

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK İLİNDE İZOLE EDİLEN
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ PRİMER
ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARINA DUYARLILIĞIN
BACTEC MGIT 960 SİSTEMİYLE BELİRLENMESİ**

Dr. Osman AYDIN

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ZONGULDAK

2006

T.C.
ZONGULDAK KARAEELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZONGULDAK İLİNDE İZOLE EDİLEN
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUŞLARININ PRİMER
ANTİTÜBERKÜLOZ İLAÇLARINA DUYARLILIĞIN
BACTEC MGIT 960 SİSTEMİYLE BELİRLENMESİ**

Dr. Osman AYDIN
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Füsun BEĞENDİK CÖMERT

ZONGULDAK
2006

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana verdikleri emekleri ve tezimin hazırlanmasındaki özverili katkılarından dolayı bölüm başkanımız Sayın Yrd. Doç. Dr. Füsün Beğendik Cömert, hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Canan Külâh, Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif Aktaş ve Sayın Öğr. Gör. Dr. Özlem Eroğlu'na teşekkürü borç bilirim.

Zonguldak iline ait tüberküloz verileri ile ilgili bilgilere ulaşmamda yardımlarından dolayı Dr. Ümit Sabit Alparıslan ve Lab.Tek. Süleyman Savran'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim ve tezimi hazırlama sürecinde yardımlarını esirgemeyen Araştırma görevlisi ve laboratuvar çalışanlarımıza teşekkür ederim. Tüm asistanlık hayatım boyunca her türlü konuda daima destek olan eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Osman AYDIN
2006, ZONGULDAK

ÖZET

AYDIN O., Zonguldak İlinde İzole Edilen *Mycobacterium Tuberculosis* Suşlarının Primer Antitüberküloz İlaçlarına Duyarlılığın BACTEC MGIT 960 Sistemiyle Belirlenmesi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi. Zonguldak, 2006.

Zonguldak ili 2003-2005 yılları arası tüberküloz insidansı ortalama 21.6/100000 olarak belirlenmiştir. Ancak antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada Zonguldak ilinde 2003-2005 yılları arasında izole edilmiş olan 125 *M. tuberculosis* suşunun primer antitüberküloz ilaçlarına duyarlılıklarının BACTEC MGIT 960 sistemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Suşların izole edildikleri hastaların yaş ortalaması 42.5 ± 1.9 (8-81 yaş) olarak bulunmuştur. Suşların % 86.4'ü solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Hastaların 99'unun (% 79.2) yeni tanı konulmuş, 14'ünün (% 11.2) daha önce tanı konulmuş ve tedavi almış hastalar olduğu gözlenmiştir. Suşların 87'si (% 69.6) primer antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı iken, 38'si (% 30.4) en az bir antitüberküloz ilaca dirençli ve 4'ü (% 3.2) primer antitüberküloz ilaçların tümüne dirençli bulunmuştur. Değerlendirmeye alınan suşlar için genel direnç oranları streptomisin, izoniyazid, rifampisin, etambütol ve çok ilaca direnç için sırasıyla % 19.2, % 23.2, % 8.0, % 4.0 ve % 8 olarak bulunmuştur. Streptomisin, izoniyazid, rifampisin, etambütol için primer direnç sırasıyla %13.1, % 18.2, %2.0, %3.0 olarak bulunmuştur. Sekonder direnç oranları ise sırasıyla % 50.0, % 42.9, % 35.7, % 14.3 olarak bulunmuştur. Primer ve sekonder çok ilaca direnç oranları sırasıyla % 2.0 ve % 35.7 olarak bulunmuştur. Suşların 14'ü (% 11.4) iki ilaca dirençli, 4'ü (% 3.2) üç ilaca dirençli ve 4'ü (% 3.2) dört ilaca dirençli olarak bulunmuştur. Sadece streptomisine dirençli suş 8 (% 6.4), sadece izoniyazide dirençli suş 12 (% 9.6), sadece rifampisine dirençli suş 0 (% 0.0) ve sadece etambütöle dirençli suş 0 (% 0.0) olarak bulunmuştur. En yüksek direnç streptomisin ve izoniyazide karşı bulunmuştur. Sekonder ilaç direnci de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, primer ilaç direnci, sekonder ilaç direnci

SUMMARY

AYDIN O., Determination of susceptibilities of Mycobacterium tuberculosis strains isolated from patients in Zonguldak to primary antituberculosis drugs by BACTEC MGIT 960 Zonguldak Karaelmas University, School of Medicine, Microbiology and Clinical Microbiology Thesis. Zonguldak, 2006. Incidence of tuberculosis in Zonguldak between 2003 and 2005 is approximately 21.6/100000. However, there are no studies in the literature about antituberculosis drug susceptibilities in the region. In this study susceptibility of 125 *M. tuberculosis* strains to primary antituberculosis drugs were tested by BACTEC MGIT 960. Mean age of the patients from whom the strains were isolated was 42.5±1.9 (8-81). 86.4 % of strains were isolated from respiratory samples. Ninety-nine of the patients were newly diagnosed while 14 (11.2 %) were previously treated cases. Among the strains, 87 (69.6 %) were sensitive to all of the antituberculosis drugs, 38 (30.4 %) were resistant to at least one antituberculosis drug and 4 (3.2 %) were resistant to all antituberculosis drugs. Among the evaluated strains; resistance to streptomycin, isoniazide, rifampicin, ethambutol was 19.2 %, 23.2 %, 8.0 %, 4.0 %, respectively while multidrug resistance was 8 %. Primary resistance to streptomycin, isoniazide, rifampicin and ethambutol was 13.1 %, 18.2 %, 2.0 % and 3.0 %, respectively. Secondary resistance rates were 50.0 %, 42.9 %, 35.7 % and 14.3 %, respectively. Primary and secondary multidrug resistance rates were 2.0 % and 35.7 %. Fourteen strains (11.4 %) were resistant to two, 4 (3.2 %) strains are resistant to four drugs. 8 (6.4 %) strains were resistant to only streptomycin and 12 (9.6 %) strains were resistant to only isoniazide. There were no strains resistant to only rifampicin or ethambutol. The highest resistance rates were detected for streptomycin and isoniazide. Secondary drug resistance was significantly high.

Key words: Tuberculosis, primary drug resistance, secondary drug resistance

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v-vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2-16
2.1. Bakteri Hakkında Genel Bilgiler.....	2-3
2.2. Dünyada Tüberküloz.....	3-4
2.3. Türkiye’de Tüberküloz.....	4-6
2.4.Zonguldak Yöresinde Tüberküloz	7
2.5. <i>M. Tuberculosis</i> ve İlaç Direnci.....	7-10
2.5.1.Dünyada İlaç Direnci.....	9
2.5.2Türkiye’de İlaç Direnci.....	9-10
2.6.Duyarlılık Testleri.....	10-16
2.6.1. Fenotipik Yöntemler.....	11-16
2.6.1.1.Klasik Kültür Yöntemleri ile Yapılan Duyarlılık Testleri.....	12-13
2.6.1.2.Hızlı Kültür Besiyerleri ile Yapılan Duyarlılık Testleri.....	13-14
2.6.1.3.Kolorimetrik Kültür Sistemi.....	14-15
2.6.1.4.Kültür Dışı Yöntemler.....	15-16
2.6.2. Genotipik Yöntemler.....	16
GEREÇ VE YÖNTEM.....	17-20
3.1.Örneklerin İşlenmesi.....	17-18
3.1.1.Homojenizasyon ve Dekontaminasyon.....	17
3.1.2.Kültür Yapılması.....	17-18
3.2.Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	18-19

3.2.1. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması.....	18
3.2.2. İnokulum Hazırlanması.....	18-19
3.2.3 Antibiyogram İşlemi.....	19
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	19-20
3.4. Kalite Kontrol.....	20
3.5. İstatistiksel Analizler.....	20
BULGULAR.....	21-23
4.1. Suşların Genel Özellikleri.....	21
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları.....	22-23
4.3. Standardizasyon Kontrol Test Sonuçları.....	24
TARTIŞMA.....	25-33
SONUŞLAR VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR.....	35-42

SİMGELER VE KISALTMALAR

TB	Tüberküloz
ÇİD-TB	Çok ilaç dirençli tüberküloz
ARB	Aside dirençli (resistan) bakteriler
MOTT	Mycobacteria other than <i>M. tuberculosis</i>
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DOTS	Directly Observed Treatment Strategy
VSDB	Verem Savaşı Daire Başkanlığı
VSD	Verem Savaş Dispanseri
ZVSD	Zonguldak Verem Savaş Dispanseri
SM	Streptomisin
INH	İzoniyaad
EMB	Etambutol
RIF	Rifampisin
CDC	Center for Diseases Control,
NCCLS	National Committy for Clinical Laboratory Standards
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
L-J	Loweinstein Jensen
EVSD	Karadeniz Ereğli Verem Savaş Dispanseri
NALC	N-Asetil-L-Sistein
NaOH	Sodyum hidroksit
GU	Growth Unit
MGIT	Mycobacteria growth indicator tube
Z.K.Ü.	Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
BAL	Bronkoalveoler lavaj
BOS	Beyin omurilik sıvısı
AMS	Açlık mide sıvısı

TABLÖLAR

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Mycobacterium türlerinin sınıflandırılması	3
Tablo 2.2. Türkiye’de 1953-1959 ve 1980-1982 yıllarındaki tüberküloz infeksiyon havuzu	5
Tablo 2.3. 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgeye göre TB insidansı. (100.000’de).....	6
Tablo 2.4. Antitüberküloz ilaçlarda dirençten sorumlu olan mekanizmalar	9
Tablo 2.5. Tüberküloz antimikrobiyal duyarlılık belirlenmesinde kullanılan fenotipik yöntemler	12
Tablo 3.1. MGIT tüplerine eklenen ilaç konsantrasyonları	18
Tablo 4.1. Çalışmaya alınan suşların örneklerle göre dağılımı	21
Tablo 4.2. İncelenen suşlarda yıllara göre primer antitüberküloz ilaçlarına direnç	22
Tablo 4.3. İncelenen suşlarda belirlenen primer direnç oranları	23
Tablo 4.4. İncelenen suşlarda belirlenen sekonder direnç oranları	23
Tablo 4.5. Birden çok ilaca dirençli TB suşları	23
Tablo 4.6. Standardizasyon test sonuçları	24
Tablo 5.1. Ülkemizde değişik il veya bölgelerde yapılmış olan çalışmalarda belirlenmiş olan herhangi bir ilaca direnç oranları	27
Tablo 5.2. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen primer ilaç direnci oranları	28
Tablo 5.3. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen sekonder ilaç direnci	29
Tablo 5.4. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları	30
Tablo 5.5. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen ÇİD-TB oranları	32
Tablo 5.6. Ülkemizde yapılan çalışmalarda elde edilen primer ve sekonder ÇİD-TB oranları	33

ŞEKİLLER

No

Sayfa

Şekil.2.1. Türkiye’de 1985-2001 yılları arasında tüberküloz insidansı..... 6

Şekil 2.2. Zonguldak ilinin 1988-2001 yılları arasında tüberküloz insidansı..... 7

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 sürdürmüştür (1). Tüberküloz (TB) hastalığı, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelerine rağmen günümüzde halen önemi korumaktadır. 1980'li yıllardan itibaren, özellikle de HIV infeksiyonunun ortaya çıkması ile hem tüberküloz insidansında, hemde dirençli suşlarla oluşan infeksiyon oranlarında artış gözlenmektedir (1).

Gelişmekte olan ülkelerde uygulanan TB tedavi programlarının çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) prevalansının 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 önerilmektedir (2).

Hastalığın erken tanısı ve primer antitüberküloz ilaç duyarlılığının hızlı bir şekilde saptanması ÇİD-TB kökenlerin kontrolünde ve etkili tedavide yaşamsal bir rol oynamaktadır (3). ÇİD-TB vakalarının belirlenmesi, bu vakaların tedavisinin sağlanması ve izolasyon önlemlerinin alınması açısından önemlidir.

Bu çalışmada Zonguldak ilinde 2003-2005 yılları arasında izole edilen toplam 125 *M. tuberculosis* suşunun primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, USA) sistemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MİKOBAKTERİLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Mikobakteriler aerop, sporsuz, hareketsiz, 0.2-0.6 µm eninde ve 1-10 µm boyunda, çomak morfolojisinde olan bakterilerdir. Mikroskopik olarak dallanmış, uzun filamentöz veya kokoidal formda görülebilmektedirler. Hücre duvar yapıları diğer bakterilerden belirgin farklılıklar göstermekte, yüksek oranda lipid ve mikolik asit içermektedir. Hücre duvarının bu yapısı nedeniyle Gram boyasıyla iyi boyanmamakta, asit-alkol karışımı ile yapılan dekolarizasyona direnç göstermekte, aside dirençli (resistan) bakteriler (ARB) olarak isimlendirilmektedirler (3,4,5). Yavaş üreme hızına sahip olan mikobakteriler 18-24 saatte ikiye bölünmekte, standart kültür ortamında ortalama 10-15 günde gözle görünür koloni oluşturmaktadır. Koloni morfolojisi türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Bazı türler pigment üretme özelliğine sahiptir (4,5,6).

Bilimsel literatüre 1896 yılında girmiş olan Mycobacterium cinsi, mikolik asit üretme ve benzer Guanin+Cytosine (G+C) oranına sahip olma gibi özellikleri nedeniyle *Corynebacterium* ve *Nocardia* ile birlikte *Actinomycetales* takımında sınıflandırılmıştır (5). Bu cins içinde 80'den fazla tür tanımlanmıştır. Bakteriyolojik özellikleri ve DNA benzerlikleri nedeniyle birbirleriyle yakın ilişkili türler "kompleks" başlığı altında toplanmaktadır. *M. tuberculosis*, TB hastalığının etkeni olan mikroorganizmadır. *M. tuberculosis* kompleksi dışında kalan tüm mikobakteriler tüberküloz dışı mikobakteriler [*Mycobacteria other than M. tuberculosis* (MOTT)] olarak adlandırılmaktadır. Bu grup bakterilerin çoğu doğada yaygın olarak bulunur ve insanda hastalık oluşturmaz. Ancak bazı MOTT türleri özellikle immun sistemi baskılanmış insanlarda TB dışı hastalıklar meydana getirir. MOTT türleri pigment oluşturma, üreme süresi ve koloni özelliklerine göre, fotokromojen: (Runyon grup I), skotokromojen (Runyon grup II) ,kromojen olmayan (Runyon grup III) ve hızlı üreyenler (Runyon grup IV) olarak sınıflandırılmıştır. Mycobacterium türlerinin sınıflandırılması Tablo 2.1'de gösterilmiştir (4,5,6).

Tablo 2.1. Mycobacterium türlerinin sınıflandırılması

Tüberküloz etkeni	<i>M.tuberculosis complex</i>	<i>M. tuberculosis</i> <i>M. africanum</i> <i>M. bovis</i> subsp. <i>bovis</i> <i>M. bovis</i> BCG <i>M. caprae</i> <i>M.microti</i> <i>M.canettii</i> <i>M.pinnipedii</i>
Grup I: fotokromojen	<i>M. kansasii</i> <i>M. marinum</i> <i>M.simiae</i> <i>M.asiaticum</i> <i>M.intermedium</i> <i>M.novocastrense</i>	
Grup II:skotokromojen	<i>M. szulgai</i> <i>M. scrofulaceum</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. haemophilum</i> <i>M. gordonae</i>	
GrupIII: nonkromojen	<i>M. avium complex</i>	<i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> <i>M.paratuberculosis</i>
	<i>M. xenopi</i> <i>M. ulcerans</i> <i>M.malmoense</i> <i>M.genavense</i>	
GrupIV:Çabuk üreyenlek	<i>M. fortuitum-chelonae complex</i>	<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i>
	<i>M.smegmatis</i> <i>M.peregrinum</i> <i>M.goodii</i> <i>M.septicum</i>	
Kültürü yapılamayan	<i>M. leprae</i>	

2.2. DÜNYADA TÜBERKÜLOZ

Tüberküloz, yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren kontrol altına alınmaya başlanmış, ancak özellikle de HIV enfeksiyonunun 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 bulunmuştur (1).

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 bildirilmektedir (1). 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 oluşturmaktadır (1). 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 milyon ulaşacağı, bunların 3 milyonunun HIV enfeksiyonu ile birlikte olacağı ve bunların 800 bin 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 planlamaktadır (7).

2.3. TÜRKİYE'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 almamaktadır (8).

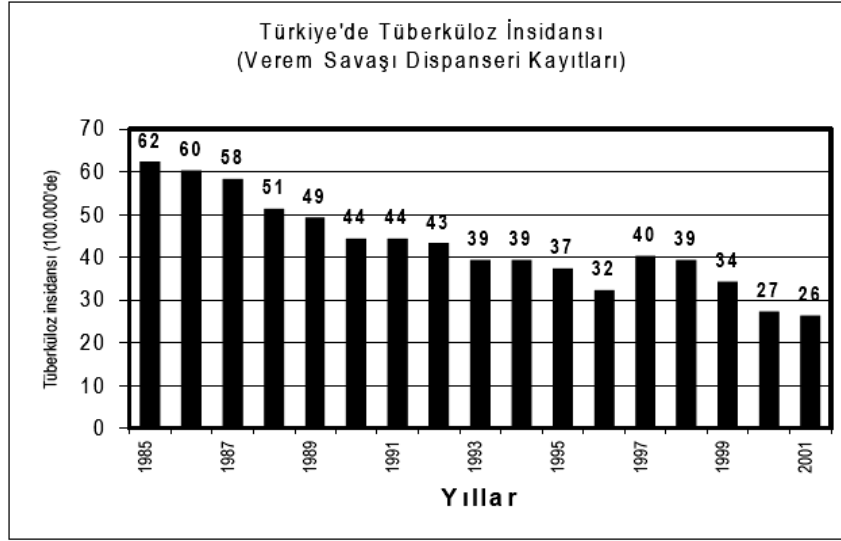
Ülkemizdeki verilerin yetersiz olması nedeniyle, TB ile enfekte nüfus oranının, yani enfeksiyon havuzunun büyük olduğu ancak tahmin edilebilmektedir. Enfeksiyon havuzu konusunda 1953-1959 yılları ve 1980-1982 yıllarının kapsayan iki döneme ilişkin veriler mevcuttur (Tablo 2.2) (8). Tablo 2.2'de görüldüğü gibi 1953-1959 yılları arasında nüfusun %56'sı ve 1980-1982 yılları arasında nüfusun %25'inin enfekte olduğu görülmektedir. Ancak 1982 yılından sonra ülkemizde prevalans çalışması yapılmamıştır. BCG aşısının rutin uygulanması nedeniyle ülkemizde enfeksiyon riski hesaplanamamaktadır

Tablo 2.2.Türkiye’de 1953-1959 ve 1980-1982 yıllarındaki tüberküloz infeksiyon havuzu (8).

	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 görülmektedir (8). 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 bildirilmiştir (9). Verem Savaş Dispanserlerine (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 edilmektedir (8).

VSD’leri verilerine göre Türkiye’de 1985-2001 yılları arasında TB insidansı Şekil 2.1’de gösterilmiştir. 1985 yılından sonra TB insidanda bir azalma olduğu görülmektedir. 1985’de ülkemizde TB insidansı 62.0/100.000 iken, 2001 yılında 26.0/100.000’ne gerilemiştir (3).



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

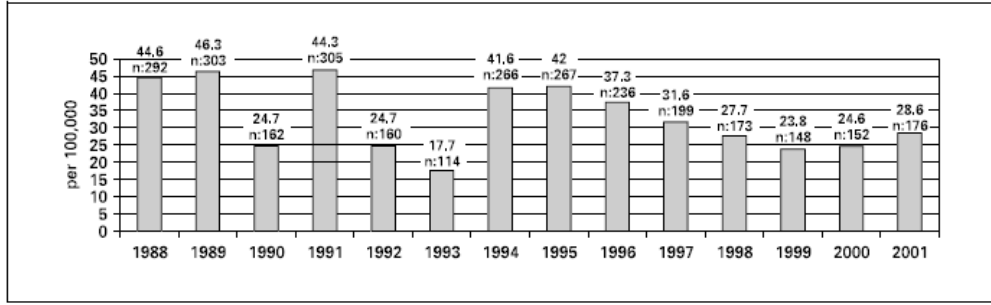
Ülkemizde TB hastalığının insidansı bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Tablo 2.3.’de 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgeye göre TB insidansı görülmektedir. En yüksek TB insidansı Marmara Bölgesi’nde, en düşük TB insidansı ise İç Anadolu Bölgesi’nde olduğu dikkati çekmektedir. Marmara ve Ege Bölgesindeki yüksek vaka oranları, bu bölgelerin, düşük gelirli bölgelerden çok fazla göç alması ile açıklanmaktadır (10).

Tablo 2.3. 1985-1999 yılları arasında ülkemizde bölgeye göre TB insidansı (100.000’de) (10).

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
Güney Doğu 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

2.4. ZONGULDAK YÖRESİNDE TÜBERKÜLOZ

İlimizde 1988-2001 yılları arasında TB insidansı Şekil.2.2’de gösterilmiştir (10). Kuzeybatı Anadolu’da TB vaka oranlarının ülkemizin diğer bölgelerine göre düşük olduğu bildirilmektedir. Bu durumun, bölgenin sosyo-ekonomik olarak orta düzeyde gelişmiş ve kısmi olarak endüstriyelleşmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (10).



Şekil 2.2.Zonguldak ilinin 1988-2001 yılları arasında TB insidansı (10).

Zonguldak Verem Savaş Dispanseri (ZVSD) verilerine göre ilimizde TB insidansı 2002 yılında 23/100000, 2003 yılında 25/100000, 2004 yılında 20/100000 ve 2005 yılında 20/100000 olarak belirlenmiştir (11).

2.5. *M. tuberculosis* ve İLAÇ DİRENCİ

1944’de Waksman tarafından ilk TB ilacı olan streptomisin (SM), 1952 yılında Robizek ve Selikof tarafından izoniyazid (INH)’in,1954 yılında pirazinamid (PZA), 1962 yılında etambutol (EMB) ve 1966 yılında rifampisin (RIF) bulunmasından sonra kombine tedavi uygulanarak TB tedavi edilebilir bir hastalık haline gelmiştir (12,13). TB tedavisinde kullanılan ilaçlar primer ve sekonder ilaçlar olarak başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Primer ilaçlar; INH, RIF, PZA, EMB ve SM dir. Etambutol dışındaki primer ilaçlar bakterisidal etkinlik göstermektedir. Sekonder ilaçlar ise sikloserin, etiyonamid, kanamisin, kapreomisin ve paraaminosalisilik asit gibi daha toksik ve daha az tolere edilebilen ilaçlardır (12,14,15). Son 20 yılda AIDS olgularının artması ve bu hastalığın ileri döneminde olguların yaklaşık 1/3’ünde MOTT Grubu mikobakterilere bağlı dissemine atipik TB enfeksiyonu gelişmesi yukarıdaki sınıflandırmaya “MOTT türü mikobakterilere karşı kullanılan” ilaçlar

sınıfının eklenmesini gerektirmiştir. MOTT grubu mikobakteriler yukarıda belirtilen birinci sınıftaki ilaçlara ve ikinci sınıftakilerin çoğuna dirençlidir. Bu üçüncü sınıfta bulunan ilaçlar rifabutin, makrolid antibiyotikler olan klaritromisin ve azitromisin, fluorokinolon türevleri olan siprofloksasin ve ofloksasin, aminoglikozitlerden amikasin ve bir lepra ilacı olan klofazimin'dir (12,14).

M. tuberculosis'de ilaç direnci her antibiyotik için farklı sıklıkta olmak üzere tek basamaklı, rastgele, spontan kromozomal mutasyonlar sonucu oluşmaktadır. Birçok bakteride görülenin aksine *M. tuberculosis*'de plazmid veya transpozon aracılığı ile oluşan horizontal gen transferine bağlı direnç görülmemektedir. Spontan direnç oranları sırasıyla INH, RİF, EMB ve SM için 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-6} ve 10^{-5} olarak gerçekleşmektedir (15,16,17,18). Kromozomlar üzerindeki direnç bölgeleri birbirleriyle bağlantılı olmadıklarından, bakterinin iki ilaca birden spontan direnç geliştirmesi, her bir ilaç için mevcut olan olasılıkların çarpımına eşittir. Örneğin INH ve RİF direncinin birlikte görülme olasılığı 10^{-14} dür. Primer ilaçlara direnç gelişiminde rol oynayan genler Tablo 2.4'de gösterilmiştir. Bu durumda teorik olarak bakteri popülasyonunda çok az sayıda olsa da genetik olarak ilaç direnci olan kökenler bulunabilmektedir. Hastalarda tek antibiyotik veya düzensiz antibiyotik kullanılması duyarlı mikroorganizmaları baskılamakta ve ilaca dirençli kökenler seçilerek baskın hale gelmektedir (15,16,17,18).

İlaç direnci TB kontrolünü etkileyen en önemli sorunlardan biridir. İlaça dirençli TB, bir ya da daha fazla antitüberküloz ilaca karşı dirençli basil çıkaran hasta olarak tanımlanmaktadır. Birincil direnç (primer direnç); daha önce hiç TB tedavisi almamış ya da bir aydan daha kısa süre TB ilacı kullanmış hastadaki dirençtir. Hastanın daha önceden tedavi görüp görmediği konusunda şüphe varsa başlangıç direnci terimi kullanılmaktadır. Başlangıç direnci, birincil direnç ve bilinmeyen edinsel direnci kapsamaktadır. Edinsel direnç (sekonder direnç), daha önce 1 aydan fazla TB ilacı kullanmış hastadaki dirençtir ve önceden kullanılmış bu ilaçlara bağlı gelişir. Eğer birincil dirençli bir hastada daha sonra başka bir ilaca edinsel direnç gelişirse mikst tip dirençten söz edilir. En az RİF ve İNH'e dirençli basil, çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) olarak tanımlanır. İlaç direncinin en ağır şeklidir. ÇİD-TB'un tedavisi zordur. ÇİD-TB yüksek morbidite ve mortalitesi ile önemli bir sağlık sorunudur (14,21,22,23)

Tablo 2.4. Antitüberküloz ilaçlarda dirençten sorumlu olan mekanizmalar (15,16,17).

İlaç	Direnç geni	Mekanizma
Rifampisin	<i>rpoB</i>	RNA polimeraz inhibisyonu
Izoniyazid	<i>katC</i>	Katalaz-peroksidaz enzim inhibisyonu
	<i>inhA</i>	Enoil redüktaz enzim inhibisyonu
	<i>ahpC</i>	Alkilhidroperoksidaz enzim inhibisyonu
Streptomisin	<i>rrs</i>	16S rRNA inhibisyonu
	<i>rpsL</i>	Ribozomal S 12 proteini inhibisyonu
Pirazinamid	<i>pncA</i>	Pirazinamidaz enzim inhibisyonu
	IS6110 insertion	
Etambütol	<i>embB</i>	Arabinozil transferaz inhibisyonu

2.5.1. Dünyada İlaç Direnci

Primer TB ilaçlarına direnç tüm dünyada hızla artmaktadır (23). En sık direnç saptanan ülkeler eski Sovyet Bloku, Batlık Ülkeleri, Arjantin, Hindistan ve Çin'dir. Direnç oranlarında kıtalar ve ülkeler arasında ciddi farklılıklar mevcuttur. Tek ilaca direnç Andora, İzlanda, Malta'da %0 iken, Kazakistan'da % 57.1 dir (23). DSÖ'nün 2004 yılında 74 ülkede yaptığı antitüberküloz ilaç direncine yönelik çalışmada, daha önce tedavi aldığı bilinmeyen yeni vakalarda sadece bir ilaca ortalama direnç oranı % 10.2, sadece INH, RİF, EMB ve SM'ye ortalama direnç oranları sırasıyla % 5.6, % 1.4, % 0.8 ve % 6.3 olarak belirlenmiştir. Bu vakalarda ÇİD-TB ortalama oranı % 1.1 bulunmuştur. Daha önce tedavi görmüş eski vakalarda herhangi bir ilaca karşı ortalama direnç oranı % 18.4, sadece INH, RİF, EMB ve SM'ye ortalama direnç oranları sırayla % 4.4, % 8.7, % 35 ve % 11.4 olarak belirlenmiştir. Bu vakalarda ise ÇİD-TB ortalama oranının % 7.0 olduğu gözlenmiştir. Tedavi almış ve almamış toplam hastalarda ise herhangi bir ilaca ortalama direnç oranı %10.4, INH, RİF, EMB ve SM'ne ortalama direnç oranları sırayla % 6.6, % 2.2, % 1.3, % 6.1 dir. Bu vakalarda ise ÇİD-TB ortalama direnç oranı % 1.7 olarak bildirilmiştir (23).

2.5.2. Türkiye'de İlaç Direnci

Ülkemizde direnç oranını ortaya koymak için ülke genelini kapsayan planlı çalışmalar bulunmamaktadır. Tek tek sağlık kuruluşlarının yaptığı bağımsız çalışmaların verilerinin karşılaştırılmasında sıkıntılar vardır. Uygulanan yöntemlerin

ve kullanılan ilaç konsantrasyonlarının farklılıkları, sunum (çoğunlukla primer, sekonder, toplam direnç ayrımı yapılmamaktadır) hataları mevcuttur (24, 25). Ülkemizde dispanserler ve tek tek sağlık kuruluşlarından yapılan çalışmaların analizinde, yeni hastalardan izole edilen TB basillerinde en az bir ilaca direnç oranının % 18-26.6, ÇİD-TB oranının ise % 1.3-4.8; tedavi görmüş hastaların izolatlarında en az bir ilaca direnç oranının % 28-53.4, ÇİD-TB oranının ise % 4.4-16.6 arasında dağılım gösterdiği sonuçları çıkarılabilmektedir (24). Ülkemizde direnç durumunu yansıtan en kapsamlı çalışma Yolsal ve ark. (25) retrospektif olarak yaptıkları meta-analiz çalışmasıdır. Bu çalışmada SM, RİF, İNH ve EMB gibi antitüberküloz ilaçlara kültür pozitif olgulardaki direnç sıklıkları 1984-1989 ve 1990-1995 yılları için incelenmiş, ülkemizde bu konuda yayınlanmış olan 21 makale ve 27959 suş değerlendirilmiştir. 1984-1989 yıllarında total direnç oranları SM (% 22.5), RİF (% 22.3), İNH (%27.8) ve EMB (%7.8), 1990-1995 yıllarında total direnç SM (%17.9) RİF (%22.1), İNH (%23.8) ve EMB (%7.7) olarak belirtilmiştir (25).

2.6. DUYARLILIK TESTLERİ

Klinikte tedavi kararlarının temelini oluşturacak olan duyarlılık testleri aynı zamanda direnç süreyansının yapılması bakımından da gereklidir. Amerika Birleşik Devletleri Tüberküloz Eliminasyonu Danışma Konseyi, ilaca dirençli mikroorganizmaların oluşumunu önlemek için *M.tuberculosis*'in izole edildiği tüm TB hastalarında ilk izolata antimikrobiyal duyarlılık testlerinin mutlaka yapılması gerektiğini bildirmektedir (2). Antimikrobiyal duyarlılık testlerinin tedavinin başlamasından üç ay sonra kültürleri negatif hale dönüşmeyen ya da tedaviye yanıt yetersizliği olduğuna dair klinik delilleri olan hastalardan izole edilen sonraki izolatlar için de yapılması önerilmektedir (2). Amerika Birleşik Devletleri Hastalıkların Kontrol Merkezi (Center for Diseases Control, CDC), TB düşünülen bir hastanın örneği laboratuvara kabul edildikten sonra ortalama 28-30 gün içinde *M. tuberculosis kompleks* için duyarlılık testlerinin sonuçlanmasını önermektedir (2). Bu amaçla daha hızlı sonuç verebilen duyarlılık testi yöntemleri geliştirilmesine çalışılmaktadır.

Mikobakterilerin antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesinde fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılmaktadır. Fenotipik yöntemlerde ilaç ilave edilmiş

besiyerinde *M. tuberculosis* suşlarının inhibisyonu araştırılmaktadır. Genotipik yöntemlerde ise ilaç direncinde rol oynayan genlerde oluşan mutasyonlar moleküler yöntemlerle belirlenmektedir (19,26 ,27).

“National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS) tarafından 2003 yılında fenotipik antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri için M24-A kodu ile tüberküloz dışı mikobakterilerlerin duyarlılık testlerini de içeren standartlar belirlenmiştir. Buna göre, mikobakterilerin duyarlılık test protokolleri, *M. tuberculosis* kompleksi, yavaş üreyen tüberküloz dışı mikobakteriler ve hızlı üreyen mikobakteriler olmak üzere üç ana grupta toplanmıştır. Bu rehberde Amerika Göğüs Hastalıkları Cemiyeti (American Thoracic Society)’nin tedavi için önerdiği ilaçlar doğrultusunda, standart duyarlılık test protokolleri oluşturulmuştur (28).

2.6.1. Fenotipik Yöntemler

NCCLS’in M24-A kodlu standardına göre agar proporsiyon yöntemi, BACTEC 460 TB, BACTEC MGIT 960 ve ESP II yöntemleri primer antitüberküloz ilaçlar için standart yöntemler olarak kabul edilmiştir. (28). Tablo 2.5’de TB antimikrobiyal duyarlılık belirlenmesinde kullanılan fenotipik yöntemler gösterilmiştir.

Fenotipik testlerin değerlendirilmesinde iki kavram önem taşımaktadır. Bunlardan birisi olan kritik konsantrasyon, ilaçlı besiyerinde, belli bir oranda veya miktarda bakteri üremesine izin veren antibiyotik konsantrasyonunu ifade etmektedir. Diğer önemli kavram olan kritik proporsiyon ise, kritik konsantrasyonun üremesine izin verildiği dirençli basil popülasyonunun oranıdır (29). Yapılan klinik ve bakteriyolojik çalışmalar sonucunda antitüberküloz ilaçlara dirençli basil oranı, genel olarak %1 düzeyi kriter alınarak ayarlanır. İlaçlı besiyerlerinde üreyen bakteri sayısı ilaç içermeyen besiyerinde üreyen bakteri sayısı ile karşılaştırıldığında, ilaçlı besiyerinde üreyen bakteri sayısı %1’in altında ise bakteri o ilaca duyarlı, %1’in üzerinde ise dirençli olarak kabul edilmektedir (29).

Tablo 2.5.Tüberküloz antimikrobiyal duyarlılık belirlenmesinde kullanılan fenotipik yöntemler

Yöntem	Prensibi
Klasik kültür yöntemleri ile yapılan duyarlılık testleri	Mutlak Konsantrasyon Yöntemi Direnc Oranı (ratio)Yöntemi Orantı (Proporsion) Yöntemi
Hızlı kültür yöntemleri ile yapılan duyarlılık testleri	Radyometrik Kültür Sistemi Floresan Kültür Sistemi Kolorimetrik Kültür Sistemi
Kültür dışı yöntemler	Bakteriyofajlara dayalı hızlı duyarlılık yöntemleri Lüsiferaz genli bakteriyofaj Faj çoğalma sistemleri Akım hücre ölçerinde (flow cytometry) duyarlılık belirleme

2.6.1.1. Klasik Kültür Yöntemleri ile Yapılan Duyarlılık Testleri

Mutlak Konsantrasyon Yöntemi:

Meissne tarafından 1962 yılında tanımlanmıştır. Bu yöntemde antibiyotikli ve antibiyotiksiz besiyerlerine 2×10^3 - 1×10^4 cfu/ml mikobakteri ekilmektedir. İnokulum miktarının 100.000 basili geçmemesi gerekmektedir. İlaçlı besiyerinde 20 koloniden fazla üreme olması bakterinin o ilaca dirençli olduğunun göstergesidir. Her bir ilacın MİK (minimal inhibitör konsantrasyonu) değerini tespit etmek mümkündür. Bu yöntem, yeterli metodolojik çalışmalar yapılmadığından standardize edilememiştir. İlaç konsantrasyonları ve özellikle inokulum miktarının çok dikkatli ayarlanması gerekliliği bu yöntemin en önemli zorluğunu oluşturmaktadır (26,30,31).

Direnç Oranı Yöntemi:

Mitchisson tarafından 1957 yılında tanımlanmıştır. İlaçlı besiyeri içeren tüplerin bir sırasına da antitüberküloz ilaçların hepsine duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* H37Rv ile inokule edilmektedir. Test edilen izolatanın MİK değerinin standart duyarlı suşun MİK değerine bölünmesi ile değerlendirilir. Bu oran ikiden küçük ise duyarlı, sekizden büyük ise dirençli olarak değerlendirilir. Orta duyarlı veya düşük düzeyde dirençli tanımının yapılabilmesi güçtür. Değerlendirilmesi zor

olan bu yöntemin, yeterli metodolojik çalışmaları yapılmadığından hata oranının yüksek olduğu bildirilmektedir (26,30,31).

Orantı (Proporsiyon) Yöntemi:

Canetti, Rist ve Grosset tarafından 1963 yılında tanımlanmıştır. Bu test için koagülasyondan önce ilaç eklenmiş Loweinstein-Jensen (L-J) besiyeri veya Middlebrook 7H10 kullanılmaktadır. İlaçlı besiyerinde üreyen kolonilerin sayısı, kontrol besiyerindeki kolonilerin sayısına göre kritik konsantrasyonun üzerinde olan suşlar dirençli olarak kabul edilmektedir. Bu yöntem uzun yıllar test edilmiş, üzerinde yeterli metodolojik çalışmalar yapılmış, uluslararası komitelerce onaylanmış olan altın standart olarak kabul edilmiş yöntemdir. Bu yöntemle primer ve sekonder antitüberküloz ilaç duyarlılıkları belirlenebilmektedir (26,30,31).

2.6.1.2. Hızlı Kültür Besiyerleri ile Yapılan Duyarlılık Testleri

Radyometrik Kültür Sistemi (BACTEC 460, Becton Dickinson)

Homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemlerinden geçirilen klinik örneklerden, ^{14}C işaretli palmitik asit içeren zenginleştirilmiş Middlebrook 7H12 sıvı besiyeri bulunan şişelere ekim yapılmaktadır. ^{14}C işaretli yağ asiti bakteri tarafından kullanıldığında $^{14}\text{CO}_2$ oluşmakta, şişeler periyodik olarak cihaza (BACTEC 460) yerleştirilerek oluşan $^{14}\text{CO}_2$ üreme indeksi olarak (Growth Index:GI) saptanmaktadır. GI:500 olan tüpler, duyarlılık testine alınmaktadır. Bu yöntem ile primer antitüberküloz ilaçların yanı sıra bazı sekonder antitüberküloz ilaçların duyarlılık testleri de yapılabilir. Günlük iş yükü fazlalığı ve radyoaktivite içeren atıklarının olması bu yöntemin dezavantajlarıdır. Geleneksel yöntemlerle ortalama 21 günde sonuç alınırken, bu sistemde sonuçlar 5-7 gün içinde elde edilmektedir (32,33).

Floresan Kültür Sistemi (BACTEC MGIT 960, Becton Dickinson):

Bu yöntemde Middlebrook 7H9 içeren, dip kısmı ruthenium kompleksi bulunan, silikon bir tabaka ile kaplı tüpler kullanılmaktadır. Tüp içinde bulunan oksijen yoğunluğunun fazla olması nedeniyle tüp dibine gönderilen UV ışınına karşı floresan ışıma oluşmazken, oksijenin mikobakteri veya kontaminan

mikroorganizmalar tarafından kullanılarak tüketilmesi ve CO₂ birikmesi sonrası UV ışığı ile ruthenium kompleksindeki değişiklik nedeniyle floresan ışımaya oluşmaktadır. 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 karşılaştırılmaktadır. İlaçsız tüpte üreme saptandıktan sonraki 4-13 gün içerisinde ilaçlı bir tüpte üreme olması, bakterinin o ilaca dirençli olduğunun göstergesidir. Radyoizotop kullanılmaması, sürekli monitörizasyon ile tüplerin aynı anda takibinin sağlanması ve sonuçların kağıda dökülebilme özelliği avantajlarıdır. Tüplerin vidalı kapaklı olması nedeniyle kontaminasyon oranlarının yüksek olduğu belirtilmektedir (34,35).

2.6.1.3. Kolorimetrik Kültür Sistemi

MB /BacT /ALERT MB (Organon, Teknika)

Kolorimetrik olarak besiyerinde oluşan CO₂ düzeyini ölçerek mikobakteri üremesini değerlendirmektedir. Radyoizotop içermeyen sistem, tam otomatik çalışmaktadır. Sistemde dip kısmında pH değişikliğine duyarlı sensör bulunan Middlebrook 7H9 içeren şişeler kullanılır. Üreme esnasında oluşan CO₂, pH'yı düşürerek şişenin dibindeki sensörün rengini değiştirir. Optik okuyucu tarafından ilk saptanan renk değişimi sistem tarafından rakamsal değere çevrilerek üreme indeksi çıkarılır (36).

Alamar Blue Oxidation-Reduction Indicator (Accumed)

Bakteri ilaçlı ve ilaçsız Middlebrook besiyerlerine ekilerek 10-14 gün inkübe edilmektedir. Kontrol tüpüne alamar mavisi eklenip, 50°C'de 2 saat bekletilir. Rengin maviden pembeye dönmesi üreme olduğunun göstergesidir. Üreme saptanmışsa aynı işlem ilaçlı tüplere uygulanır. Üremenin ne zaman olacağı tam olarak tahmin edilemediğinden birden fazla kontrol tüpü hazırlanması ve belli aralıklarla bu tüplerde üreme araştırılması gerekmektedir (37).

Karbondiyoksit Oluşumunu Saptayan Sistem; ESP Culture System II (Accumed):

Modifiye Middlebrook 7H9 sıvı besiyeri içeren şişelerde mikobakterilerin oluşturduğu gaz ve oluşan basıncı ölçerek üreme değerlendirmesi yapan, tam otomatik, radyoaktif olmayan, bilgisayar destekli bir sistemdir. Primer antitüberküloz ilaçlar test edilebilmektedir (38).

2.6.1.4. Kültür Dışı Yöntemler

Lüsiferaz Genli Bakteriyofaj Sistemleri

Bu sistemde canlı mikobakteri varlığını saptamak amacı ile mikobakterilerde çoğalabilen lusiferaz geni klonlanmış mikobakteriyofajlar kullanılmaktadır. Bu fajlar ile mikobakteriler infekte edildiğinde, bakteri içerisinde lusiferaz enzimi üretilmekte, ortama lusiferin konduğunda ATP kullanılarak ışık üretilmektedir. Duyarlılık testi yapılması için mikobakteriler kısa süre ilaçlı ve ilaçsız besiyerlerinde inkübe edilmekte, daha sonra mikobakteriyofajlarla enfekte edilip ışık üretimi araştırılmaktadır. İlaçsız kontrol ile birlikte ışıldayan ilaçlı tüplerden alınan örnekler, bakterinin ilaca rağmen çoğaldığını yani o ilaca dirençli olduğunu göstermektedir (39,40).

Faj Çoğalma Sistemleri

Bu sistemde hem *M. tuberculosis*, hemde hızlı üreyen *M. smegmatis* içinde çoğalabilen bir mikobakteriyofaj kullanılmaktadır. Önce duyarlılığı araştırılacak *M. tuberculosis* suşu ilaçsız ve ilaçlı besiyerlerinde inkübe edilir. Daha sonra bunlara mikobakteriyofajlar eklenir. Mikobakteriyofajlar sadece canlı mikobakteriler içerisine girebilir ve çoğalmaya başlar. Dışarıda kalan mikobakteriyofajlar tüpe eklenen ferröz amonyum sülfat ile nötralize edilir. İlaçlı tüplerde ilaca dirençli ne kadar canlı bakteri varsa, o kadar bakteriyofaj korunmuş olur. Sonra tüplere *M. smegmatis* eklenir ve agarlı bir besi yeri ile birlikte petri kutularına dökülür. *M. tuberculosis* içinde korunmuş fajlar bu kez *M. smegmatis* içerisinde çoğalarak faj plakları oluşturulur. İlaçlı tüplerden belli bir oranın üzerinde faj plağı elde edilirse bakterinin o ilaca dirençli olduğu anlaşılır (26,41).

Akım Hücre Ölçerinde (Flow Cytometry) Duyarlılık Belirleme

Canlı mikobakteriler florosein asetat ile işaretlenip hücre ölçerinde sayılabilmektedir. İlaçlı ve ilaçsız ortamda üç gün inkübe edilen mikobakteriler işaretlendikten sonra akım hücre ölçerinden geçirilirler ve ilaçlı tüplerden gelen örneklerden sayımda azalma olup olmadığı incelenir. Yarıdan fazla düşmeye neden olan ilaçların etkili olduğu kabul edilir(42).

E Test (AB BIODISK):

Primer antitüberküloz ilaçlara karşı MİK değerlerini belirlemek için kolay bir yöntemdir. OADC eklenmiş Middlebrook 7H11 agara yüksek konsantrasyonda hazırlanan (McFarland No:3) bakteri süspansiyonu ekilerek 24 saat inkübe edilir ve ardından E-test şeritleri yerleştirilir. 7 günde sonuçlandırılır. MİK değerini vermesi avantajıdır. Yoğun inokulum kullanılması ve pahalı olması dezavantajıdır. Uygulama ve değerlendirme sırasında dikkatli olunması gerekmektedir (43).

2.6.2. Mikobakteri Antimikrobiyal Duyarlılık Belirlenmesinde Kullanılan Genotipik Yöntemler

M. tuberculosis ilaç direncinin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasıyla hızlı sonuç verebilen moleküler yöntemler geliştirilmiştir. DNA dizi analizi, line probe assay (solid faz hibridizasyon), RNA/RNA mismatch analiz, PCR-SSCP (PCR-single-strand conformation polymorphism), heterodubleks analiz, real-time PCR, DNA microarray bu yöntemlerdendir. Minimal bakteriyel üreme gerektirmesi ve saatler içinde sonuç verebilmesi moleküler yöntemlerin avantajlarıdır. Birden fazla gen bölgesinin sorumlu olduğu durumlarda, dirence yol açmayan mutasyonlarda yanlış sonuçlar verebilmesi dezavantajıdır. Pratik uygulamalarda moleküler yöntemler RİF direncini saptamak için kullanılmaktadır (16,19).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

2003-2005 yılları arasında Zonguldak Karaelmas üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarı, Zonguldak Verem Savaş Dispanseri (ZVSD) ve Karadeniz Ereğli Verem Savaş Dispanseri'ne (EVSD) başvuran TB ön tanılı hastalardan gönderilen çeşitli klinik materyalden izole edilen 125 *M. tuberculosis* complex suşlarında primer antitüberküloz ilaç duyarlılıkları BACTEC MGIT 960 sistemi ile araştırılmıştır.

3.1. ÖRNEKLERİN İŞLENMESİ

3.1.1. Homojenizasyon ve Dekontaminasyon

Homojenizasyon ve dekontaminasyon işlemi N-Asetil-L-Sistein (NALC) ve sodyum hidroksit (NaOH) karışımı kullanılarak yapıldı. Bunun için %4 NaOH ve %2.9 sodyum sitrat karışımı stok solusyonu hazırlandı. Bu solusyondan çalışılacak örnek miktarı kadar alınarak üzerine 0.5gr/100 ml olacak şekilde NALC ilave edildi. Hasta örneğinin bulunduğu 50 ml'lik steril burgulu kapaklı polipropilen tüplere, örnek miktarı kadar NALC-NaOH solüsyonu ilave edilerek oda ısısında 15 dakika bekletildi. Bekleme süresinin başlangıcında tüpler 30 saniyeyi geçmeyecek şekilde vortekslendi ve daha sonra ara sıra el ile çalkalandı. Süre tamamlandığında tüpün 50 ml işaretine kadar 0,067 M fosfat tamponu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$) (pH:6.8) ilave edildi. Bu şekilde nötralizasyon sağlanarak dekontaminasyon işlemi durduruldu. Fosfat tamponu ilave edilmiş tüpler 4500 RPM'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar, içinde dezenfektan (% 0.1-1 sodyum hipoklorit) bulunan bir kaba boşaltıldı. Sedimente 1-2 ml steril fosfat tamponu (pH:6.8) ilave edilerek yeniden süspansiyon edildi. (44)

3.1.2. Kültür Yapılması

Süspansiyondan Lowenstein-Jensen (L-J) yüzeyine 2-3 damla, MGIT (Mycobacteria growth indicator tube) (Becton Dickinson, USA) sıvı besi yerine 0.5 ml ekim yapıldı. MGIT'lere ekim öncesi 0.5 ml OADC (Becton Dickinson, USA) (Oleic acid, dextros, catalase, bovine albumin) ve 0.1 ml PANTA (Becton Dickinson, USA) (polymyxin B, amphoterecin B, nalidixic acid, trimetropim, azlocilin) ilave

edildi. Ekim yapılan L-J besiyerleri kapakları fazla sıkıştırılmadan 35°C’de 24 saat yatık durumda inkübe edildi. 24 saat sonra besiyeri kapakları biraz daha sıkıştırılarak dik pozisyonda inkübasyona devam edildi. İlk haftadan sonra iki günde bir üreme olup olmadığı kontrol edildi. Üreme süreleri ve pigment oluşturma yönünden incelendi. MGIT besiyeri üreme kontrolü Bactec microMGIT 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)

3.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

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

3.2.1. Antibiyotik Solüsyonlarının Hazırlanması

Antibiyotikler SM, İNH, RİF, EMB BACTEC MGIT SIRE kiti (Becton Dickinson, USA) içinde liyofilize halde üretici firma tarafından sağlandı. Liyofilize halde bulunan ilaçlar sulandırılarak stok solusyonlar hazırlandı. Her liyofilize antibiyotik şişesine 4 ml steril distile su eklendi ve tamamen çözünene kadar çalkalandı. Liyofilize antibiyotik şeması 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	332 µg	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 RİF	332 µg	83 µg/ ml	100 µl	1.0 µg/ ml
MGIT EMB	1660 µg	415 µg/ ml	100 µl	5.0 µg/ ml

3.2.2. İnokulum hazırlanması

L-J besiyerinde üretilen ve 14 günden eski olmayan suşlar, steril bir öze ile, 8-10 adet cam boncuk içeren 4 ml Middlebrook 7H9 Broth (BBL, Difco) besiyerine alındı. Bu işlem sırasında katı besi yeri alınmamasına ve bakteri bulanıklığının

1 McFarland standardını (10^7 cfu/ml) geçmemesine dikkat edildi. Bakteri süspansiyonunu homojenize etmek amacıyla 2-3 kez vortekslendi. Süspansiyon 20 dakika beklemeye bırakıldı. Üstte kalan kısım başka bir steril tüpe aktarıldı. Sedimentin alınmamasına dikkat edildi. Tekrar 15 dakika bekletilerek, üstte kalan kısım başka bir steril tüpe aktarıldı. Bu süspansiyon gözle 0.5 McFarland standardına ayarlandı. 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 Growt 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. Bakteri kontaminasyonunu kontrol etmek amacıyla bir kanlı agar besiyerine ekim yapıldı. 48 saatlik inübasyondan sonra kanlı agar basiyerinde üreme yoksa antibiyogram işlemine geçildi. Kanlı agarda üreme olması durumunda dekontaminasyon işlemi tekrarlandı.

3.2.3. Antibiyogram İşlemi

5 adet 7 ml MGIT tüpü hazırlandı. İlk tüp kontrol tüpü olacak şekilde sırasıyla SM, İNH, RİF ve EMB şeklinde işaretlendi. Her birine aseptik şartlarda 0,8 ml BACTEC MGIT 960 SIRE Supplement (Becton Dickinson, USA) (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 ekledi. 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.

3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Antibiyotik içeren tüplerin değerlendirmesi kontrol tüpünde üreme 400 Üreme 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 üreme gözlenmesi kontaminasyon varlığı veya bakteri miktarının fazlalığı şeklinde yorumlandı. Bu durumda ilgili izolat için antibiyogram tekrarı yapıldı. Onüç günden sonra üreme gözlenmeyen (400 GU) kontrol tüpleri ise bakteri yoğunluğu yetersiz olarak değerlendirilerek ilgili izolat için antibiyogram tekrarı yapıldı.

3.4. KALİTE KONTROL

Duyarlılık testlerinde kalite kontrol olarak, denenen ilaçlara duyarlı olduğu bilinen *M. tuberculosis* ATCC 27294 (H37Rv) suşu kullanıldı. Standardizasyon kontrolü olarak Dünya Sağlık Örgütü Roma Supranational Tüberküloz Referans Laboratuvarı ve Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Tüberküloz Araştırma Laboratuvarlarının işbirliği ile hazırlanan kalite kontrol programı dahilinde, antitüberküloz ilaç duyarlılığı çalışan laboratuvarların yeterlilik kontrolü için gönderilen 20 suş kullanıldı.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Veriler SPSS for Windows (version 11.0) paket programı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Ortalama değerler “aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma” olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda “bağımsız gruplarda iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi”, kategorik verilerin karşılaştırılmasında “Fisher’s Exact Test” kullanıldı. Analiz sonuçları % 95 güven aralığında değerlendirildi.

BULGULAR

4.1. SUŞLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ:

Çalışmamıza Zonguldak ilinde 2003-2005 yılları arasında izole edilen toplam 125 suş dahil edilmiştir. Suşların 50'si (% 40) Zonguldak Karaelmas Üniversitesi (Z.K.Ü) Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi, 44'ü (% 35.2) Zonguldak Verem Savaş Dispanseri (ZVSD) ve 30'u (% 24.8) Ereğli Verem Savaş Dispanseri'ne (EVSD) başvuran hastalardan izole edilmiştir. Hastaların 101'inin (% 80.8) erkek, 24'ünün (% 19.2) kadın olduğu, 99'unun (% 79.2) yeni tanı konulmuş, 14'ünün (% 11.2) daha önce tanı konulmuş ve tedavi almış hastalar olduğu gözlenmiştir. Oniki (% 9.6) hastanın klinik bilgilerine ulaşılamamıştır. Hastaların yaş ortalaması 42.5 ± 1.9 (8-81 yaş) dir. Suşların % 86.4'ü solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmaya alınan suşların izole edildikleri örneklere göre dağılımı Tablo.4.1'de gösterilmiştir.

Tablo.4.1. Çalışmaya alınan suşların örneklere göre dağılımı

Hasta örneği	Sayı	Yüzde (%)
Balgam	94	75.2
Bronkoalveoler lavaj (BAL)	13	10.4
Doku	6	4.8
Plevra	3	2.4
Periton	3	2.4
İdrar	2	1.6
Beyin omurilik sıvısı (BOS)	1	0.8
Sinovyal sıvı	1	0.8
Açlık mide sıvısı (AMS)	1	0.8
Trakeal aspirat	1	0.8
Toplam	125	100.0

4.2. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TEST SONUÇLARI

BACTEC MGIT 960 yöntemi ile 2003-2005 yılları arasında izole edilen suşların primer antitüberküloz ilaçlarına karşı belirlenen direnç oranları Tablo.4.2’de gösterilmiştir. Suşların 87’si (% 69.6) primer antitüberküloz ilaçların tümüne duyarlı iken, 38’si (% 30.4) en az bir antitüberküloz ilacına dirençli ve 4’ü (% 3.2) primer antitüberküloz ilaçların tümüne dirençli bulunmuştur. ÇİD-TB oranı % 8.0 (10/125) olarak belirlenmiştir.

Solunum örneklerinden elde edilen suşlarda primer antitüberküloz ilaçlarına direnç anlamlı olarak daha fazla görülmüştür ($p<0.05$). Hasta yaşları ile ilaç direnci arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 4.2. İncelenen suşlarda yıllara göre primer antitüberküloz ilaçlarına direnç.

Sayı, yüzde (%)					
Yıl	suş sayısı	SM	İNH	RİF	EMB
2003	47	9 (19.1)	15 (31.9)	4 (8.5)	1 (2.1)
2004	38	8 (21.1)	7 (18.4)	3 (7.9)	1 (2.6)
2005	31	4 (12.1)	5 (16.1)	2 (6.5)	2 (6.5)
Toplam*	125	24 (19.2)	29 (23,2)	10 (8.0)	5 (4.0)

* Dokuz hastanın klinik bilgilerine ulaşılamamıştır.

Yeni tanı alan hastalar ile önceden TB tanısı almış ve antitüberküloz tedavi uygulanmış hastalardan elde edilen suşlarda belirlenen ilaç dirençleri (primer ve sekonder direnç) sırasıyla Tablo.4.3. ve Tablo.4.4 de gösterilmiştir. Daha önce tedavi almış hastalarda ilaç direnci istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Primer direnç ve sekonder ilaç direnci gözlenen suşlarda belirlenen ÇİD-TB oranları sırasıyla %2.0 (2/99) ve %35.7 (5/14) olarak bulunmuştur.

Tablo 4.3. İncelen suşlarda belirlenen primer direnç oranları.

İLAC	DİRENÇLİ Sayı, yüzde (%)
Streptomisin	13 (13.1)
İzoniyazid	18 (18.2)
Rifampisin	2 (2.0)
Etambütol	3 (3.0)

Tablo 4.4. İncelenen suşlarda belirlenen sekonder direnç oranları.

İLAC	DİRENÇLİ Sayı, yüzde (%)
Streptomisin	7 (50.0)
İzoniyazid	6 (42.9)
Rifampisin	5 (35.7)
Etambütol	2 (14.3)

Birden çok ilaca dirençli suşlar Tablo 4.5’de gösterilmiştir. Suşların 14’ü (% 11.4) iki ilaca dirençli, 4’ü (% 3.2) üç ilaca dirençli ve 4’ü (% 3.2) dört ilaca dirençli olarak bulunmuştur. Sadece SM dirençli suş 8 (% 6.4), sadece İNH dirençli suş 12 (% 9.6), sadece RİF dirençli suş 0 (% 0.0) ve sadece EMB dirençli suş 0 (% 0.0) olarak bulunmuştur.

Tablo 4.5. Birden çok ilaca dirençli tüberkuloz suşları..

	Sayı	yüzde (%)
İNH+RİF	2	1.6
İNH+SM	7	5.6
EMB+SM	1	0.8
RİF+SM+İNH	4	3.2
EMB+RİF+SM+İNH	4	3.2

4.3. STANDARDİZASYON KONTROL TEST SONUÇLARI

Standardizasyon test sonuçları Tablo 4.6’da verilmiştir. DSÖ Dış Kalite Kontrol değerlendirme kriterlerine göre minimum % 90 uyum yeterli kabul edilmiştir.

Tablo 4.6. Standardizasyon test sonuçları

İlaç	Suş sayısı	Uyumlu suş sayısı	Doğru dirençli suş sayısı	Yanlış dirençli suş sayısı	Doğru duyarlı suş sayısı	Yanlış duyarlı suş sayısı	Duyarlılık Yüzde(%)	Özgüllük Yüzde(%)	Yeterlilik Yüzde(%)
SM	20	20	8	0	12	0	100	100	100
İNH	20	18	8	2	10	0	100	83	90
RİF	20	20	8	0	12	0	100	100	100
EMB	20	17	5	0	12	3	62.5	100	85

TARTIŞMA

Tüberküloz hastalığı, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelerine rağmen günümüzde halen önemi korumaktadır. 1980'li yıllardan itibaren, hem TB insidansında, hem de dirençli suşlarla oluşan infeksiyon oranlarında artış gözlenmektedir (3,47). DSÖ'nün geliştirmekte olan ülkelerde uyguladığı, hastaya ilaçlarını eğitilmiş ve denetlenen bir kişinin gözetim altında içirilmesini amaçlayan Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (Directly Observed Treatment Strategy DOTS)'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 (3,47,48)

CDC, TB düşünülen bir hastanın örneği laboratuvara kabul edildikten sonra ortalama 28-30 gün içinde *M. tuberculosis kompleks* için duyarlılık testlerinin sonuçlandırılmasını önermektedir (2). Hastalığın erken tanısı ve primer antitüberküloz ilaç direncinin hızlı bir şekilde saptanması ÇİD-TB kökenlerin kontrolünde ve etkili tedavide yaşamsal bir rol oynamaktadır. Klasik antibiyotik duyarlılık testlerinde iş yükü fazlalığı, antibiyotik içeren klasik besiyerlerinin hazırlanması ve saklanması sırasında antibiyotiğin inaktive olmasıyla yanlış sonuçlar alınabilmektedir (49). 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 mutasyonların da 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 kısıtlamaktadır (19).

Uzun dönemde yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda BACTEC MGIT 960 sistemi ile alınan sonuçlar referans yöntemlerle alınan sonuçlar ile uyumlu

bulunmuştur. NCCLS tarafından fenotipik antitüberküloz ilaç duyarlılık testleri için önerilen testler arasında bildirilmiştir (NCCLS 2003). BACTEC MGIT 960 sistemi tam otomatize ve kolay uygulanabilir olması, 4-13 gün gibi kısa sürede sonuç 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 (50,51,52). Bizim çalışmamızda yapılan 127 antibiyogram işleminin ikisinde (%1.57) kontaminasyon sorunu ile karşılaşmıştır. Çalışmamızda L-J besiyerinden alınan saf suşların kullanılmış olması ve sadece antibiyogram işlemi uygulanmış olması nedeniyle kontaminasyon oranımızın diğer çalışma sonuçları ile karşılaştırılmasının doğru olmayacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda kullanılan kalite kontrol suşlarının sonuçları ve DSÖ Dış Kalite Kontrol değerlendirme kriterleri doğrultusunda, BACTEC MGIT 960 sisteminin, SM, İNH, RİF için uyum yeterli (minimum % 90), ancak EMB için yeterliliğinin düşük olduğu (% 85) belirlenmiştir. BACTEC MGIT 960 sistemi ile yapılan bazı çalışmalarda da EMB için yeterlilik daha düşük olarak belirtilmiştir (34,54).

Kart ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada Zonguldak ili 2001 TB insidansı 28/100000 olarak belirtilmiştir (10). Bizim çalışmamızda Zonguldak Verem Savaş Dispanserinin verilerine göre 2005 yılı TB insidansı 20/100000 olarak hesaplanmıştır. Bu verilere göre Zonguldak ilinin TB insidansında bir azalma olduğu görülmektedir. Bu azalmanın veremle savaş programının başarısına bağlı olup olmadığı tartışmalıdır. TB insidansında görülen bu düşüşün yetersiz kayıt sistemine ve hasta bildirimlerinin eksik olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Dispanserlere kaydı olmayan, özel hastanelerde ve SSK hastanelerinde tedavi başlanan hastaların bulunması nedeniyle gerçek hasta grubunun ne kadarının VSD bildirimini yapıldığı bilinmemektedir. ZVSD verilerine göre 2003-2005 yılları arasında yeni TB hasta sayısı 404 olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda 125 izolat incelenmiş olup, bu sayı Zonguldak ilinde izole edilen suşların %30.9'nu (125/404) temsil etmektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarında belirlenmiş olan ilaç direnç oranları homojen dağılım göstermemektedir. Bunun, bölgelerarası sosyoekonomik düzey

farklılıkları ve çalışmalarda kullanılmış olan yöntemlerin standart olmamasından kaynaklandığı belirtilmektedir (24,25).

Primer antitüberküloz ilaçlarına direnç dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sorundur. Yapılan çalışmalarda ülkemizde antitüberküloz ilaç direnci oranları % 9.2 ile % 56.0 arasında geniş bir dağılım göstermektedir (Tablo 5.1). Ülkemizde karşımıza çıkan TB vakalarının yaklaşık olarak 1/3'nün herhangi bir primer 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) üzerindedir (23). Bizim çalışmamız da herhangi bir primer antitüberküloz ilaca dirençli olma oranı % 30.4 olarak bulunmuştur.

Tablo 5.1. Ülkemizde değişik il veya bölgelerde yapılmış olan çalışmalarda belirlenmiş olan herhangi bir ilaca direnç oranları

Çalışmanın Yapıldığı İl veya Bölge	Suş Sayısı	Herhangi bir ilaca direnç oranı yüzde (%)	Tarih	Kaynak
Zonguldak	125	30.4	2002-2005	Bizim çalışmamız
GATA İstanbul	365	23.8	1999-2000	Kartaloğlu ve ark. (53)
Ankara	3319	9.2	1976-1997	Bengisu ve ark. (55)
Manisa	355	21.1	1997-2003	Surucuoğlu ve ark. (56)
Gaziantep	264	40.6	1995-1999	Balcı ve ark. (57)
Ege bölgesi	49	20.9	1999-2001	Güneri ve ark. (58)
İzmir	980	24.0	1999	Senol ve ark. (59)
İzmir	1006	16.5	2001	Senol ve ark (59)
Malatya	88	32.9	2000	Durmaz ve ark. (60)
Trakya	214	49.0		Karabay ve ark. (61)
Edirne	134	11.8	1999-2001	Tansel ve ark (62)
Edirne	70	56.0	1996	Otkun ve ark (63)
Düzce	62	26.2	2000-2004	Ozturk ve ark. (64)
Elazığ	125	29.5	1989-1994	Çetinkaya ve ark. (65)
Doğu Karadeniz	1388	40.6	1985-1990	Arseven ve ark. (66)
Isparta	108	26.6	1996-2000	Sözen H. (67)
Metaanaliz	15717	40.6	1984-1989	Yolsal ve ark (25)
Metaanaliz	12242	37.6	1990-1995	Yolsal ve ark (25)
GATA Ankara	470	14.9	1998-2001	Kısa ve ark (20)
İstanbul	189	25.9	1997-2000	Talay ve ark (68)
İzmir	63	41.0	1989-1992	Yüce ve ark (69)
Adana	393	32.3	1993-1995	Taşova ve ark (70)
Hıfzısıhha*	505	23.7	1999-2002	Saygan ve ark (71)
Tokat	39	43.5		Bulut ve ark (72)

* 7 VSD bölge laboratuvarı (Hıfzısıhha))

Çalışmamızda 2003, 2004 ve 2005 yıllarında primer antitüberküloz ilaçlara direnç oranlarının yıllara göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiş, ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.5$).

Bu çalışmada SM, RİF, İNH ve EMB için belirlenen primer ve sekonder ilaç direnç oranları sırasıyla %13.1, %2, %18.2, %3 ve %50, %35.7, %42.9, %14.3 olmuştur. Primer ilaç direnci ile sekonder ilaç direnci arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Primer ve sekonder direnç oranları arasında görülen belirgin farklılıklar uygun tedavi planlanmasının önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Çalışmamızda en yüksek primer ilaç direnci İNH için belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda (Tablo 5.2) genel olarak İNH direncinin yüksek olduğu gözlenmektedir. Primer dirençte görülen artış her yeni TB vakasının primer antitüberküloz ilaçlarına dirençli olma olasılığının artışı anlamına gelmektedir. Tedavi planlanırken bunun dikkate alınması gerekmektedir. Yetersiz veya yanlış tedavi sonucu nüks gelişen hastalarda gözlenen sekonder ilaç direncinin ülkemizde oldukça yüksek olduğu dikkati çekmektedir (Tablo 5.3). Ülkemizin değişik yörelerinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızda görülen sekonder ilaç dirençleri daha yüksek bulunmuştur (Tablo 5.3).

Tablo 5.2. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen primer ilaç direnci oranları

Kaynak	İl/Bölge	Tarih	Şuş sayısı	SM (%)	RİF (%)	İNH (%)	EMB (%)
Bizim çalışmamız	Zonguldak	2003-2005	99	13.1	2.0	18.2	3.0
Yolsal ve ark (25)	Metaanaliz	1984-1989	368	8.8	5.7	14.4	2.2
Yolsal ve ark (25)	Metaanaliz	1990-1995	2848	10.1	8.9	8.8	3.0
Doğa ve ark(73)	Sivas	1999-2004	316	15.2	4.1	19.9	2.5
Güneri ve ark (58)	Ege bölgesi	1999-2001	387		5.7	12.4	
Çetinkaya ve ark (66)	Elazığ	1989-1994	125	16.6	7.6	11.5	1.2
Sözen H (67)	Isparta	1996-2000	84	2.38	1.19	9.52	0.0
Surucuğlu ve ark (56)	Manisa	1997-2003	285	13.3	6.0	14.4	8.4
Talay ve ark (68)	İstanbul	1997-2000	135	13.3	3.0	8.8	2.2
Oktun ve ark (63)	Edirne	1996	44	32.0	11.0	30.0	9.0

Tablo 5.3. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen sekonder ilaç direnci

Kaynak	İl/Bölge	Tarih	Suş sayısı	SM (%)	RİF (%)	İNH (%)	EMB (%)
Bizim çalışmamız	Zonguldak	2003-2005	14	50.0	35.7	42.9	14.3
Yolsal ve ark (25)	Metaanaliz	1984-1989	389	24.6	23.1	34.1	13.3
Yolsal ve arkv(25)	Metaanaliz	1990-1995	1962	17.7	31.9	30.9	13.7
Doğan ve ark (73)	Sivas	1999-2004	69	5.8	10.1	26.1	4.3
Güneri ve ark (58)	Ege bölgesi	1999-2001	87		19.5	26.4	
Çetinkaya ve ark (66)	Elazığ	1989-1994		38.2	42.5	46.8	17.0
Sözen H (67)	Isparta	1996-2000	24	0.0	12.5	33.33	12.5
Surucuoglu ve ark (56)	Manisa	1997-2003	67	22.4	22.4	28.9	19.4
Talay ve ark (68)	İstanbul	1997-2000	54	18.5	22.2	22.2	13.0
Oktun ve ark (63)	Edirne	1996	26	50.0	12.0	31.0	19.0

ZVSD'nin 1975-1984 ve 1984-1989 yılları arasında, L-J agar proporsiyon yöntemiyle yapmış oldukları çalışmalarda, SM ve İNH direnci sırasıyla %23, %18.5 ve % 6.8, %10.1 bulunmuştur (74). Kart ve ark.ları (75) Zonguldak ve Kayseri illerini kapsayan çalışmalarında 1972-1982, 1982-1991 ve 1992-999 yılları arasında SM ve İNH direncini sırasıyla %14.8 -% 9.8, %14.4- %14.2, ve %21,1-%14.4 olarak bildirilmişlerdir. Ancak bu çalışmada Zonguldak iline ait veriler ayrı olarak belirtilmemiştir. Bizim çalışmamızda SM ve İNH direnci sırasıyla %19.2 ve %23.2 bulunmuştur. ZVSD verilerine bakıldığında 1974-1984 yıllarına göre 1984-1989 yılları arasında SM ve İNH direncinde bir azalma olduğu gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda İNH ve SM direncinde bir artış olduğu belirlenmiştir. Bunun, uygulanan yetersiz ve yanlış tedavi protokollerine veya bu çalışmada önceki çalışmalardan farklı bir yöntem kullanılmış olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında (Tablo 5.4) bizim çalışmamızda elde edilen SM ve İNH direncinin yüksek, RİF ve EMB direncinin ise orta direnç düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 5.4. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen toplam direnç oranları

İlaç	Suş sayısı	SM yüzde(%)	RİF yüzde(%)	İNH yüzde(%)	EMB yüzde (%)	Tarih	bölge
Bizim çalışmamız	125	19.2	8.0	23.2	4.0	2003-2005	Zonguldak
ZVSD (74)	735	23.0		18.0		1975-1984	Zonguldak
ZVSD (74)	59	6.8	5.0	10.1	1.7	1984-1989	Zonguldak
Kart ve ark.(75)	2172	14.8		9.8		1972-1981	Zonguldak-Kayseri
Kart ve ark.(75)	683	14.4	10.5	14.2	2.7	1982-1991	Zonguldak-Kayseri
Kart ve ark(75)	863	21.1	10.6	14.4	2.4	1992-1999	Zonguldak-Kayseri
Kartaloglu ve ark. (53)	365	2.5	3.0	14.8	10.7	1999-2000	GATA İstanbul
Yolsal ve ark (25)	15717	22.5	22.3	27.8	7.8	1984-1989	Meta-analiz
Yolsal ve ark(25)	12242	17.9	22.1	23.8	7.7	1990-1995	Meta-analiz
Bengisi ve ark(55)	3319	7.0	6.9	10.5		1976-1997	Ankara
Tansel ve ark(62)	134	2.2	4.5	9.0	1.5	1999-2001	Edirne
Goral ve ark(76)	203	16.7	6.4	23.6	3.9	1984-1989	Bursa
Goral ve ark(76)	328	20.4	25.3	26.2	8.2	1990-1995	Bursa
Karabay ve ark (61)	214	29.0	21.5	27.1	10.3		Trakya
Güneri ve ark(58)	490		8.2	14.9		1999-2001	Ege bölgesi
Şenol ve ark(59)	990	10.8	10.3	11.6	11.2	1999	İzmir
Şenol ve ark(59)	1006	8.56	9.2	8.9	6.3	2001	izmir
Oztürk ve ark (64)	62	11.3	4.8	8.0	0.0	2000-2004	Düzce
İşitmez ve ark(77)	26	3.8		3.8		2002-2003	Afyon
Sözen H(67)	108	1.86	3.71	14.82	2.78	1996-2000	Isparta
Surucuğlu ve ark(56)	355	14.9	9.0	9.8	16.9	1997-2003	Manisa
Doğan ve ark(73)	385	5.2	5.2	21.0	2.9	1999-2004	Sivas
Bakıcı ve ark(78)	226	8.5	8.0	10.2	4.9	1987-1991	Sivas
Balcı ve ark(57)	264	8.6	18.6	33.0	15.9	1995-1999	Gaziantep
Bayraktar ve ark (79)	249	22.9	20.9	14.8	7.6	2000-2004	Trabzon
Kısa ve ark (20)	470	4.5	2.6	9.8	5.3	1998-2001	GATA Ankara
Talay ve ark(68)	189	14.8	8.5	12.6	5.3	1997-2000	istanbul
Yüce ve ark (69)	63	32.0	27.0	9.0	3.0	1989-1992	izmir
Taşova ve ark(80)	393	8.65	20.61	22.6	10.17	1993-1995	Adana
Otkun ve ark(63)	70	39.0	11.0	30.0	13.0	1996	Edirne
Saygı ve ark(71)	505	9.1	13.2	13.2	3.36	1999-2002	Hıfzıssıhha

ÇİD-TB olguları tedavi başarısı açısından önemli bir problem oluşturmaktadır. ÇİD-TB tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sorun olarak gözlenmektedir (80) Tablo 5.5’de ülkemizde çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda belirlenen ÇİD-TB oranları görülmektedir. Bizim çalışmamızda ÇİD-TB oranı % 8 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. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Tüberküloz Referans ve Araştırma Laboratuvarı’nda 1999-2002 yılları arasında, farklı yedi bölge Tüberküloz laboratuvarlarından (Trabzon, Kayseri, Van, İzmir, Denizli, Elazığ, Aksaray) gönderilen 505 suş değerlendirilerek ÇİD-TB oranı %7.92 olarak bulunmuştur(71). Türkiye’deki ortalama ÇİD-TB oranları açısından önemli olan bu çalışma ile çalışmamızda bulunan ÇİD-TB oranına (% 8.0) oldukça yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmada daha önce tedavi görmemiş, ilk kez tanı konulan hastalardan elde edilen suşlar ile daha önce tedavi görmüş hastalardan elde edilen suşlarda belirlenen ÇİD-TB oranları arasında sırasıyla %2 (2/99) ve %35.7 (5/14)) anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda da daha önce tedavi almış hastalarda ÇİD-TB görülme sıklığı artmaktadır (Tablo 5.6). 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 inmektedir (81).

Tablo 5.5. Ülkemizde yapılan çalışmalarda belirlenen ÇİD-TB oranları.

İlaç	Suş sayısı	Toplam ÇİD	tarih	Bölge
Bizim çalışmamız	125	8.0	2003-2005	Zonguldak
Kartaloglu ve ark (53)	365	2.7	1999-2000	GATA İstanbul
Kart ve ark (75)	683	7.3	1982-1991	Zonguldak-Kayseri
Kart ve ark(75)	863	6.6	1992-1999	Zonguldak-Kayseri
Bengisi ve ark(55)	3319	5.8	1976-1997	Ankara
Tansel ve ark(62)	134	3.0	1999-2001	Edirne
Goral ve ark(76)	203	12.3	1984-1989	Bursa
Goral ve ark(76)	328	24.4	1990-1995	Bursa
Karabay ve ark(61)	214	11.6		Trakya
Gunerı ve ark(58)	490	6.8	1999-2001	Ege bölgesi
Durmaz ve ark(60)	88	2.26		Malatya
Şenol ve ark(59)	990	6.6	1999	İzmir
Şenol ve ark(59)	1006	5.8	2001	İzmir
Ozturk ve ark(64)	62	4.8	2000-2004	Düzce
İşitmez ve ark(77)	26	7.7	2002-2003	Afyon
Surucuoğlu ve ark (56)	355	7.3	1997-2003	Manisa
Doğan ve ark(73)	385	3.4	1999-2004	Sivas
Balcı ve ark(57)	264	7.6	1995-1999	Gaziantep
Bayraktar ve ark(79)	249	13.2	2000-2004	Trabzon
Kısa ve ark (20)	211	1.7	2000-2001	GATA Ankara
Talay ve ark(68)	189	6.8	1997-2000	İstanbul
Taşova ve ark(70)	393	5.34	1993-1995	Adana
Sayğan ve ark(71)	505	7.92	1999-2002	Hıfzısıhha

Tablo 5.6. Ülkemizde yapılan çalışmalarda elde edilen primer ve sekonder ÇİD-TB oranları

İlaç	Örnek sayısı	Primer ÇİD-TB	Örnek sayısı	Sekonder ÇİD-TB
Bizim çalışmamız	99	2.0	14	35.7
Güneri ve ark(58)	387	4.4	87	17.2
Surucuğlu ve ark(56)	285	4.9	67	17.9
Doğan ve ark(73)	316	2.5	69	3.4
Talay ve ark(68)	135	3.0	54	16.6

Yaptığımız çalışmada ve ülkemizde diğer merkezlerde yapılan çalışmalarda primer direnç, sekonder direnç, ÇİD-TB oranları dünya ortalamalarının üstünde bulunmuştur. Bu da ülkemizde uygulanan TB ile mücadele programlarımızın başarısızlığını göstermektedir. Yeni dirençli olguların artışı önlemek için acilen önlem alınması gerekmektedir. Çalışmamızda görüldüğü gibi karşımıza çıkan her TB hastasının dirençli olma ihtimali yüksektir. Bu nedenle ülkemizde dirençli vakaların hızlı bir şekilde tespit edilmesi ve uygun tedavi verilebilmesi için hızlı ve güvenilir sonuç veren yöntemlerin uygulanmaya başlanması gerekmektedir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda değerlendirilen suşlarda primer, sekonder ve ÇİD-TB oranlarının DSÖ'nün öngörülebilir düzeyinden yüksek olduğu belirlenmiştir
2. Değerlendirilen suşlarda herhangi bir primer antitüberküloz ilaca dirençli olma oranı % 30.4 olarak bulunmuştur.
3. Değerlendirilen suşlarda SM, İNH, RİF, EMB için primer ilaç direnci sırasıyla %13.1, % 18.2, %2.0, %3.0 olarak bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında primer ilaç direncinin orta derecede yüksek olduğu gözlenmiştir.
4. Değerlendirilen suşlarda en yüksek primer ilaç direnci İNH için belirlenmiştir
5. Değerlendirilen suşlarda SM, İNH, RİF, EMB için sekonder ilaç direnci sırasıyla % 50.0, % 42.9, % 35.7 ve % 14.3 olarak bulunmuştur. Sekonder ilaç direncinin primer ilaç direncine göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. Sekonder ilaç direnç oranlarımızın ülkemizde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında yüksek direnç düzeyinde olduğu belirlenmiştir.
6. Değerlendirilen suşlarda ÇİD-TB oranı %8.0, primer ve sekonder ÇİD-TB oranları sırasıyla % 2.0 ve % 35.7 olarak bulunmuştur.
7. Değerlendirilen suşlarda toplam SM ve İNH direncinin ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında yüksek, RİF ve EMB direncinin ise orta direnç düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir.
8. Solunum örneklerinden elde edilen suşlarda primer antitüberküloz ilaçlarına direnç anlamlı olarak daha fazla görülmüştür.
9. BACTEC MGIT 960 sistemi tam otomatize ve kolay uygulanabilir olması, 4-13 gün gibi kısa sürede sonuç verebilmesi nedeniyle, ilaca dirençli TB hastalarının erken tanısı ve tedavisi açısından önemli avantajlar sağlayacağı sonucuna varılmıştır
10. DSÖ Dış Kalite Kontrol değerlendirme kriterlerine göre BACTEC MGIT 960 sisteminin SM, İNH, RİF için yeterliliği kabul edilebilir düzeyde (minimum % 90), ancak EMB için yeterliliğinin düşük (%85) olduğu belirlenmiştir..

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. Mycobacteria: in: Forbes B, Sahm D, Weissfeld A, (eds): Diagnostic Microbiology. St.Louis, Missouri, Mosby, 2002, pp 538-571
- 5.Metchock B., Nolte F.S., Mycobacterium. (1995). Manual of Clinical Microbiology. (Ed. Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Yolken R.H.). ASM Pres, Washington DC., s 400-437
6. Haas W.D., Des Prez R.M., Mycobacterium Tuberculosis. (1995). Principles and Practice of Infectious Diseases. (Ed. Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R.).Churchill Livingstone, New York, 2213-2243
7. The Global Plan to Stop TB 2006-2015 Actions for life towards a world free of tuberuculosis WHO/HTM/STB/ 2006.35
8. T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı:Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü İçin Başvuru Kitabı. Ankara, 2003
9. 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.
10. Kart L., Akduman D., Altin R., Tor M., Unalacak M., Begendik F., Erdem F., Alparslan U., Fourteen-Year Trend of Tuberculosis Dynamics in The Northwest of Turkey. Respiration. 70(5):468-474.Ref ID: 20., 2003.
11. Zonguldak İl Sağlık Müdürlüğü, Bulaşıcı Hastalıklar Şubes Kayıtları.
12. Oktun M., Tüberküloz Tedavisinde temel İlkeler ve Direnç Sorunu, Klimik Dergisi., 14 (2): 71-82, 2001.

13. Murray J.F., A century of tuberculosis. *Am J Respir. Crit Care Med.*, 169 (11):1181-1186, 2004.
14. Çilli A., Antitüberküloz İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003
15. Kiraz N., Antitüberküloz İlaçlara Direnç Mekanizmaları ve Yeni İlaçlar. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003.
16. Cockerill F.R., Genetic methods for assessing antimicrobial resistance. *Antimicrob Agent Chemother.* 43:199-212, 1999.
17. Musser J.M., Antimicrobial agent resistance in Mycobacteria. Molecular genetic insights. *Clin Microbiol Rev.* 8:496-514, 1995.
18. Giellespie SH. Evolution of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis: Clinical and Molecular Perspective. *Antimicrob Agent Chemother* 2002; 46:267-74.
19. Çavuşoğlu C., Mycobacterium tuberculosis’de Moleküler Antibiyotik Duyarlılık Test yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003
20. Kisa O., Albay A., Baylan O., Balkan A., Doganci 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.
21. Peter D.O.Davies, Multi-Drug Resistant Tuberculosis. Director of the Tuberculosis Research Unit, Cardiothoracic Centre, Thomas Drive, Liverpool L14 3PE. Received March .1999.
22. Bastian I., Rigouts L., Van D. A., Portaels F., Directly observed treatment, short-course strategy and multidrug-resistant tuberculosis: are any modifications required? *Bull. World Health Organ*, 78 (2): 238-251, 2000.
23. Anti-Tuberculosis Drug Resistance in The World Report No.3 WHO/HTM/TB/2004.343
24. Durmaz R., *Mycobacterium Tuberculosis’ de Direnç Sorunu.* ANKEM Derg.19(2):107-110, 2005.
25. Yolsal N., Malat G., Dişçi R., Örkün M., Kılıçaslan Z., Türkiye’de Tüberküloz İlaçlarına Direnç Sorununun 1984-1989 ve 1990-1995 Yılları İçin Karşılaştırılması: Meta-Analiz: *Klinik Dergisi.* 11(1): 6-9, 1998.

26. Dorbniewski F., Antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. EUCAST Discussion Document, CMI . 8: 1, 2001.
27. ICMR Bulletin: Vol.32, No.8, August.2002.
28. NCCLS: Susceptibility Testing of Mycobacteria , Nocardia, and Other Aerobic Actinomycetes:Approved Standart. NCCLS Document M24-A, Pennsylvania, 2003
29. Inderlied C. B., Salfinger M., Antimicrobial Agents And Susceptibility Test Mycobacteria. (1995). Manual of Clinical Microbiology. (ed. Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H.). ASM Pres, Washington DC., s 1385-1404
30. Hacek D., Modified proportion agar dilution test for slowly growing mycobacteria. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Isenberg HD (Ed). American Society for Microbiology / Washington, D.C. 5.13.1 - 5.13.15, 1992.
31. Tansel Ö., Klasik Duyarlılık Testleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003.
32. Siddiqi S.H., Radiometric (Bactec) tests for slowly growing mycobacteria. Clinical Microbiology Procedures Handbook, Isenberg HD (Ed in Chief). American Society for Microbiology / Washington, D.C., 5.14.1 - 5.14.25,1992.
33. Özkütük N., Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri. IV. Tüberküloz Sempozyumu ve IV: Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı.186-211, 2005.
34. Bermer P., Palicova F., Gerdes S.R., Dugeon H., Multicenter Evaluation of Fully Automated BACTEC Mycobacteria Growth İndicator Tube 960 System For Susceptibility Testing Of *Mycobacterium tuberculosis* . J Clin Microbiol. 40 (1): 150-154, 2002.
35. Marttila H.J., Marjamaki M., Viljanen M.K., Soini H., Performance of BACTEC 960 Mycobacteria growth indicator tube in the susceptibility testing of genetically characterized Mycobacterium tuberculosis isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 22: 757-759, 2003.
36. Bemer P., Bodmer T., Munzinger J., Perrin M., Vincent V., Dugeon H., Multicenter evaluation of the MB/BACT system for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol. 42(3):1030-1034, 2004..

37. Woods G.L., Fish G., Plaunt M., Murphy T., Clinical evaluation of difco ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 35(1):121-124, 1997
38. Yajko D.M., Madej J.J., Lancaster M.V., Sanders C.A., Cawthon V.L., Gee B., Babst A., Hadley W.K., Colorimetric method for determining MICs of antimicrobial agents for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 33(9):2324-2327, 1995.
39. Banaiee N., Bobadilla-del-Valle M, Riska, P. F, Bardarov S Jr Small P.M, Ponce-de-Leon A, Jacobs W. R. Jr., Hatfull G. F., Sifuentes-Osornio, J. Rapid identification and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from MGIT cultures with luciferase reporter mycobacteriophages. *J Med. Microbiol.* 52 (Pt 7): 557-561, 2003.
40. Hazbon M. H., Guarin N., Ferro B. E., Rodriguez A. L., Labrada L. A., Tovar R., Riska P. F., Jacobs W. R. Jr., Photographic and luminometric detection of luciferase reporter phages for drug susceptibility testing of clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates *J Clin. Microbiol.* 41 (10): 4865-4869, 2003.
41. Eltringham, I. J., Wilson S.M., Drobniewski F. A., Evaluation of a bacteriophage-based assay (phage amplified biologically assay) as a rapid screen for resistance to isoniazid, ethambutol, streptomycin, pyrazinamide, and ciprofloxacin among clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin. Microbiol.* 37 (11): 3528-3532, 1999.
42. Moore A.V., Kirk S.M., Callister S.M., Mazurek G.H., Schell R.F., Safe determination of susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to antimycobacterial agents by flow cytometry. *J Clin. Microbiol.* 37(3): 479-483, 1999.
43. Birinci A., Coban A.Y., Ekinçi B., Durupinar B., Comparison of the proportion method with mycobacteria growth indicator tube and E-test for susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 97(3): 351-352, 2002.
44. Della-Latta P., Digestion-Decontamination Procedures. In: Isenberg HD (Ed) *Clinical Microbiology Procedure Handbook*. Vol 2, 2nd Ed. Washington DC: ASM Press. 7.1.2.1, 2004.
45. Lillian V.L., Solid Media for Isolation. In: Isenberg HD (Ed) *Clinical Microbiology Procedure Handbook*. Vol 2, 2nd Ed. Washington DC: ASM Press. 7.3.1, 2004.

- 46.** Uzun M., Örneklerin İşlenmesi ve Kültür Yöntemleri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003.
- 47.** Guidelines for National Programmes. Treatment of Tuberculosis. WHO/TB/97.220
- 48.** Uçan E. S., Çoklu Dirençli Tüberküloz (MDRTB) Türkiye ve Dünyadaki Önemi. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kitabı Kuşadası-Aydın. 112,19 - 23 Eylül 2004.
- 49.** Özakin C., Gedikoğlu S., Tüberküloz Tanısında Tüberküloz Laboratuvarınınrolü : Tanı Ve İlaç Duyarlılık Testlerinde Rutinlaboratuvar Yöntemlerinin Değeri: 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, 2003.
- 50.** Sarıbaş S., Bağdatlı Y., Yıldız N., BACTEC MGIT 960 Sistemi ile Tüberküloz tanısı. İnfeksiyon dergisi. 18 (2): 149-153,2004.
- 51.** 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.
- 52.** 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.
- 53.** Kartaloğlu Z., Bozkanat E., Öztürkeri H., Okutan O., İlvan A., BACTEC Yöntemi Kullanılarak Primer Antitüberküloz İlaç Direnci Saptanan 365 Tüberküloz Olgusu. Solunum.4:443-448, 2002.
- 54.** 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, 2002.
- 55.** Bengisun J.S., Karnak D., Palabiyikoglu I., Saygun N., Mycobacterium tuberculosis drug resistance in Turkey, 1976-97. Scand. J Infect. Dis.32(5): 507-510, 2000.

- 56.** Surucuoglu S., Ozkutuk N., Celik P., Gazi H., Dinc G., Kurutepe S., Koroglu 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.
- 57.** Balci 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.
- 58.** Guneri S., Unsal I., Oztop A., Erkut M., Avkan O. V., Ozgu A., Cakmak 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
- 59.** Senol G., Komurcuoglu B., Komurcuoglu A., Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Western Turkey: a retrospective study from 1100-bed teaching hospital. *J Infect.* 50(4):3006-311, 2005.
- 60.** Durmaz R., Ozerol I.H., Durmaz B., Gunal S., Senoglu A., Evliyaoglu 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.
- 61.** Karabay O., Otkun M., Akata F., Karlikaya C., Tugrul M., Dundar V., Antituberculosis drug resistance and associated risk factors in the European section of Turkey. *Indian J Chest Dis. Allied Sci.* 46 (3): 171-177, 2004.
- 62.** Tansel Ö, Yüksel P, Kuloğlu F, Akata F: *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Antitüberküloz İlaçlara Direnci: Trakya Üniversitesi Hastanesi'nin İki Yıllık Sonuçları: *infeksiyon dergisi*; 17 (1): 23-26
- 63.** Oktun M., Akata F., Karabay O., Tabakoğlu E., Tuğrul M., Dünder V., Rakya Üniversitesi Hastanesi'ne 1996 Yılı İçinde Başvuran Tüberkülozlu Olgularda Antitüberküloz İlaçlarına Direnç: *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 11 (3): 191-197, 1997.
- 64.** Ozturk C.E., Balbay O.A., Kaya D., Ceyhan I., Bulut I., Sahin 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.

- 65.** Çetinkaya E., Özlü T., Elazığ İli Verem Savaş Dispanserindeki Erişkin Akciğer Tüberkülozlu Olgularda Primer ve Sekonder Direnç: Solunum. 20: 197-202, 1996.
- 66.** Arseven O., Eraksoy H., Uzun Y., Sepkin C., Kalaycıoğlu A., Özmenoğlu M., Bölükbaşı O., Doğu Karadenizde Tüberküloz İlaçlarına Direnç Durumu: Klinik Dergisi. 8(2): 63-67, 1995.
- 67.** Sözen H: Isparta Yöresinde İzole Edilen Mycobakterium tuberculosis Suşlarında Antitüberküloz İlaçlarının Direnç Paternlerinin Araştırılması:Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyooloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi., Isparta, 2000.
- 68.** Talay F., Altın S., Karasulu L., Kümbetli Ş., İstanbul Eyüp Verem Savaş Dispanserinde 1997-2000 Yıllarında Belirlenen İlaç Direnç Oranları. Van Tıp Dergisi. 10 (1), 2003.
- 69.** Yüce A., Hatipoğlu O., Uçan E.S., Kırdar S., Akkoçlu A., Tüberküloz İlaçlarına Karşı Primer Direnç: İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 8 (3-4): 95-98, 1994.
- 70.** 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.
- 71.** Sayğan M.B., Ocak F., Ceyhan İ., Cesur S., Tahran G., Gümüşlü F., Beker G., Güner U., Çoşkun E., Bölge Tüberküloz Laboratuvarından Gönderilen Mycobacterium tuberculosis Suşlarının Major Antitüberküloz İlaçlara Duyarlılıkları: XXIII. Ulusal Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi Tüberküloz ve Tüberküloz Kontrolü Kongre Kitabı. Maltaya, PS:1, 2003
- 72.** Bulut Y., Toran A., Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesinde İzole Edilen Mycobacterium tuberculosis Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları XXIII. Ulusal Tüberküloz Ve Göğüs Hastalıkları Kongresi Tüberküloz Ve Tüberküloz Kontrolü Kongre Kitabı. Maltaya, PS:2, 2003.
- 73.** Doğan Ö.T., Özşahin S.L., Kaya S., Bakıcı M.Z., Yıldız A.I., Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nde 1999 İtibaren Takip Edilen Ardışık 385 Olguda Antitüberküloz İlaç Direnci: C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi. 26 (2): 81-84, 2004.
- 74.** Zonguldak Verem Savaş Dispanseri verilerin.

- 75.** Kart L., Altin R., Tor M., Gulmez I., Oymak S.F., Atmaca H.M., Erdem F., Antituberculosis drug resistance patterns in two regions of Turkey: a retrospective analysis. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 1,6.Ref ID: 27, 2002.
- 76.** Goral G., Aydin 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.
- 77.** İşitmez M., Çetinkaya Z., Altındış M., Çiftçi İ.H., Fidan F., Afyon Bölgesinde Löwenstein-Jensen, Bactec Ve TK Medium Yöntemleri İle İzole Edilen *Mycobacterium tuberculosis* Suşlarının Dört Major İlaça Karşı Dirençlerinin Belirlenmesi: Kocatepe Tıp Dergisi. 5: 45-48, 2004.
- 78.** Bakıcı M.Z., Bakır M., Yalçın A.Z., *Mycobacterium Tuberculosis* Suşlarının Antitüberküloit İlaçlara Direnç Durumları: *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection)*.7(1-2): 91-93, 1993.
- 79.** Bayraktar O, Köksal I., Aydın K., Caylan R., Ozen 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
- 80.** 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.
- 81.** Kızkın Ö., Hacıevliyagil S.S., Türker G., Günen H., The cost of treatment in new case and multidrug resistant case in pulmonary tuberculosis. *Tuberk Toraks.* 51(4): 410-415, 2003.