1.1. Mikobakterilerin Hücre Yapısı	9
2.4.1.1.1.Lipidler	11
2.4.1.1.1.1Balmumu	11
2.4.1.1.1.2.Kord Faktörü	11
2.4.1.1.1.3.Fosfolipidler	11
2.4.1.1.1.4.Sülfatidler	11
2.4.1.1.1.5.Mikolipenik Asit	12
2.4.1.1.1.6.Lipoglikanlar	12
2.4.1.1.2.Proteinler	12
2.4.1.1.3.Polisakkaritler	12
2.4.1.2.Antijenik Yapı	12
2.4.1.2.1.Old Tuberkülin	12
2.4.1.2.2.Saflaştırılmış Protein Derivesi	13
2.4.1.2.3.Saflaştırılmış Antijenler	13
2.4.2.Patogeneze	13
2.5. <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> ’te Tedavi ve Direnç	16
2.6. Duyarlılık Testleri	19
2.6.1. Klasik Fenotipik Yöntemler	20
2.6.1.1. Klasik Duyarlılık Testleri	20
2.6.1.1.1.Mutlak Konsantrasyon Yöntemi	20
2.6.1.1.2.Direnç Oran Yöntemi	20
2.6.1.1.3.Proporsiyon Yöntemi	21
2.6.1.2. Hızlı Duyarlılık Testleri	21
2.6.1.2.1. Radyometrik Kültür Sistemi	21
2.6.1.2.2. Floresan Kültür Sistemi	22

2.6.1.2.3. Kolorimetrik Kültür Sistemi	23
2.6.1.2.4. Gaz Basınç Değişimini Saptayan Sistem	23
2.6.2. Yeni Fenotipik Yöntemler	24
2.6.2.1 Faja Dayalı Yöntemler	24
2.6.2.1.1 Faj Çoğaltma Yöntemi	24
2.6.2.1.2 Lusiferaz Genli Faj Yöntemi	24
2.6.2.2 Kolorimetrik Yöntemler	25
2.6.2.2.1. Alamar Mavisi	25
2.6.2.2.2. Tetrazolium Tuzları	25
2.6.2.2.3. Nitrat Redüktaz Yöntemi	25
2.6.3. Genotipik Yöntemler	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Gereç	28
3.2. Yöntem	28
3.2.1 Kinyoun Boyama Yöntemi	28
3.2.1.1. Boyaların Hazırlanması	28
3.2.1.1.1. Karbolfuksin	28
3.2.1.1.2 Asit-Alkol Eriyiği	28
3.2.1.1.3 Brilliant Green	29
3.2.2. Kültür	29
3.2.2.1 Kullanılan Yöntem	29
3.2.2.2. Yöntemin Esası	30
3.2.2.3. Kullanılan Kimyasal Solüsyon	30
3.2.2.4. İçindekiler	30
3.2.2.5. Uygulama	30
3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	31
3.2.3.1. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması	32
3.2.3.2. Antibiyogram İşlemi	32
3.2.3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi	33
3.2.3.4. Kalite Kontrol	33
4. BULGULAR	34
4.1. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları	35
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
7. KAYNAKLAR	44
8. ÖZGEÇMİŞ	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil.2.1 Türkiye’de 1985-2001 yılları arasında tüberküloz insidansı	6
Şekil 2.2 Mikobakterilerin hücre duvar yapısının şematik görünümü	10
Şekil 3.1 MGIT tüplerinin içeriği	31

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Türkiye’de 1953-1959 ve 1980-1982 yıllarındaki tüberküloz infeksiyon havuzu	5
Tablo 2.2. 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgelere göre tüberküloz insidansı	7
Tablo 2.3. Adana 2002-2005 tüberküloz hastalarının kayıt altına alınan verileri	8
Tablo 3.1. MGIT tüplerine eklenen ilaç konsantrasyonları	32
Tablo 4.1. Çalışmaya alınan suşların örneklere göre dağılımı	34
Tablo 4.2. İncelenen suşlarda yıllara göre antitüberküloz ilaçlarına direnç	35
Tablo 4.3. İzole edilen suşlarda belirlenen ilaç dirençleri	35
Tablo 4.4. Birden çok ilaca dirençli tüberküloz suşları	36
Tablo 5.1. Ülkemizde yapılan antitüberküloz ilaç çalışmalarındaki herhangi bir ilaca olan direnç yüzdesi	39
Tablo 5.2. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları	40
Tablo 5.3. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen Çoklu İlaça Dirençli Tüberküloz oranları	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
AMS:	Açlık Mide Suyu
ARB:	Asido Rezistan Boyama
AST:	Antimicrobial Susceptibility Test
AVSD:	Adana Verem Savaş Dispanseri
BAL:	Bronkoalveolar Lavaj
BCG:	Bacille Calmette Guerin
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
C:	Sitozin
CDC:	Central of Disease Control
ÇİD-TB:	Çoklu İlaç Dirençli Tüberküloz
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
DOTS:	Directly Observed Treatment Strategy
Et-Br:	Ethidium Bromür
EMB:	Ethambutol
G:	Guanin
GID-TB:	Global Infection Disease Tuberculosis
GU:	Growth Unit
INH:	İzoniyaazid
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
IUATLD:	International Union Against Tuberculosis and Lung Disease
kDa:	Kilodalton
L-J:	Löwenstein-Jensen
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
MIK:	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

MS: Milattan Sonra

MÖ: Milattan Önce

M.tuberculosis: *Mycobacterium tuberculosis*

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

OADC: Oleik asit - albümin - dekstroza - katalaz

OT: Old Tuberkulin

PANTA: Polimiksin B, Amfoterisin B, Nalidiksik asit, Trimethoprim, Azlosilin

PAS: P-aminosalisilik asit

PZA:Pyrazinamid

PPD: Purified Protein Derivation

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RIF:Rifampisin

SM: Streptomisin

SSCP: Single Strand Confirmation Polymorphism

TAK: Trakeal Aspirat

TB: Tüberküloz

TU: Tuberkulin Unit

UV: Ultraviyole

VSDB: Verem Savaş Dispanseri Başkanlığı

WHO: World Health Organization

ÖZET

Yöremizde İzole Edilen *Mycobacterium Tuberculosis* Suşlarında Direnç Profili

Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de tüberküloz büyük bir sağlık sorunu olarak önemini korumaktadır. Akdeniz bölgesinde verem savaş dispanserinin 2006-2007 yıllarındaki tüberküloz insidansı sırasıyla 18.3/100.000 ve 17.8/100.000 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Adana ve çevre illerden Ocak 2008-Temmuz 2010 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesinin çeşitli kliniklerine başvuran hastaların, Mikrobiyoloji laboratuvarına tüberküloz ön tanısıyla gönderilen materyallerinden izole edilen 179 *M. tuberculosis* suşunun antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının BACTEC MGIT 960 sistemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplam 179 suşun 148(%82.6)’i solunum yolu materyallerinden, 31(%18.4)’i diğer materyallerden(Eklem Mayisi, Abse, Doku, Biopsi Materyali, Lenf Sıvısı, Bos, İdrar) izole edilmiştir. Suşların 131 (%73.18)’i antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı iken, 48(%26.82)’i en az bir ilaca dirençli ve 18(%10.05)’i en az 2 ilaca dirençli bulunmuştur. Bu çalışmanın duyarlılık testlerinde kalite kontrol olarak, ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu kullanılmıştır. Bu suşların streptomisin, izoniyazid, rifampisin, etambutol’e direnci sırasıyla 22(%19.89), 30(%27.63), 9(%9.87), 7(%6.85) olarak bulunmuştur. Çoklu ilaç direnci gösteren suşların 16(%9.49)’sı iki ilaca dirençli, 2(%1.12)’si üç ilaca dirençli ve tüm ilaçlara dirençli suş bulunmamıştır. Sadece tek bir ilaca dirençli suşların sayısı ise streptomisin, izoniyazid, rifampisin ve etambutol direnci sırasıyla; 15 (%8.38), 13 (%7.26), 1 (%0.56) ve 1 (%0.56) olarak bulunmuştur. *M.tuberculosis*’in ilaçlara olan yüksek direnci izoniyazid (%27.63) olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: BACTEC MGIT 960, ilaç direnci, *M.tuberculosis*.

SUMMARY

Resistance Profile of *Mycobacterium tuberculosis* Strains Isolated in Our Region

Tuberculosis has been keeping its importance as a health problem in Turkey as well as all around the world. Incidence of tuberculosis in Mediterranean region between the years 2006-2007 is determined as 18.3/100000 and 17.8/100000 ,respectively. In this study, it's aimed to identify the patients living in Adana and environment cities , and having consulted to some various clinics in Balcalı hospital of Medicine Faculty in Çukurova University via the system of susceptibility of 179 *M. tuberculosis* strains to primary antituberculosis drugs that were tested by BACTEC MGIT 960. Total of 179 strains, 148(82.6%) of them were respiratory materials, 31(18.4%) of them were isolated from other materials(joint fluid, abscess, tissue, biopsy material, lymphatic fluid, cerebrospinal fluid,urine). Among the strains, of 131(73.18%) were sensitive to all of the antituberculosis drugs, of 48 (26.82%) were resistant to at least one antituberculosis drug and 18(10.05%) were resistant to at least two drugs. In susceptibility tests of this study, *M. tuberculosis* ATCC 27294(H37Rv) strain known as sensitive to drugs is used as quality control. Among the evaluated strains; resistance to streptomycin, isoniazide, rifampicin, ethambutol was 22(19.89%), 30(27.63%), 9(9.87%), 7(6.85%) respectively while multidrug resistance was 18(10.05%). Sixteen(9.49%) of multidrug resistant strains are resistant to two drugs, two(1.12%) strains are resistant to three drugs and no strains are found that were resistant to all drugs. 15(8.38 %) strains were resistant to only streptomycin, 13(7.26 %) strains were resistant to only isoniazide, 1(0.56%) strains was resistant to only rifampicin and 1(0.56%)strains was resistant to only ethambutol. The highest resistance rates was detected for isoniazide(27.63%).

Key words: BACTEC MGIT 960, Drug resistance, *M.tuberculosis*.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tüberküloz, geçmiş insanlık tarihi kadar eskilere dayanan ve insanlıkla iç içe bir infeksiyon hastalığıdır. Geçen binlerce yıllık süre içinde hastalık, insidansında artış ve azalmalarla seyretmiş ve halk sağlığı açısından kalıcı bir tehdit olma özelliğini her zaman sürdürmüştür¹. Tüberküloz (TB) hastalığı, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen günümüzde halen önemini korumaktadır.1980’li yıllardan itibaren, özellikle de Human Immundeficiency Virus (HIV) infeksiyonunun ortaya çıkması ile hem tüberküloz insidansında, hem de dirençli suşlarla oluşan infeksiyon oranlarında artış gözlenmektedir¹.

Gelişmekte olan ülkelerde uygulanan TB tedavi programlarının çoklu ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) prevelansının yüksek olduğu bölgelerde başarısız olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, standart tedavi protokolü yerine her hastaya antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre özgün tedavi düzenlenmesi ve gerektiğinde ikinci seçenek ilaçların kullanılması önerilmektedir².

Hastalığın erken tanısı ve antitüberküloz ilaç duyarlılığının hızlı bir şekilde saptanması ÇİD-TB kökenlerin kontrolünde ve etkili tedavide yaşamsal bir rol oynamaktadır³. ÇİD-TB vakalarının belirlenmesi, bu vakaların tedavisinin sağlanması ve izolasyon önlemlerinin alınması açısından önemlidir.

Bu çalışmada Adana ve çevre illerinden Ocak 2008 – Temmuz 2010 yılları arasında izole edilen *M. tuberculosis* suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, USA) sistemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Tüberküloz Hastalığının Tarihçesi ve Dünya’ da Tüberküloz

Tüberküloz insanlık tarihinin bilinen en eski hastalıklarından biridir. Arkeolojik incelemelerle elde edilen bulgulardan hastalık tarihinin milattan önce (MÖ) 8000 yıllarına dek uzandığı anlaşılmaktadır. Almanya’ da MÖ 3500-3000 yıllarına ait Mısır mumyalarında ve Ürdün’ de bulunan aynı yıllara ait insan iskeletlerinde tüberkülozu andıran lezyonlar saptanmıştır. Eski mısırlılara ait tıbbi kayıtlarda tüberküloz lenfadenitle ilgili bilgiler saptanırken, Çin kaynaklarında da tüberkülozu düşündüren tanımlamalar bulunmaktadır⁴. Hipokrat (MÖ 460-377) hastalık için erime tükenme anlamına gelen “phtisis” deyimini kullanırken, milattan sonra (MS) 2.yüzyılda yaşayan Galen, kendisinden sonra 1000 yıl boyunca değişmeyen tedavi önerilerini ortaya koymuştur. Bu öneriler istirahat, öksürüğün kesilmesi, göğüs yakıları, venden kan alımı, sülük uygulaması, kusturucular, müshiller ve kabartıcı maddelerle ciltte yaralar şeklinde özetlenebilir⁵.

Halk sağlığı ile ilgili vital kayıtların tutulmaya başlandığı 17. yüzyılın başından itibaren İngiltere’de hastalığın artmaya başladığı ve 1667’de Londra’daki tüm ölümlerin %25’inin tüberküloz olduğu bildirilmiştir. 17. ve 18. yüzyılda sanayi devrimi ile birlikte yoksul yetersiz beslenen ve kalabalık barınma koşullarında yaşayan insanların sayısının artması tüberküloz salgınlarının artmasına neden olmuştur. Bu durum hastalığın İngiltere’den tüm batı Avrupa ülkelerine yayılmasına yol açmıştır. Batı Avrupalılar tüm dünyaya yayıldıkça salgını da beraberinde taşımışlardır^{5,6}.

Galen’den sonra tüberküloz tedavisinde ilk farklı yaklaşım, H. Brehmer tarafından 1854’ de Almanya’da ilk sanatoryumun açılması ile gerçekleşmiştir. Kısa bir süre sonra bu uygulama tüm Avrupa ülkelerinde yaygınlaşmıştır⁷.

Tüberküloz tarihinin dönüm noktası, Robert Koch’un 24 Mart 1882 ‘de tüberkülozun *M.tuberculosis* tarafından oluşturulan bir infeksiyon hastalığı olduğunu kanıtlamasıdır⁵. 1890 yılında R. Koch tarafından geliştirilen “old tuberkülün”

kullanılarak tüberküloz infeksiyonunun varlığı saptanmaya başlanmıştır. 1921 'de Fransa' da Calmette ve Guerin ilk tüberküloz aşısını geliştirmiş, 1930'lu yıllardan sonra ise F.Seibert tarafından old tüberkülinin saflaştırılmasıyla elde edilen saflaştırılmış protein türevi (PPD) tüberküloz infeksiyonunun varlığını saptamada kullanılmaya başlamıştır. Aşının tüm dünyada yaygın bir şekilde kullanıma girmesi ise 2. Dünya savaşından sonra olmuştur⁷.

Tüberküloz tarihinin en önemli dönemeçlerinden biri de 1940' ların ortasında *M.tuberculosis'* e karşı etkili bir ilacın bulunmasıdır. 1944'te S.Waksman'ın streptomisin(SM)'i, 1946'da J.Lehmann'ın Pyrazinamid (PZA)'i buluşu, tüberküloz tedavisinde yeni bi dönem başlatmıştır. Tek başına kullanılan tüberküloz ilaçlarına karşı bir ay gibi kısa bir süre içinde direnç gelişimi başlangıçta büyük bir hayal kırıklığına sebep olmuş ancak 1952'de Robitzek ve Selikof tarafından izoniyazid(INH)'in bulunması ile 1950'li yılların ortasından itibaren kombine tedavi ile tüberküloz 18-24 ayda tam olarak tedavi edilebilir bir hastalık haline gelmiştir. Daha sonra yeni ilaç kombinasyonlarının uygulanması tedavi süresini kısaltmış ve tüberküloz 6 ayda tedavi edilebilir hale gelmiştir^{7,8}.

Gelişmiş batı ülkelerinde 1970'li yıllara gelindiğinde tüberküloz sorununun bitmekte olduğu, yakında hastalığın eradikasyonunun gerçekleşeceği bekleniyordu. Fakat 1985'den itibaren bu ülkelerde tüberküloz insidansının yıllar sonra ilk kez artmaya başladığı görülmüştür⁷.

Gelişmekte olan ülkelerde ise tüberkülozun 1950'lerden önceki durumu hakkında sağlıklı veriler bulunmamaktadır. Bu ülkelerde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilen, erken tanı, tedavi ve aşılamaı içeren tüberküloz kontrol programları 1960'dan sonra uygulanmaya başlanmış fakat, 1990'lara gelindiğinde bu ülkelerde uygulanan kontrol programları bu ülkelerin tüberküloz sorununun çözümünde yeterince etkili olmadığı görülmüştür⁹.

Etkenin 1882 yılında bulunması, 1921 yılında aşısının geliştirilmesi ve 1950'li yıllardan bu yana etkili bir şekilde tedavi edilebiliyor olmasına rağmen, tüberküloz, tüm dünyada özellikle de yoksul ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olarak varlığını sürdürmektedir¹⁰.

Tüberküloz, 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren kontrol altına alınmaya başlanmış, ancak özellikle de HIV infeksiyonunun ortaya çıkması ve HIV ile infekte

hasta sayısının giderek çoğalması ile dünya genelinde TB hastalığının yeniden artış gösterdiği izlenmektedir. Bunun yanı sıra, uygun olmayan TB kontrol programları ve buna bağlı olarak bakterinin artan ilaç direnci, nüfus artışı ve sanayileşmiş ülkelere olan göçler TB ile infekte hasta sayısının artışına katkıda bulunmuştur¹.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün küresel TB kontrolü 2005 yılı raporunda, 2003 yılında yeni hasta sayısının 8,8 milyona (insidans: 140/100000) ulaştığı ve bunların 3,9 milyonunun (insidans: 62/100000) yayma pozitif olduğu belirtilmektedir. Yayma pozitif olan hastaların 674000'nin (insidans: 11/100000) HIV taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. 2005 yılı itibarı ile dünyadaki toplam hasta sayısının 15,4 milyon (insidans: 245/100000) olduğu, bu hastaların 1,7 milyonunun (insidans: 28/100000) HIV taşıyıcısı olduğu bildirilmektedir¹. Dünyada TB hastalarının % 80'inin bulunduğu ülkeler, 'yüksek olgu yükü olan ülkeler' olarak adlandırılmaktadır. Hindistan, Çin, Endonezya, Nijerya, ve Bangladeş en çok hastanın bulunduğu beş ülkedir. Sahra Güney Afrika, Güney Doğu Asya ve eski Sovyetler Birliği'nde AIDS ve tüberküloz birlikteliği büyük sorun oluşturmaktadır¹. DSÖ' nün 2006 yılında yayınladığı raporda ise, yılda yaklaşık 2 milyon ve günde 5000 insanın TB'a bağlı olarak öldüğü belirtilmektedir. 2015 yılına kadar hasta sayısını 50 milyona ulaşacağı, bunların 3 milyonunun HIV enfeksiyonu ile birlikte olacağı ve bunların 800000 kadarının ÇİD-TB olgusu olacağı tahmin edilmektedir.

DSÖ, Doğrudan Gözetimli Tedavi Strateji'sine (Directly Observed Treatment Strategy: DOTS) dayandırılarak oluşturduğu takip ve tedavi programı ile yaklaşık 14 milyon vakanın kurtarılmasını planlamaktadır¹¹.

2.2 Türkiye'de Tüberküloz

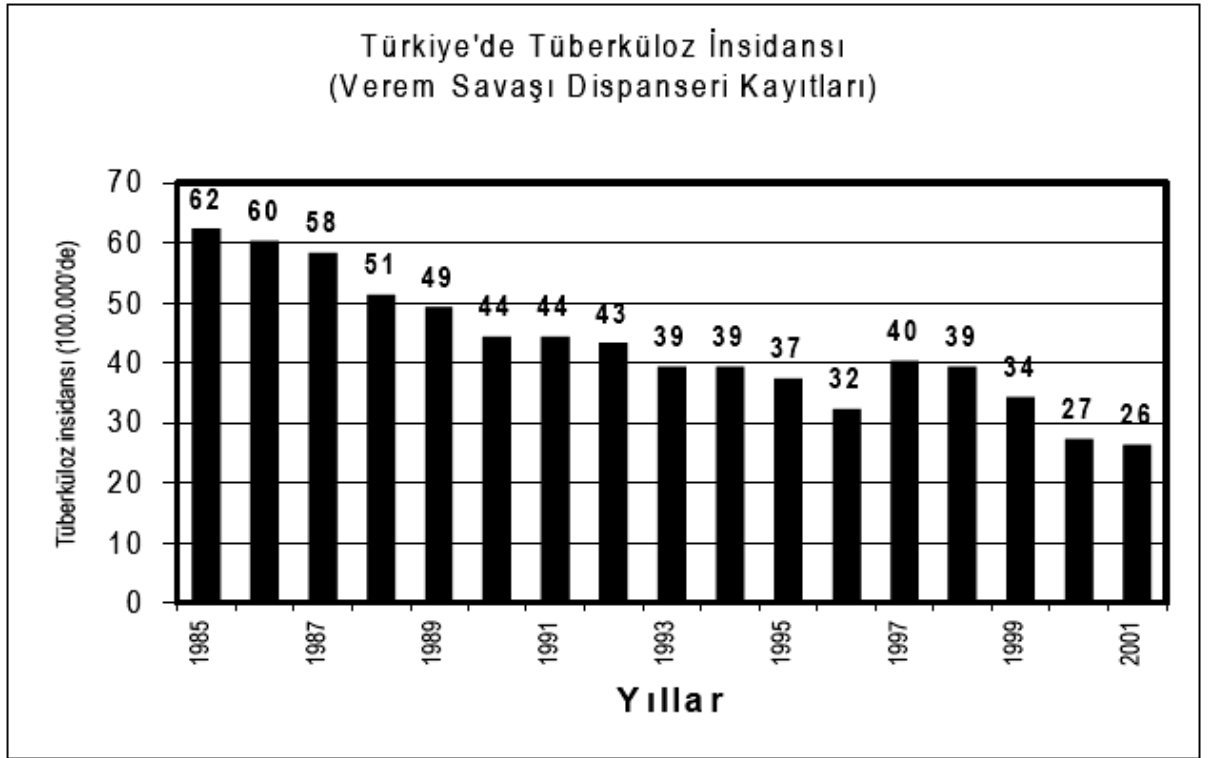
Ülkemizde TB' un durumu ile ilgili temel veriler yetersizdir. Ülke genelini yansıtan Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı'nın (VSDB) sunduğu verilerde eksiklikler bulunmaktadır. Aylık raporlarda dispanserlerde tedavi edilen hastaların cinsiyet dağılımı olmadığından ve yaş dağılımında 20 yıllık dilimler kullanılmış olduğundan ülkemiz verileri, Avrupa Sürveyans Çalışması ve DSÖ raporlarında yer almamaktadır¹². Ülkemizdeki verilerin yetersiz olması nedeniyle, TB ile infekte nüfus oranının, yani enfeksiyon havuzunun büyük olduğu tahmin edilebilmektedir.

İnfeksiyon havuzu konusunda 1953-1959 yılları ve 1980-1982 yıllarının kapsayan iki döneme ilişkin veriler mevcuttur (Tablo 2.1)¹². Tablo 2.1’ de görüldüğü gibi 1953-1959 yılları arasında nüfusun %56’sı ve 1980-1982 yılları arasında nüfusun %25’inin infekte olduğu görülmektedir. Ancak 1982 yılından sonra ülkemizde prevalans çalışması yapılmamıştır. Bacille Calmette Guerin (BCG) aşısının rutin uygulanması nedeniyle ülkemizde infeksiyon riski hesaplanamamaktadır.

Tablo 2.1.Türkiye’de 1953-1959 ve 1980-1982 yıllarındaki tüberküloz infeksiyon havuzu¹².

	1953-1959	1980-1982
Nüfus	26.735.000	46.312.000
BCG’li sayı (%)	6.724.000 (%25)	29.640.000 (%64)
BCG’ siz PPD (-) sayı (%)	5.079.000 (%19)	5.094.00 (% 11)
BCG’siz PPD (+) sayı (%)	14.791.000 (%56)	11.578.000(%25)

Ülkemizin TB insidansı açısından başarılı kontrol programı uygulamış ülkeler ile, başarısız programlar uygulamış ülkeler arasında bir konumda olduğu görülmektedir¹². T.C. Sağlık Bakanlığı VSDB verilerine göre hazırlanan DSÖ 1999 raporlarında yer alan bilgilere göre Türkiye’nin nüfusu 62.774.000, yeni tanı konulan hasta sayısı 20.778 ve TB insidansı 33.1 / 100000’dir. 2002 yılı raporunda ülkemizin nüfusu 66.668.000, yeni tanı konulan hasta sayısı 18.038 ve TB insidansı 33.1/ 100000 olarak bildirilmiştir¹³. VSD kaydı olmayan ve başka sağlık kuruluşlarında tedavi gören hastaların sayısı konusunda güvenilir veriler olmadığından, bu rakamların Türkiye’deki tüm hastaları içermediği bilinmektedir. Gerçek verilerin daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir¹². VSD’leri verilerine göre Türkiye’de 1985-2001 yılları arasında TB insidansı Şekil 2.1’de gösterilmiştir. 1985 yılından sonra TB insidasınında bir azalma olduğu görülmektedir. 1985’de ülkemizde TB insidansı 62/100000 iken, 2001 yılında 26.0/100.000’ne gerilemiştir³.



Şekil 2.1. Türkiye’de 1985-2001 yılları arasında tüberküloz insidansı ³

Ülkemizde TB hastalığının insidansı bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Tablo 2.2.’de 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgelere göre TB insidansı görülmektedir. En yüksek TB insidansı Marmara Bölgesi’nde, en düşük TB insidansı ise İç Anadolu Bölgesi’nde olduğu dikkati çekmektedir. Marmara ve Ege Bölgesindeki yüksek vaka oranları, bu bölgelerin, düşük gelirli bölgelerden çok fazla göç alması ile açıklanmaktadır ¹⁴.

Tablo 2.2. 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgelere göre TB insidansı(100.000’de) ¹⁴.

BÖLGELER	1985	1990	1995	1997	1998	1999
Marmara	100.7	77.6	47.1	46.9	46.8	40.9
Ege	66.8	44.7	34.5	32.3	31.9	29.8
GüneyDoğu Anadolu	63.8	53.9	41.8	37.7	41.8	37.1
Karadeniz	72.9	54.1	36.0	35.5	35.3	30.6
Akdeniz	56.3	35.5	28.3	26.0	23.4	20.5
İç Anadolu	42.4	27.6	20.1	18.7	17.5	16.6
Doğu Anadolu	44.1	33.1	26.7	24.1	21.6	22.9
Toplam	64.8	47.4	34.6	33.0	32.5	29.3

Sağlık Bakanlığı’nın yayınlarına göre, 2007’de bölgelere göre insidans ise,(100.000);

- Karadeniz Bölgesinde 32
- Marmara Bölgesinde 44.8
- Ege Bölgesinde 23
- İç Anadolu Bölgesinde 15
- Doğu Anadolu Bölgesinde 19.4
- Güneydoğu Anadolu Bölgesinde 22,1
- Akdeniz Bölgesinde 17.8 ve

Türkiye genelinde yüz binde 27.9 olarak hesaplanmıştır¹⁶.

2.3.Adana’ da Tüberküloz

İlimizde 2002-2005 yılları arasında TB insidansı tablo 2.3 de gösterilmiştir. Bölgemizdeki TB vaka oranlarının diğer bölgelere oranla düşük olduğu görülmüştür. Bu durumun, bölgenin sosyo-ekonomik olarak orta düzeyde gelişmiş ve kısmi olarak endüstriyelleşmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir¹⁷.

Tablo 2.3. Adana 2002-2005 tüberküloz hastalarının kayıt altına alınan verileri^{18,20}.

Yıllar	Yeni Hasta	Toplam hasta	Ölüm Sayısı	Tedavi edilen Hasta sayısı
2002	504	639	15	582
2003	509	585	12	488
2004	488	560	14	472
2005	500	547	11	490

Adana Verem Savaş Dispanseri (AVSD) verilerine göre ilimizde TB insidansı 2002 yılında toplam 639, 2003 yılında 585, 2004 yılında 560 ve 2005 yılında 547 olarak belirlenmiştir.

Tüberküloz hastalığında her yıl yeni olgunun eklendiği göz önüne alınırsa tüberküloz basili ile insanoğlu arasında binlerce yıldan beri süregelen ebedi savaşı kazanmada tarafların hiçbirinin belirli bir üstünlük göstermediği ortaya çıkmaktadır. Çünkü sayısal olarak bakıldığında insanlık tarihinin hiçbir döneminde günümüzdeki kadar tüberkülozlu hasta bulunmamıştır^{18,20}.

2.4. MİKOBAKTERİLER

Mikobakteriler, Mycobacteriaceae familyasına bağlı tek genus olan Mycobacteriumlar içinde yer almaktadır. Yüksek oranda guanin ve sitozin (G+C) (%62-70) içermeleri ile mikolik asit içeren diğer bakterilere, Nocardia (%60-69), Rhodococcus (%59-69), ve Corynebacterium'lara (%51-59) benzerler²³.

2.4.1. Mikobakterilerin genel özellikleri

Mikobakteriler silindir şeklinde, uçları yuvarlak, 0,3-0,6 µm en ve 1-4µm boyunda, düz veya hafif kıvrık, ince bir basildir. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdür. Hücre duvar yapısının büyük bölümünü oluşturan lipidlerin hidrofobik özelliklerinden dolayı bakteriyolojik boyalarla zor boyanırlar. Yeni lezyonlardan ve genç kültürlerden Gram ile hazırlanan preparatlardan bazen çok zayıf ve düzensiz olarak boyanabilirse de Gram boyanma özelliklerinden bahsedilmez. Mikobakteriler aside alkole dirençlidirler, bakterinin aside dirençli boyanma özelliği, fiziki bütünlüğü yanında hücre duvarındaki mikolik asit ve lipid bariyer sisteme bağlıdır. Bazik fuksin boyası ile bir kez

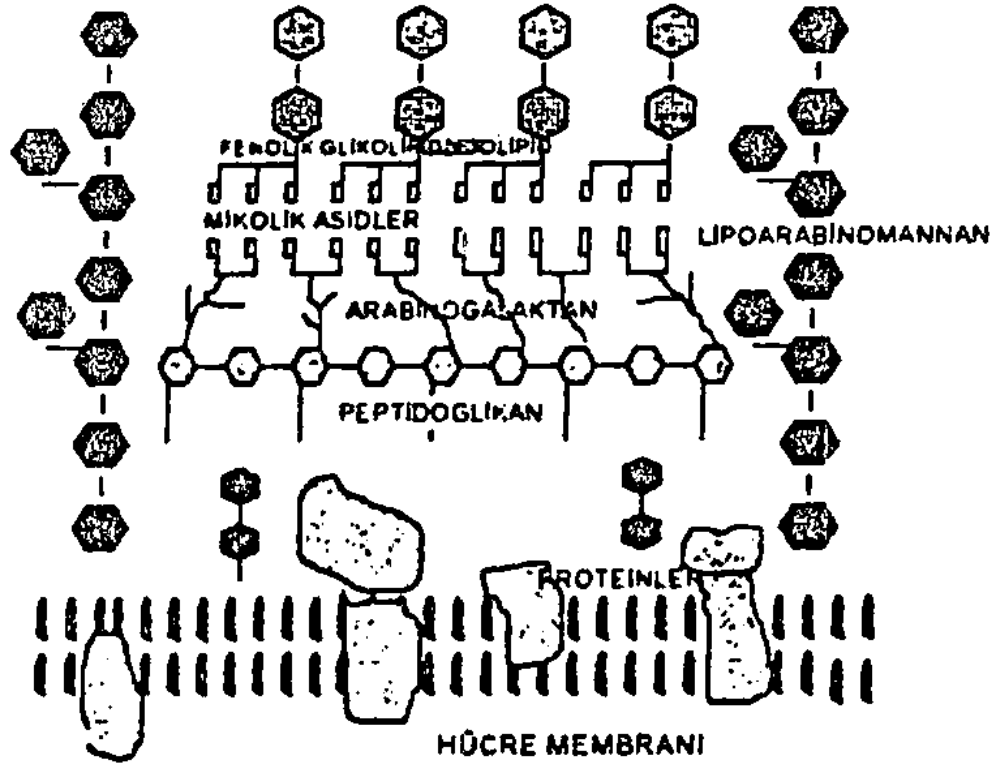
boyandıklarında, %3 asit-alkolün dekolorizasyonuna direnç gösterirler. Bu kuvvetli aside dirençlilik özellikleri tüm bakteriyel hastalıkların laboratuvar tanısında kullanılan en önemli özellikleridir^{22,23,24}.

2.4.1.1.Mikobakterilerin hücre yapısı

Mikobakteriler sitoplazma, sitoplazmik zar ve bunları çevreleyen lipidlerce zengin bir hücre duvarından oluşmuşlardır. Sitoplazmada çekirdek zarı ile çevrili olmayan tek bir kromozom bulunur. Bu nedenle prokaryoturlar. Bazı mikobakterilerin sitoplazmaların da diğer bakterilerde de sık olarak görülen, plasmid ve episom olarak adlandırılan küçük deoksiribonükleik asit(DNA) halkaları bulunur. Elektron sitokimyasal çalışmalarında hücre duvarı kalınlığı karbonhidratlar, fosfatidil inazitol, mannozidler ve lipoarabinomannan moleküllerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Sitoplazmik zarın lipid yapısı konusunda bilgiler azdır. Kardiolipin, fosfatidiletanolamin ve monofosfoinositollerin bulunduğu gösterilmiştir^{24,25}.

Hücre duvar yapısının ana iskeletini peptidoglikan oluşturmaktadır(Şekil 2.2). Bu yapıya arabinogalakthan molekülleri fosfodiester bağları ile bağlanmakta ucunda da mikolik asitler yer almaktadır. Mikolik asitler ise değişik lipid, glikolipid ve bazı proteinler ile sonlanmaktadır.

Peptidoglikan tabaka diğer bakterilerde olduğu gibi, kısa peptid zincirleri ile çapraz bağlı, uzun polisakkarit zincirleri içerir. Burada bulunan polisakkarit zincirleri, N-asetil glikozamin ve N-glikolil muramik asiden oluşmuştur. Glikolil yapısı nedeniyle bakteri lizozime dirençlidir.



Şekil 2.2. Mikobakterilerin hücre duvar yapısının şematik görünümü

Peptidoglikan tabakaya bitişik olan tabaka, arabinogalaktan tabakasıdır. Hücre duvar kitlesinin %35'ini oluşturur. Arabinogalaktan arabinoz ve galaktozdan oluşan dallı bir polisakkarittir. Koruyucu bariyer görevi görür. Kuvvetli hidrofobiktir. Bu özelliği nedeniyle suda eriyen boyalar bakteriye penetre olmaz. Kuvvetli immunojenidir. Arabinogalaktanların yan zincirlerindeki uç arabinoz birimlerine mikolik asit diye adlandırılan bir grup zincirli yağ asitleri kovalent bağlarla bağlanırlar. Bu asitler hücre duvarının kalınlığından ve büyük oranda hücrenin aside dirençli oluşundan sorumludur. En dış tabaka bir grup heterojen peptidoglikolipidler veya fenolik glikolipidlerden oluşmuştur ve mikozidler olarak adlandırılır^{24,25}.

2.4.1.1.1.Lipidler: Mikobakterilerin pek çok özellikli komponentleri arasında, lipidlerin diğer bakteriler ile kıyaslandığında ayrı bir yeri olduğu görülür. Başlıca lipidleri; mikolik asit, balmumu (Waxes D), fosfolipidler, trehalozlar (kord faktörü, sülfolipidler, mikolipenik asit), glikolipidler, lipoglikan ve lipoproteinlerdir.

2.4.1.1.1.1.Balmumu (Waxes D): Mikobakteriyel hücre duvarında bulunan bir peptidoglikolipiddir. Mikolik asit moleküllerinin ucunda yer alır. Wax D, muramil dipeptid bileşikleri içinde adjuvan etki göstermektedir. Aynı zamanda interferon yapımını da indüklediği gösterilmiştir. BCG aşısının belli tümörlerde gerileme gösteren immünoterapotik etki rolü vardır^{22,25}.

2.4.1.1.1.2.Kord faktörü (6,6'-dimikolat- α -D-trehaloz): Middlebrook (1947), virulan tüberküloz basillerinin kord oluşturduğunu gözlemiş, bu yapının virulansla ilişkili olduğunu düşünmüştür. Adjuvan aktiviteyi de içeren, çok sayıda özelliğe sahiptir. Alternatif kompleman yolunu aktive eder. Polimorfonükleer lökosit göçünü önler. Granulom oluşumunda rol oynar. Antitümör özelliği vardır. Konak hücre mitokondri membranına tutunarak solunum ve oksidatif fosforilasyonda hasara yol açar. Farelerde karakteristik bir toksisiteye sahiptir. Bu bilgilere rağmen kord faktörünün patogeneziindeki rolü tam olarak bilinmemektedir^{22,24,25}.

2.4.1.1.1.3.Fosfolipidler: Fosfatidik asit temel yapısındaki fosfodiasilgliserollerdir. Sitoplazmik membrana bağlıdır. Peptidoglikan ve hücre duvar polisakkaridinin sentezinde rol oynar²².

2.4.1.1.1.4.Sülfatidler: Basilin virulansından esas sorumlu neden olarak değerlendirilmiştir. Fagozom aktivasyonunu inhibe ederek, bakterinin intrasellüler yaşamını sürdürmesini sağlar. Ayrıca kord faktör toksisitesini de artırmaktadır^{26,27}.

2.4.1.1.1.5.Mikolipenik asit: Sadece virulan suşlar tarafından oluşturulur. Lökosit migrasyonunu önemli oranda azaltır²⁴.

2.4.1.1.1.6.Lipoglikanlar: Lipid taşıyıcısı olarak işlev görerek uzun zincirli yağ asitlerinin sentezine olanak sağlarlar. Lipooligosakkaritler serovarların dominant epitoplarını oluşturur ve önemli yüzey antijenleridir. Fenoglikolipidler tür ve antijenik özelliğini verir²⁴.

2.4.1.1.2.Proteinler:Mikobakterilerin, hücre duvarında proteinler de yer almaktadır. Bunların başlıca işlevleri; hücre bölünmesinde rol alan enzimler ve duvar polimerlerinin sentezinde yer almak, atıkların hücre duvarından geçmesinde rol oynamak, porları oluşturmak ve antijenik özellik sağlamaktır. *M.tuberculosis*'de bulunan proteinler fiziksel, kimyasal özellikleri, fonksiyonları ve lokalizasyonlarına göre gruplandırılabilir. Isı şok proteinleri, lipoproteinler, sitoplazmik membrana bağlı ve salgılanan proteinler başlıcalarıdır²⁴.

2.4.1.1.3.Polisakkaritler (arabinogalaktan ve arabinomannan):Duyarlı deney hayvanlarında anafilaktik tipte aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olurlar. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olurlar. Konak hücre makrofajlarından TNF- α salınımını artırır. Nötrofillerin damardan dokuya geçmesini ve yangısal tepkimenin oluşmasını sağlarlar²².

2.4.1.2.Antijenik Yapı

M.tuberculosis'in antijenik yapısı, bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapısında yer alan protein, lipid ve polisakaridlerin tümü immunojeniktir. Bu komponentlerin, immunosupresyon, makrofaj aktivasyonu, granülom oluşturma, toksisite alternatif yoldan kompleman aktivasyonu gibi bir çok değişik etkileri vardır. Proteinler anahtar immunojen olarak kabul edilirler.

2.4.1.2.1.Old tuberkülin (OT): İlk kez Koch tarafından elde edilen OT'nin infekte bireylerde, basille karşılaşmamış olanlara nazaran daha çabuk ve daha belirgin reaksiyon oluşturduğu görülmüş ve tüberküloz infeksiyonunun tanısında intradermal cilt testi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bileşimindeki proteinler, karbonhidratlar ve besiyerine ait maddeler nedeniyle özgül olmayan reaksiyonlara neden olur.

2.4.1.2.2.Safılaştırılmış protein derivesi(Purified Protein Derivative) OT'nin kollojen membranlardan süzülmesi ve amonyum sülfatla çöktürülmesi sonucu elde edilmiş, daha saf bir üründür. Bileşimindeki proteinler daha küçük olduğundan ve daha az karbonhidrat içerdiğinden özgül olmayan reaksiyonlara daha az rastlanır. Dünya sağlık örgütü; 0.1 ml solüsyonda 5 tuberkülin ünitesi(TU) dozunda PPD veya 0,0001

mg standart tüberkülin(PPD-S) bulunmasını önermektedir. Tam olarak saflaştırılmamış olması ve diğer mikobakteri türleri ile oluşan infeksiyonlarda çapraz reaksiyonlara sık rastlanması gibi olumsuzluklara rağmen PPD, immünoagnostik önemini hala korumaktadır.

2.4.1.2.3.Saflaştırılmış antijenler: Son yıllarda daha saf antijenlerin elde edilebilmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucu, sitoplazmik orjinli olduğu sanılan antijen 5 ve antijen 6 elde edilmiştir. Saflaştırılmış mikobakteriyel antijenler içinde en ilgi çeken 65kD antijenidir. Isı şok proteinlerine çok benzer ve yüksek oranda immunojeniktir. Konak dokularda salındığı zaman otoimmün reaksiyonlara ve kazeifikasyon nekrozuna yol açtığı gösterilmiştir. Bu antijene karşı oluşmuş antikorlar ile duyarlı T hücrelerinin varlığı gösterilmiştir²².

2.4.2.Patogenez

Tüberkülozda en önemli bulaş yolu inhalasyondur. Bulaş sonrası infeksiyon oluşup oluşmaması veya hastalık meydana gelip gelmemesi konağın direnci ile bakteriyel virulans arasındaki dengeye bağlıdır. Aktif tüberkülozlu kişiler çevreye, içinde değişik sayılarda basil bulunan damlacık saçarlar. Sağlıklı kişiler tarafından solunan bu damlacıkların büyük olanları burun ve bronş yüzeyindeki siller tarafından tutulurken, içinde 1-3 basil bulunan küçük partiküller kolaylıkla alveollere ulaşır ve alveoler makrofajlarca fagosite edilirler.

Mikobakteri taşıyan fagozom çoğunlukla lizozom ile birleşmez ve fagozomun pH'sı, proton-ATPaz veziküllerin dışlanması nedeniyle daha fazla asidifiye olmaksızın pH'ı 6.5 dolayında kalır. Bu mikobakterinin yaşaması için uygun pH'dır. Ayrıca mikobakterinin duvar yapısında yer alan komponentler, bakterinin, kendisini konağın immün saldırısına karşı korumasında önemli rol oynamaktadır²⁸. Makrofaj aktivitesi yetersiz kalırsa basil, hücre içinde çoğalmaya başlar. İkiye bölünme süresi uzun olduğundan makrofaj içinde yavaş bir şekilde çoğalan *M.tuberculosis*, akciğerde vazodilatasyon, ödem, polimorf nüveli lökosit ve fibrinöz eksuda ile karakterize erken konak cevabına neden olur.

Konakta, basillerin belli bir sayıya ulaşması ve hücreyel immün cevabın ortaya çıkmasına kadar 3-8 haftalık bir süre geçer. Hücreyel immün cevap ile birlikte aktive

olan T-lenfositler ve makrofajlar basilleri çevreleyerek, nonspesifik konak cevabının bir göstergesi olan granülatöz inflamasyon gelişimine yol açarlar. CD4 T hücrelerinden salınan IFN γ ile lenfokinler, makrofaj ve monositleri aktive eder. Monositlerden köken alan doku makrofajları epiteloid hücrelere, bunlarda birleşerek çok nükleuslu dev hücrelere dönüşür. Aktive makrofajlar fagozom içindeki basilleri süperoksit anyon, radikal hidroksil ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller ile öldürür. Bakteri endozomal kompartımanda işlenerek MHC klas II molekülleri ile birleştikten sonra makrofajın yüzeyine yapışır²⁹. Mikobakteriyel hücre sel cevapta dominant olan T lenfositlerinin %90'ı α ve β zincirinden oluşan reseptörleri ile antijeni tanıyarak aktif hale geçer. Makrofajlar tarafından fagosite edilen, ancak öldürülemeyen bakteriler MHC klas I molekülleri ile birleşip CD8 T lenfositlerin'e sunulur. Ancak tüberküloz basilleri ile meydana gelen infeksiyonlarda aktivite CD8 T hücrelerinin rolü, henüz kesin olarak anlaşılamamıştır^{22,28}.

Hücre sel immünite ve gecikmiş tip hipersensitivite T hücreleri ile oluşur. Her ikisinde de aynı immünolojik mekanizma söz konusudur. Hücre sel immünite infeksiyon ajanını öldürmeyle ilgilidir. Gecikmiş tip hipersensitivite konak organizmanın infeksiyona verdiği immünolojik bir cevaptır. Gecikmiş tip hipersensitivite oluştuğunda lenfositlerden açığa çıkan lenfokinler sadece basilleri öldürmekle kalmaz granülomun merkezinde bulunan nekrotik dokularda pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirip, kan damarlarında iskemi ve tromboza neden olur. Sonuçta doku yıkımı meydana gelir. Lezyon bölgesindeki aktive makrofajlara ait proteinaz, lipaz endonükleaz gibi enzimler granülomun ortasında bulunan kazeomu eritir ve likefaksiyona yol açar. Likefiye kazeomun bronşa açılması ile kavitasyon oluşur²².

Tüberküloz primer ya da sekonder olarak iki şekilde ortaya çıkar:

Primer tüberküloz, bireyin tüberküloz bakterileriyle ilk defa infekte olmasıdır. Solunum yoluyla alınan tüberküloz basilleri genellikle alt loblarda ve plevra altında yerleşirler. İlk yerleşim yerinde toplanmakta olan makrofajlar epiteloid hücrelere dönüşür. Bunlar birleşerek langhans tipi dev hücreleri oluştururlar. Etrafları lenfositlerle çevrilir ve granülom meydana gelir. Bu yapıya Ghon odağı denir. Bölgesel lenf bezlerine yayılan basiller burada da aynı granülatöz olaya neden olur. Akciğerlerdeki primer periferik lezyon ve beraberinde büyümüş lenf bezlerine "Ghon kompleksi veya primer kompleks" denir. Genellikle asemptomatiktir. Bölgesel lenf bezlerindeki basiller

kan yoluyla vücuda yayılabilir ve menenjit, miliyer tüberküloz gibi hastalığın ağır şekilleri ortaya çıkabilir^{20,30}.

Sekonder tüberküloz(reinfeksiyon tüberkülozu, erişkin tüberküloz), önceden primer infeksiyon geçirmiş bir kişinin, reaktif olmasıyla görülür. Çoğunlukla erişkinde görülmesi, başlangıç lezyonlarının apikal zonlara yerleşmesi, bronş yolu ile yayılması, hiler lenfadenopatinin nadir görülmesi ve spontan iyileşmenin nadir olması ile primer tüberkülozdan ayrılır.

Sekonder tüberküloz 3 şekilde ortaya çıkar:

1-Endojen reinfeksiyon:Primer infeksiyon sırasında lenfhematojen yolla akciğerin apikal-subapikal bölgelerine yerleşen(Simon odağı) ve çoğalmadan burada canlılığını sürdüren basillerin(dorman halde) hayatın herhangi bir döneminde hücresel immün yanıtta meydana gelen supresyon nedeniyle aktif hale geçmesi ile oluşur.

2-Primer infeksiyonun ilerlemesi:Primer tüberküloz iyileşmez ve ilerlemeye devam ederse erişkin tipi tüberküloza dönüşebilir. Nadir bir durumdur. Özellikle ergenlik çağından sonra primer tüberküloz olanlarda görülür.

3-Eksojen reinfeksiyon:Primer infeksiyon geçirmiş bir kişinin dışardan tekrar tüberküloz bakterilerini almasıyla oluşur^{22,24,30}.

Tüberküloz hastalığında başlıca iki tipte lezyon oluşur:

1-Eksüdatif tip: Ödem sıvısı, polimorf nüveli lökositler ve daha sonra tüberküloz bakterilerinin çevresinde monositlerle akut iltihabi reaksiyonu içerir. Bu tip, özellikle akciğer dokusun da görülür. Tüm eksuda absorbe olduğu için lezyon iyileşebilir, doku nekrozu oluşabilir veya prodüktif lezyon gelişebilir. Eksüdatif faz boyunca tüberkülin deri testi pozitifdir.

2-Prodüktif tip: Geliştiğinde tüberküloz bakterilerini içeren multinükleer dev hücreler veya Langhans hücrelerinden oluşan geniş bir merkez bölge, genellikle radyal olarak yerleşmiş epiteloid hücrelerden oluşmuş bir merkez bölge, fibroblastlar, lenfositler ve monositlerden oluşmuş periferik bölgeden meydana gelen granüloma oluşur.

Lezyonun bulunduğu yerde periferiyal fibröz doku gelişerek merkez bölgede kazeöz nekroz oluşur. Bu lezyonlara tüberkül denir. Kazeöz tüberkül bir bronş içine doğru gelişirse, içeriğini buraya boşaltır ve kavite oluşur, buna kavern adı verilir. Daha sonra kalsifikasyon ve fibrinleşme ile iyileşebilir^{31,32}.

2.5. *Mycobacterium tuberculosis*’ te Tedavi ve Direnç

Antitüberküloz tedavide dönüm noktası 1944’te SM’nin Selman Waksman tarafından bulunması ile yaşanmış ve bu ilacın keşfi araştırmacılarına Nobel ödülü kazandırmıştır. Ancak 1946 yılının ilk dönemlerinde bu ilaca karşı dirençli ilk mutantlar rapor edilmiştir^{33,34}. Üç yıl sonra zayıf etkili bir tüberkülostatik olan PAS’ın tedaviye eklenmesi ile SM direncinin en çok %9’a kadar çıkabildiği gösterilince TB’da kombine tedavinin önemi anlaşılmıştır. Ancak PAS alan hastaların yarısından fazlasında görülen gastrointestinal yan etkiler önemli bir sorun oluşturmuştur, hastaların yaklaşık 1/3’ünde ilaç kesilmek zorunda kalınmıştır³³. 1950’nin başlarında INH ve izleyen yıllarda PAS, tiasetazon, etionamid, protionamid ve EMB bulunmuştur. Bu keşifler sanatoryumların sonunu getirmiş ve tedaviler ayaktan yapılmaya başlanmıştır. Türkiye’de de 1970’li yıllardan itibaren aynı süreç yaşanmıştır. Kemoterapideki son devrim 1966 yılında RIF’in kullanıma girmesi ile olmuştur. Bu keşif şu anda da uygulanmakta olan kısa süreli tedavinin yolunu açmıştır³³.

Günümüzde TB tedavisinde birinci seçenek ilaçlar İzonyazid(INH), Rifampisin(RIF), Pyrazinamid(PZA), Ethambutol(EMB) ve Streptomisin(SM)’dir. EMB dışındaki birinci seçenek ilaçlar bakterisittir. Sikloserin etionamid, tiasetazon, kanamisin, kapreomisin ve PAS(p-aminosalisilik asit) gibi ilaçlar ise ikinci seçenek ilaçlardır. Bu ilaçlar birinci seçenek ilaçlara göre daha toksik ve daha az tolere edilebilen ilaçlardır. Hastanelerde ve deneyimli hekimlerce kullanılmaları uygundur. Ayrıca TB tedavisinde amikasin, rifabutin, klofazimin, β -laktamaz inhibitörleri, kinolonlar gibi kullanımı deneme aşamasında olan ilaçlar mevcuttur³³.

TB tedavisinde birinci seçenek ilaçlar arasında yer alan SM hücre dışı alkali ortamlarda etkili bir ilaç olup, hücre içine ve inflamasyon olmadıkça beyin omurilik sıvısı(BOS)’na giremez. Hemen hemen tamamı böbrek yoluyla atıldığından böbrek yetmezliğine sebep olur ve böbreklerde birikir, toksisitesi artar. En önemli yan etkileri ototoksitesidir. Sekizinci kranial siniri etkileyerek bulantı, kusma, baş dönmesi ve işitme kaybına yol açabilir. İşitme kaybının verdiği hasar eğer yoğunsa SM kesildiğinde kalıcı olabilir³³.

Günümüzde *M. tuberculosis*’e karşı gelişen ilaç direnci “Dirençli Mutant basiller ve Antibiyotik Etkisinde Seleksiyon” kuramına göre açıklanmaktadır. Bu kurama göre

ilaçlar ile hiç karşılaşmamış bir TB odağında basiller hızla çoğalırken, genlerinde meydana gelen değişiklikler sonucu ilaca karşı dirençli olurlar. Direncin ortaya çıkmasını sağlayan tek mekanizma nokta mutasyon sonucu kromozomal DNA'nın değişikliğe uğramasıdır ve bu olasılık antitüberküloz ilaçlar için 10^{-5} (SM için) ile 10^{-8} (RIF için) arasında değişir. İki ilaca aynı anda direnç gelişimi olasılığı, bu iki ilaca tek tek direnç gelişimi olasılıklarının çarpımı kadardır. Örneğin INH ve EMB için $10^{-6} \times 10^{-6} = 10^{-12}$ 'dir^{35,36}. Dirençli mutant basiller, çok sayıda basil içeren TB odaklarında bulunurlar ve yalnız bir antitüberküloz ilaca karşı dirençlidirler. Bol sayıda basil içeren bir TB odağı tek bir antitüberküloz ilaç ile karşılaştığında hassas organizmaların inhibe olması ile beraber dirençli mutant basillerin seçici çoğalması sonucunda ilaç direnci gelişir³⁶.

Mikobakterilerde görülen çoklu direnci diğer birçok bakterideki gibi birden çok ilaca direncin aynı anda kazanımıyla değil, birbirinden bağımsız çeşitli genlerde adım adım ortaya çıkan mutasyonların birikimi sonucu gelişmektedir. TB basili ile diğer birçok insan patojeni arasındaki en belirgin fark, direncin mikobakterilere başka bakterilerden veya plazmid gibi hareketli ekzojen elementler aracılığı ile aktarılamamasıdır. İlaçlar uygun kombinasyon, uygun doz ve sürede kullanılmadığı takdirde hassas olan mikobakteriler ölecek, dirençli olanlar lezyona hakim olacak ve ikincil direnç veya kazanılmış direnç gelişecektir. Dirençli bir topluluğun hassasa dönmesi imkansızdır, fakat uygun ilaç kombinasyonları ile bu basiller yok edilebilir³⁶.

TB'da ilaç direnci, *M. tuberculosis*'in tedavi edilemeyen bazı ÇİD-TB suşlarından dolayı, TB kontrol programlarında büyük bir sorun oluşturmaktadır. Bu suşların tüm dünyaya dağılacığı kuşkusundan dolayı ilave kontrol önlemleri, yeni tanı metodları, tedavi için daha iyi ilaçlar ve daha etkili aşılar üstünde önemle durulmaktadır. Bununla birlikte Global Infection Disease Tuberculosis (GİD-TB) suşları da büyük bir problem oluşturmaktadır. Bu suşlar Çoklu İlaç Direncine (ÇİD) ilave olarak, ikinci seçenek ilaçların altı ana sınıfının (aminoglikozidler, polipeptitler, fluorokinolonlar, tioamidler, sikloserin ve PAS) en az üçüne dirençli olarak tanımlanmaktadır³⁷. DSÖ'nün yaptığı tanımlama ise GİD-TB, en az RIF ve INH'a dirençli olan ÇİD-TB'a ilaveten herhangi bir fluorokinolona ve TB tedavisinde kullanılan enjekte edilebilir üç ilaçtan (kapreomisin, kanamisin ve amikasin) en az birine dirençli olması şeklindedir³⁸. GİD-TB hastalığının kontrolünde ve özellikle HIV ile

infekte hastalarda ilaç direncinin dağılımında önemli bir tehlike oluşturmaktadır³⁹. Bu yüzden birinci ve ikinci seçenek antitüberküloz ilaçlara karşı ilaç direncinin hızlı belirlenmesi TB kontrol programlarının önemli bir unsuru haline gelmiştir⁴⁰.1990'lı yıllarda Amerika Birleşik Devletleri(ABD) 'nde hastanelerde ortaya çıkan ve yüksek mortaliteye neden olan ÇİD-TB salgınları hastalığa dikkat çekilmesine neden olmuştur. Dünyada direnç sorununun boyutunu araştırmak üzere DSÖ ve Uluslararası Tüberküloz ve Akciğer Hastalıklarına Karşı Birlik(International Union Against Tuberculosis and Lung Disease-IUATLD) 1994 yılında uluslararası ilaç direnç paterni izleme programı başlatmıştır. Dokuz yıllık sonuçlar üç rapor halinde yayımlanmıştır. 1997 ve 2001 yıllarında yayımlanan ilk iki rapordan çıkarılan temel sonuç, dirençli TB'un her kıtada ve hemen her ülkede bulunduğu ve TB kontrol programı iyi olan ülkelerde direnç sıklığının düşük olduğudur. 2004 yılında yayımlanan üçüncü raporda direnç oranları ve zaman içinde izlenen değişiklikler araştırılmıştır. Bu son raporda çalışma kapsamına alınan 77 bölgeden, 74'ünde ilaç direnci saptanmıştır. İlk iki raporda olduğu gibi ÇİD-TB hemen her bölgede mevcuttur. Yeni olgular içinde ÇİD-TB prevalansı %0 ile(Andora, Kamboçya, İzlanda, Lüksemburg, Malta, Yeni Zelanda, İskoçya, İsviçre) %14,2(Kazakistan ve İsrail) arasında saptanmıştır. ÇİD prevalansı Rusya Federasyonu, Estonya, Kazakistan, Letonya, Litvanya, Umman, Özbekistan, İsrail, Ekvator ve Çin'in bazı bölgelerinde kritik oran olarak belirtilen %6,5'in üzerindedir. Eski olgularda ortalama ÇİD-TB prevalansı %7, en yüksek prevalans Kazakistan(%56,4) ve Umman(%58,3)'da saptanmıştır. Rusya Federasyonu ve Polonya'da zaman içinde ÇİD-TB prevalansında belirgin artış, Hong Kong, Tayland ve A.B.D.'nde belirgin düşüş izlenmiştir. Batı Avrupa'da ÇİD-TB prevalansı %1'den az, Orta Avrupa'da da %1,2'dir.

Tüberküloz insidansı yüksek toplumlarda, prevalans düşük olsa da ÇİD-TB mutlak olgu sayısı yüksektir. Güney Afrika'da tüm yayma pozitif olguların %2,6'sı ÇİD-TB iken, Kazakistan'da her dört yayma pozitif olgudan biri ÇİD-TB'dir. Her iki ülkede bu rakamlar her yıl 3000 ÇİD-TB olgusunu ifade etmektedir. Bu ülkeler dünyada en fazla ÇİD-TB olgusu saptanan ülkelerdir^{41,42,43,44}.

Dünyada 2004 yılında tüm TB olgularının 424203(%4,3) 'ünün ÇİD-TB olduğu tahmin edilmektedir. Bu olguların %62'si Çin, Hindistan ve Rusya Federasyonu'nda bulunmaktadır⁴⁴. Araştırma yapılmamış ülkelerde ÇİD-TB oranları bilinmemektedir.

Ancak ÇİD-TB gelişimine neden olan faktörler göz önüne alınarak bu ülkelerdeki oranlar tahmin edilebilmektedir. Böyle bir çalışmada Türkiye’de 2004 yılında yeni olgu sayısı 19944, yeni olgular arasında olası ÇİD-TB olgu sayısı 563(%2,8); tedavi görmüş olgu sayısı 5.406, önceden tedavi görmüş olgular arasında ÇİD-TB olgu sayısı 512 (%9,5) ve tüm olguların %4,2’sinin ÇİD-TB olduğu tahmin edilmiştir⁴⁴.

2.6. Duyarlılık Testleri

İlaç direncinin hızlı belirlenmesi TB kontrol programlarının önceliklerinden birini oluşturmaktadır ve direncin belirlenmesi hastalarda uygun tedavinin başlatılmasını sağlar. İlaç direncinin belirlenmesi eskiden, antibiyotik varlığında *M.tuberculosis*’in üremesinin tespit edilmesine dayanan konvansiyonel yöntemlerle yapılmaktaydı. Bununla birlikte, bu yöntemlerin bazılarının zahmetli ve sonuçların elde edilmesi için gereken zamanın uzun olmasından dolayı, son yıllarda fenotipik ve genotipik yöntemleri içeren yeni teknolojiler ve yaklaşımlar önerilmektedir. Genotipik yöntemler daha az zaman gereksinimi, organizmanın gelişimine ihtiyaç duymaması, klinik örneklerle doğrudan uygulanabilir olması, düşük biyogüvenlik riski ve otomasyonunun yapılabilir olması gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte ilaç direncinin bütün moleküler mekanizmaları bilinmemektedir. Diğer taraftan fenotipik yöntemlerin uygulaması ve klinik mikobakteriyoloji laboratuvarlarında rutinde kullanılması daha kolaydır⁴⁰.

2.6.1. Klasik Fenotipik Yöntemler

Genelde fenotipik yöntemler, duyarlı ve dirençli suşları birbirinden ayırt etmede *M. tuberculosis*’in antibiyotik varlığında üremesinin engellenmesiyle tayin edilir. Fenotipik yöntemler, genellikle yumurta ve agar bazlı katı besiyerlerinde antibiyotik varlığında *M. tuberculosis*’in kültürüne dayanan yöntemlerdir ve direkt ya da indirekt yöntemlerle yapılabilir. Direkt yöntemde dekontamine ve konsantre edilen klinik örnek antibiyotik içeren ve içermeyen kontrol besiyerlerine ekilirken indirekt yöntemde izole edilen suşun süspansiyonu ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine ekilmektedir⁴⁰. DSÖ/IUATLD, antitüberküloz ilaçlara duyarlılığı belirlemede klasik kültüre dayalı, kabul edilebilir üç yöntem tanımlamıştır⁴⁵.

2.6.1.1. Klasik Duyarlılık Testleri

2.6.1.1.1. Mutlak Konsantrasyon Yöntemi: Bu yöntemde ilaç içeren ve içermeyen besiyerinde iki kat dilüsyonda üreyen test edilen suşun standart inokulumu kullanılır. Bir suşun direnci, üreyen suşların tamamını veya tamamına yakın bir kısmını inhibe eden belirli bir ilacın en düşük konsantrasyonu olarak ifade edilir. İlacın kritik konsantrasyonu her bir laboratuvar tarafından belirlenmelidir. Çalışma 37°C'de 4 hafta inkübasyondan sonra, eğer yeterince üreme yoksa 5-6 hafta sonra; testin yorumu yapılır. Eğer ilaçlı besiyerindeki kolonilerin sayısı 20'den az ise suş duyarlı olarak değerlendirilir^{40, 45,46}.

2.6.1.1.2. Direnç Oran Yöntemi: Bu yöntemde aynı anda çalışılan, test suşunun Minimal İnhibisyon Konsantrasyonunun(MİK) ilaca duyarlı referans suşu olan H37Rv'nin MİK değerine bölünmesi ile değerlendirilir. Böylece direnci bilinmeyen bir suş, standart suş ile değerlendirilir. Test edilen ilacın iki kat dilüsyonunu içeren tüplere test suşu ve standart suşun standardize edilen inokulumları ilave edilerek 4 hafta 37°C'de inkübe edilir. 20 veya daha fazla koloni içeren tüpler pozitif olarak kabul edilir ve 20'nin altındaki koloni sayısı MİK değeri olarak değerlendirilir. Direnç oran değeri 2 veya daha küçük olan izolat duyarlı, 8 veya daha fazla olan izolat dirençli olarak değerlendirilir^{40, 45,46}.

2.6.1.1.3. Proporsiyon Yöntemi: Dünya genelinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Bilinen bir ilaca karşı dirençli mutantların oranlarının tam olarak belirlenmesine izin verir. Kısaca yüz kat sulandırılmış basil dilüsyonları ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerine inoküle edilir. İlaçlı ve ilaçsız besiyerindeki koloniler sayılır ve dirençli mutantların oranı hesaplanır. Test Löwenstein-Jensen(L-J) besiyerinde yapılmış ise 37°C'de 28 günlük inkübasyon sonunda ilk okuma yapılır. Dirençli bakterinin oranı INH, RIF ve PZA için %1'den, diğer ilaçlar için %10'dan daha yüksekse suş dirençli olarak değerlendirilir ve test sonuçlandırılır; aksi taktirde test inkübasyonun 42. gününde, suşun belli bir ilaca karşı duyarlılığını değerlendirmek için tekrar okunur. Eğer test Middlebrook 7H10/11 gibi agar bazlı besiyerinde gerçekleştirilmiş ve %10'luk

CO₂'li atmosferde inkübe edilmiş ise sonuçlar 21 gün sonra ya da eğer suşun dirençli olduğu gözlenirse daha erken değerlendirilir^{40, 45,46}.

2.6.1.2. Hızlı Duyarlılık Testleri

Bu yöntemler ticari otomatize veya yarı otomatize kültür sistemlerinden oluşmaktadır. Bunlar; Radyometrik Kültür Sistemi(BACTEC 460 TB, Becton-Dickinson, Sparks, MD), Floresan Kültür Sistemi(BACTEC Mycobacterium Growth Indicator Tube [MGIT] System 960, Becton-Dickinson, Sparks, MD; BACTEC 9000 MB Becton-Dickinson, Sparks, MD), Kolorimetrik Kültür Sistemi(BacT/Alert 3D, bioMerieux, Durham, NC, USA; TK Kültür Sistemi, Salubris, MA, USA), Gaz Basıncı Değişimini Saptayan Kültür Sistemi(VersaTREK, AccuMed, Chicago, Ill.) dir.

2.6.1.2.1. Radyometrik Kültür Sistemi: BACTEC 460 TB radyometrik metodu ABD'nde Gıda ve İlaç Yönetimi(Food and Drug Administration-FDA) tarafından onaylanmış ve birinci seçenek antitüberküloz ilaçların ilaç duyarlılık testi için “altın standart” olarak önerilmiştir. Homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden geçirilen klinik örneklerden, zenginleştirilmiş ¹⁴C işaretli palmitik asit içeren Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri bulunan şişelere(Middlebrook 7H12) ekim yapılır. Yağ asidi kullanılırken ¹⁴CO₂ ortaya çıkar ve şişeler periyodik olarak BACTEC 460 TB cihazına yerleştirilerek ¹⁴CO₂ saptanmaya çalışılır. Oluşan ¹⁴CO₂ miktarı üreme indeksi (Growth Index-GI) olarak cihaz tarafından saptanır. Üreme indeksi 500 olunca duyarlılık testi yapılır. Bir organizma antitüberküloz ilaç içeren besiyerine eklendiğinde duyarlı ise üreme baskı altına alınır. Bu kontrole kıyasla günlük üreme indeksinde azalma veya çok küçük artış şeklinde saptanabilir. Organizma dirençliyse çok az veya hiç baskılanma görülmez. Direncin %1 oranını tayin etmek için kontrol şişesinde kullanılan bakteri miktarı ilaçlı şişedekinden 100 defa daha azdır. Birinci seçenek antitüberküloz ilaçların yanı sıra bazı ikinci seçenek antitüberküloz ilaçların duyarlılık testleri de yapılabilir. Günlük iş yükü fazlalığı ve radyoaktivite içeren atıklarının olması dezavantajdır. Geleneksel yöntemlerle ortalama 21 günde sonuç alınırken, bu sistemde sonuçlar 5-7 günde çıkmaktadır^{40,47}.

2.6.1.2.2. Floresan Kültür Sistemi: BACTEC MGIT 960, middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren dip kısmı ruthenium kompleksi bulunan silikon bir tabaka ile kaplı tüpler kullanılmaktadır. Tp içinde bulunan oksijen yoğunluğunun fazla olması nedeniyle tp dibine gönderilen ultraviyole(mor tesi-UV) ışınına karşı floresan ışımaya oluşmazken, oksijenin mikobakteri veya kontaminant mikroorganizmalar tarafından kullanılarak tüketilmesi ve CO₂ birikmesi sonrası tp dibine gönderilen UV ışını ruthenium kompleksindeki değişiklik nedeniyle floresan vermektedir. Saptanan floresan miktarı üreme indeksi olarak ele alınmakta ve kültür pozitifliği açısından değerlendirilmektedir. Duyarlılık testi için ilaçsız ve ilaçlı tüplere eşit miktarda bakteri ekimi yapıp bu tüplerdeki üreme karşılaştırılır. İlaçsız tüpte üreme saptandıktan sonra 48 saat içerisinde ilaçlı bir tüpte üreme olursa, bakterinin o ilaca dirençli olduğu kabul edilir. Üreme oranı ve saptama zamanı BACTEC 460 TB ile aynıdır. Radyoizotop kullanılmaması, sürekli monitörizasyon ile 960 tüpün aynı anda takibini sağlaması ve bilgisayar verileri vermesi nedeniyle iş yükü azalması en önemli avantajlarıdır^{40,47}.

BACTEC 9000 MB: Besiyerlerindeki oksijen kullanımının floresans ile belirlendiği bir sistemdir. Modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyerlerine ekimden önce polimiksin B, amfoterisin B, nalidiksik asit, trimethoprim ve azlosilin(PANTA) ilave edilir. Sistemde balgam ve diğer solunum yolu örnekleri için Myco/F sputa besiyeri, kan ve diğer steril vücut bölgelerinden alınan örnekler için MycoF/lytic besiyeri şişeleri kullanılır⁴⁸.

2.6.1.2.3. Kolorimetrik Kültür Sistemi

BacT/Alert 3D: Oleik asit - albümin - dekstrozu - katalaz(OADC) ve bazı antibiyotikleri içeren modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri kullanılır. Kolorimetrik olarak besiyerinde oluşan CO₂ düzeyini ölçerek mikobakteri üremesini değerlendirir. Radyoizotop içermez. Tam otomatiktir, bilgisayar desteği mevcuttur. Duyarlılık testi yapılabilir. Testlerin sonuçlanma süresi BACTEC 460 TB'den daha uzundur. Diğer otomatik sistemlerle kıyaslandığında aralarında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Bu sistem, uygun şişeler kullanıldığında, mikobakteriyal kan kültürleri içinde uygundur^{40,47}.

TK Besiyeri: TK besiyeri içeriği Middlebrook besiyerinden tamamen farklı orijinal bir besiyeridir. Mikobakteri üremesini, içerdiği renk indikatörü sayesinde ortam

pH'sının değişmesi sonucu besiyeri renginin kırmızıdan sarıya dönmesiyle gösterir. Katı bir besiyeri olduğu için renk değişiminden sonra kolonilerin oluşması ve g zlenmesinide sağlar. Diğer kültür besiyerlerine göre önemli bir üstünlüğü, kontaminasyonu gerçek mikobakteri  remesinden ayırt edebilme yeteneğidir. Mantar, Gram negatif bakteriler gibi sıkça görülen kontaminantlar ürediği zaman besiyerinin rengi yeşile dönerek mikroskop inceleme öncesinde bunun anlaşılmasını sağlar. Diğer hızlı kültür sistemlerinde olduğu gibi TK kültür sistemi ile antitüberküloz ilaçlara duyarlılık bakılabilmekte, *M. tuberculosis* kompleks grubu bakteriler diğer mikobakterilerden ayırt edilebilmektedir. TK kültür sisteminin bir başka üstünlüğü kültür tüplerinin göz ile rahatça değerlendirilebilmesi, herhangi bir okuyucu sisteme gereksinim duymamasıdır. Buna karşın iş yoğunluğu fazla olan merkezler için tüplerin otomatik olarak inkübe edilip izlendiği “MyColor TK” adı verilen çok gelişmiş bir okuyucusu bulunmaktadır⁴⁹.

2.6.1.2.4. Gaz Basınc Değişimini Saptayan Sistem

Bu yöntemde VersaTREK(eski adı ESP system II) sistemi kullanılmaktadır. Modifiye Middlebrook sıvı besiyeri şişelerinde inokülasyondan sonra eğer mikobakteriler mevcutsa, metabolizmaları sonucu oksijen kullanımı ile şişedeki gaz basıncındaki değişikleri ölçerek üreme değerlendirmesi yapan tam otomatik, radyoaktif olmayan, bilgisayar destekli bir sistemdir. Bu sistemde mikobakteriyal kan kültürleri de çalışılmaktadır. Ancak tam kan kullanılmamakta, inokülasyon için kandan sedimentin elde edilmesi ve kanın işlenmesi gerekmektedir. Lisis santrifüj yöntemiyle elde edilen buffy-coat veya sediment inokülasyon için uygundur^{40, 47}.

2.6.2. Yeni Fenotipik Yöntemler

Klasik yöntemlerin sonuç vermek için zahmetli ve uzun zaman gerektirmesi, diğer taraftanda moleküler tekniklerin deneyimli personel gerektirmesi ve bu yöntemlerde kullanılan cihazların pahalı oluşu, TB’da ilaç direncinin belirlenmesinde alternatif ve kolay uygulanabilir yeni yöntemlerin araştırılmasını sağlamıştır. Bu yeni teknikler hem kültür izolatlarında hem de direkt olarak klinik balgam örneklerinde test edilmiřtir⁴⁰.

2.6.2.1 Faja Dayalı Yöntemler

M. tuberculosis'te ilaç direncinin hızlı tespiti için faja dayalı iki yöntem tanımlanmıştır⁴⁰.

2.6.2.1.1 Faj Çoğaltma Yöntemi: Faj çoğaltma biyolojik deneyinde(Phage Amplified Biologically-Pha B-Assay) mikobakteriler hem *M. tuberculosis* hem de hızlı üreyen mikobakterileri infekte eden bir faj aracılığı ile saptanır. Önce fajlar klinik örneğe eklenir. Örnekte mikobakteri varsa faj bunların içerisine girer ve ortama eklenen virüs öldürücü kimyasaldan(ferrus amonyum sülfat) korunur. Ortamdaki serbest fajlar öldürüldükten sonra mikobakteri içerisinde korunmuş fajlar hızlı üreyen bir mikobakteri (*M. smegmatis*) kültüründe çoğaltılarak faj plaklarının oluşması sağlanır. Faj plaklarının varlığı klinik örnekte mikobakteri olduğunu gösterir^{40, 49}.

2.6.2.1.2 Lusiferaz Genli Faj Yöntemi: Ateşböceği lusiferaz geni taşıyan mikobakteriyofaj ile infekte mikobakteriler ortama lusiferin eklendiğinde görünür hale gelirler. Lusiferaz, ATP varlığında lusiferini oksitler ve ışık oluşmasını sağlar. Reaksiyonun oluşması için ATP'nin olması canlı ve cansız bakteri ayırımı yapılmasını sağlar. Bu yöntemle ilaç direnci çalışmaları da dört saat gibi kısa bir sürede mümkün olabilmektedir^{40, 50}.

2.6.2.2 Kolorimetrik Yöntemler

2.6.2.2.1. Alamar Mavisi: Bakteri ilaçlı ve ilaçsız Middlebrook sıvı besiyerlerine ekilerek 10-14 gün inkübe edilir. Kontrol tüpüne alamar mavisi eklenip, 50°C'de 2 saat bekletilir. Rengin maviden pembeye dönmesi üreme olduğunu gösterir. Üreme saptanmışsa aynı işlem ilaçlı tüplere uygulanır. Pembe renge dönmenin görüldüğü tüplerde üreme olduğu, o tüplerdeki ilaçlara karşı bakterinin dirençli olduğu saptanır. Üremenin ne zaman olacağı tam olarak tahmin edilemediğinden birden fazla kontrol tüpü hazırlanması ve belli aralıklarla bu tüplerde üreme araştırılması gerekmektedir^{40, 47}.

2.6.2.2.2.Tetrazolium Tuzları: Başlangıçta sarı olan tetrazolium tuzu, mikobakterilerin redoks sistemi sayesinde, çözünmeyen pembe, kırmızı ve menekşe renginde formazona dönüşerek spektrofotometre ile ölçülebilir hale gelir^{40, 48}.

2.6.2.2.3Nitrata Redüktaz Yöntemi: *M. tuberculosis*'in nitrata nitrite dönüştürme kapasitesine dayanan, kültür ortamına eklenen kimyasal ile tespit edilebilen basit bir tekniktir. Antibiyotikli L-J besiyerinde üreyen *M. tuberculosis*'in inkübasyonun onuncu gününden sonra nitrata indirgemesine dayanır. Dirençli suşlar besiyerinde pembe-kırmızı renk meydana getirirken duyarlı suşlar antibiyotik tarafından inhibe edilip nitrata indirgeme yeteneklerini kaybederler⁴⁰.

2.6.3. Genotipik Yöntemler

1980'li yıllardan itibaren tüm dünyada TB olgularının artışı ilaç direnci ile birlikte gözlenmiştir. İlaç dirençlerinin geleneksel yöntemlerle saptanması, izolasyonda olduğu gibi zahmetli ve zaman alıcıdır. Moleküler yöntemlerle, dirençten sorumlu mutasyonların gösterilmesi direnci kanıtlarken, dirençli olduğu saptanan fakat mutasyonların gösterilemediği olgular, dirençte başka gen bölgesi mutasyonları veya başka mekanizmalar olabileceğini düşündürmektedir. RIF'e dirençli mutasyonlarda genellikle, *rpoB*'nin 81 baz çiftlik gen bölgesinde nokta mutasyonların, delesyonların ve insersiyonların olduğu gözlenmiş ve bu bölge Rifampisin Direncini Belirleyen Bölge (Rifampin Resistance Determining Region-RRDR) olarak adlandırılmıştır. TB tedavisinde kullanılan birinci seçenek ilaçlardan olması, moleküler yöntemlerle saptanabilirliği nedeniyle araştırmalar ve klinik kullanımda diğer antitüberküloz ilaçlardan çok rifampisin direncinin belirlenmesi çalışılmaktadır. Ayrıca RIF'e dirençli izolatların %90'dan fazlasında INH direnci de birlikte bulunduğundan ÇİD-TB için bir gösterge olduğu düşünülmektedir⁵¹.

Direncin belirlenmesinde DNA dizi analizi, Tek Zincir Biçim Çeşitliliği(Single Strand Confirmation Polymorphism-SSCP), Heterodupleks(HDF) Analiz, Katı Faz Hibridizasyon Yöntemi(Inno-Lipa, Innogenetics, Ghent, Belgium; GenoType MTBDR, Hain Lifesciences, Nehren, Germany), Floresans Rezonanslı Enerji Aktarımı (Fluorescence Resonance Energy Transfer-FRET) gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Moleküler direnç testleri; hızlı sonuç vermesi, kültür gereksiniminin

minimal olması ya da olmaması nedeniyle avantajlı yöntemlerdir. Dirence neden olan mutasyonların çoğunun tespit edilmiş olması bu yöntemlerin esasını oluşturur. In-house ya da ticari testler uygulanabilir. Ancak bu yöntemlerin pahalı olmaları, dirençli organizma proporsiyonunu belirleyememesi ve sessiz mutasyonları(klinikte dirence neden olmayan) belirlemesi en önemli dezavantajlarından^{51, 52}.

DNA dizi analizi ile ilaç direncine neden olan mutasyon, delesyon ve insersiyonların saptanması, antimikobakteriyel ilaç duyarlılığında moleküler altın standart olarak kabul edilmektedir. İlaç direncinden sorumlu bütün moleküler mekanizmaların bilinmemesi, zor ve yüksek maliyeti kullanımını kısıtlamaktadır^{40,51}.

SSCP yönteminde, Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR) ile çoğaltılan ilaç direncinden sorumlu gen bölgesindeki çift zincirli DNA, ısı ile denatüre edildiğinde elde edilen tek zincirler içerdikleri nükleotid dizisine göre kıvrılmalar nedeniyle özgül yapı oluştururlar. Elektroforez sırasında zincirin özgül yapısı jel gözeneklerinden geçiş hızını etkilemesi nedeniyle, hastadan elde edilen izolatin ilaca duyarlı kontrol suşundan farklı sonuç vermesi o gende mutasyon olduğunu göstermektedir. Tek zincirli DNA'nın elektroforez jelinde görülebilmesi için genellikle radyoaktif bir madde ile işaretleme gereksinimi, deneyim gerektirmesi ve uygulama zorlukları nedeniyle günlük kullanıma girememiştir^{45, 51}.

Heterodubleks analizinde, ilaç direncine neden olan gen bölgesi, hem hastadan izole edilen basilden, hem de ilaca duyarlı olduğu bilinen bir kontrol suşundan PZR ile çoğaltıldıktan sonra bir tüpte karıştırılıp, önce 95°C'ye kadar ısıtılarak DNA zincirlerinin birbirinden ayrılması, daha sonra oda sıcaklığına dek soğutularak zincirlerin yeniden eşleşerek birleşmesi sağlanır. Farklı bakteriden geldiği halde uygunluk gösteren tek zincirler de bir araya gelerek heterodupleksler oluşur. Eşleşme duyarlı bir suшта tamamen gerçekleşirken, dirençli suşlarda heterodupleksler arasında mutasyon noktasında birleşmenin olmaması çift sarmal yapının bozulması ve zincirdeki bükülmeler meydana getirmesinden dolayı elektroforez sırasında molekölün mutasyon olmayan DNA'dan farklı hızda yürümesine neden olur. Çift zincirlerin Etidyum Bromid(Et-Br) ile boyanıp UV transluminatörde hemen gözlenebilir olması rutinde kullanılmaya uygun olmasını sağlamıştır⁵¹.

Inno-Lipa yöntemi, RIF direncini saptamaya yöneliktir. Nitroselüloz membran üzerinde dirençten sorumlu gen bölgesine ait duyarlı ve mutant dizileri içeren probler

bulunmaktadır. PZR ile çoğaltıldıktan sonra dirençten sorumlu gen bölgelerine ait DNA molekülleri bu proplar ile hibridizasyona tabi tutulduğunda, mutant dizilere bağlanırsa dirençli olarak yorumlanır^{40,51,53}. GenoType MTBDR, kültür örneklerinde INH ve RIF direncinden sorumlu tutulan *katG* ve *rpoB* genlerinin tespitinde kullanılır. Testin çalışma prensibi Inno-Lipa ile aynıdır^{40,51,54}.

Fluorescence Resonance Energy Transfer yönteminde, PZR sırasında çoğaltılmış DNA molekülüne bağlanan biri 3'diğeri 5' ucu fluoresans ile işaretli ve çok yakın yerleşimli iki DNA probu arasında enerji aktarımı ile başlangıçta en yüksek miktarda fluoresans izlenirken, tüplerin yavaş yavaş ısıtılması ile fluoresansın azaldığı erime noktaları saptanır. Probun bağlandığı bölgede mutasyon varlığı, gevşek bağlanmaya ve erime nokta ısısının düşmesine neden olmaktadır. Bu yöntem ilaç dirençlerini belirleyen mutasyonların belirlenmesinde, klinik örneklerdeki mikobakterilerin saptanmasında ve tür düzeyinde tanımlamalarda kullanılmaktadır⁵¹.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi merkez laboratuvarına çeşitli klinik ve polikliniklerden tüberküloz şüphesiyle gönderilen ve bunlardan pozitif olarak tespit edilen 179 klinik örnek çalışmamıza dahil edilmiştir.

3.2 Yöntem

Bütün örnekler Kinyoun boyama ile mikroskopik inceleme ve MGIT 960 ile kültürü ve antibiyotik duyarlılıkları test edildi.

3.2.1 Kinyoun Boyama yöntemi

3.2.1.1.Boyaların Hazırlanması

3.2.1.1.1. Karbolfuksin

Bazik fuksin	1,5 gr
Fenol	4,5 gr
Isopropanol	20 ml
Ethanol	5 ml
Distile su	75 ml

3.2.1.1.2 Asit-alkol eriyiği

HCL 3 ml.
%95'lik etil alkol 97 ml.

3.2.1.1.3 Brilliant green

Brilliant green	0,2 gr
Sodyum hidroksit	0,002 gr

Distile su 100 ml

Kinyoun Boyama Yöntemi

- a)Preparat hazırlanır, kurutulur ve tespit edilir.
- b)Lam üzerine lamı kaplayacak tarzda karbol fuksin solüsyonu konur. 3-4 dk bekletilir.
- c)Boya dökülür ve preparat asit alkolde (% 95alkol + % 3HCl asit) dekolore edilir.
- d)Su ile yıkanır
- e)Preperat üzerine brilliant green solüsyonu konur ve boyanır
- f)Boya dökülür ve su ile yıkanır.
- g)Kurutulur ve immersiyon objektifinde muayene edilir.*M.tuberculosis* pembe kırmızı renkte görülürler.

Preparatın değerlendirilmesi

Preparatlar, immersiyon objektifiyle, x100 büyütme de değerlendirilir. Aside dirençli basilin varlığı için, her yayma zaman önemsenmeksizin tamamen incelendi.

Yaymada hiç ARB görülmezse negatif,

Tüm yaymada 1-2 ARB görülürse +? şüpheli pozitif

Her 100 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse 1 +,

Her 10 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse 2 +,

Her 1 mikroskop sahasında 1-9 ARB görülürse 3 +,

Her 1 mikroskop sahasında >9 ARB görülürse 4 + olarak kabul edildi.

3.2.2.Kültür

Dekontaminasyon homojenizasyon

3.2.1 Kullanılan Yöntem

NAOH-NALC yöntemi

3.2.2.2.Yöntemin esası

NaOH, oldukça etkili bir dekontaminantır. Ayrıca emulsifiye edici etkisi olduğundan mukolitik sağlar. NALC de mukolitik etkilidir, balgamı hızla eritir. NaOH ile birlikte kullanılması, örneğin karşılaştığı NaOH konsantrasyonu ve bu karşılaşma

süresini azaltarak, basillerin NaOH'in toksik etkisinden zarar görme riskini azaltmış olur. Sodyum sitrat, örnekte bulunabilen ağır metal iyonlarını şelatlayarak hem NaOH'i stabilize eder, hem de NALC'nin bu iyonlar nedeniyle inaktive olmasını engeller.

3.2.2.3.Kullanılan kimyasal solüsyon

NaOH-NALC solüsyonu

3.2.2.4.İçindekiler

1N(%4)NaOH, N-Asetil-L-Sistein

3.2.2.5.Uygulama

İncelenecek 179 çeşitli klinik örneğin bulunduğu 50 ml'lik steril burgulu kapaklı tüplere klinik örneklerle eşit hacimde NALC-NaOH solüsyonu ilave edilerek oda ısısında 15 dk bekletildi. Bekleme süresinin başlangıcında tüpler 30 sn yi geçmeyecek şekilde vortekslendi. Süre tamamlandığında tüpün 50 ml işaretine kadar 0.067 M fosfat tamponu(pH 6,8) ilave edilerek nötralizasyon sağlandı ve dekontaminasyon işlemi durduruldu. Kullanılan fosfat tamponun sterilitésinin koruması önemlidir. Fosfat tamponu ilaveli tüpler bakteri yoğunluğunu artırmak için $\geq 3000 \times g$ de 15-20 dk santrifüjde çevrildi. Sonra üst sıvı içerisinde dezenfektan(%0,1-1 sodyum hipoklorit, %70 alkol) bulunan bir kaba boşaltıldı ve sedimente 1-2 ml steril fosfat tamponu ilave edildi. Bu işlem uygulandıktan sonra uygun olan klinik örnekler 500µL'lik inokulumlar halinde MGIT 960 tüp besiyerine ekildi.

Steril olduğu düşünülen BOS, vücut sıvılar ında dekontaminasyon işlemi uygulanmadı ve bu örnekler direkt olarak veya santrifüjde çevrildikten sonra sedimentten besiyerlerine ekildi.Bactec MGIT 960 sistemine yerleştirildi. MGIT besiyeri üreme kontrolü Bactec micro MGIT okuyucu(Becton Dickinson, USA) ile yapıldı. Üreme gözlenen tüplerden örnek alınarak mikroskopik inceleme yapıldı. Tüm besiyerleri en fazla 45 gün inkübe edildi. 45 gün sonunda üreme gözlenmeyen tüpler kültür negatif olarak değerlendirildi^{45,46}. Bactec MGIT 960 sisteminde kullanılan tüpler Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri ve dip kısımlarında oksijene duyarlı rutenyum metal kompleksi içeren silikon içermektedir. Klinik örnekler ekilmeden önce besiyerlerine oleik asit albumin-dekstrozu ve kontaminant mikroorganizmalara karşı PANTA ilave

edildi. Kullanılan besiyerlerinde herhangi bir üreme olmadığında oksijen varlığına bağlı olarak silikon tabakaya gönderilen UV ışınına karşı floresans oluşmazken mikobakteri ve diğer mikroorganizmalar ürettiğinde oksijenin kullanılması sonucunda gönderilen UV ışını ruthenium kompleksindeki değişiklik nedeniyle floresans vermekte ve oluşan floresans miktarı üreme indeksi olarak değerlendirilmektedir. Floresans görülen tüplerden preparat hazırlanıp Kinyoun Boyama ile boyanarak üreyen bakteri ARB açısından doğrulandı.

MGIT BESİYERİ Middlebrook 7H9 Kazein pepton Gliserol	
Zenginleştirmek İçin	Kontaminasyonu Önlemek İçin
OADC Sodyum Klorid Oleik Asit Sığır serum Albümini Dekstroz Katalaz	PANTA Polimiksin B Amfoterisin B Nalidiksik Asit Trimetoprim Azlosilin

Şekil 3.1 MGIT tüplerinin içeriği

3.2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Antibiyotik duyarlılık testi üretici firma önerileri(Becton Dickinson, USA) doğrultusunda gerçekleştirildi.

0.5 McFarland standardına ayarlanan süspansiyondan 1 ml alınarak 4 ml steril serum fizyolojik ile 1/5 dilüsyon yapıldı. Dilüe edilen süspansiyondan steril pastör pipeti ile 0.5 ml alınarak, 0.8 ml BACTEC MGIT Growth Supplement(oleic acid, dextrose, catalase,bovin albumin) eklenmiş BBL MGIT 7 ml tüpüne aktarıldı. Bu tüp cihaza konularak inkübe edildi. Cihaz pozitif sinyal verdikten sonra steril bir pastör pipeti ile aside dirençli boyama için örnek alındı.

3.2.3.1. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması

Antibiyotikler SM, INH, RIF, EMB BACTEC MGIT SIRE kiti(Becton Dickinson, USA) içinde liyofilize halde üretici firma tarafından sağlandı. Liyofilize halde bulunan ilaçlar sulandırılarak stok solüsyonlar hazırlandı. Her liyofilize antibiyotik şişesine 4 ml steril distile su eklendi ve tamamen çözünene kadar çalkalandı. Liyofilize antibiyotik seması ve MGIT 7 ml besi yerindeki son konsantrasyon Tablo 3.1 belirtilmiştir.

Tablo 3.1.MGIT tüplerine eklenen ilaç konsantrasyonları

İlaç	Liyofilize Antibiyotik içeren flakon	Sulandırım sonrasında konsantrasyon	MGIT tüplerine eklenmesi gereken volüm	Son konsantrasyon
MGIT SM	332µg	83 µg/ml	100 µl	1.0 µg/ml
MGIT INH	33.2 µg	8.3 µg/ml	100 µl	0.1 µg/ml
MGIT RIF	332 µg	83 µg/ml	100 µl	1.0 µg/ml
MGIT EMB	1660 µg	415 µg/ml	100 µl	5.0 µg/ml

3.2.3.2. Antibiyogram İşlemi

5 adet 7 ml MGIT tüpü hazırlandı. İlk tüp kontrol tüpü olacak şekilde sırasıyla SM, INH, RIF ve EMB şeklinde işaretlendi. Her birine aseptik şartlarda 0,8 ml BACTEC MGIT 960 SIRE Supplement(Oleic acid,dextros, catalase, bovine albumin, polyoxethylene stearate) eklendi. Aseptik koşullar altında, firma önerileri doğrultusunda sulandırılmış liyofilize ilaç solusyonlarından(Tablo.3.1) 100'er ml alınarak daha önce işaretlenmiş olan uygun tüplere eklendi. Kontrol tüpü hazırlamak için yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan inokulumdan 0.1 ml alınarak 10 ml steril serum fizyolojik içinde 1/100 dilüe edildi. Bu süspansiyondan 0.5 ml, ilaç konulmamış kontrol tüpüne ekim yapıldı. İlaçlı tüplere ise inokulumdan 0.5 ml eklendi. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak antibiyotik duyarlılık test(antibiotic susceptibility test : AST) seti ile cihaza yüklendi.

3.2.3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Antibiyotik içeren tüplerin değerlendirmesi kontrol tüpünde üreme 400 reme İndeksi(Growth Unit: GU)’ne ulaşıldığında yapıldı. Antibiyotik içeren tüplerde üreme gözlenmesi durumunda bakteri o antibiyotiğe dirençli kabul edildi. Kontrol tüpünde 4 günden önce 400 GU reme gözlenmesi kontaminasyon varlığı veya bakteri miktarının fazlalığı şeklinde yorumlandı. Bu durumda ilgili izolat için antibiyogram tekrarı yapıldı. On üç günden sonra üreme gözlenmeyen(400 GU) kontrol tüpleri ise bakteri yoğunluğu yetersiz olarak değerlendirilerek ilgili izolat için antibiyogram tekrarı yapıldı.

3.2.3.4. Kalite Kontrol

Duyarlılık testlerinde kalite kontrol olarak, denenen ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* ATCC 27294(H37Rv) suşı kullanıldı.

4.BULGULAR

Çalışmamıza Adana ve çevresindeki illerden gelen hastalardan Ocak 2008 - Temmuz 2010 yılları arasında izole edilen toplam 179 suş dahil edilmiştir. Suşlar Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez laboratuvarının tüberküloz biriminde, çeşitli klinik ve polikliniklerden gönderilen materyallerden izole edilmiştir. Hastaların 113(% 63.13)'ü erkek, 66(%36.87)'sının kadın olduğu gözlenmiştir. Suşların 148(% 82.6)'i solunum yolu materyallerinden, suşların 31(% 17.4)'i diğer materyallerden izole edilmiştir. Çalışmaya alınan suşların izole edildikleri örneklerin dağılımı Tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan suşların örneklere göre dağılımı

HASTA ÖRNEĞİ	SAYI	YÜZDE(%)
Balgam	86	48.04
Trakeal Aspirat(TAK)	2	1.11
Bronkoalveolar Lavaj(BAL)	49	27.37
Plevra Mayi	6	3.35
Eklem Mayisi	1	0.56
Açlık Mide Suyu(AMS)	5	2.79
Abse	12	6.70
Doku	4	2.23
Biopsi Materyali	3	1.67
Lenf Sıvısı	1	0.56
Bos	6	3.35
İdrar	4	2.23
Toplam	179	100

4.1. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları

BACTEC MGIT 960 yöntemi ile Ocak 2008 – Temmuz 2010 yılları arasında izole edilen suşların antitüberküloz ilaçlarına karşı belirlenen direnç oranları yıllara göre Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Suşların 131(%73.18)’i antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı iken 48(%26.82)’i en az bir antitüberküloz ilacına dirençli bulunmuştur. ÇİD-TB oranı % 10.05(18/179) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.2. İncelenen suşlarda yıllara göre antitüberküloz ilaçlarına direnç

Yıl	Suş sayısı	SM(%)	INH(%)	RF(%)	EMB(%)
2008	68	4(5.88)	7(10.29)	1(1.47)	1(1.47)
2009	74	14(18.91)	17(22.97)	4(5.40)	4(5.40)
2010	37	4(10.81)	6(16.21)	4(10.81)	2(5.40)
TOPLAM	179	22(19.89)	30(27.63)	9(9.87)	7(6.85)

Tanısı konan hastalar ve antitüberküloz tedavisine başlayan hastalardan elde edilen suşlarda belirlenen toplam ilaç dirençleri sırasıyla Tablo 4.3 de gösterilmiştir.

Tablo 4.3 İzole edilen suşlarda belirlenen ilaç dirençleri

İLAÇ	DİRENÇLİ SAYI(%)
STREPTOMİSİN	19.89
İZONİYAZİD	27.63
RİFAMPİSİN	9.87
ETHAMBUTOL	6.85

Birden çok ilaca dirençli suşlar Tablo 4.4’de gösterilmiştir. Suşların 16(% 8.93) ’sı iki ilaca dirençli, 2(% 1.11)’si üç ilaca dirençli olarak bulunmuştur. Sadece SM dirençli suş 15(% 8.37), sadece INH dirençli suş 13(% 7.26), sadece RIF dirençli suş 1 (% 0.56) ve sadece EMB dirençli suş 1(% 0.56) olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4. 179 *M. tuberculosis* suşlarının birden çok ilaca dirençli yüzde oranları

	Sayı	Yüzde(%)
INH+RIF	7	3.91
INH+SM	5	2.79
EMB+SM	1	0.56
INH+EMB	3	1.67
SM+INH+EMB	1	0.56
EMB+RIF+INH	1	0.56
Toplam	18	10.05

5.Tartışma

Tüberküloz hastalığı, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelerine rağmen günümüzde halen önemini korumaktadır. 1980’li yıllardan itibaren, hem TB insidansında, hem de dirençli suşlarla oluşan infeksiyon oranlarında artış gözlenmektedir^{3,55}. DSÖ’nün geliştirmekte olan ülkelerde uyguladığı, hastaya ilaçlarını eğitilmiş ve denetlenen bir kişinin gözetim altında içirilmesini amaçlayan Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi’nin ÇİD-TB prevelansının yüksek olduğu bölgelerde başarısız olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle ÇİD-TB önemli boyutlarda olduğu bölgelerde DOTS programının başarıyla uygulanmasına ek olarak ilaç duyarlılık testlerinin yapılmasına ve ikinci-grup TB ilaçlarının kullanılmasını içeren DOTS-Plus uygulamasına geçilmiştir^{3,55,56}. Central of disease control(CDC)’e TB düşünülen bir hastanın örneği laboratuvara kabul edildikten sonra ortalama 28-30 gün içinde *M. tuberculosis kompleks* için duyarlılık testlerinin sonuçlandırılmasını önermektedir⁵⁷. Bizim laboratuvarımızda ise *M.tuberculosis* için identifikasyon ve duyarlılık test sonuçlarımız 15-33 gün içinde sonuçlandırılmıştır.

Yapılan bir çalışmada Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesine gelen ve tüberküloz şüphesiyle gönderilen 2058 farklı materyalden *M.tuberculosis*’in identifikasyonu L.J besiyerinde 10-42 günde, Bactec 460 cihazı ile 2-30 günde toplam 112 suş izole edilmiştir. Bizim çalışmamızda toplam 179 suş Bactec Mgit 960 cihazı ile 7-25 gün içerisinde izole edilmiştir⁹¹.

Hastalığın erken tanısı ve antitüberküloz ilaç direncinin hızlı bir şekilde saptanması ÇİD-TB kökenlerin kontrolünde ve etkili tedavide yaşamsal bir rol oynamaktadır.

Klasik antibiyotik duyarlılık testlerinde iş yükünün fazlalığı, antibiyotik içeren klasik besiyerlerinin hazırlanması ve saklanması sırasında antibiyotiğin inaktive olmasıyla yanlış sonuçlar alınabilmektedir⁴⁹. Ayrıca, bu testlerde suşların duyarlılık sonuçlarının 21 günlük inkübasyon süresi sonunda değerlendirilmesi tedaviyi geciktirebilmektedir. Daha hızlı sonuç alabilmek için moleküler yöntemler kullanılarak,

ilaç direncinden sorumlu olan gen bölgelerinin gösterilmesine çalışılmaktadır. Ancak bu yöntemlerle, birden fazla gen bölgesinin dirençten sorumlu olduğu durumlarda her bir direnç geni için ayrı işlem yapılmasının gerekmesi, dirence yol açmayan sessiz mutasyonlarında saptanması gibi sorunlarla karşılaşmaktadır. Dirençli olduğu saptanan, fakat mutasyonların gösterilemediği olgular, dirençte başka gen bölge mutasyonları veya başka mekanizmalar olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca kullanılan ekipmanın pahalı olması bu yöntemlerin pratikte uygulanmasını kısıtlamaktadır⁵⁹. Uzun dönemde yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda BACTEC MGIT 960 sistemi ile alınan sonuçlar referans yöntemlerle alınan sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur. National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS) tarafından fenotipik antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri için önerilen testler arasında bildirilmiştir(NCCLS 2003). BACTEC MGIT 960 sistemi tam otomatize ve kolay uygulanabilir olması, 15-33 gün gibi kısa sürede *M.tuberculosis* identifikasyonu ve antibiyogram duyarlılık sonuçlarını verebilmesi açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu sistemin en önemli dezavantajının, kültür işlemleri sırasında karşılaşılan kontaminasyon sorunu olduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda belirlenen kontaminasyon oranları %7 ile %20 arasında değişmektedir^{60,61,62}. Bizim çalışmamızda belirlenen dekontaminasyon oranı ise yaklaşık %7 dir.

Chang ve ark. larının yaptıkları bir çalışmada Changua Hastanesine gelen ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına tüberküloz şüphesiyle gönderilen örneklerin 1961'i Bactec Mgit 960 sistemi ile identifiye edilmiş ve bunların 229(%11.7)'u izoniyazide, 55(%2.8)'i rifampisine, 49(%2.5)'u ethambutole, 218(11.1)'i streptomisine dirençlidir. Antitüberküloz ilaçlardan herhangi birine direnç oranı ise 374(%19.1) ve en az iki ilaca olan direnci ise 39(% 2) olarak belirlenmiştir⁹⁰.

Yapılan bir başka çalışmada Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesine gelen ve tüberküloz tanısı konulan hastalardaki antitüberküloz ilaçlardan herhangi birine direnç oranı 32.3 olarak belirtmiş olup tablo 5.1 de gösterilmiştir⁽⁶⁵⁾. Bizim çalışmamızda Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarında Ocak 2008–Temmuz 2010 yılları arasında TB direnç oranı 26.82 olarak hesaplanmıştır. Bu verilere göre Adana ve çevre illerden gelen antitüberküloz ilaçlara dirençte azalma olduğu görülmektedir. Bu azalmanın verem savaş programının başarısına bağlı olup olmadığı tartışmalıdır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarında belirlenmiş olan ilaç direnç oranları homojen dağılım göstermemektedir. Bunun, bölgeler arası sosyo-ekonomik düzey farklılıkları ve çalışmalarda kullanılmış olan yöntemlerin standart olmamasından kaynaklandığı belirtilmektedir^{66,67}.

Antitüberküloz ilaçlarına direnç dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sorundur. Yapılan çalışmalarda ülkemizde antitüberküloz ilaçlarına direnç oranları % 9.2 ile % 56 arasında geniş bir dağılım göstermektedir(Tablo 5.1). Ülkemizde karşımıza çıkan TB vakalarının yaklaşık olarak 1/3'nün herhangi bir antitüberküloz ilaca dirençli olma olasılığı bulunmaktadır. Tablo 5.1'de görüldüğü gibi ülkemizde en az bir ilaca dirençli suş oranları, DSÖ'nün 2004 yılı raporunda bildirilen, dünya ortalama direnç oranlarının(%10.4) üzerindedir²³.Bizim çalışmamız da herhangi bir antitüberküloz ilaca dirençli olma oranı %26.82 olarak bulunmuş ve ayrıca diğer çalışmalardaki ilaç direnç oranı tablo 5.1 de gösterilmiştir.

Tablo 5.1.Ülkemizde yapılan antitüberküloz ilaç çalışmalarındaki herhangi bir ilaca olan direnç yüzdesi

Çalışmanın yapıldığı İl veya Bölge	Suş Sayısı	Herhangi bir ilaca direnç oranı yüzde (%)	Tarih	Kaynak
Adana	179	26.82	2008-2010	Bizim çalışmamız
Adana	393	32.3	1993-1995	Tasova ve ark. ⁶⁵
Zonguldak	125	30.4	2002-2005	Aydın O. ⁸⁹
Manisa	355	21.1	1997-2003	Sürücüoğlu ve ark. ⁶⁹
Ankara	3319	9.2	1976-1997	Bengisu ve ark. ⁷⁰
Gaziantep	264	40.6	1995-1999	Balcı ve ark. ⁷¹
Ege bölgesi	49	20. 9	1999-2001	Güneri ve ark. ⁷²
İzmir	1006	16.5	2001	Şenol ve ark. ⁷³
Malatya	88	32.9	2000	Durmaz ve ark. ⁷⁴
Edirne	134	11.8	1999-2001	Tansel ve ark. ⁷⁵
Edirne	70	56.0	1996	Otkun ve ark. ⁷⁶
Düzce	62	26.2	2000-2004	Öztürk ve ark. ⁷⁷
Elazığ	125	29.5	1989-1994	Çetinkaya ve ark. ⁷⁸
Doğu Karadeniz	1388	40.6	1985-1990	Arseven ve ark. ⁷⁹
Isparta	108	26.6	1996-2000	Sözen H. ⁸⁰
GATA Ankara	470	14.9	1998-2001	Kısa ve ark. ⁸¹
İstanbul	189	25.9	1997-2000	Talay ve ark. ⁸²
İzmir	63	41.0	1989-1992	Yüce ve ark. ⁸³

Çalışmamızda en yüksek primer ilaç direnci INH için belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda(Tablo 5.2) genel olarak INH direncinin yüksek olduğu gözlenmektedir. Bu dirençte görülen artış her yeni TB vakasının antitüberküloz ilaçlarına dirençli olma olasılığının arttığı anlamına gelmektedir. Tedavi planlanırken bunun dikkate alınması gerekmektedir. Yetersiz veya yanlış tedavi sonucu nüks gelişen hastalarda gözlenen toplam ilaç direncinin ülkemizde oldukça yüksek olduğu dikkati çekmektedir(Tablo 5.2).Ülkemizin değişik yörelerinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızda görülen ilaç dirençleri daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 5.2. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları

	Suş Sayısı	SM(%)	RIF(%)	INH(%)	EMB (%)	Tarih	Bölge
Bizim çalışmamız	179	19.89	9.87	27.63	6.85	2008-2010	Adana ve çevre iller
Taşova ve ark ⁶⁵	393	8.65	20.61	22.6	10.17	1993-1995	Adana
Aydın O. ⁸⁸	125	19.2	8.0	23.2	4.0	2002-2005	Zonguldak
Tansel ve ark ⁷⁵	134	2.2	4.5	9.0	1.5	1999-2001	Edirne
Goral ve ark ⁸⁴	328	20.4	25.3	26.2	8.2	1990-1995	Bursa
Şenol ve ark ⁷³	1006	8.56	9.2	8.9	6.3	2001	İzmir
Öztürk ve ark ⁷⁷	62	11.3	4.8	8.0	0.0	2000-2004	Düzce
Sözen H ⁸⁰	108	1.86	3.71	14.82	2.78	1996-2000	İsparta
Sürücüoğlu ve ark ⁶⁹	355	14.9	9.0	9.8	16.9	1997-2003	Manisa
Doğan ve ark ⁸⁵	385	5.2	5.2	21.0	2.9	1999-2004	Sivas
Balcı ve ark ⁷¹	264	8.6	18.6	33.0	15.9	1995-1999	Gaziantep
Bayraktar ve ark ⁸⁶	249	22.9	20.9	14.8	7.6	2000-2004	Trabzon
Yüce ve ark ⁸³	63	32.0	27.0	9.0	3.0	1989-1992	İzmir
Talay ve ark ⁸²	189	14.8	8.5	12.6	5.3	1997-2000	İstanbul

ÇİD-TB olguları tedavi başarısı açısından önemli bir problem oluşturmaktadır. ÇİD-TB tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sorun olarak gözlenmektedir⁸⁹. Tablo 5.3'te ülkemizde çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda belirlenen ÇİD-TB oranları görülmektedir. Bizim çalışmamızda ÇİD-TB oranı %10.05 olarak bulunmuştur. Bu oran DSÖ 2004 yılı raporunda belirtilen dünya ortalama ÇİD-TB oranlarından(% 1.7) oldukça yüksektir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da dünya ortalamasının üzerinde oranlar elde edilmiştir. Daha önce tedavi görmüş hastalarda ÇİD-TB oranlarının yüksekliği, tedavi başarısızlığının ÇİD-TB artmasına neden olduğunu göstermektedir. ÇİD-TB, tedavisi zor, morbidite ve mortalitesi yüksek olan bir hastalıktır. Bu olguların, yeni tanı konulan olgulara göre tedavi ve laboratuvar giderleri oldukça yüksektir. ÇİD-TB bir hastanın tedavi maliyeti ile yaklaşık 16 yeni TB hastası tedavi edilebilmektedir. Yeni tanı konmuş tüberküloz olgusunda tedavi başarısı %100'e yakın iken ÇİD-TB olgularda tedavi başarısı %50'nin altına inmektedir⁶⁸.

Tablo 5.3. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen ÇİD-TB oranları

	Suş sayısı	Toplam ÇİD	Tarih	Bölge
Bizim çalışmamız	179	10.05	2008-2010	Adana ve yöresi
Tasova ve ark ⁶⁵	393	5.34	1993-1995	Adana
Aydın O. ⁸⁸	125	8.0	2003-2005	Zonguldak
Bengisun ve ark ⁷⁰	3319	5.8	1976-1997	Ankara
Tansel ve ark ⁷⁵	134	3.0	1999-2001	Edirne
Goral ve ark ⁸⁴	328	24.4	1990-1995	Bursa
Güneri ve ark ⁷²	490	6.8	1999-2001	Ege bölgesi
Senol ve ark ⁷³	990	6.6	1999	İzmir
Öztürk ve ark ⁷⁷	62	4.8	2000-2004	Düzce
İsitmez ve ark ⁸⁷	26	7.7	2002-2003	Afyon
Balcı ve ark ⁷¹	264	7.6	1995-1999	Gaziantep
Doğan ve ark ⁸⁶	385	3.4	1999-2004	Sivas
Sürücüoğlu ve ark ⁶⁹	355	7.3	1997-2003	Manisa
Talay ve ark ⁸²	189	6.8	1997-2000	İstanbul
Kısa ve ark ⁸¹	211	1.7	2000-2001	GATA Ankara

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda değerlendirilen suşlarda herhangi bir ilaca direnç ve ÇİD-TB oranlarının DSÖ'nün öngörülebilir düzeyinden yüksek olduğu belirlenmiştir.
2. Bu suşların antitüberküloz ilaçlardan herhangi birine dirençli olma oranı % 26.82 olarak bulunmuştur.
3. Değerlendirilen suşlarda SM, INH, RIF, EMB için ilaç direnci sırasıyla %19.89, %27.63, %9.87, %6.85 olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında ilaç direncinin orta derecede yüksek olduğu gözlenmiştir.
4. Değerlendirilen suşlarda en yüksek direnç oranı INH için belirlenmiştir.
5. Değerlendirilen suşlarda ÇİD-TB oranı %10.05 ve herhangi bir antitüberküloz ilaca direnç oranı ise %26.82 olarak bulunmuştur.
6. Değerlendirilen suşlarda toplam INH ve SM direncinin ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında yüksek, RIF ve EMB direncinin ise düşük olduğu gözlemlenmiştir.
7. BACTEC MGIT 960 sistemi tam otomatize ve kolay uygulanabilir olması, laboratuvarımızdaki sonuçların kültür ve antibiyogram duyarlılıkları 15-33 gün gibi kısa sürede sonuç verebilmesi nedeniyle, ilaca dirençli TB hastalarının erken tanısı ve tedavisi açısından önemli avantajlar sağlayacağı sonucuna varılmıştır.
8. Tedaviye erken başlanması, oluşabilecek komplikasyonlar nedeniyle ölümleri önlemeyi ve hastaları kısa sürede iyileştirmeyi hedeflemektedir.
9. Tüberkülozlu hastalarda erken tedavi ile bulaş önlenmekte ayrıca uygun tedaviyle kazanılacak ilaç direncide önlenebileceği düşünülmektedir.
10. Hastaların tam olarak tedavi edilmesi ailelerini ve toplumu hastalık riskinden kurtaracaktır.

KAYNAKLAR

1. *Global Tuberculosis Control Surveillance, Planing,Financing WHO report 2005* WHO/HTMSTB/ **2005**;349.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Initial therapy for tuberculosis in the era of multidrug resistance: recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. MMWR Mortal Morbid Weekly Rep **1993**; 42 (RR-7):1
3. **Bilgiç H.** Türkiye’de Tüberkülozun Durumu ve Eradikasyon (kontrol) programları: 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, **2003**.
4. **Evans CC.** *Historicalbackground.* In: **Davies PDO, eds.** Clinical Tuberculosis. London:Chapman Hall **1994**;1-18.
5. **Grange JM.** *Mycobacterial disease in the world: Yesterday, today and tomorrow.* In: Radladge C, Stanford J,Grange JM,eds. The biology of Mycobacteria. Vol:3, London: Academic Press:**1989**;3,
6. **Stead WW, Dutt AK.** *Epidemiyoloji ve konak faktörleri.* In: Schlossberg D, eds. (Tetik Kurt C, çeviri editörü.) Tüberküloz. İstanbul: Bilimsel ve Teknik Yayın Çeviri Vakfı, **1995**;1-11.
7. **Bloom BR, Murray CJL.** Tuberculosis: Commentary on a reemergent killer. Science. **1992**;257:1055-64.
8. **Rosman DM, Eyuboğlu AF.** *Clinical presentation and treatment of tuberculosis.* In: Brewis RAL, Corrin B, geddes DM, Gibson GJ. Editors. Respiratory medicine. London: WB saunders, **1995**:s.2490-91.
9. **Kochi A.** *The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization.* *Tubercule* **1991**;72:1-6.
10. **Haas DW,Des Prez Rm.** *Mycobacterium tuberculosis.* In: Mandell GL, Bennet J, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases 4th ed. New York: Churcill Livingstone: **1995**:2213.
11. The Global Plan to Stop TB 2006-2015 Actions for life towards a world free of tuberuculosis WHO/HTM/STB/ **2006**. 35
12. T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savası Daire Başkanlığı: Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. Ankara, **2003**
13. EuroTB (InVS/KNCV) and the national coordinators for tuberculosis surveillance in the WHO European Region. Surveillance of tuberculosis in Europe. Report on tuberculosis cases notified in 2002, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, December, **2004**.
14. **Kart L., Akduman D., Altın R., Tor M., Unalacak M., Beğendik F., Erdem F.,Alparslan U.** *Fourteen-Year Trend of Tuberculosis Dynamics in The Northwest of Turkey.* Respiration. **2003**;70(5):468-474.
15. **Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H.** Türkiye’de tüberkülozun kontrolü için başvuru kitabı. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savası Daire Başkanlığı, Ankara (**2003**).

16. **Gümüşlü F.** 24. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi: Tüberküloz ve Tüberküloz Kontrolü, 16-18 Kasım **2006**, Selçuk Üniversitesi, Konya. 11-14.
17. T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı 06.03.2008 Sayı: B.10.0.VSD.0.00.00.07-610/418 nolu Yazılı Soru Önergesi Cevabı
18. **Öğür O.** *Tarihsel gelişim sürecinde tüberküloz*. Ed. Kocabaş A. Tüberküloz kliniği ve kontrolü. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana: **1991**: 33-37
19. **Akan E.** Tıbbi Mikrobiyoloji. Mycobacteriaceae. Kanyılmaz Matbaası, İzmir: **1993**: 393-443.
20. **Balcı K.** Göğüs hastalıkları. Tüberküloz. Nobel Tıp kitabevi, İstanbul: **1991**: 133-184.
21. **Gümüşlü F, Ceyhan İ, Kocagöz T, Sönmez N.** Tüberküloz laboratuvar rehberi. Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı, **1998**: 1-20.
22. **Kıyan M.** Mycobacteriaceae. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 419-437.
23. **Prof. Dr. Fatih Köksal, Doç. Dr. Akgün Yaman.** Farklı Bir Bakteri Topluluğu: Tüberküloz Basilleri Topluluğu. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, 11 - 12 Haziran **2003**, Samsun
24. **Gedikoğlu S.** *Mycobacterium tuberculosis'in hücre yapısı. İnfeksiyon Derg* **1997**; 11(4: Ek yayın): 13-17.
25. **Kocabaş A.** *Mikobakterilerin yapısal ve antijenik özellikleri*. Kocabaş A ed. Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü. Ankara: Emel Matbaası, **1991**: 47.
26. **Aşçıoğlu SA, Hayran M.** Tüberküloz. İnfeksiyon Bülteni **1996**; 1(1): 5-8.
27. **Anğ Ö, Erturan Z.** Tüberkülozun dönüşü ve direnç sorunu. Anğ Ö, Uzun M, eds. Tüberküloz tanı, direnç, tedavi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No: 26, **1996**: 17-25.
28. **Kılıçturgay K.** Tüberkülozda immunopatogeneze. İnfeksiyon Derg **1997**; 11: 7-10.
29. **Samuelson J.** Infectious Diseases. Cotran RS, Kumar V, Collins T, eds. Robbins pathologic Basis of Disease. 6th ed. Philadelphia, **1999**: 349-351.
30. Bayındır Ü. Solunum sistemi Hastalıkları. **Öbek A**, İç Hastalıkları, 3 baskı. Atlas Ofset, **1988**: 427.
31. **Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornston LN.** Medical Microbiology. 20th eds. Connecticut: Prentice-Hall International INC, **1995**: 263.
32. **Murray PR, Drew WC, Kobayashi GS, Thompson JH.** Medical Microbiology Wolfe Medical Publication Ltd, Mosby Company, **1990**: 218.
33. **Otkun M.** *Tüberküloz Tedavisinde Temel İlkeler ve Direnç Sorunu. Klimik Dergisi*, Cilt 14. Sayı 2. **2001**: 71-82.
34. **Okamoto S, Tamaru A, Nakajima C, Nishimura K, Tanaka Y, Tokuyama S, Suzuki Y, Ochi K.** Loss of a conserved 7-methylguanosine modification in 16S rRNA confers low-level streptomycin resistance in bacteria. *Molecular Microbiology*, **2007**; 63(4): 1096-1106.

35. **Musser JM.** Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clinical Microbiology Reviews*, **1995**(8):496-514.
36. **Özışık NÇ.** Çok İlaça Dirençli Tüberküloz Hastalarında Bactec ve Agar Proporsiyon Yöntemleri ile Saptanan Etionamid Direncinin Klinik Önemi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul **2006**
37. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Mycobacterium tuberculosis* with extensive resistance to second-line drugs worldwide, 2000-2004. *MWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55: 301-5. Erişim: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5511a2.htm> Erişim tarihi: 10.12.2006.
38. World Health Organization Report of the Meeting of the WHO Global Task Force on XDR-TB Erişim: http://www.who.int/tb/xdr/taskforcereport_oct06.pdf. Erişim tarihi: 25.12.2006
39. **Gandhi NR, Moll A et al.** Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet*, **2006**;368:1575-1580
40. **Palomino JC, Leão SC, Ritacco V.** Tuberculosis 2007 From basic science to patient care. 1st Ed. Erişim: TuberculosisTextbook.com. Erişim tarihi 10.02.2007
41. **Zignol M, Hosseini MS, Wright A et al.** Global incidence of Multidrug-resistant tuberculosis. *The Journal of Infectious Diseases*, **2006**;194:479-485.
42. **Aziz MA, Wright A.** The World Health Organization & International Union against Tuberculosis and Lung Disease Global Project on Surveillance for Anti- Tuberculosis Drug Resistance: A model for other infectious diseases. *Clinical Infectious Diseases*, **2005**;v41 (4):258- 262
43. **Aziz MA, Wright A, Laszlo A et al.** Epidemiology of antituberculosis drug resistance (The Global Project on Anti-tuberculosis drug resistance surveillance): an updated analysis. *Lancet* **2006**;(16):368(9553):2142-2154.
44. **Törün T.** Çok İlaça Dirençli Tüberküloz. Erişim: http://www.istabip.org.tr/kg/cilt20sayi1/Cok_ilacla_direncli.pdf. Erişim tarihi: 15.01.2007
45. Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis*. EUCAST Discussion document E.DIS 8.1 December **2001**.
46. NCCLS. Antimycobacterial Susceptibility Testing for *Mycobacterium tuberculosis*; Tentative standart. **1995**
47. **Tansel Ö.** Klasik Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri. Erişim: http://www.klimik.org.tr/pdfs/tuberkuloz/Ozlem_Tansel.pdf. Erişim tarihi: 05.12.2006.
48. **Uzun M.** Örneklerin İşlenmesi ve Kültür Yöntemi. Erişim: http://www.klimik.org.tr/pdfs/tuberkuloz/Meltem_Uzun.pdf. Erişim tarihi: 10.11.2006
49. **Kocagöz T.** Etkin Tüberküloz Tanısı İçin Nerede, Ne zaman, Hangi İnceleme. *ANKEM*, **2007**;21:261-265.
50. **Kiper N.** Çocukluk Çağı Akciğer Tüberkülozu. Erişim: http://www.klimik.org.tr/pdfs/tuberkuloz/Nural_Kiper.pdf. Erişim tarihi: 26.11.2007.

51. **Esen N.** Tanı ve İlaç Duyarlılık Testlerinde Moleküler Yöntemlerin Değeri. Erişim:http://www.klimik.org.tr/pdfs/tuberkuloz/Nuran_Esen.pdf. Erişim tarihi: 18.11.2006
52. **Kayar MB.** Mycobacterium tuberculosis suşlarında Direncin Moleküler Yöntemlerle Tespiti.Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD.Adana 2007
53. **Rossau R, Traore H, De Beenhouwer H et al.** Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and its resistance to rifampin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 1997;41:2093-2098
54. **Makinen J, Marttila HJ, Marjamaki M, Viljanen MK, Soini H.** Comparison of two commercially available DNA line probe assays for detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006;44:350-352.
55. Guidelines for National Programmes. Treatment of Tuberculosis.WHO/TB/1997.220
56. **Uçan E. S.** Çoklu Dirençli Tüberküloz (MDRTB) Türkiye ve Dünyadaki Önemi. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı Kusadası-Aydın. 112,19 - 23Eylül 2004
57. Centers for Disease Control and Prevention. Initial therapy for tuberculosis in the era of multi idrug resistance: recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. MMWR Mortal Morbid Weekly Rep 1993; 42 (RR-7):1
58. **Özakın C., Gedikoğlu S.**Tüberküloz Tanısında Tüberküloz Laboratuvarının rolü : Tanı ve ilaç Duyarlılık Testlerinde Rutin laboratuvar Yöntemlerinin Değeri: 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı YöntemleriKursu, Samsun, 2003
59. **Çavuşoğlu C.** Mycobacterium tuberculosis'de Moleküler Antibiyotik Duyarlılık Test yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003
60. **Sarıbaş S., Bağdatlı Y., Yıldız N.** BACTEC MGIT 960 Sistemi ile Tüberküloz tanısı.İnfeksiyon dergisi. 18 (2): 149-153, 2004.
61. **Saitoh H., Yamane N.** Comparative Evaluation of BACTEC MGIT 960 System with MB/Bact And Egg-Based Media For Recovery of Mycobacteria]. Rinsho Biseibutshu. Jinsoku. Shindan. Kenkyukai. Shi. 11 (1):19-26, 2000.
62. **Lee J.J., Suo J., Lin C.B.,Wang J.D., Lin T.Y., Tsai Y.C.** Comparative evaluation of the BACTEC MGIT 960 system with solid medium for isolation of mycobacteria. Int. J Tuberc. Lung Dis. 7 (6): 569-574, 2003.
63. **Tortoli E., Benedetti M., Fontanelli A., Simonetti M.T.** Evaluation of automated BACTEC MGIT 960 system for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to four major antituberculous drugs: comparison with the radiometric BACTEC 460TB method and the agar plate method of proportion. *J Clin. Microbiol.* 40 (2): 607-610, 2004.
64. **Bermer P., Palicova F., Gerdes S.R., Drugeon H.** Multicenter Evaluation of Fully Automated BACTEC Mycobacteria Growth _ndicator Tube 960 System For Susceptibility Testing Of *Mycobacterium tuberculosis* . J Clin Microbiol. 40 (1): 150-154, 2002.
65. **Taşova Y., Yaman A., Saltoğlu N., Erdurak Ö., İnal S., Dündar İ.H.** Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda Tüberküloz İlaçlarına Karşı Saptanan Direnç Oranları: İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection).11 (2): 97-101, 1997.

66. **Durmaz R.** *Mycobacterium Tuberculosis*' de Direnç Sorunu. ANKEM Derg.19(2):107-110, 2005.
67. **Yolsal N., Malat G., Dişçi R., Örkün M., Kılıçaslan Z.** Türkiye'de Tüberküloz İlaçlarına Direnç Sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 Yılları için Karşılaştırılması:Meta-Analiz: Klinik Dergisi. 11(1): 6-9, 1998.
68. **Kızkın Ö., Hacıevliyagil S.S., Türker G., Günen H.** The cost of treatment in new case and multidrug resistant case in pulmonary tuberculosis. Tuber Toraks.51(4): 410-415, 2003.
69. **Sürücüoğlu S., Özkütük N., Çelik P., Gazi H., Dinç G., Kurutepe S., Köroğlu G. Havlucu Y., Tuncay G.** Drug-resistant pulmonary tuberculosis in western Turkey:prevalence, clinical characteristics and treatment outcome. Ann. Saudi. Med. 25 (4):313-318, 2005
70. **Bengisun J.S., Karnak D., Palabıyıkoglu I., Saygun N.** Mycobacterium tuberculosis drug resistance in Turkey, 1976-97. Scand. J Infect. Dis.32(5): 507-510,2000.
71. **Balcı I., Dikensoy O., Bayram A., Filiz A.** Drug-resistant tuberculosis at the University Hospital in Gaziantep, South-eastern Turkey. J Int. Med. Res. 28 (6): 300-306, 2000.
72. **Güneri S., Ünsal I., Öztop A., Erkut M., Avkan O. V., Özgü A., Çakmak R.** The resistance rates of Mycobacterium tuberculosis strains to antituberculosis drugs: evaluation of two years' data in Aegean region, Turkey. Mikrobiyol. Bul. 38 (3):203-212, 2004
73. **Şenol G., Kömürcüoğlu B., Kömürcüoğlu A.** Drug resistance of Mycobacterium tuberculosis in Western Turkey: a retrospective study from 1100-bed teaching hospital. J Infect.50(4):3006-311, 2005.
74. **Durmaz R., Özerol I.H., Durmaz B., Gunal S., Şenoğlu A., Evliyaoğlu E.** Primary drug resistance and molecular epidemiology of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients in a population with high tuberculosis incidence in Turkey. *Microb. Drug Resist.* 9 (4): 361-366, 2003.
75. **Tansel Ö., Yüksel P., Kuloğlu F., Akata F.** Mycobacterium tuberculosis Suşlarının Antitüberküloz İlaçlara Direnci: Trakya Üniversitesi Hastanesi'nin iki Yıllık Sonuçları: Enfeksiyon dergisi; 17 (1): 23-26,2007
76. **Oktun M., Akata F., Karabay O., Tabakoğlu E., Tuğrul M., Dündar V.** Trakya Üniversitesi Hastanesi'ne 1996 Yılı içinde Başvuran Tüberkülozlu Olgularda Antitüberküloz İlaçlarına Direnç: Enfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection).11 (3): 191-197, 1997.
77. **Öztürk C.E., Balbay O.A., Kaya D., Ceyhan I., Bulut I., Şahin I.** The Resistance to Major Antituberculous Drugs of Mycobacterium tuberculosis Strains Isolated from the Respiratory System Specimens of Tuberculosis Patients in Duzce, Turkey. Jpn. J Infect. Dis. 58 (1):47-49, 2005.
78. **Çetinkaya E., Özlü T.** Elazığ ili Verem Savaş Dispanserindeki Erişkin Akciğer Tüberkülozlu Olgularda Primer ve Sekonder Direnç: Solunum. 20: 197-202, 1996.
79. **Arseven O., Eraksoy H., Uzun Y., Sepkin C., Kalaycıoğlu A., Özmenoğlu M., Bölükbaşı O.** Doğu Karadenizde Tüberküloz ilaçlarına Direnç Durumu: Klinik Dergisi. 8(2): 63-67, 1995.
80. **Sözen H.** Isparta Yöresinde izole Edilen Mycobakterium tuberkulosis Suşlarında Antitüberküloz İlaçlarının Direnç Paternlerinin Araştırılması:Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi., Isparta, 2000

81. **Kısa O., Albay A., Baylan O., Balkan A., Doğancı L.** Drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a retrospective study from a 2000-bed teaching hospital in Ankara, Turkey. *Int. J Antimicrob. Agents.* 22 (4):456-457, **2003**.
82. **Talay F., Altın S., Karasulu L., Kümbetli S.**İstanbul Eyüp Verem Savaş Dispanserinde 1997-2000 Yıllarında Belirlenen ilaç Direnç Oranları. *Van Tıp Dergisi.* 10 (1), **2003**.
83. **Yüce A., Hatipoğlu O., Uçan E.S., Kırdar S., Akkoçlu A.**Tüberküloz İlaçlarına Karşı Primer Direnç: infeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 8 (3-4): 95-98, **1994**.
84. **Goral G., Aydın O., Ekici M.** Acquired drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from treated patients in the province of Bursa, Turkey. *Clin. Microbiol. Infect.* 3 (5): 545-548, **1997**.
85. **Doğan Ö.T., Özşahin S.L., Kaya S., Bakıcı M.Z., Yıldız A.I.** Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde 1999 itibaren Takip Edilen Ardışık 385 Olguda Antitüberküloz ilaç Direnci: C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi. 26 (2): 81-84, **2004**.
86. **Bayraktar O., Köksal I., Aydın K., Caylan R., Özen D., Yücel O., Sucu N.** Drug resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* in a technical university medical faculty in Turkey, 2000-2004: 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). 02.04.2005 - 05.04.2005
87. **İşitmez M., Çetinkaya Z., Altındış M., Çiftçi İ.H., Fidan F.** Afyon Bölgesinde Löwenstein-Jensen, Bactec Ve TK Medium Yöntemleri ile izole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Dört Major ilaca Karşı Dirençlerinin Belirlenmesi: Kocatepe Tıp Dergisi. 5: 45-48, **2004**.
88. **Aydın O.** Zonguldak İlinde izole edilen *Mycobacterium Tuberculosis* suşlarının primer Anti-tüberküloz ilaçlarına Duyarlılığın Bactec Mgit 960 sistemiyle Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Zonguldak **2006**.
89. **Oğuz V.A., Akbal H., Sarıbaş S., Karagöz T., Öztürk R.** Edinsel çok İlaça Dirençli *Mycobacterium Tuberculosis* Suşlarının Major ve Minör Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılığı: İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 14 (3): 383-386, **2000**.
90. **Chia-Chuan Yu, Chih-Yen Chang, Chun-Eng Liu, Li-Fong Shih, Ju-Hua Hsiao, Chang-Hua Chen.** Drug Resistance Pattern of *Mycobacterium Tuberculosis*Complex at a Medical Center in Central Taiwan, 2003–2007. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* **2010**;43(4):285–290
91. **Yaman A., Dünder H., Aksungur P., Apan T.** *Mycobacterium tuberculosis*'in izolasyonunda Bactec Sistemi ile Löwenstein-Jensen in Kıyaslanması ve İlaç Hassasiyetlerinin Bactec ile değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*,28:189-198 **1994**

ÖZ GEÇMİŞİM

31.12.1985 tarihinde Adana’da doğan Esra ZORLUER, 1997’de Cemil Nardalı İlkokulunu, 1999’ de Akkapı Şehit Kemal Yüzgeç Orta Okulunu, 2003’de Yabancı Dil Ağırlıklı Anafartalar Lisesini bitirdi. 2003 yılında kazandığı Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2007 yılında mezun oldu.

2007 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.